

Міністерство охорони здоров'я України  
Запорізький державний медичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України  
Запорізький державний медичний університет

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

ДУЮН ІРИНА ФЕДОРІВНА

УДК 615.322:582.998.16].07

## ДИСЕРТАЦІЯ

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕРЕВІЮ ПАГОРБОВОГО І  
ДЕРЕВІЮ ПОДОВОГО ТА ОТРИМАННЯ СУБСТАНЦІЙ НА ЇХ ОСНОВІ

226 «Фармація, промислова фармація»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

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

\_\_\_\_\_ І. Ф. Дуюн

Науковий керівник Мазулін Олександр Владиленович, доктор фармацевтичних наук, професор

Запоріжжя – 2021

## АНОТАЦІЯ

Дуюн І. Ф. Фармакогностичне дослідження деревію пагорбового і деревію подового та отримання субстанцій на їх основі. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація». – Запорізький державний медичний університет, МОЗ України, Запоріжжя, 2021.

Запорізький державний медичний університет, МОЗ України, Запоріжжя, 2021.

Робота виконана на базі кафедри клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету протягом 2018-2021 років.

Дисертаційна робота присвячена комплексному порівняльному фармакогностичному дослідженню сировини та екстрактів деревію пагорбового (*Achillea collina* (Becker ex Rchb.f.) Heimerl та деревію подового (*Achillea micranthoides* Klokov) родини айстрові (*Asteraceae*), розробці параметрів їх стандартизації, встановленню залежності їх гепатопротекторної, антиоксидантної, гемостатичної та антимікробної активності від хімічного складу.

За допомогою якісних реакцій, паперової (ПХ), тонкошарової (ТШХ), вискоєфективної рідинної (ВЕРХ), газової хроматографії з мас-спектрометрією (ГХ-МС), атомно-адсорбційної спектроскопії (ААС) було встановлено присутність в досліджуваних об'єктах таких груп біологічно активних речовин (БАР): ефірної олії, вітаміну К<sub>1</sub>, фенольних сполук (флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, поліфенолів), полісахаридів, карбонових та жирних кислот (ЖК), а також макро- та мікроелементів. Встановлено їх кількісний вміст у сировині та ліпофільних екстрактах.

Методом гідродистиляції встановлено, що найбільша кількість ефірної олії накопичується у суцвіттях обох досліджуваних видів (*A. collina* –  $3,22 \pm 0,28$  % та *A. micranthoides* –  $3,04 \pm 0,66$  %), в той час як стебла рослини містять її не значну кількість ( $0,44 \pm 0,09$  % та  $0,32 \pm 0,15$  % відповідно). Вміст

ефірної олії був більшим у траві д. пагорбового ( $2,87 \pm 0,24$  %), ніж у траві д. подового ( $2,13 \pm 0,21$  %).

В отриманих ефірних оліях спектрофотометричним методом досліджено особливості накопичення суми проазуленів у перерахунку на хамазулен. Встановлено, що вміст хамазулену в ефірних оліях з суцвіть досліджуваних рослин (*A. collina* –  $35,81 \pm 0,81$  % та *A. micranthoides* –  $13,43 \pm 0,52$  %), майже у 2 рази вищий, ніж у листі ( $18,55 \pm 0,54$  % та  $7,11 \pm 0,33$  % відповідно).

Вивчення компонентного складу ефірних олії досліджуваних видів проведено методом газової хроматографії з мас-спектрометрією (ГХ/МС). В ефірній олії д. пагорбового трави ідентифіковано 40 сполук, серед яких за вмістом в олії домінують: хамазулен ( $28,61 \pm 1,75$  %), каріофілен ( $11,60 \pm 0,46$  %),  $\delta$ -кадінен ( $10,28 \pm 0,13$  %), терпінен-4-ол ( $8,81 \pm 0,07$  %). В ефірній олії д. подового трави виявлено 32 сполуки, у найбільшій кількості з яких містяться: каріофілен оксид ( $18,39 \pm 1,75$  %),  $\alpha$ -каріофілен ( $18,39 \pm 0,57$  %), булнезол ( $11,29 \pm 1,75$  %), туйен-2-іл ацетат ( $8,84 \pm 0,13$  %),  $\delta$ -кадінен ( $6,80 \pm 0,13$  %).

Фенольні сполуки визначали за допомогою якісних реакцій та методами паперової (ПХ) та тонкошарової (ТШХ) хроматографії. У траві обох видів методом ТШХ у порівнянні з ФСЗ ідентифіковано лютеолін, апігенін, кверцетин, рутин, хлорогенову та кофейну кислоти.

Спектрофотометричне дослідження вмісту флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та поліфенольних сполук показало, що найбільша кількість флавоноїдів міститься у суцвіттях досліджуваних видів, а гідроксикоричні кислоти та поліфенольні сполуки накопичуються переважно у листі обох видів.

У траві *A. collina* та *A. micranthoides* спектрофотометричним методом визначений вміст флавоноїдів у перерахунку на лютеолін –  $2,61 \pm 0,12$  % та  $2,37 \pm 0,14$  %; гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту –  $1,64 \pm 0,12$  % та  $1,13 \pm 0,14$  %; поліфенольних сполук, у перерахунку на пірогалол –  $4,23 \pm 0,17$  % та  $3,48 \pm 0,14$  % відповідно. Виявлено, що вміст фенольних сполук дещо вищий у д. пагорбового трави.

Вперше методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) у траві д. пагорбового та д. подового було досліджено якісний склад і встановлено кількісний вміст флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та поліфенолів. У траві *A. collina* ідентифіковано 12 флавоноїдів, загальний вміст яких становив  $1,26 \pm 0,13$  %, 11 гідроксикоричних кислот –  $0,93 \pm 0,09$  % та 11 поліфенольних сполук –  $4,05 \pm 0,07$  %; у траві *A. micranthoides* – 8 флавоноїдів ( $1,17 \pm 0,12$  %), 12 гідроксикоричних кислот ( $0,83 \pm 0,05$  %) та 12 поліфенольних сполук ( $3,48 \pm 0,09$  %).

Серед флавоноїдів у траві *A. collina* та *A. micranthoides* за вмістом переважали глікозидні форми флавононів: апігенін-7,4'-ди-О-глюкозид ( $0,34 \pm 0,04$  % та  $0,38 \pm 0,05$  %), апігенін-7-О- $\beta$ -D-глюкопіранозид ( $0,25 \pm 0,02$  % та  $0,10 \pm 0,01$  %), лютеолін-6-С-глюкозид ( $0,17 \pm 0,01$  % та  $0,20 \pm 0,01$  %), лютеолін-7-О- $\beta$ -D-глюкопіранозид ( $0,19 \pm 0,02$  % та  $0,15 \pm 0,02$  %).

З гідроксикоричних кислот у траві обох досліджуваних видів значно домінують за вмістом хлорогенова, криптохлорогенова та кофейна кислоти. Інші гідроксикоричні кислоти містяться у мінорних кількостях.

Дослідження вмісту поліфенольних сполук методом спектрофотометрії у перерахунку на пірогалол показало, що листя обох видів накопичує у 1,5 рази більше поліфенольних сполук, ніж суцвіття. Вміст поліфенолів у траві *A. collina* склав  $4,23 \pm 0,17$  %, у траві *A. micranthoides* –  $3,48 \pm 0,14$  %.

Методом ВЕРХ у траві *A. collina* ідентифіковано 11 поліфенольних сполук, загальний вміст яких становив  $4,05 \pm 0,07$  %; у траві *A. micranthoides* – 12 сполук, загальний вміст яких становив  $3,48 \pm 0,09$  %. У найбільшій кількості у сировині досліджуваних видів містяться: епікатехін, галова кислота, епікатехінгалат, галокатехін.

Методом ТШХ у суцвіттях, листі та стеблах д. пагорбового та д. подового ідентифіковано вітамін К<sub>1</sub>. Встановлено, що вміст вітаміну К<sub>1</sub> у листі був у 2 рази більший, ніж у траві. Методом спектрофотометрії визначено, що вміст вітаміну К<sub>1</sub>

у траві д. пагорбового ( $2,43 \pm 0,11\%$ ) був дещо менший, ніж у траві д. подового ( $3,18 \pm 0,21\%$ ).

Вичерпною екстракцією гексаном з трави досліджуваних видів було отримано ліпофільні фракції. Їх вихід склав: з трави *A. collina*  $3,55 \pm 0,07\%$ , з трави *A. micranthoides* –  $2,79 \pm 0,05\%$ . Аналіз жирнокислотного складу ліпофільних фракцій, який проводили методом ГХ-МС, виявив 13 жирних кислот. З них насичені жирні кислоти представлені 7, ненасичені – 6 сполуками. Співвідношення насичених та ненасичених кислот у ліпофільних фракціях з трави *A. collina* склало (1 : 1,5), з трави *A. micranthoides* (1 : 2). Серед насичених кислот у траві обох видів значно домінує пальмітинова кислота, серед ненасичених – олеїнова, лінолева та ліноленова кислоти.

Методом ТШХ у траві досліджуваних видів ідентифіковано аскорбінову, яблучну, лимонну та винну кислоти. Дослідження вмісту суми вільних органічних кислот спектрофотометричним методом показало, що трава *A. collina* містить у 1,5 рази їх більше, ніж трава *A. micranthoides* ( $3,28 \pm 0,24\%$  та  $2,16 \pm 0,20\%$  відповідно).

Досліджено динаміку накопичення аскорбінової кислоти у суцвіттях та листі досліджуваних видів у залежності від місця зростання рослин. Встановлено, що вміст аскорбінової кислоти, яка накопичується у листі, суттєво не залежить від місця заготівлі сировини. Вміст аскорбінової кислоти у траві *A. collina* становив до  $0,79 \pm 0,15\%$ , у траві *A. micranthoides* – до  $1,114 \pm 0,15\%$ .

Проведено дослідження вмісту фракцій полісахаридів (ВРПС, ПР, ГЦ А, ГЦ Б) у траві досліджуваних видів методом гравіметрії. У найбільшій кількості у траві досліджуваних видів містяться ВРПС: *A. collina* –  $8,23 \pm 0,82\%$ , *A. micranthoides* –  $7,61 \pm 0,66\%$  відповідно.

Встановлено, що у траві *A. collina* мономерний склад водорозчинних полісахаридів представлений переважно: *D*-рамнозою, *L*-арабінозою, *D*-глюкозою, *L*-ксилозою; у траві *A. micranthoides* - *D*-глюкозою, *D*-галактозою, *L*-ксилозою, *L*-рамнозою, *L*-арабінозою. Мономерний склад пектинових речовин

обох досліджуваних видів представлений глюкуроною та галактоуроною кислотами та *D*-рамнозою.

Методом атомно-адсорбційної спектроскопії досліджено елементний склад сировини. В обох зразках визначено вміст 19 елементів – по 6 макро- (K, Ca, Mg, Na, P, Si) та 13 мікроелементів (Fe, Al, Zn, Mn, Cu, Ni, Hg, As, Sr, Cr, Co, Mo, Pb, Cd). У значній кількості у траві досліджуваних видів накопичується (мг/100 г) калій (2760 і 2500), кальцій (920 і 390), магній (287 і 195) відповідно.

З метою встановлення оптимальних термінів заготівлі сировини досліджено динаміку накопичення ефірної олії, суми азуленпохідних у ній та вітаміну K<sub>1</sub> в залежності від місця зростання та терміну заготівлі сировини. Встановлено, що траву обох видів раціонально заготовляти протягом всього вегетаційного періоду з червня по жовтень, при цьому місце зростання істотно не впливає на вміст БАР.

Встановлено оптимальний температурний режим сушіння д. пагорбового та д. подового трави. Встановлено, що оптимальним є сушіння сировини протягом 6-8 годин за температури не вище +35 °С. Згідно з отриманими даними, розроблено та видано Укрмедпатентінформ МОЗ України інформаційний лист № 151-2018 (вип. 16 з проблеми «Фармація»), в якому викладено оптимальні терміни заготівлі трави *Achillea collina*, та інформаційний лист № 152-2018 (вип. 17 з проблеми «Фармація»), в якому вказано умови прискореного сушіння трави *Achillea collina*.

З метою розробки проектів МКЯ на д. пагорбового та д. подового траву проведено дослідження її морфолого-анатомічної будови та встановлені специфічні макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки.

Розроблено проекти МКЯ на траву д. пагорбового та траву д. подового та проведено стандартизацію 6 серій сировини на відповідність параметрам стандартизації. Якість сировини запропоновано контролювати за такими параметрами: ідентифікація за морфолого-анатомічними ознаками, виявленням компонентів ефірної олії, вмістом сторонніх домішок, втратою в масі при висушуванні (не більше 12 %), золюю загальною (не більше 10 %), золюю, нерозчинною у 10 % розчині кислоти хлористоводневої (не більше 2,5 %).

Запропоновано регламентувати вміст ефірної олії (не менше 2,5 %), суми флавоноїдів (не менше 2,5 %), вітаміну К<sub>1</sub> (не менше 2 %).

Визначено технологічні параметри трави *A. collina* та *A. micranthoides* середній розмір часток, насипна маса, об'ємна та питома вага, пористість сировини, порізність шару, вільний об'єм шару, коефіцієнт поглинання.

Розроблено технологічну схему отримання ліпофільних екстрактів з трави *A. collina* (ЛЕДГ) та *A. micranthoides* (ЛЕДП). Запропоновано проводити екстракцію трави підігрітою до 50 °С рафінованою кукурудзяною олією у співвідношенні (1:5) методом мацерації протягом доби, з подальшим відстоюванням у прохолодному місці (+5 °С) протягом 7 діб.

Методом ТШХ в ліпофільних екстрактах встановлено присутність апігеніну, лютеоліну та кверцетину.

Розроблено проекти методів контролю якості (МКЯ) на одержаний ліпофільний екстракт «Деревію пагорбового трави екстракт ліпофільний» (*Achilleae collinae herbae extractum lipophilicum*). Отримано 6 серій ЛЕДГ та ЛЕДП та проведено їх стандартизацію за параметрами МКЯ: вихід (не менше 300 мл), опис, розчинність, ідентифікація флавоноїдів та компонентів ефірної олії, вміст флавоноїдів (не менше 0,5 %).

Проведено фармакологічні дослідження *in vivo* та визначено гостру токсичність ЛЕДГ та ЛЕДП. Досліджувані екстракти за класифікацією К. К. Сидорова віднесені до IV класу токсичності (малотоксичні речовини) (ЛД<sub>50</sub> > 2500 мг/кг).

Запропоновано лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії, що є ліпофільним екстрактом з трави деревію пагорбового (*A. collina*). Отримано патент України на корисну модель «Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії», що підтверджує наукову новизну дисертаційної роботи.

Результати фітохімічного дослідження впроваджено в науково-дослідну роботу споріднених вищих навчальних закладів України.

*Ключові слова:* деревій пагорбовий, деревій подовий, фармакогностичне вивчення, ліпофільні екстракти, гемостатична, гепатопротекторна, антиоксидантна активність.

## ABSTRACT

*I.F. Duyun* Pharmacognostic research of *Achillea Collina* and *Achillea Micranthoides* and obtaining substances based on these plants. - Qualifying scientific work with manuscript copyright.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy with specialization in 226 Pharmacy, industrial pharmacy – Zaporizhzhia State Medical University, the Ministry of Healthcare of Ukraine, Zaporizhzhia, 2021.

The research was performed on the premises of the Department of Clinical Pharmacy, Pharmacotherapy, Pharmacognosy and Pharmaceutical Chemistry of Zaporizhzhia State Medical University during 2018-2021.

The dissertation work is dedicated to a complex comparative pharmacognostic study of raw materials and extracts of *Achillea collina* (Becker ex Rchb.f.) Heimerl and *Achillea micranthoides* Klokov) of the family *Asteraceae*, development of parameters for their standardization and determining the dependence of their hepatoprotective, antioxidant, hemostatic and antimicrobial activity on the chemical composition.

By means of qualitative reactions, paper (PC), thin-layer (TLC), high-performance liquid (HPLC), gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS), atomic adsorption spectroscopy (AAS), the presence of the following biologically active substances (BAS) groups was established in the studied objects: essential oil, vitamin K1, phenolic compounds (flavonoids, hydroxycinnamic acids, polyphenols), polysaccharides, carboxylic and fatty acids (FA), as well as macro-and micronutrients. Their quantitative content in raw materials and lipophilic extracts has been established.

The method of hydrodistillation showed that the largest amount of essential oil accumulates in the inflorescences of both studied species (*A. collina* -  $3.22 \pm 0.28\%$  and *A. micranthoides* -  $3.04 \pm 0.66\%$ ), while the plant stems contain its insignificant amount ( $0.44 \pm 0.09\%$  and  $0.32 \pm 0.15\%$ , respectively). The content of essential oil was higher in the herb of *A. collina* ( $2.87 \pm 0.24\%$ ) than in the herb of *A. micranthoides* ( $2.13 \pm 0.21\%$ ).

The peculiarities of the accumulation of the amount of proazulenes in terms of chamazulene were investigated in the obtained essential oils by the spectrophotometric



method. It was found that the content of chamazulene in essential oils from the inflorescences of the studied plants (*A. collina* -  $35.81 \pm 0.81\%$  and *A. micranthoides* -  $13.43 \pm 0.52\%$ ) is almost 2 times higher than in the leaves ( $18.55 \pm 0.54\%$  and  $7.11 \pm 0.33\%$ , respectively).

The study of the component composition of the studied species essential oils was carried out by gas chromatography with mass spectrometry (GC / MS). 40 compounds were identified in the essential oil of *A. collina*, among which the content in the oil is dominated by chamazulene ( $28.61 \pm 1.75\%$ ), caryophyllene ( $11.60 \pm 0.46\%$ ),  $\delta$ -kadinen ( $10.28 \pm 0.13\%$ ), terpinene-4-ol ( $8.81 \pm 0.07\%$ ). 32 compounds were found in the essential oil of *A. micranthoides*, with the largest amounts of arylphyllene oxide ( $18.39 \pm 1.75\%$ ),  $\alpha$ -caryophyllene ( $18.39 \pm 0.57\%$ ), bulnesol ( $11.29 \pm 1.75\%$ ), thuyen-2-yl acetate ( $8.84 \pm 0.13\%$ ),  $\delta$ -cadinen ( $6.80 \pm 0.13\%$ ).

Phenolic compounds were determined by qualitative reactions and by paper (PC) and thin layer (TLC) methods. Luteolin, apigenin, quercetin, rutin, chlorogenic and caffeic acids were identified in the herb of both species by TLC and compared with pharmacopoeial standard samples (PSS).

Spectrophotometric study of flavonoids, hydroxycinnamic acids and polyphenolic compounds showed that the largest number of flavonoids is contained in the inflorescences of the studied species, while hydroxycinnamic acids and polyphenolic compounds accumulate mainly in the leaves of both species.

The content of flavonoids in terms of luteolin in the herb of *A. collina* and *A. micranthoides* was determined by spectrophotometric method -  $2.61 \pm 0.12\%$  and  $2.37 \pm 0.14\%$ ; as well as content of hydroxycinnamic acids in terms of chlorogenic acid -  $1.64 \pm 0.12\%$  and  $1.13 \pm 0.14\%$ ; and polyphenolic compounds, in terms of pyrogallol -  $4.23 \pm 0.17\%$  and  $3.48 \pm 0.14\%$ , respectively. It was found that the content of phenolic compounds is slightly higher in the herb of *A. collina*.

For the first time, the qualitative composition of flavonoids, hydroxycinnamic acids and polyphenols was investigated by the method of high-performance liquid chromatography (HPLC) in herbs of *A. collina* and *A. micranthoides*. In *A. collina* herb 12 flavonoids were identified, the total content of which was  $1.26 \pm 0.13\%$ , 11

hydroxycinnamic acids -  $0.93 \pm 0.09\%$  and 11 polyphenolic compounds -  $4.05 \pm 0.07\%$ ; in *A. micranthoides* herb - 8 flavonoids ( $1.17 \pm 0.12\%$ ), 12 hydroxycinnamic acids ( $0.83 \pm 0.05\%$ ) and 12 polyphenolic compounds ( $3.48 \pm 0.09\%$ ).

Among the flavonoids in the herb of *A. collina* and *A. micranthoides* the content was dominated by glycosidic forms of flavones: apigenin-7,4'-di-O-glucoside ( $0.34 \pm 0.04\%$  and  $0.38 \pm 0.05\%$ ), apigenin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside ( $0.25 \pm 0.02\%$  and  $0.10 \pm 0.01\%$ ), luteolin-6-C-glucoside ( $0.17 \pm 0.01\%$  and  $0, 20 \pm 0.01\%$ ), luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside ( $0.19 \pm 0.02\%$  and  $0.15 \pm 0.02\%$ ).

Of the hydroxycinnamic acids in the herbs of both studied species chlorogenic, cryptochlorogenic and caffeic acid significantly dominate by the contents. Other hydroxycinnamic acids are contained in minor amounts.

The study of the content of polyphenolic compounds by spectrophotometry in terms of pyrogallol showed that leaves of both species accumulate 1.5 times more polyphenolic compounds than inflorescences. The content of polyphenols in *A. collina* herb was  $4.23 \pm 0.17\%$ , in *A. micranthoides* herb -  $3.48 \pm 0.14\%$ .

By HPLC in *A. collina* herb 11 polyphenolic compounds were identified, the total content of those amounted to  $4.05 \pm 0.07\%$ ; in herb *A. micranthoides* 12 compounds were identified, the total content of those amounted to  $3.48 \pm 0.09\%$ . The prevailing polyphenolic compounds in the raw materials of the studied species are epicatechin, gallic acid, epicatechingalate, halocatechin.

Vitamin K<sub>1</sub> was identified by TLC in inflorescences, leaves and stems of *A. collina* and *A. micranthoides*. It was found that the content of vitamin K<sub>1</sub> in the leaves was 2 times higher than in the herb. The spectrophotometry method determined that the content of vitamin K<sub>1</sub> in the herb of *A. collina* ( $2.43 \pm 0.11\%$ ) was slightly lower than in the grass of *A. micranthoides* ( $3.18 \pm 0.21\%$ ).

Exhaustive extraction with hexane from the herbs of the studied species yielded lipophilic fractions. Their yield was: from herb *A. collina*  $3.55 \pm 0.07\%$ , from herb *A. micranthoides* -  $2.79 \pm 0.05\%$ . Analysis of the fatty acid composition of lipophilic fractions, which was performed by GC-MS, revealed 13 fatty acids. Of these 7 compounds are saturated fatty acids, 6 compounds are unsaturated acids. The ratio of

saturated and unsaturated acids in lipophilic fractions from herb *A. collina* was (1: 1.5), and that from herb *A. micranthoides* was (1: 2). The range of saturated acids in the herbs of both species is significantly dominated by palmitic acid, while oleic, linoleic and linolenic acids prevail among the unsaturated acids.

Ascorbic, malic, citric and tartaric acids were identified by TLC in the herbs of the studied species. Examination of the content of the amount of free organic acids by spectrophotometric method showed that *A. collina* herb contains 1.5 times more of them than *A. Micranthoides* herb ( $3.28 \pm 0.24\%$  and  $2.16 \pm 0.20\%$ , respectively).

The dynamics of ascorbic acid accumulation in inflorescences and leaves of the studied species depending on the place of plant growth was studied. It was found that the content of ascorbic acid, which accumulates in the leaf, does not significantly depend on the place of origin of the raw materials. The content of ascorbic acid in *A. collina* herb was up to  $0.79 \pm 0.15\%$ , and that in *A. micranthoides* herb was up to  $1.114 \pm 0.15\%$ .

The content of polysaccharides fractions (WSPS, PS, HC A, HC B) in the herbs of the studied species was studied by gravimetry. WSPS prevail in the herbs of the studied species and amount to  $8.23 \pm 0.82\%$  in *A. collina*, and  $7.61 \pm 0.66\%$  in *A. micranthoides* respectively.

It is established that in *A. collina* herb the monomeric composition of water-soluble polysaccharides is represented mainly by D-rhamnose, L-arabinose, D-glucose, L-xylose; in herb *A. micranthoides* the same is represented by D-glucose, D-galactose, L-xylose, L-rhamnose, L-arabinose. The monomeric composition of pectin substances of both studied species is represented by glucuronic and galactouronic acids and D-rhamnose.

The elemental composition of raw materials was studied by atomic adsorption spectroscopy. The content of 19 elements was determined in both samples, which are 6 macro- (K, Ca, Mg, Na, P, Si) and 13 microelements (Fe, Al, Zn, Mn, Cu, Ni, Hg, As, Sr, Cr, Co, Mo, Pb, Cd). Potassium (2760 mg and 2500 mg per 100 g), calcium (920 mg and 390 mg), magnesium (287mg and 195 mg) respectively accumulate in a significant amount in the herbs of the studied species.

In order to establish the optimal timing for raw material harvesting, the dynamics of essential oil accumulation, the amount of azulene derivatives and vitamin K<sub>1</sub> in it depending on the place of growth and the timing of raw material harvesting were studied. It is established that the grass of both species is reasonably harvested during the entire growing season from June to October, while the place of growth does not significantly affect the content of BAS.

The optimal temperature regime for drying *A. collina* and *A. micranthoides* herb has been established. It is defined as optimal to dry the raw material for 6-8 hours at a temperature not exceeding +35 °C. According to the received data, the Ukrmedpatentinform of the Ministry of Health of Ukraine developed and published an information letter № 151-2018 (issue 16 on the "Pharmacy" studies), which sets out the optimal timing for harvesting *Achillea collina*, and an information letter № 152-2018 (issue 17 on the "Pharmacy" studies), which indicates the conditions for accelerated drying of *Achillea collina*.

In order to develop QCM projects on *A. collina* and *A. micranthoides* grass, a study of its morphological and anatomical structure was carried out and specific macro- and microscopic diagnostic features were established.

QCM projects have been developed for *A. collina* and *A. micranthoides* grass and standardization of 6 series of raw materials for compliance with standardization parameters has been carried out. It is proposed to control the quality of raw materials by the following parameters: identification by morphological and anatomical features, detection of essential oil components, content of impurities, weight loss during drying (not more than 12%), total ash (not more than 10%), ash insoluble in 10 % hydrochloric acid solution (not more than 2.5%). It is proposed to regulate the content of essential oil (not less than 2.5%), the amount of flavonoids (not less than 2.5%), vitamin K<sub>1</sub> (not less than 2%).

The technological parameters for *A. collina* and *A. micranthoides* herbs were determined, which are average particle size, bulk density, volume and specific weight, porosity of raw materials, porosity of the layer, free volume of the layer and absorption coefficient.

A technological scheme for obtaining lipophilic extracts from *A. collina* (LEAC) and *A. micranthoides* (LEAM) has been developed. It is proposed to carry out the extraction of grass with refined corn oil heated to 50 °C in the ratio (1: 5) by maceration during the day, followed by settling in a cool place (+5 °C) for 7 days.

The presence of apigenin, luteolin and quercetin in lipophilic extracts was determined by TLC.

Projects of quality control methods (QMS) for the obtained lipophilic extract "Common yarrow grass lipophilic extract" (*Achilleae collinae herbae extractum lipophilicum*) were developed. 6 series of LEAC and LEAM were obtained and standardized according to the parameters of QCM as for yield (not less than 300 ml), description, solubility, identification of flavonoids and components of essential oil and flavonoid content (not less than 0.5%).

In vivo pharmacological studies were performed and the acute toxicity of LEAC and LEAM was determined. The studied extracts are classified according to the classification of K.K. Sidorov as toxicity class IV (low-toxic substances) (LD50 > 2500 mg/kg).

A drug with hepatoprotective and antioxidant action, which is a lipophilic extract from the common yarrow (*A. collina*), has been proposed. The patent of Ukraine for the utility model "Drug of hepatoprotective and antioxidant action" is received, which confirms the scientific novelty of the dissertation.

The results of phytochemical research are introduced into the research work of related higher educational institutions of Ukraine.

*Key words:* common yarrow, yellow milfoil, pharmacognostic study, lipophilic extracts, hemostatic, hepatoprotective, antioxidant activity.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Phytochemical composition of polyphenolic compounds of *Achillea collina* Becker ex Rchb. / I. F. Duyun, O. V. Mazulin, G. P. Smoilovska, G. V. Mazulin. *Development and modernization of medical science and practice: experience of Poland and prospects of Ukraine: Collective monograph*. Vol. 2. Lublin: Izdevnieciba "Baltija Publishing", 2017. P. 69-85. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, самотійно виконала експериментальну частину дослідження).

2. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В., Лукіна І. А. Накопичення вітаміну К<sub>1</sub> у траві перспективних видів роду *Achillea* L. *Молодий вчений*. 2018. № 5. С. 45-48. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, виконала експериментальне дослідження, узагальнила результати).

3. Дослідження накопичення поліфенольних сполук у траві деревію горбкового (*Achillea collina* J. Becker ex Reichenb.) / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська, Т. В. Опрошанська, Г. В. Мазулін. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 1. С. 76-80. (Особистий внесок – брала участь у плануванні та виконанні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті).

4. Изучение эффективности липофильного экстракта травы *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb. на модели термического ожога у крыс / И. Ф. Дуюн, А. В. Мазулин, И. Ф. Беленичев, А. В. Абрамов. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2019. Т. 13, № 6. С. 399-406. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, виконала експериментальне дослідження, брала участь в узагальненні результатів, написанні статті).

5. Экспериментальное изучение гепатопротекторной и антиоксидантной активности экстракта травы *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka / И. Ф. Дуюн, А. В. Мазулин, И. Ф. Беленичев, А. В. Абрамов. *Фармакологія и лекарственная токсикологія*. 2019. Т. 13, № 1. С. 51-57. (Особистий внесок – виконана частина експерименту, узагальненні результатів та написанні статті).

6. Хімічний склад поліфенольних сполук у траві деревію подового (*Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka) / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, Т. В.

Опрошанська, Г. В. Мазулін. *Фармацевтичний журнал*. 2020. Т. 75, № 1. С. 80-87. (Особистий внесок – проведено літературний пошук за темою публікації, виконала експериментальне дослідження, брала участь в узагальненні результатів, написанні статті).

7. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В., Опрошанська Т. В. Дослідження анатомічної будови надземних органів *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka. *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 1. С. 72-77. (Особистий внесок – брала участь у постановці завдання, плануванні та виконанні експерименту, обробці та узагальненні результатів, написанні статті).

8. Expression of mRNA iNOS and mRNA eNOS in the liver of rats with chronic alcohol intoxication and with the introduction of *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka herb extract / I. Belenichev, I. Duyun, O. Kamyshnyi, O. Mazulin, E. Suprun, L. Makeyeva. *Biological Markers in Fundamental and Clinical Medicine*. 2020. Vol. 4 N 1. P 6-10. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, самостійно виконала експериментальну частину дослідження).

9. Патент на корисну модель № 139576 Україна, МПК (2020.01). А61К 36/00, А61Р 1/16. Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, І. Ф. Беленічев, А. В. Абрамов. № u 201906923 ; заявл. 20.06.19 ; опубл. 10.01.20, Бюл. № 24. (Особистий внесок – брала участь у патентному пошуку, проведенні експериментальних досліджень та оформленні патенту).

10. Дуюн І. Ф. Фітохімічне дослідження *Achillea collina* J. Becker ex Reichenh. *Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук* : матеріали IV регіон. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих учених з всеукр. участю, 27 листоп. 2015 р. Запоріжжя, 2015. С. 17-19. (Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез).

11. Дуюн И. Ф., Смойловская Г. П., Мазулин Г. В. Фитохимическое изучение состава эфирного масла травы тысячелистника холмового. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации* : сб. тезисов докладов 69 науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием, 15-17 апр. 2015 г. Минск, 2015. С. 1668. (*Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез*).

12. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В., Мазулін Г. В. Фармакогностичне вивчення трави деревію пагорбового флори України. *Медична наука та практика : Актуальні питання взаємодії*: зб. матеріалів міжнар. наук.-практичної конференції, 4-5 вер. 2015 р. Київ, 2015. С. 86-89. (*Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез*).

13. Дуюн І. Ф., Мазулін Г. В., Смойловська Г. П. Види роду *Achillea* L. перспективне джерело ранозагоючих та кровоспинних лікарських засобів. *Сучасні аспекти медицини і фармації – 2016*: зб. тез Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, 12-13 трав. 2016 р. Запоріжжя, 2016. С. 216-217 (*Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез*).

14. Dujun I. F., Mazulin O. V., Mazulin G. V. Study of polyphenolic compounds of *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka herbs. *Relevant tissues of modern medicine: International research and practice conference*. Lublin, Republic of Poland, Oct. 20-21, 2017. Lublin, 2017. P. 126-129 (*Особистий внесок – брала участь у заготівлі сировини, отриманні екстракту, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті*).

15. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В. Дослідження ефірноолійних видів роду *Achillea* L. флори України. *Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine International research and practice conference*, Apr. 28-29. Lublin, 2017. P. 151-153 (*Особистий внесок – брала участь у отриманні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез*).



16. Дуюн И. Ф., Лукина И. А. Полифенольный состав соцветий *Achillea collina* (Becker ex Rchb.). *Инновации в медицине и фармации - 2017. Фармацевтические науки* : дистанц. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, окт. 2017 г. Минск, 2017. С. 636-640 (*Особистий внесок – брала участь у проведенні літературного пошуку, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті*).

17. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В. Фармакогностичне дослідження трави *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka під час вегетації. *Advances of Science, Proceeding of articles the international scientific conference*, 6 Apr. 2018. Karlovy Vary; Kyiv, 2018. P. 223-233 (*Особистий внесок – брала участь у проведенні літературного пошуку, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті*).

18. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В., Смойловська Г. П. Дослідження накопичення похідних азулену в лікарських рослинній сировині перспективних видів роду *Achillea* L. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження д-ра фар мац. наук, проф. О. М. Гайдукевича, 12-13 квіт. 2018 р., м. Харків. Харків НФаУ, 2018. С. 266-267 (*Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез*).

19. Дуюн І. Ф. Фітохімічне дослідження ефірної олії деревію пагорбового. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27-28 верес. 2018 р. Тернопіль : ТДМУ, 2018. С. 21-22 (*Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез*).

20. Дуюн І. Ф. Фитохимическое изучение биологически активных соединений *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka. *Фундаментальная наука в современной медицине 2018* : сб. материалов сателлитной дистанц. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых. Минск : БГМУ, 2018. С. 114-118 (*Особистий*

внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез).

21. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В. Фармакогностичне дослідження трави *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka під час вегетації. *Advances of Science, Proceeding of articles the international scientific conference*, 6 Apr. 2018. Karlovy Vary; Kyiv, 2018. P. 223-233 (Особистий внесок – брала участь у проведенні літературного пошуку, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті).

22. Duyun I. F. Phytochemical research contents of essential oil with the accumulation of azulenein the herbsspecies of *Achillea* L. Topicalissues of new drugs development : *Abstracts of XXV International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Student-Kharkiv*, Apr. 18-20, 2018. Kharkiv : NUPh, 2018. P.-35-37 (Особистий внесок – брала участь у заготівлі сировини, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез).

23. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В. Поліфенольні сполуки трави деревію подового. *Сучасні теоретико-практичні аспекти реалізації впровадження. «Стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» у первинну ланку охорони здоров'я* : матеріали наук. симпозіуму з міжнар. участю, 22 листоп. 2019 р. Київ, 2019. С. 52-53 (Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез).

24. Оптимальні терміни заготівлі трави *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb. (деревію горбкового) / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, І. А. Лукіна, Г. П. Смойловська. Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я. Київ : Укрмедпатентінформ, 2018. Вип. 16 з проблеми «Фармація», № 151-2018. 4 с. (Особистий внесок – брала участь у підготовці сировини, проведенні досліджень та оформленні інформаційного листа).

25. Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb. (деревію горбкового) / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, І. А. Лукіна., Г. П. Смойловська

Г. П. Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я. Київ : Укрмедпатентінформ, 2018. Вип. 17 з проблеми «Фармація», № 152-2018. 4 с. *(Особистий внесок – брала участь у підготовці сировини, проведенні досліджень та оформленні інформаційного листа)*

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	23
ВСТУП	25
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНИЙ СТАН ДОСЛІДЖЕНЬ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ <i>ACHILLEA</i> L. (Огляд літератури)	33
1.1 Ботанічна характеристика видів роду <i>Achillea</i> L.	33
1.2 Хімічний склад видів роду <i>Achillea</i> L.	43
1.3 Застосування видів роду <i>Achillea</i> L. у медичній практиці	53
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕННЯ	65
2.1 Об'єкти дослідження	65
2.2 Відомості про прилади, методи та реактиви	66
2.3 Виявлення та визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин у траві <i>A. collina</i> та <i>A. micranthoides</i>	68
2.3.1 Ефірна олія	69
2.3.2 Флавоноїди	71
2.3.3 Гідроксикоричні кислоти	73
2.3.4 Фенольні сполуки методом ВЕРХ	73
2.3.5 Поліфенольні сполуки	74
2.3.6 Вітамін К <sub>1</sub>	76
2.3.7 Жирні кистоти	77
2.3.8 Органічні кислоти	79
2.3.9 Полісахариди	79
2.3.10 Елементний склад	81
2.4 Вивчення морфолого-анатомічних ознак	82
2.5 Методики визначення числових показників та технологічних параметрів сировини	82
2.6 Дослідження біологічної активності ліпофільних екстрактів	83
2.6.1 Визначення гострої токсичності	84
2.6.2 Вивчення гепатопротекторної і антиоксидантної, та	85

гемостатичної активності	
2.6.3 Вивчення ранозагоювальної активності	87
2.6.4 Дослідження протимікробної та протигрибкової активності	89
2.7 Статистична обробка результатів досліджень	90
РОЗДІЛ 3. ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО	91
ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН <i>A. COLLINA</i> І	
<i>A. MICRANTHOIDES</i>	
3.1 Дослідження летких сполук	91
3.2 Дослідження флавоноїдів	99
3.3 Дослідження гідроксикоричних кислот	100
3.4 Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ	101
3.5 Дослідження поліфенольних сполук	105
3.6 Дослідження вітаміну К <sub>1</sub>	109
3.7 Дослідження жирних кислот	111
3.8 Дослідження органічних кислот	115
3.9 Дослідження полісахаридів	117
3.10 Дослідження елементного складу	119
ВИСНОВКИ	121
РОЗДІЛ 4. ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНИХ ТЕРМІНІВ ЗАГОТІВЛІ ТА	126
УМОВ СУШІННЯ ТРАВИ <i>A. COLLINA</i> ТА <i>A. MICRANTHOIDES</i> ,	
ВИВЧЕННЯ ЇЇ МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНОЇ БУДОВИ ТА	
СТАНДАРТИЗАЦІЯ	
4.1 Дослідження динаміки накопичення ефірної олії	126
4.2 Дослідження динаміки накопичення вітаміну К <sub>1</sub>	129
4.3 Визначення оптимальних умов сушіння	131
4.4 Макро- і мікроскопічний аналіз	134
4.4.1 Макро- і мікроскопічний аналіз трави <i>A. collina</i>	134
4.4.2 Макро- і мікроскопічний аналіз трави <i>A. micranthoides</i>	140
4.5 Визначення числових показників якості	148
4.6 Визначення технологічних параметрів трави <i>A. collina</i> та <i>A.</i>	149

*micranthoides*

4.7 Стандартизація деревію пагорбового трави	150
4.8 Стандартизація деревію подового трави	156
ВИСНОВКИ	164
РОЗДІЛ 5. РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ ЕКСТРАКТІВ З ТРАВИ <i>A. COLLINA</i> ТА <i>A. MICRANTHOIDES</i> , ДОСЛІДЖЕННЯ ЇХ СКЛАДУ, СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТА ПІДТВЕРДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ	166
5.1. Обґрунтування технології отримання ліпофільних екстрактів	166
5.2 Дослідження хімічного складу ліпофільних екстрактів	168
5.3 Стандартизація ліпофільних екстрактів	169
5.4 Підтвердження фармакологічної активності ліпофільних екстрактів	176
5.4.1 Вивчення гострої токсичності ліпофільних екстрактів	176
5.4.2 Вивчення гепатопротекторної, антиоксидантної та гемостатичної активності	178
5.4.3 Вивчення ранозагоювальної активності	184
5.4.4 Дослідження протимікробної та протигрибкової активності	188
ВИСНОВКИ	190
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	192
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	194
ДОДАТКИ	218

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

*A.* – *Achillea*

DPPH - 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразил

eNOS – ендотеліальна синтаза оксиду азоту

iNOS – індуцибельна синтаза оксиду азоту

AAS – атомно-адсорбційна спектроскопія

АЛТ – аланінамінотрансфераза

АНД – аналітичний нормативний документ

АСТ – аспартатамінотрансфераза

АФГ- альдегідфенілгідразон

БАР – біологічно активні речовини

ВВ – вільні вуглеводні

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

ВЕРХ-МС – високоефективна рідинна хроматографія з мас-спектрометричною детекцією

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ВРПС – водорозчинні полісахариди

ГДК – гранично допустима концентрація

ГРХ – газорідинна хроматографія

ГХ – газова хроматографія

ГХ-МС – газова хроматографія з мас-спектрометриєю

ГЦ А – геміцелюлоза А

ГЦ Б – геміцелюлоза Б

д. – деревій

ДФУ – Державна Фармакопея України

ЗДМУ – Запорізький державний медичний університет

ІЧ – інфрачервона спектроскопія

КФ – кисла фосфатаза

КФГ – кетонфенілгідразон

ЛД<sub>50</sub> – середня летальна доза

ЛЕ – ліпофільний екстракт

ЛЕДГ – ліпофільний екстракт деревію пагорбового (горбкового)

ЛЕДП – ліпофільний екстракт деревію подового

МКЯ – методи контролю якості

п.ш. – північна широта

ПР – пектинові речовини

ПХ – паперова хроматографія

с.д. – східна довгота

ТШХ – тонкошарова хроматографія

УФ – ультрафіолетова спектроскопія

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок

Х.ч – хімічно чистий

Ч.д.а – чистий для аналізу



## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Важливим завданням сучасної фармацевтичної науки є пошук нових перспективних джерел лікарської рослинної сировини, комплексне її фармакогностичне дослідження, розробка технологій комплексної її переробки для створення нових субстанцій та лікарських засобів рослинного походження.

Для сучасної медицини та фармації важливе наукове-практичне значення мають рослини роду Деревій (*Achillea* L.) родини айстрові (*Asteraceae*), які відрізняються морфолого-анатомічною та видовою різноманітністю.

На території України зростає 25 видів даного роду, офіційним з яких є тільки один – деревій звичайний (*Achillea millefolium* L.).

Значний науковий та практичний інтерес викликають ефірноолійні види цього роду, які є морфологічно близькими до д. звичайного і при заготівлі потрапляють до сировини, як домішки. До таких видів слід віднести деревій пагорбовий (*Achillea collina* J. Becker ex Reichenb.) та деревій подовий (*Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka). Рослини широко розповсюджені в Україні, перспективні для введення в культуру. При застосуванні настоїв з трави та відварів з коренів даних видів у сучасній народній медицині як гемостатичних, гепатопротекторних, ранозагоювальних, антимікробних засобів не було виявлено токсичності та побічної дії, але ці види до сьогодні досліджені недостатньо.

Деревій пагорбовий та деревій подовий є неофіційними рослинами. Враховуючи їх розповсюдженість, можливість заготівлі, великий досвід використання в народній медицині, тривалий вегетаційний період, доцільним було здійснити фітохімічне вивчення сировини д. пагорбового та д. подового, провести порівняння з фармакопейним видом д. звичайним і запропонувати досліджувати об'єкти як альтернативу фармакопейному виду.

Таким чином, актуальним є створення лікарських засобів гепатопротекторної, антиоксидантної, кровоспинної, антибактеріальної та

ранозагоювальної дії, системне, комплексне дослідження отриманих субстанцій, встановлення класів БАР, які спричинюють фармакологічний ефект.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.**

Дисертаційна робота виконана відповідно до міжкафедральної НДР кафедр клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; управління і економіки фармації та фармацевтичної технології Запорізького державного медичного університету за темою «Фармакогностичне й екологічне дослідження перспективних видів родин флори України з метою стандартизації рослинної сировини та одержання лікарських засобів» (№ державної реєстрації 0117U006960). Дисертантом особисто проведено фармакогностичне дослідження рослинної сировини (трави, суцвіть, листя) деревію пагорбового та д. подового флори України та одержано нетоксичні ліпофільні екстракти з вираженою гепатопротекторною, антиоксидантною, ранозагоювальною, гемостатичною дією.

### **Мета і завдання дослідження**

Метою дисертаційної роботи було комплексне фармакогностичне вивчення трави деревію пагорбового та деревію подового, одержання субстанцій на їх основі, їх стандартизація та встановлення фармакологічної активності.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- проаналізувати та узагальнити дані літератури щодо ботанічних ознак, розповсюдження, хімічного складу, фармакологічної активності та застосування в медичній та фармацевтичній практиці рослин роду Деревій;
- встановити методами фітохімічного аналізу якісний склад та визначити кількісний вміст основних груп біологічно активних речовин д. пагорбового та д. подового трави;
- дослідити динаміку накопичення біологічно активних речовин у траві д. пагорбового та д. подового в залежності від місця зростання та термінів заготівлі та визначити оптимальний час сушіння сировини;
- встановити діагностичні морфолого-анатомічні ознаки д. пагорбового та д. подового трави, визначити її числові показники та технологічні параметри;

- отримати, встановити основні групи БАР та стандартизувати субстанцій д. пагорбового та д. подового трави;
- вивчити гостру токсичність одержаних субстанцій та встановити їх фармакологічну активність;
- розробити проекти методик контролю якості (МКЯ) на д. пагорбового та д. подового траву та одержані субстанції;

*Об'єкт дослідження* – комплексне фармакогностичне вивчення д. пагорбового та д. подового трави, фармакологічна активність субстанцій, одержаних з досліджуваної сировини.

*Предмет дослідження* – ідентифікація та кількісне визначення БАР, дослідження динаміки їх накопичення; визначення морфолого-анатомічних діагностичних ознак трави; стандартизація сировини, встановлення її числових показників та технологічних параметрів; отримання та стандартизація субстанцій, встановлення їх фармакологічної активності; розробка відповідних проектів МКЯ.

### **Методи дослідження**

Макроскопічні, органолептичні і мікроскопічні – опис, ідентифікація, стандартизація сировини; фізичні – розчинність, визначення втрати в масі при висушуванні, загальної золи та золи, нерозчинної у 10 % розчині кислоти хлористоводневої; фізико-хімічні – ПХ, ТШХ, ВЕРХ, ГРХ, ГРХ/МС, УФ-спектроскопія, титриметрія; технологічні – визначення об'ємної маси, питомої маси, насипної маси, пористості, порозності, вільного об'єму шару, коефіцієнта поглинання екстрагенту; фармакологічні *in vivo* та *in vitro* – дослідження гострої токсичності, гепатопротекторної, антиоксидантної, ранозагоювальної, гемостатичної, антимікробної активності; статистичну обробку одержаних результатів проведено комп'ютерною програмою Excel-7.0 (Microsoft Corp., США) та «STATISTICA® for Windows 6.0» (Stat Soft Inc., №AXXR712D833214FAN5).

### **Наукова новизна отриманих результатів**

Вперше проведено комплексне порівняльне фармакогностичне вивчення д. пагорбового та д. подового трави . Досліджено якісний склад та кількісний

вміст БАР д. пагорбового та д. подового трави та ліпофільних екстрактів.

Встановлено присутність і визначено кількісний вміст ефірної олії, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, поліфенольних сполук, вітаміна К<sub>1</sub>, полісахаридів, жирних та органічних кислот, макро- та мікроелементів.

В траві д. пагорбового та д. подового ідентифіковано: 40 компонентів ефірної олії, 14 флавоноїда, 11 гідроксикоричних кислот, 12 поліфенольних сполук, 2 вітаміна, 5 органічних кислот, 13 жирних кислот, 19 макро- та мікроелементів.

Вперше досліджено динаміку накопичення ефірної олії, суми проазуленів, вітамінів К<sub>1</sub> і С в траві д. пагорбового та д. подового в залежності від місця зростання і термінів заготівлі сировини. Встановлений оптимальний режим сушіння сировини.

Досліджено морфолого-анатомію будову д. пагорбового та д. подового трави і встановлені основні діагностичні макро- та мікроскопічні ознаки. Вперше визначено показники якості досліджуваних видів сировини згідно вимог ДФУ.

Вперше з д. пагорбового та д. подового трави одержано та стандартизовано ліпофільні екстракти. Визначена гостра токсичність та досліджена гепатопротекторна, антиоксидантна, ранозагоювальна, гемостатична та антимікробна активності.

Наукова новизна досліджень підтвержена патентом України на корисну модель № 139576 (дод. А). «Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії».

### **Практичне значення отриманих результатів.**

Досліджено та запропоновано для впровадження в медичну практику перспективні види роду Деревій флори України: д. пагорбовий та д. подовий.

Встановлено загальні та відмінні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки трави деревію пагорбового та деревію подового.

Розроблено проєкти МКЯ «Деревію пагорбового трава», «Деревію подового трава» та «Деревію пагорбового трави екстракт ліпофільний».

На основі проведених досліджень розроблено та видано

Укрмедпатентінформом МОЗ України інформаційний лист № 151-2018 (вип. 16 з проблеми «Фармація»), в якому викладено оптимальні терміни заготівлі трави *A. collina*, та інформаційний лист № 152-2018 (вип. 17 з проблеми «Фармація»), в якому вказано умови прискороеного сушіння трави *A. collina*.

Результати досліджень впроваджено у науково-дослідну роботу та навчальний процес профільних кафедр ЗВО України: кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету; кафедри фармакогнозії та кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету; кафедри якості, стандартизації та сертифікації ліків ПКСФ НФаУ; кафедри фармації Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України; кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки ДЗ «Дніпропетровська медична академія» (дод. Д.2-Д.13), кафедри хімії ПВНЗ «Київський медичний університет».

#### **Особистий внесок здобувача**

Автором особисто виконано патентно-інформаційний пошук та аналіз наукових першоджерел за темою дисертації, визначено методичні підходи до виконання експериментальних досліджень.

Автором самостійно встановлено хімічний склад та визначено кількісний вміст БАР, досліджено динаміку накопичення БАР під час вегетації та залежно від місця зростання у траві досліджуваних видів роду Деревій.

Дисертантом особисто отримано, досліджено та стандартизовано ліпофільні екстракти з д. пагорбового та д. подового трави, встановлено їх гостру токсичність та виражену гепатопротекторну, антиоксидантну, ранозагоювальну, гемостатичну активність.

Встановлено загальні та відмінні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки рослинної сировини д. пагорбового та д. подового. Визначено оптимальні терміни заготівлі та сушіння рослинної сировини досліджуваних видів.

Проведено систематизацію та статистичну обробку результатів експериментальних досліджень, оформлення їх у таблицях, рисунках, фотознімках.

Постановка мети, завдань дослідження, узагальнення та аналіз одержаних результатів проведено за участю наукового керівника. Співавторами наукових праць є науковий керівник д-р. фарм. н. професор Мазулін О. В. та науковці, з якими виконано дослідження: доцент Опрошанська Т. В., асистент Лукіна І. А., ст. викладач Мазулін Г. В., доцент Смойловська Г. П., професор Беленічев І. Ф., професор Абрамов А. В.

### **Апробація результатів дисертації.**

Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорювалися на науково-практичних конференціях: I Міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 2014); 74 Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченій дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2014» (Запоріжжя, 2014); Міжнародній науково-практичній конференції «Роль та місце медицини у забезпеченні здоров'я людини у сучасному суспільстві» (Одеса, 2014); IV Регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих учених з всеукраїнською участю «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук» (Запоріжжя, 2015); 69 Научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной медицины и фармации» (Минск, 2015); Науково-практичній конференції «Вплив науково-технічного прогресу на розвиток медичної науки та практики: реалії сьогодення» (Київ, 2015); Міжнародній науково-практичній конференції «Медична наука та практика: Актуальні питання взаємодії» (Київ, 2015); Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасна медицина: Актуальні проблеми, шляхи вирішення та перспективи розвитку» (Одеса, 2015); VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 2016); Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2016» (Запоріжжя, 2016); International research and practice conference. «Relevant tissues of modern medicine» (Lublin, 2017); International research and practice conference «Innovative

technology in medicine» (Lublin, 2017); Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченої дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2017» (Запоріжжя, 2017); Дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Инновации в медицине и фармации–2017» (Минск, 2017); International scientific conference «Advances of Science, Proceeding of articles» (Karlovyy Vary-Ukraine, Kyiv, 2018); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (Харків, 2018); VII Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2018); Сателлитной дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Фундаментальная наука в современной медицине 2018» (Минск, 2018); XXV International scientific and practical conference of young scientists and student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, 2018); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини і фармації (до 50-річчя заснування ЗДМУ)» (Запоріжжя, 2018); Наукового симпозиуму з міжнародною участю «Сучасні теоретико-практичні аспекти реалізації впровадження «Стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» у первинну ланку охорони здоров'я» (Київ, 2019); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини і фармації– 2019» (Запоріжжя, 2019).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на засіданні фахового семінару Запорізького державного медичного університету 23 червня 2021 року.

### **Публікації**

За матеріалами дисертації опубліковано 25 праць, із них: 6 статей у виданнях, включених до наукометричних баз (5 статей у наукових фахових виданнях України, 1 стаття у виданні іноземних держав), 2 статті у наукових виданнях України, 14 тез доповідей, 1 патент на корисну модель та 2 інформаційних листи.

### **Структура та обсяг дисертації**

Дисертаційна робота викладена на 247 сторінках машинописного тексту, складається з анотації, вступу, огляду літератури, 5 розділів, висновків, списку джерел літератури та 5 додатків. Обсяг основного тексту складає 159 сторінок, робота проілюстрована 39 таблицями, 52 рисунками. Список використаних джерел містить 219 найменувань, з них кирилицею – 99 та латиницею – 120.



# РОЗДІЛ 1

## СУЧАСНИЙ СТАН ДОСЛІДЖЕНЬ ВИДІВ РОДУ *ACHILLEA* L.

### (Огляд літератури)

#### 1.1 Ботанічна характеристика видів роду *Achillea* L.

Родина Айстрові (*Asteraceae*) найбільша, налічує понад 30000 видів дводольних рослин, які відносять до майже 2000 родів. Її представники поширені на всіх континентах (крім Антарктиди) і зустрічаються у різних біоценозах. Включає 12 підродин, 43 триби та 81 підтрибу. Айстрові містить дві підродини: *Asteroideae* (трубчастоквіткові – *Carduoideae* або *Turbuliflorae*) і *Lactucoideae* (язичкоквіткові – *Cichoroideae* або *Liguliflorae*). Трубчастоквіткові містить 11 триб; язичкоквіткові – лише одну велику трибу (салатні або цикорієві).

У флорі країн північної півкулі айстрові займають перше місце за числом представників: понад 3500 видів, які входять до майже 255 родів. У флорі України зустрічається 695 видів, що належать до 121 роду. Представники родини характеризуються як найбільш високоорганізовані, досконало пристосовані до запилення, запліднення та успішного розселення у біоценозах [44, 55].

До роду Деревій входить 8 основних секцій: *Millefolium*, *Filipendulnae*, *Ptarmica*, *Crithmifolia*, *Achillea*, *Bobounia*, *Artholepis*, *Santolina*. Найпотужнішою є секції *Millefolium* та *Filipendulnae*. Для секцій роду *Achillea* L. морфологічними діагностичними ознаками є форма листя, забарвлення язичкових квіток, форма обгорток кошиків, а також деякі їх кількісні параметри [55, 62, 68, 69].

До роду Деревій відносять до 140 видів, які зростають переважно у Південній півкулі, країнах Європи, Азії, Близькому Сході, Північній Африці та Північній Америці. Вони є постійними представниками у регіонах з різними типами рослинності та екологічними умовами: степові, лісостепові, лісові і високогірні [7, 62, 68, 132].

На сьогодні у флорі країн світу ідентифіковано до 45 видів, з яких в Україні зустрічаються 25 видів. Трава *A. millefolium* L. включена до Фармакопей країн Східної Європи, України, Російської Федерації та ін. [27, 65, 72, 83, 88].

Секція *Millefolium* в умовах України включає наступні види: *A. collina* J. Becker et Reichenb. – д. пагорбовий; *A. submillefolium* Klok. et Krytzka. – д. майжезвичайний; *A. millefolium* L. – д. звичайний; *A. pannonica* Sheele. – д. паннонський; *A. steposa* Klok. et Krytzka – д. степовий; *A. setacea* Waldst. et Kit. – д. щетинистий; *A. distans* Waldst. et Kit. – д. розставлений; *A. nobilis* L. – д. благородний, *A. inundata* Kondr. – д. заплавної; *A. stricta* (Koch.) Schleicher et Gremil. – д. стислий; *A. eurina* Klok. – д. чорноморський; *A. carpatica* Blocki et Dubovik. – д. карпатський [38, 68, 72].

Це багаторічні трав'янисті рослини з подовженим кореневищем та пучковою кореневою системою. Листя двічі- або тричі перисторозсічені, в контурі яйцеподібно-довгасто-ланцетні. Численні кошики зібрані у крихких або пухких складних щитках. Їх обгортка яйцеподібна або продовжено яйцеподібна, 1,5-6 мм довжиною та 1-3 мм шириною. Кількість кінцевих квіток 5, з супутніми білими, антоціановими, рожевими або пурпуровими язичками 1,5-3 мм довжиною. Види переважно зростають по луках, гірських луках в Євразії майже до Арктики, заходять до Північної Америки [3, 7, 14].

Секція *Filipendulinae* в умовах України включає такі види: *A. micrantoides* Klok. et Krytzka – д. подовий; *A. micrantha* Willd. – д. дрібноквітковий; *A. leptophylla* Vieb. – д. мяколистний; *A. birjuczensis* Klok. – д. бирючанський; *A. taurica* Vieb. – д. кримський; *A. glaberrina* Klok. – д. голий; *A. coarotata* Poir. – д. стислий, *A. ptarmica* (Bess.) Serg. – д. птармика. Майже всі види цієї секції приурочені до відкритих біоценозів, рівнинних або низько гірських, більш-менш ксерофітних [82, 89].

Це багаторічні трав'янисті рослини з пучковою кореневою системою, довгими розгалуженими кореневищами та напіврозетковими надземними пагонами. Корінь стрижневий, підземні пагони короткі. Кошики на довгих ніжках, у пухких щитках. Листя подовжено-еліптичні. Опушення розсіяне,

складається з довгих хвилястих волосків. Кошики численні на коротких квітоніжках, у пухких щитках. Кількість кінцевих квіток 5, золотисті або яскраво-жовті, напівкруглі, в 2-3 рази коротші за обгортку, округло-ниркоподібні або напівкруглі, 1-1,5 мм довжиною, до 2 мм шириною, з трьома округлими зубцями нагорі. Зустрічаються у степових і лугових угрупованнях на глинистих, кам'янистих, піщаних ґрунтах переважно на півдні та південному-сході країн Європи та Азії [72].

Перспективність фармакогностичних досліджень видів роду *Achillea* L. секцій *Millefolium* та *Filipendulnae* в Україні підтверджена захистом дисертаційних робіт вітчизняних вчених: Калошина Н.О. (1980 р.), Сербін А. Г. (1989 р.), Мозуль В. І. (1993 р.), Мазулін О. В. (1994 р.), Герасімов В. М. (2009 р.), Смойловська Г. П. (2010 р.), Кисличенко О. А. (2013 р.), Нейко О. В. (2018 р.).

У процесі еволюції види роду *Achillea* L. постійно змінюються. При цьому дуже виражена мінливість анатомічних ознак видів та потужний ареал територій зростання у ряді випадків утруднює систематику і приналежність до конкретних секцій [130, 138, 139, 141, 153].

Відомі ботаніки Івашин Д. С., Губергріц А. Я., Прокудин Ю. Н. та ін. вказують, що *A. millefolium* не є видом поширеним в Україні, а зустрічається в окремих регіонах у близькій до типової формі. Але заготівельники, не маючи достатньої інформації, збирають філогенетично споріднені види, що незначно відрізняються за зовнішніми ознаками, але зростають у певних місцях. *A. collina* росте, зазвичай, по схилах у степовій та лісостеповій зоні; *A. steposa* – у відкритих степах; *A. pannonica*, *A. submillefolium* і *A. nobilis* – поблизу річок, водойми, на вологих лугах та узбіччях доріг [38, 55].

В Україні та країнах Західної Європи як представник секції *Millefolium* (Mill.) Koch. широко розповсюдженим є деревій пагорбовий (син. д. горбковий) (*A. collina* J. Becker ex Reichenb.), syn. *A. collina* (Becker ex Rchb. f.) Heilmerl, *A. millefolium* subsp. *collina* (Becker ex Rchb.) Weiss., syn. *A. millefolium* subsp. *collina* (Becker ex Rchb. f.) Obomy, *A. millefolium* var. *collina* Becker ex Rchb.f. [9, 21, 39, 50, 162, 181].

Біологічне положення виду характеризується таким систематичним розташуванням. Домен: Еукаріоти (*Eukaryota*); Царство: Зелені рослини (*Viridiplantae*); Відділ: Вищі рослини (*Streptophyta*); Надклас: Покритонасінні (*Magnoliophyta*); Клас: Еудікоти; Підклас: Айстериди; Ряд: Айстроцвіти (*Asterales*); Родина: Айстрові (*Asteraceae*); Підродина: *Asteroideae*; Триба: *Anthemideae*; Підтриба: *Matricariinae*; Рід: Деревій (*Achillea*); Вид: деревій пагорбовий (*Achillea* Becker ex Reichenb.)

Поширення виду: східна та середня Європа, західна Азія, Іран. Це такі країни як Україна, Російська Федерація, Молдова, Австрія, Чехія, Німеччина, Угорщина, Польща, Словаччина, Швейцарія, Туреччина [83, 87, 88, 90, 129, 191].

До філогенетично близьких до нього форм слід віднести *A. millefolium* та його раси: *A. millefolium* subsp. *millefolium*, *A. millefolium* subsp. *m. var. millefolium* (Європа, Азія), *A. millefolium* subsp. *bolearis* (Арктичний регіон), *A. millefolium* subsp. *m. var. rubra* (Південні Аппалачі), *A. millefolium* subsp. *chitralensis* (Західні Гімалаї), *A. millefolium* subsp. *sudetica* (Альпи, Карпати), *A. millefolium* var. *alpicola* (Західні штати США, Аляска), *A. millefolium* var. *californica* (Каліфорнія, Південне західне узбережжя Тихого океану), *A. millefolium* var. *occidentalis* (Північна Америка), *A. millefolium* var. *pacifica* (Західне узбережжя Північної Америки) [176, 184, 191, 198, 201].

Деревій пагорбовий – це багаторічна трав'яниста рослина з повзучим кореневищем. Кореневище горизонтальне, голе або рідко опушене, з довгими підземними пагонами (столонами). Стебла прямостоячі або ледь від основи висхідні, 25-60 см висотою, прості або розгалужені, одиночні або нечисленні, тонко борозенчасті, сірувато опушені, біля основи часто червонуваті. Як і вся рослина негусто опушені коротенькими тонкими м'якими прямими або звивистими волосками. Зовнішній вигляд рослини наведений на рис. 1.1.

Листя до 11 см довжиною, 0,5-1 (2) мм шириною, двічі перисторозсічені, довгасто-ланцетні, з цілокраїм стрижнем, часточки їх яйцеподібні, верхівкові – трикутні або трикутно-ланцетні, з хрящуватим вістрям, уздовж складені і щільно притиснуті один до одного. Прикореневі та нижні стеблові листя черешкові,

розміром 6-20 x 0,7-2 см. Пластинки їх подовжені або вузько-ланцетні; середні та верхні – сидячі, лінійні або вузько ланцетні; середні та верхні – сидячі, лінійні або продовгуватолінійні, 1,5-7 см довжиною, 0,2-1 см шириною, біля основи з вушками, іноді зі скороченими гілочками із листками. Все листя тричіперисторозсічене, з обох сторін точкове, ямчасте, сірувато-зелене від опушення (рис. 1.1) [72].



Рисунок 1.1 – Морфологічні ознаки *A. collina*.

Сегменти листя в обрисі трикутні, яйцеподібні або вузькояйцеподібні 2,2-5

х 1,5-4 мм, вздовж складені. Стрижні листя 0,5-1 мм шириною, повністю цільнокраї. Кінцеві часточки трикутно – ланцетні, яйцеподібні 0,5-1,4 мм довжиною, 0,3-0,7 мм шириною (верхівкові), або ланцетні. 0,8-1,4 мм довжиною, 0,2-0,4 мм шириною (бокові). На верхівці вони голі мозолисті, відтягнуті у щетинисте вістря.

Кошики яйцеподібні або циліндричні; 3-4 мм шириною, зібрані у складні щитки 2-8 см у діаметрі; загальне квітколоже кошиків випукле до конічного; обгортки циліндричні або яйцеподібні-циліндричні, 3,3-4,2 x 1,5-2 мм; листочки обгортки жовтувато-зелені, подовжено-яйцеподібні, кілеваті з ледь помітною світло-бурою каймою або без неї, 1,4-3,2 x 0,7-1,2 мм. Язички крайових квіток ледь округлі (довжина менша від ширини або рівна їй), не ясно трьохзубчасті або заокруглені, 1,2-2,2 мм довжиною, 1,3-2,2 мм шириною. Частіше білі або блідо-рожеві до пурпурових. Сім'янки довгасто-клиноподібні, 1,3-1,7 мм довжиною, 0,5-0,8 мм шириною. Цвіте рослина з червня до жовтня. Сім'янки дозрівають у вересні-жовтні. Розмножується насінням і підземними повзучими пагонами.

За характерними зовнішніми ознаками деревій пагорбовий подібний до д. звичайного і дуже часто підлягає заготівлі одночасно з ним. Але це окремий вид, який має суттєві відмінності. Головними з них є структура листя. У деревію пагорбового воно значно вужче і двічі-перисторозсічене (у деревію звичайного – тричі-перисторозсічене). Відмінності спостерігаються і в кінцевій долі листка – подовженій і лише трохи більшій за довжину, ніж за ширину. Деревій пагорбовий у природних біоценозах має більш тривалий вегетаційний період та накопичує більше ефірної олії з високим вмістом хамазулену та інші БАР.

Росте на сухих сонячних піскових, глинистих або кам'янистих схилах, луках, пасовищах, лісових галявинах і узліссях, у штучних лісових насадженнях, старих садах, по узбіччям доріг. Добре розвивається на чорноземах і сірих лісових або лугових ґрунтах, на щербенистих субстратах кам'янистих схилів. Світлолюбний і посухостійкий, проте при тривалих посухах листя опадає, суцвіття згортається і не утворює повноцінного насіння. Стійкий до низьких температур. Переносить слабе затінення у рідколіссі і на лісових галявинах.

Росте групами і розрізнено у складі багатовидового травостою степових схилів [82, 125].

Останнім часом деревій пагорбовий та споріднені до нього види секції *Millefolium* успішно культивуються у спеціалізованих господарствах багатьох країн світу [113, 129, 210, 212].

Baszek K., Kosakowska O., Przybyl J. L. та ін. вказують на внутрішньовидову мінливість хімічного складу 20 популяцій *A. millefolium*. Щодо ознак розвитку в умовах *ex situ*. Морфологічні спостереження та збирання сировини проводили на другий рік вегетації рослин, на початку цвітіння. Досліджені популяції суттєво відрізнялися як за особливостями розвитку, так за вмістом та складом БАР. Найбільші відмінності серед популяцій притаманні свіжій масі трави виду (0,46–1,79 кг на рослину), кількості пагонів на м<sup>2</sup> (64–243) та довжини найдовшого міжвузля (42–158 мм) [169].

Великий теоретичний і практичний інтерес для вирощування в спеціалізованих господарствах з метою отримання протизапальних та ранозагоювальних лікарських засобів мають види пізнього терміну цвітіння (червень-вересень), які накопичують високі концентрації БАР. До них відноситься деревій подовий (*Achillea micrantoïdes* Klok. et Krytzka) syn. *A. biebersteinii* Afanasiev, syn. *A. arabica* Kotschy. Він філогенетично близький до виду *A. micrantha*, але при цьому, на думку Ситника К. М., Клокова М. В., Кондратюка Е. Н., види секції *Filipendulinae*, є цілком самостійними [55, 72, 88].

Біологічне положення виду характеризується такими систематичним розташуванням. Домен: Еукаріоти (*Eukaryota*); Царство: Зелені рослини (*Viridiplantae*); Відділ: Вищі рослини (*Streptophyta*); Надклас: Покритонасінні (*Magnoliophyta*); Клас: Еудікоти; Підклас: Айстериди; Ряд: Айстроцвіти (*Asterales*); Родина: Айстрові (*Asteraceae*); Підродина: *Asteroidae*; Триба: *Anthemideae*; Підтриба: *Matricariinae*; Рід: Деревій (*Achillea*); Вид: деревій подовий (*Achillea micrantoïdes* Klok. et Krytzka) [44].

Деревій подовий – це багаторічна трав'яниста рослина зі стрижневим коренем, більш-менш короткими підземними пагонами і безрозетковими



моноциклічними надземними пагонами. Стебла циліндричні, нечисленні, прямостоячі, 20-45 см висотою, прості або тільки вгорі розгалужені, сірувато-зеленого кольору. Стебла, як і листя, негусто волохато-пухнасті, опушені довгими, звивистими волосками.

Листя перисто-розсічене, у контурі довгасте або довгасто-еліптичне, сидяче, довжиною 1-17 см, шириною 0,4-2,5 см. Стрижні листя 1-1,8 мм шириною, починаючи від середини з нечисленними проміжними часточками між основними сегментами. Вони несуть проміжні часточки між основними сегментами. Листя безплідних пагонів і нижнє стеблове з черешками довжиною 1-8 см, починаючи з середини стебла з вушками з цільних або перисто-розсічених часток і з укороченими гілочками в пазухах. Сегменти листя розгалужені, не налягають один на одного, в контурі яйцеподібні, довгасті, рідше довгасто-ланцетні. Поверхня листя з обох боків покрита дворядними, багатоклітинними волосками на верхній та нижній епідермі. Усе листя (не тільки розеткове) тричіперисторозсічене. Але при цьому їх сегменти (другого та третього порядків) розташовані більш широко, ніж у ксероформних таксонів секції *A. millefolium*. Біля основи вони довші і напівохоплюють стебло, перисто-розсічені або розділені на 3-4 вузькі тупуваті лінійні або рідше ланцетні частки, що закінчуються коротким хрящуватим вістрям. Стрижень листа вузький, цілісний. На безплідних пагонах двічі перисто-розсічені, черешкові. Зовнішній вигляд рослини наведений на рис. 1.2.

Кошики численні, у негусто-складних щитках, на коротких квітоніжках у густих складних часто нерівно високих щитках, довжиною 3-4 мм, діаметром 2,5-3 мм. Загальне квітколоже від випуклого до конічного. Обгортки яйцеподібні, довжиною 3-4 мм, шириною 2-2,5 мм. Листочки обгортки тонко перепончасті, яйцеподібні, довгасто-еліптичні, рідше широко ланцетні, короткі, майже вдвічі коротші трубчастих квіток, тонкоплівчасті, прозорі. Язички крайових квіток золотисті або яскраво-жовті, напівкруглі, в 2-3 рази коротші за обгортку, округло-ниркоподібні або напівкруглі, 1-1,5 мм довжиною, до 2 мм шириною, з трьома округлими зубцями нагорі, світло-жовті. Сім'янки розміром 1 x 0,3-0,5 мм, гладкі,



клиноподібно-довгасті. На верхівці закруглені, усічені з трьома округлими нерівними зубцями, ребристі. Дозрівають у вересні-жовтні [72].



Рисунок 1.2 – Морфологічні ознаки *A. micranthoides*.

Цвіте рослина з травня до вересня. Розмножується насінням і підземними повзучими пагонами. Вид є постійним представником біоценозів південних регіонів України. Росте у степах, на пасовищах, узліссях, скелях навколо річок. Світлолюбний, посухостійкий, степовий вид, який віддає перевагу глинистим, кам'янистим, рідше піщаним ґрунтам, кам'янистим оголенням, берегам річок у

передгірних рівнинах до висоти 3000 м, степовим, лісовим і луговим угрупованням.

Поширення виду: Середня Азія, Кавказ, Передня Азія, Іран, Афганістан, Левант, Балкани, Європейська частина України і Російської Федерації, Північний Кавказ [83, 88, 90, 94].

Деревій подовий за рядом морфолого-анатомічних діагностичних ознак достовірно відрізняється від інших видів секції *Filipendulinae* (DC) Afan., які зустрічаються у біоценозах. Основними відмінними ознаками є форма листочків обгортки суцвіть, кілеватість листочків обгортки та проміжні листові сегменти, яким раніше приділялося недостатньо уваги [7, 68].

Деревій подовий та споріднені до нього види секції *Filipendulinae* (DC) Afan. успішно культивуються у багатьох країнах світу [149].

У різних країнах світу велику увагу приділяють ботанічному та фармакогностичному дослідженню, так званих, автохтонних видів роду *Achillea* L., розповсюдження яких притаманне лише для деяких окремих регіонів, та умов зростання. Але серед них присутні перспективні для культивування та подальшого застосування види [3, 14, 90, 108, 110, 115, 124].

Турецькі вчені описують два нових виду роду Деревій. Це *A. adenii* Aytaç & M. Ekici та *A. baltai* H.Duman & Aytaç sp. секції *Santolinoidea* DC. *A. adenii* росте у Бабадаї, провінції Мугла (південний захід Анатолії), *A. baltai* в Аладагларі, провінції Ніде. Найближчі до них за морфологічними діагностичними ознаками є *Achillea sintenisii* Hub.-Mor., *A. sipikorensis* Hausskn. & Bornm. та *A. armenorum* Boiss. & Hausskn. [115].

У цілому необхідно відзначити, що перспективні ефірноолійні види роду *Achillea* L. флори України: *A. collina* та *A. micrantoides* мають достатню сировинну базу, можуть успішно культивуватися у спеціалізованих господарствах. Тривалий вегетаційний період в умовах України сприяє накопичення у них БАР з вираженою фармакологічною активністю.

## **1.2 Хімічний склад видів роду *Achillea* L.**

На сьогодні хімічний склад переважної більшості добре відомих видів роду *Achillea* L. досліджений недостатньо. Для представників цього роду притаманна мінливість хімічного складу БАР у залежності від умов зростання, що в значній мірі обумовлює широкий спектр їх лікувальних властивостей. У деяких видів не вивчений хімічний склад БАР під час вегетації. Є лише деякі дослідження, що присвячені, головним чином, хімічному складу: ефірної олії, фенольним сполукам, флавоноїдам, гідроксикоричним, жирним кислотам та амінокислотам [8, 27, 32, 36, 75, 172].

Найбільша кількість виконаних робіт науковців світу останнім часом присвячена дослідженню *A. millefolium* [30, 37-39, 50, 57, 105, 106, 116, 125], *A. nobilis* (д. благородний) [123, 166, 167, 191], *A. santolina* (д. вузьколистий) [103, 113, 149, 157, 166], *A. biebersteinii* (д. Біберштейна, син. подовий) [108, 113, 119, 124, 149, 157], *A. eriophora* (д. волохатий) [127, 136, 149, 191], *A. kotschyi* Boiss. subsp. *kotschyi* (д. Кочі) [132], *A. filipendulina* (д. таволговий) [132, 148], *A. distans* (д. розсунутий) [135, 137, 182] *A. fragrantissima* (Forssk.) (д. ароматніший) [120], *A. teretifolia* (Willd.) (д. вальковатолистний) [123].

Найбільша кількість досліджень присвячена вивченню д. звичайного та його рас. Вегетаційний період даного виду відносно нетривалий (травень-кінець липня). При цьому він накопичує відносно невисокій вміст ефірної олії (0,1-0,56 %). Вміст ефірної олії залежить від місця і умов зростання та термін заготівлі рослинної сировини [17, 126, 129, 212].

Найбільша кількість дослідників відмічають наявність у траві *A. millefolium* ефірної олії, терпеноїдів, алкалоїду ахілеїну (0,05 %), дубильних речовин (близько 2,9 %), смол, амінокислот, органічних кислот (мурашиної, ацетатної, ізовалеріанової), флавоноїдів, поліфенольних сполук, каротину, вітамінів К і С, жирної олії – 1,8 %, гірких речовин, органічних спиртів (20 %), макро- і мікроелементів: К, Са, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, Мо, Cr, Al, Se, Ni, Sr, Pb, I [8, 30, 38, 50, 51, 58, 172].

*Вивчення ефірної олії.*

Російські науковці повідомляють про накопичення у траві *A. millefolium* ефірної олії, що складається з терпенів ментанового ряду (лимонен 1,5-4 %,  $\beta$ -філандрен 7-11 %, евкалиптол 3-77 %), біциклічних монотерпенів (пінени 7-15 %, камфен 1,5 %, 3-карен до 1,5 %, туйон 2,5 %, борнеол 2,5 %), біциклічних сесквітерпенів (кадинени – 3-4 %, бісаболени 9-12 %, каріофілен 8-10 %). Вміст хамазулену варіював у залежності від типу ґрунту при заготівлі ЛРС від 0,4 % до 41 % [21].

Кисличенко О. А. та ін. у публікаціях, присвячених дослідженням трави *A. millefolium*, заготовленої у Харківській обл., визначено вміст ефірної олії: у траві – 0,35 %, листі – 0,40 %, квітках – 0,45 %, стеблах – 0,03 %. Основними компонентами ефірної олії, згідно методу ГРХ-МС, були: 1,8-цинеол, камфора, борнеол, терпінен-4-ол,  $\alpha$ -терпінеол та каріофіленоксид. У траві рослини виявлено 69 речовин, 49 з яких ідентифіковано. Найбільший вміст терпеноїдів спостерігався в квітках та листі [39].

Смойловська Г. П. з співав. методом ГРХ-МС дослідили компонентний склад ефірної олії з трави представників секції *Millefolium*: *A. setacea* та *A. submillefolium*. Накопичення речовини у траві деревію щетинистого складало до  $2,5 \pm 0,03$  %. Було ідентифіковано 63 сполуки. У найбільших концентраціях були: 1,8-цинеол, артемізія-кетон, борнеол, терпінен-4-ол, фарнезол,  $\beta$ -евдесмол,  $\alpha$ -евдесмол. В ефірній олії трави д. майжезвичайного ідентифіковано та визначено кількісний вміст 57 речовин. У найбільших концентраціях виявлено: 1,8-цинеол, терпінен-4-ол, камфора,  $\alpha$ -терпінеол, сабінілацетат, тимол, каріофілен, гермакрен D, неролідол, каріофіленоксид, 6-(1,5-диметил-4-гексеніл)-3-метил-2-циклогексен-1-он, хамазулен,  $\beta$ -евдесмол [78].

Тржецинським С. Д., Мозуль В. І., Жерновою Т.С. та ін методом ГРХ-МС у складі ефірної олії з трави деревію заплавного (*A. inundata*) встановлено накопичення сесквітерпеноїдів: хамазулену (23,23 %), каріофіленоксиду (15,83 %), каріофілену (6,03 %). В ефірній олії з трави деревію звичайного у найбільших кількостях виявлено монотерпеноїди:  $\beta$ -пінен (25,35 %) та сабінен (13,63 %) [89].

Вчені з Ірану опублікували результати дослідження компонентного складу ефірної олії з суцвіть та листя *A. millefolium*. У суцвіттях переважали: борнеол (16,51 %), 1,8-цинеол (9,80 %), камфора (8,37 %),  $\beta$ -пінен (5,31 %),  $\alpha$ -пінен (4,64 %). У складі ефірної олії з листя виду переважали: борнеол (12,32 %), 1,8-цинеол (10,51 %),  $\beta$ -пінен (9,33 %) та  $\alpha$ -пінен (8,82 %) [107].

Abdossi V., Kazemi M. методом ГРХ-МС встановлено наявність до 36,35 % борнеолу у складі ефірної олії з трави *A. millefolium* флори Ірану. Він є, за думкою авторів, основним терпеноїдом, який визначає її біологічну активність [102].

Al-Snafi A. E. досліджено накопичення та хімічний склад ефірної олії трави *A. santolina* L (д. вузьколистий). Її вміст у траві становив 0,11-0,20 % у десяти генотипах. Загальна кількість летких компонентів складала до 54. Основними з них були: 1,8-цинеол, парменол, ароматилацетат та терпен-4-ол. Встановлено також наявність метоксильованих флавонів та сесквітерпенових лактонів [109].

Польські вчені вказують на внутрішньовидову мінливість хімічного складу 20 популяцій *A. millefolium*. Загальний вміст ефірної олії коливався від 0,10 % до 1,00 %. Серед 24 визначених сполук переважали:  $\beta$ -пінен, 1,8-цинеол, терпін-4-ол, неролідол та хамазулен. Було виділено три хемотипи:  $\beta$ -пінен,  $\beta$ -пінен + хамазулен та 1,8-цинеол. Вміст дубильних речовин коливався від 0,38 % до 0,90 %. Ідентифіковано 4 флавоноїди, з яких апігенін 7-глюкозид був присутній у найбільшій кількості (від 9,87 до 475,21 мг  $\times$  100 г<sup>-1</sup>). Найбільші відмінності між популяціями притаманні вмісту лютеоліну-3',7-диглюкозиду. Серед фенольних кислот було виявлено 3 сполуки (похідні кофейної кислоти), з яких домінуючою була розмаринова (75,64–660,54 мг  $\times$  100 г<sup>-1</sup>) [170].

Benedek B., Rothwangi–Wiltschnigg K., Rozema E. та ін. досліджено вміст БАР у 40 комерційних зразках *A. millefolium* s. l. Основними БАР з вираженою активністю були: ефірна олія, проазулені та ін. сесквітерпенові лактони, хлорогенова кислота та флавоноїди. Ефірні олії та проазулені аналізували згідно до вимог Європейської Фармакопеї, хлорогенову кислоту та флавоноїди – методом твердофазної екстракції (SPE)-HPLC. При цьому лише їх 50 % відповідали вимогам Європейської Фармакопеї [215].

Вчені Туреччини методом ГХ-МС дослідили хімічний склад ефірної олії з трави *A. teretifolia* Willd. (д. вальковатолістний) та *A. nobilis* subsp. *neilreichii* (Kerner) Formanek. (д. благородний). Основними компонентами ефірної олії *Achillea teretifolia* Willd. були: 1,8-цинеол (34 %), камфора (11 %), терпінен-4-ол (8 %) та  $\alpha$ -туйон (5 %). Для ефірної олії *A. teretifolia* спостерігали накопичення основних сполук: ароматилацетат (32 %), ароменол (24 %) та *n*-еудесмол (8 %) [128].

Дослідники з Ірану опублікували матеріали про накопичення ефірної олії та її компонентний склад у траві дикорослого ендемічного виду *A. eriophora* DC. Методом ГХ-МС встановлено наявність до 46 сполук (до 99,58 %). Основними з яких були: 1,8-цинеол (16,77 %), борнеол (16,16 %),  $\beta$ -феландрен (15,28 %), камфора (9,77 %),  $\alpha$ -пінен (4,36 %),  $\delta$ -3-карен (3,98 %),  $\beta$ -пінен (3,90 %) [132].

Їх колеги Kazemi M., Rostami H. вказують на наявність 30 сполук у ефірній олії з трави *A. wilhelmsii*. Основними з яких були:  $\alpha$ -туен (6,11 %),  $\alpha$ -пінен (5,11 %), сабінен (5,23 %), *n*-цимен (7 %), 1,8-цинеол (6 %), ліналоол (10 %), камфора (8,43 %), тимол (18,98 %) та карвакрол (20,13 %) [178].

Науковцями з Турції Kordali S., Sakir A., Aksin T.A. та ін. методом ГХ-МС визначено склад ефірної олії суцвіть *A. biebersteinii*, *A. gypsicola*. Основними компонентами були: камфора (40,17-23,56 %), 1,8-цинеол (22,01-38,09 %), піперитон (11,29-0,37 %), борнеол (9,50-5,88 %) та  $\alpha$ -терпінєол (1,56-5,15 %). Ліпофільні фракції з суцвіть *A. gypsicola*. та *A. biebersteinii* містили, в основному, камфору (37,78-27,88 %), 1,8-цинеол (13,43-24,78 %), піперитон (15,57 %), *n*-ейкозан (1,61-9,68 %), *n*-генеїкозан (2,56-9,55 %), *n*-трикозан (3,46-10,04 %), лінолеву кислоту (6,19-3,17 %) та борнеол (5,66-5,58 %) відповідно. Ефірна олія і ліпофільні фракції характеризувались відносно високим вмістом оксигенованих монотерпенів. Ліпофільні фракції були відносно багаті на *n*-алкани, жирні кислоти та складні естери жирних кислот [112].

Raal A., Orav A., Arak E. досліджено хімічний склад ефірної олії 12 комерційних та 2 дикорослих зразків трави *A. millefolium* з білими та рожевими квітками. Аналізували хемотиipi: хамазулен+борнілацетат; хамазулен+ $\beta$ -пінен;

+ (E)- $\beta$ -каріофілен, сабінен+1,8-цинеол, пінен+ $\alpha$ -терпініл ацетат. Речовини були одержані методом гідродистиляції зі зразків, отриманих з Угорщини, Греції, Молдови, Латвії, Литви, Німеччини, Франції, Бельгії, Російської Федерації, США, Іспанії та Італії. Вміст ефірної олії складав від 0,11 % до 1,03 %. Встановлено наявність 102 сполук. Спостерігали найбільший вміст таких компонентів: хамазулену (0,8-44,3 %), пінену (tr– 22,3 %), сабінену (0-16,5 %), борнілацетату (tr–15,8 %), (E)- $\beta$ -каріофілену (2,5-14,1 %), (E)-неролідолу (tr–9,6 %), 1,8-цинеолу (tr-9,6 %), гермакрену D (0,2-7,8 %). Вміст хамазулену у різних зразках суттєво відрізнявся. Зразки ефірної олії з Естонії накопичували монотерпеноїди та хамазулен. Вони відповідали вимогам Європейської фармакопеї [180].

Іранські вчені отримали дані складу ефірної олії з 19 рас 6 видів роду *Achillea* L. культивованих у біоценозах 10 провінцій. Вихід речовини з листків встановив від 0,1 % до 2,7 %. Встановлено наявність 94 сполук з 19 рас 6 видів: *A. millefolium*, *A. filipendulina*, *A. tenuifolia*, *A. santolina*, *A. biebersteinii* та *A. eriophora*. Основними складовими листя у досліджуваних генотипах були: гермакрен-D, біциклогермакрен, камфора, борнеол, 1,8-цинеол, спатуленол та борнілацетат. Відповідно до основних сполук, чотири хемотипи були визначені як: (I) спатуленол (1,64-34,31 %) + камфора (0,2-15,61 %); (II) гермакрен-D (18,78-23,93 %) + борнеол (7,93-8,26 %) + борнілацетат (11,56-14,66 %); (III) гермакрен-D (13,28-36,28 %) + біциклогермакрен (5,93-8,4 %) + 1,8-цинеол (15,26-19,41 %) + камфора (14,95-23,32 %); (IV) борнеол + камфора (52,04-63,27 %); (V) гермакрен-D (45,86-69,64 %). Встановлено взаємозв'язок хемотипів із типом ґрунту та кліматичними умовами регіонів, де були зібрані рослини, як ймовірні причини значних коливань компонентів ефірної олії [156].

Дослідження іранських вчених вказують на компонентний склад ефірної олії з суцвіть та листя 13 видів роду *Achillea* L. Було досліджено розповсюджені та автохтонні види: *A. eriophora* DC., *A. talagonica* Boiss., *A. verticularis* Trin., *A. tenuifolia* LAM, *A. albicualis* C.A. Mey, *A. aucheri* Boiss., *A. kellalensis* Boiss., *A. pachycephala* Rech. f., *A. oxyodonta* Boiss., *A. biebersteinii* Afan., *A. Millefolium*, *A. nobilis*, *A. wilhelmsii* C. Koch. При дослідженні ефірної олії з суцвіть та листя

*A. biebersteinii* Afan. переважаючими компонентами були: аскарідол (37 %), піперітон (17 %) та камфора (12 %); у складі ефірної олії з стебел та листя – камфора (38,1 %), борнеол (22,6 %), 1,8-цинеол (13,5 %). У суцвіттях переважали камфора (36,3 %) та 1,8-цинеол (22,3 %). Під час цвітіння переважаючими компонентами були:  $\alpha$ -терпінен (41,42 %), 2-карен (13,96 %),  $n$ -цимен (13,41 %), 1,8-цинеол (8,91 %).

При дослідженні ефірної олії *A. millefolium* встановлено накопичення еукаліптолу, камфори,  $\alpha$ -терпінеолу,  $\beta$ -пінену та борнеолу. Досліджувані іранські види перспективні за вмістом ефірної олії, монотерпеноїдів та сесквітерпеноїдів [198].

Radusiene J., Gudaitytė O., Venetis R. методом ГХ та ГХ-МС встановлено накопичення окислених монотерпенів у складі ефірної олії з суцвіть та листя дев'яти дикорослих та культивованих зразків *A. cartilaginea* Ledeb. et Rchb. (д. хрящуватий). Спостерігали накопичення:  $\beta$ -сескіфеландрену, сабінолу + хризантенону та *цис*-хризантенолу. Склад етанольних витягів із суцвіть, листя та стебел було визначено методом ВЕРХ. У суцвіттях встановлено накопичення фенольних сполук: хлорогенової кислоти, лютеолін-7-О-глюкозиду, рутину, апігенін-7-О-глюкозиду, лютеоліну та апігеніну. У суцвіттях накопичувалася більша кількість лютеолін-7-О-глюкозиду, апігенін-7-О-глюкозиду, лютеоліну та апігеніну, тоді як у листках – хлорогенової кислоти та рутину [187].

Іранські науковці повідомляють про ГХ-МС дослідження складу ефірної олії трави *A. millefolium* на різних стадіях її заготівлі. Встановлено наявність 57 речовин. У складі зразків переважали нормальні алкани на кожній з трьох стадій, відповідно: 46,8 %, 42,1 % та 32,4 % від загального вмісту компонентів. При цьому нормальний алкан-нонадекан складав найбільший вміст на кожній стадії, відповідно: 30,5 %, 27,35 % та 18,9 %. До цвітіння спостерігали накопичення хенейкозану. Під час цвітіння переважав 1,8-цинеол [205].

Falconieri D., Piras A., Porsedda S. та ін. досліджено ефірну олію, яку одержали суперкритичним екстрагуванням CO<sub>2</sub> (SFE) з трави *A. millefolium*, заготовленої на узбережжі Португалії. Використовували методи ГХ-FID та ГХ-



МС. У рідких екстрактах, одержаних італійськими вченими, містяться  $\alpha$ -асарон (25,6 % та 33,3 %),  $\beta$ -бісаболен (27,3 % та 16,6 %),  $\alpha$ -пінен (10,0 % та 17,0 %). Основними компонентами екстрактів, одержаних португальськими вченими, були: транс-туйон (31,4 % та 29,0 %), транс-хризантеніл ацетат (19,8 % та 15,8 %) та  $\beta$ -пінен (1,2 % та 11,1 %) [128].

Вчені з Румунії дослідили водно-етанольні екстракти (1:1) та ефірну олію трави *A. millefolium*. Методом ГХ-МС ідентифіковано 82 сполуки у ефірній олії та 41 в екстракті. Основними компонентами були:  $\alpha$ -пінен, сабінен,  $\beta$ -феландрен, 1,8-цинеол,  $\gamma$ -терпінеол, камфора, ізоборнеол, тимол, карвакрол, евгенол, каріофілен [171].

Науковці з Індії повідомляють про результати дослідження методом ГХ-МС накопичення основних компонентів ефірної олії у траві *A. Wilhelmsii* C. Koch. залежно від впливу навколишнього середовища. Хімічний склад варіював, але основними компонентами були: 1,8-цинеол, ліналоол, Е-неролідол, каріофілену оксид,  $\alpha$ -пінен,  $\alpha$ -терпінеол, тимол, терпінен-4-ол, камфора та *n*-цимен. Встановлено, що висота місця заготівлі над рівнем моря впливає на накопичення ефірної олії у траві *A. Wilhelmsii* C. Koch. [212].

Відносно невелика кількість досліджень присвячена *A. collina* та близьких до нього рас. Результати досліджень учених з Сербії вказують на компонентний склад ефірної олії трави *A. collina* та *A. rannonica*. У ефірній олії трави *A. collina* ідентифіковано:  $\alpha$ -туйон,  $\alpha$ -пінен,  $\beta$ -пінен,  $\alpha$ -терпінен,  $\gamma$ -терпінен, 1,8-цинеол, ліналоол, камфору, терпінен-4-ол, борніл ацетат, лавандуліл ацетат, Е-каріофілен,  $\alpha$ -гумулен, гермакрен D, каріофілену оксид, хамазулен. У її складі переважали:  $\beta$ -пінен (22,5 %), 1,8-цинеол (11,4 %), Е-каріофілен (14,9 %), гермакрен D (11,1 %), хамазулен (19,4 %). У ефірній олії трави *A. rannonica* ідентифіковано:  $\alpha$ -пінен, камфен, сабінен,  $\beta$ -пінен,  $\alpha$ -пінен,  $\gamma$ -терпінен, 1,8-цинеол, ліналоол, камфору, борнеол, терпінен-4-ол, 1- $\alpha$ -терпінеол, піперітон, Е-хризантеніл ацетат, Z-хризантеніл ацетат, гермакрен D. При цьому переважали:  $\alpha$ -пінен (2,0 %), камфен (2,0 %), сабінен (2,0 %),  $\beta$ -пінен (22,5 %),  $\alpha$ -терпінен (2,0 %), 1,8-цинеол (11,4 %), *Artemisia* кетон (2,0 %), *Artemisia* спирт (2,0 %), ліналоол (2,0 %),

камфора (2,0 %), борнеол (2,0 %), терпінен-4-ол (2,0 %), 1- $\alpha$ -терпінеол (2,0 %), піперітон (2,0 %), Е-хризантеніл ацетат (2,0 %), Z-хризантеніл ацетат (2,0 %), гермакрен D (2,0 %) [132].

Турецькі науковці методом ГХ-МС дослідили леткі сполуки одинадцяти видів роду *Achillea* L.: *A. biebersteinii*, *A. coarctata*, *A. hamzaoglui*, *A. kotschy* subsp. *kotschy*, *A. lycanica*, *A. millefolium* subsp. *millefolium*, *A. schischkinii*, *A. setacea*, *A. sintenisii*, *A. vermicularis*, *A. wilhelmsii* subsp. *wilhelmsii*. Встановлено що, основними компонентами даних видів є: 1,8-цинеол, п-цимен, вірідифлорол, нанокозан,  $\alpha$ -бісаболон, каріофілену оксид,  $\alpha$ -бісаболону оксид А,  $\beta$ -еудесмол, 15-гексадеканолід та камфора. Аналіз основних хімічних компонентів на основі тридцяти сполук показав три видові групи та підгрупу, де кожна група являла собою окремий хемотип [124].

#### Вивчення поліфенольних сполук.

Agar O. T., Dikmen M., Ozturk N. та ін. досліджено накопичення поліфенольних сполук та загальний вміст фенолів у траві *A. coarctata* Poir., *A. kotschy* Boiss. subsp. *kotschy* та *A. lycanica* Boiss. & Heldr. флори Туреччини. Методом ТХ-МС/МС встановлено найбільше накопичення у траві *A. kotschy* Boiss. subsp. *kotschy*: хлорогенової кислоти, гіперозиду, апігеніну, гесперидину, рутину, кемпферолу та лютеоліну (2890,6, 987,3, 797,0, 422,5, 188,1, 159,4 та 121,2 мг/г екстракту відповідно) [135].

Вченими з Турції проведено порівняльне дослідження загального вмісту фенольних сполук у екстрактах з трави *A. nobilis* subsp. *sipylea* (д. благородного). Встановлено що загальний вміст фенольних сполук був найвищий у настою, одержаному з трави, та складав до  $139,0 \pm 2,78$  мг GAE на г, у відварі – до  $137,0 \pm 6,09$  мг GAE на г [101].

Науковці з Іорданії методом ВЕРХ та ВЕРХ-МС у траві *Achillea fragrantissima* (Forssk.) (д. найароматнішого), ідентифікували у водно-етанольному екстракті 7 фенольних сполук та 4 сполук у водному екстракті. При цьому кверцетин 3- $\beta$ -D-глюкозид був переважаючим компонентом у складі обох екстрактів [123].

Georgieva L., Gadjalova A., Mihaylova D. дослідили наявність фенольних кислот, флавоноїдних глікозидів та агліконів у траві *A. millefolium*, заготовленій у Болгарії. Встановлено накопичення фенольних кислот: галової, 3,4-гідроксибензойної, 2-гідроксибензойної, хлорогенової, ванілінової, кофейної, бузкової, *n*-кумарової, ферулової, синапінової. З флавоноїдних сполук у відварах з трави було ідентифіковано та визначено кількісний вміст: мірицетину, гесперидину, кверцетину, лютеоліну, кемпферолу, апігеніну, рутину, гіперозиду [99].

Eghdami A., Sadeghi F. повідомляють про наявність поліфенольних сполук і флавоноїдів похідних флавону, флавонову, флавонону, ізофлавонону та ізофлаванону у метанольних та водних екстрактах з трави *A. millefolium* флори Туреччини [146].

Науковці із Сербії (Jokic N., Topalic-Trivunovic L., Rodic-Grabovac B.) повідомляють про наявність у траві *A. collina*, *A. millefolium*, та *A. nobilis* флавоноїдів: апігеніну, лютеоліну, кверцетину та їх глікозидів. Серед найбільш поширених флавоноїдних гетерозидів виявлено та встановлено наявність моноглікозидів (переважно О-глікозиди, С-глікозиди та О-глюкуроніди), диглікозидів (О-диглікозиди, С-диглікозиди, О-рутинозиди) [170].

Trumbeckaite S., Venetis R., L. Bumblauskiene L. та ін. методом ВЕРХ встановили кількісний вміст фенольних сполук у траві *A. millefolium* s.l. флори Литви [143].

#### *Визначення жирних кислот та амінокислотного складу.*

Кисличенко О. А. та співавт. дослідили амінокислотний та моноцукровий склад квіток *A. millefolium*. Ідентифіковано 18 вільних та 17 зв'язаних амінокислот, серед яких є такі незаміні: треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, гістидин, лізин і аргінін; 3 моноцукри: глюкоза, рамноза та арабіноза [38].

Мозуль В. І. із співавт. встановлено амінокислотний склад трави д.благородного (*A. nobilis*), д. заплавного (*A. inundata*) та д. блідо-жовтого (*A. ochroleuca*). Визначено наявність 17 вільних та зв'язаних амінокислот у складі

білка, 7 з яких (лейцин, ізолейцин, фенілаланін, метіонін, лізин, гістидин, валін) є незамінними. Найбільший вміст суми амінокислот встановлено у траві деревію блідо-жовтого ( $12,32 \pm 0,24$  %); відповідно у траві д. благородного ( $11,73 \pm 0,75$  %) та у д. заплавного ( $9,79 \pm 0,26$  %) [49].

Тржецинським С. Д., Фурсою М. С., Денисенко О. М. та ін. методом ГХ-МС визначено наявність та вміст 14 жирних і 19 органічних кислот у траві д. стислого (*A. stricta*). Серед жирних кислот найбільше накопичення притаманне для ліноленової, пальмітинової, тетракозанової, олеїнової та лінолевої кислот. У складі органічних кислот домінували леулінова, бурштинова, яблучна, лимонна, *n*-оксикумарова та маленова [89].

Турецькі вчені вивчали хімічний склад дикорослих та культивованих зразків *A. millefolium* методом ВЕРХ, мас-спектрометрії та ААС. Було встановлено накопичення неорганічних елементів, вільних цукрів, органічних та жирних кислот, токоферолів. Хімічні профілі ефірних олій дикорослих та культивованих зразків, їх метанольні екстракти, відрізнялись кількісним вмістом. Культивовані зразки мали більший вміст жирів та насичених жирних кислот, білків, золи, цукрів та флавоноїдів. У дикорослих зразках встановлено підвищений вміст вуглеводів, органічних кислот, ненасичених жирних кислот, токоферолів та фенольних кислот [126].

Montsko G., Boros B., Takatsy A. та ін. повідомляють про наявність у складі трави *A. millefolium* сесквітерпенових лактонів, підтверджених даними ТШХ з використанням непористих звичайних стаціонарних фаз [194].

Проте слід зазначити, що в цілому хімічний склад перспективних ефірноолійних видів роду *Achillea* L.: *A. collina*. та *A. micranthoides* до нашого часу є маловивченим. Обмежені дані про накопичення під час вегетації ефірної олії, азуленів та проазуленів у її складі, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, дубильних речовин, амінокислот, макро- та мікроелементів, вітамінів, вуглеводів.

### **1.3 Застосування видів роду *Achillea* L. у медичній практиці**

Види роду *Achillea* L. є одними з найпопулярніших рослин народної медицини, які застосовують як зовнішній засіб у формі полоскань, промивань і компресів для лікування інфікованих ран, запальних дерматозів, трофічних виразок, хронічному фурункульозі, термічних, хімічних, сонячних і радіаційних опіках. Ванни з відваром деревію призначають при корості та лускатому лишаї, відваром квіток вмиваються для усунення вугрів. Використовують при запальних захворюваннях ротової порожнини, вуха [51, 72, 83, 95].

Внутрішньо використовують настій і відвар суцвіть та трави рослини (1:10) як засіб, що регулює обмін речовин, при запамороченні, нудоті, головному болі, безсонні, істерії, артритях, невралгіях, лихоманці, неврастенії. Він також покращує травлення, нормалізує секреторно–моторні процеси, виявляє виражену протизапальну, спазмолітичну, холеретичну, гіпотензивну, діуретичну дію. При цьому також спостерігається зменшення утворення каменів у нирках, цитотоксична дія на новоутворення [15, 28, 29, 31].

У народній медицині настої та відвари (1:10) з рослинної сировини видів роду *Achillea* L. широко застосовують для прискорення загоєння ран, зупинки кровотеч різної етіології, як протизапальні засоби. При цьому вони тонізують мускулатуру внутрішніх органів, підвищують процес згортання крові та секреції шлункового соку. В гінекології ефективні при лікуванні фіброміоми матки, запальних процесів яєчників і слизової піхви, підвищення рівня лактації під час годування. Виражену заспокійливу дію встановлено при лікуванні неврастенії, істерії, гіпертонії та безсоння. Антимікробні і протизапальні властивості притаманні засобам з рослинної сировини видів роду *Achillea* L. при лікуванні грипу, бронхітів, бронхіальної астми, ревматизму, туберкульозу легень і лімфатичних вузлів, захворювань шкіри. Вони виявляють виражені жарознижувальні, анагетичні та протизапальні властивості [41, 44, 57, 58, 76, 97].

Сучасна народна медицина використовує екстракти з рослинної сировини видів роду *Achillea* L. для лікування різного роду астенічних станів, неврозів та істерії, гіпертонічної хвороби, атеросклерозу, грипу, гострих респіраторно–

вірусних інфекцій у дітей, при хронічному гаймориті, гострих бронхітах, бронхіальній астмі [82].

Для великої кількості видів секцій *Millefolium* та *Filipendulnae*, насамперед, деревію пагорбового та д. подового під час вегетаційного періоду притаманне накопичення ефірної олії та сесквітерпеноїдів похідних азулену у її складі. Найбільш відомий хамазулен (1,4-диметил-7-етилазулен) та близькі до нього за структурою сполуки, мають велику цінність для сучасної медицини. Вони виявляють виражену протиалергічну, гіпотензивну, протизапальну, спазмолітичну дію та застосовуються в медицині для лікування опіків, променевих і трофічних виразок, рентгенівських опіків та дерматитів, ревматизму, гастритів, спастичного коліту, вагінітів, уретритів, циститів, гінгивітів, стоматитів тощо. На відміну від антибіотиків, дані сполуки не подразнюють, а сприятливо впливають на регенерацію та епітелізацію тканин сечового міхура та мозку. Сполука активує ретикулоендотеліальну систему і фагоцитарні функції. Навіть у мінімальних концентраціях стимулює мітоз клітин, стабілізує біологічні мембрани лімфоцитів, інгібує проліферативну реакцію лімфоцитів на мутагени і специфічні антигени, не зменшуючи при цьому життєздатності клітин. У експериментах на тваринах значно подовжує термін виживання шкірного алотрансплантанту (активно пригніблює реакцію клітинно-опосередкованої гіперчутливості) [82, 83, 87, 90, 95].

Для трави та суцвіть видів роду *Achillea L.* загально притаманним є накопичення під час вегетації фенольних сполук. Відомо, що для фенольних та поліфенольних сполук притаманна антиоксидантна, антибактеріальна, цитотоксична та нейротоксична дія. Це найбільш розповсюджені вторинні метаболіти рослин, які виявляють низьку токсичність, підвищують резистентність організму людини. У видах роду *Achillea L.* присутні фенольні кислоти, флавоноїди та поліфеноли. Фенольні кислоти поділяють на два класи: похідні бензойної (гідроксибензойні кислоти) та коричної кислоти (гідроксикоричні кислоти). До гідроксикоричних кислот належать кофейна та її похідне хлорогенова (5-О-кофеїлхіна), що мають антиоксидантну, жовчогінну,

сечогінну, капілорозміцнювальну, протизапальну, антибактеріальну та антивірусну дію. Хлорогенова кислота виявляє виражені лікувальні властивості при метаболічному синдромі, протиліпідемичну, протидіабетичну та гіпотензивну дію. Виявляє антимікробну активність у відношенні до бактерій, дріжджів, пліснявих грибків, вірусів та амеби. Сполука відома своєю антиоксидантною активністю, особливо у процесі окислення ліпідів та пребіотичною дією. Ферулова (4-гідрокси-3-метоксицинамічна) кислота запобігає розвитку ішемічної хвороби серця, знижує рівень холестерину, підвищує життєдіяльність сперматозоїдів. *n*-Кумарова кислота та її ізомери (*o*-кумарова, *m*-кумарова і *o*-кумарова (4-гідроксикорична)) мають виражені антиоксидантні властивості, запобігають утворенню канцерогенів. Валінінова кислота (4-гідрокси-3-метоксибензойна) виявляє гепатопротекторну дію, пригнічує розвиток фіброзу печінки. Ізованілінова кислота (3-гідрокси-4-метоксибензойна) виявляє високу антибактеріальну та антиоксидантну активність [68,69,83, 156, 162].

Флавоноїди (похідні бензо- $\gamma$ -пірону) зумовлюють протизапальну, сенсibiliзуючу, протипухлинну, радіозахисну дію. Відновлені похідні флаваноїдів (катехіни) виявляють антиканцерогенну активність, підвищують ефективність рентгенівського опромінення при лікуванні пухлин, підсилюють опірність організму до іонізуючого випромінювання. У сучасній фітотерапії препаратами з видів роду *Achillea* L. лікують запальні захворювання внутрішніх органів. Відома їх захисна роль проти вільних радикалів за рахунок накопичення поліфенолів, флавоноїдів та стеринів [6, 11, 15, 68, 87, 99, 100, 101, 103].

Вітамін  $K_1$  – це жиророзчинна сполука, яка синтезується зеленими рослинами та бактеріями й виявляє протигеморагічну дію. Добова потреба у вітаміні  $K$  для дорослої людини складає до 80 мкг. Однак, вона суттєво збільшується при гепатитах, цирозі печінки, жовчнокам'яній хворобі, захворюваннях кишечника, кровотечах, тривалому застосуванні антибіотиків та сульфаніламідних препаратів. При його недостатчі спостерігаються ламкість капілярів та різноманітні кровотечі. У сучасній медицині препарати групи вітаміну  $K_1$  застосовують при лікуванні травм та поранень, опіків, остеопорозу,

виразковій та променевої хвороби, геморагічних діатезів, гепатиту, різноманітних ускладнень вагітності перед пологами, зупинки сильних кровотеч, запобіганню смерті немовлят [30, 34, 191].

Saeidnia S., Gohari A., N. Mokhber-Dezfuli N. та ін. вказують про доцільність застосування лікарських засобів з трави видів *Achillea* L. для зупинки кровотеч, лікування ран, головного болю, запалень, болів, спазмів, метеоризму, диспепсії. Антиоксидантна та протирадикальна активність екстрактів з трави видів деревію була найбільш притаманна для рослин, які накопичують фенольні та поліфенольні сполуки. Найбільш перспективними були визначені *A. collina*, *A. millefolium* та *A. santolina*. Виражена протимікробна дія ефірної олії притаманна для *A. biebersteinii* Afan. Для ефірної олії з трави *A. collina* була встановлена виражена імуностимулювальна активність [113].

Науковці з Сербії дослідили антиоксидантну та протимікробну активність ефірної олії з трави *A. collina* та *A. rannonica*. Антиоксидантну активність оцінювали як здатність до поглинання вільних радикалів 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу (DPPH) разом із ефектом на перекисне окислення ліпідів (LP). Ефірна олія обох видів виявляла антиоксидантну активність, але більш виражену спостерігали у *Achillea collina*. Обидва види мали виражену протимікробну активність по відношенню до: *E. coli* ATCC 25922, *Staph. aureus* G-MS, *Staph. aureus* ( $\beta$ -haemolytical) G, *Str. pneumoniae* G, *Str. viridians* G, *Str. pyogenes* G, *Str. agalactiae* G [130].

Kordali S., Sakir A., Akcin T.A. та ін. повідомляють про виражену протигрибкову та гербицидну активність ефірної олії та *n*-гексанових екстрактів з суцвіть *A. biebersteinii* та *A. gypsocola*. флори Туреччини. Ефірна олія і ліпофільні фракції тестували на 12 фітопатогенних грибах. При цьому, ефірні олії були більш токсичними у порівнянні з *n*-гексановими екстрактами. Ефірна олія з суцвіть *A. gypsocola* не пригнічувала ріст *Fusarium graminearum*. Екстракти підсилювали ріст *Fusarium equiseti* та *F. graminearum*. Протигрибкову активність ефірної олії пов'язують з відносно високим вмістом кисневих монотерпенів у її складі [108].



Ahmadi A., Ezzatpanah H., Asgary S. досліджено біологічну активність ефірної олії суцвіть та листя *A. millefolium* subsp. *millefolium* флори Ірану. Вона виявляла високу протимікробну активність до штамів *St. aureus*, *Salm. enteritidis*, *Ech. coli*, *Penic. glaucum* and *Sacch.s cervesiae*. Встановлено що, ефірна олія суцвіть виявляла більш виражену антиоксидантну та антимікробну активність ніж ефірна олія листя [106].

Вченими Румунії досліджено *in vitro* антиоксидантні та протигрибкові властивості водно-етанольного екстракту (1:1) та ефірної олії трави *A. millefolium*. Встановлено виражену антиоксидантну дію на моделі пригнічення DPPH. Проаналізовані зразки виявили також виражену протигрибкову активність *in vitro* на досліджуваних лініях грибів *Aspergillus niger* ATCC 15475 та *Penicillium hirsutum* ATCC 52323 [171].

Falconieri D. та співавт. досліджували ефірну олію, вилучену з трави *A. millefolium*, заготовленої на узбережжі Португалії. Була встановлена виражена протимікробна активність ефірної олії проти *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*, *T. verrucosum*, *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *Epidermophyton floccosum*, *Aspergillus niger*, *A. fumigatus* та *A. flavus*. Досліджувані ефірні олії мали найвищу активність щодо штамів дерматофітів *Microsporum* і *Trichophyton* [130].

Іранські вчені дослідили біологічну активність ефірної олії 13 перспективних видів роду *Achillea* L. Ефірна олія трави *A. millefolium* subsp. *millefolium* Afan. виявляла антимікробну дію у відношенні до: *Str. pneumonia*, *Clos. perfringens*, *Cand. albicans*, *Myс. smegmatis*, *Acin. lwoffii.*, *C. krusei*. та виражену протизапальну активність (1,56-2,7 мкг/мл) [129].

Смойловська Г. П. із співавт. дослідили бактеріостатичну активність ефірної олії трави *A. setacea* та *A. submillefolium*. Ефірна олія трави д. майжезвичайного виявляла виражену бактеріостатичну дію на штами *St. aureus* та мікс-флору. Помірну бактеріостатичну активність встановлено до *Ps. aeruginosa*, *Str. pyogenes*, *Esch. coli* (ATCC-25922), *St. haemolyticus* (клін.), *Neis. gonorrhoeae* (клін.). Ефірна

олія трави д. щетинистого виявляла виражену активність у відношенні до *St. aureus*, *Str. pyogenes*. Помірне затримання росту притаманне для *Esch. coli* (ATCC-25922), *St. aureus* (ATCC-25923) та мікс-флори (*Ent. faecalis*, *St. saprophyticus*, *Neis. gonorrhoeae*) [75].

Demirci F., Demirci B., I. Gurbuz I. та ін. встановлено виражену біологічну активність ефірної олії з трави *A. teretifolia* Willd. та *A. nobilis* L. subsp. *neilreichii* (Kerner) Formanek. флори Туреччини. Оцінку проводили *in vitro* та здатністю нейтралізувати радикали 1,1-дифеніл-2-пікрилгідразилу (DPPH). Ефірна олія досліджуваних видів ефективні проти патогенних мікроорганізмів людини: *Clostridium perfringens*, *Acinetobacter iwoffii* та *Candida albicans* [123].

Jokic N., Topalic-Trivunovic L., Rodic-Grabovac B. повідомляють про широкий спектр біологічної активності екстрактів з трави *A. collina*, *A. millefolium*, та *A. nobilis* флори Сербії. Для флавоноїдів з трави досліджуваних видів була притаманна виражена антиоксидантна дія [170].

Італійськими вченими визначено вплив факторів зовнішнього середовища на склад поліфенольних сполук з антиоксидантною дією трави *A. collina*. Проведено оцінку антиоксидантної дії метанольних екстрактів та настоїв, отриманих з листя та суцвіть рослини, культивованої в італійських Альпах на висотах 600 та 1050 в. р. м. Антиоксидантну та цитопротекторну активність оцінювали *in vitro* визначенням концентрації фенольних сполук та активності знешкодження DPPH. Настій з трави виявляв найвищу антиоксидантну активність (значення 1/IC (50) від  $4,35 \pm 0,72$  до  $8,90 \pm 0,74$ ). Аналіз біологічної активності екстрактів проводили на моделі *in vitro* за визначенням токсичності та перекисного окиснення ліпідів біологічних мембран. Встановлено високі антиоксидантні та цитопротекторні властивості настою з листя досліджуваного виду. Антиоксидантна активність добре корелювала з загальним вмістом фенолів, але не з цитопротекторним профілем. Трава *A. collina* має виражені антиоксидантні та цитозахисні властивості та є перспективним джерелом фенольних сполук [110, 162].

Gomah E. N. повідомляє про встановлення токсичності та зростання інгибуючої активності ефірної олії та наноемульсій трави *A. biebersteinii*, *A. santolina* та *A. mellifolium* проти жука червоного борошна (*Tribolium castaneum* (Herbst)). Встановлено, що дорослі особи є більш сприйнятливими до дії ефірої олії, ніж їх личинки. Значення LC50 ефірної олії *A. Biebersteini*, *A. santolina* та *A. mellifolium* після 96 год. впливу на личинок становили 30,3 мкг/мг, 47,8 мкг/мг та 62,3 мкг/мг комах відповідно. На личинки другого року життя найвищу активність виявляла ефірної олії з трави *A. santolina* [164].

Наукові працівники з Ірану встановили, що етанольний екстракт *A. biebersteinii* ефективно пригнічував гіперліпідемію у хом'яків, викликану дієтою з високим вмістом жирів. Досліджувальний етанольний екстракт вводили через шлунковий зонд у дозі 400 мг / кг щодня протягом 20 днів гіперліпідемічним хом'ячкам. Аторвастатин використовували як стандарт порівняння у дозі 10 мг/кг. *A. biebersteinii* показала значне зниження рівнів холестерину, тригліцеридів і холестерину в сироватці крові. Також спостерігалось значне зниження загального холестерину і тригліцеридів у печінці. Це дослідження є першим повідомлення про гіпоглікемічну дію етанольного екстракту трави *A. biebersteinii* [177].

З інших філогенетично споріднених до досліджених видів роду *Achillea* найбільша кількість фармакологічних досліджень присвячена *A. millefolium*, його культивованим та дикорослим расам.

Купчинин Д. А., Войтович Н. С., Осадчий А. Г. при проведенні скринінгового дослідження протиопісторхозної активності трави *A. millefolium* та *A. nobilis* на моделі експериментального опісторхоза *in vitro* встановили виражену фармакологічну дію фракції сесквітерпенових лактонів ефірної олії досліджувальних видів [42].

Cavalcanti A. M., Baggio C. H., Freitas C. S. та ін. досліджено безпечність та ефективність водного екстракту трави *A. millefolium* при захисті слизової оболонки шлунка від гострих уражень етанолом та індометацином та хронічних уражень шлунково-кишкового тракту, ацетатною кислотою (LC (50) = 32 мг/ кг,

перорально). Результати вказують на противиразкову дію, яка не супроводжується ознаками токсичності навіть при тривалому ураженні токсичними агентами [196].

Abdossi V., Kazemi M. визначена біологічна активність ефірної олії та борнеолу з його складу трави *A. millefolium* флори Ірану. Борнеол виявляв значне пригнічення перекисного окислення ліпідів та антимікробну активність до всіх перевірених штамів бактерій. На думку авторів, отримані результати обґрунтовують виражену антимікробну, антиоксидантну та протизапальну активність ефірної олії трави *A. millefolium* [97].

Burk D. R., Cichacz Z. A., Daskalova S. M. встановлено, що водний екстракт суцвіть *A. millefolium* пригнічує індуковані ліпополісахаридами запальні реакції в RAW 264.7 мишиних макрофагів. Застосований у діапазоні концентрацій 25-300 мкг/кг, екстракт не впливав на життєздатність клітин. Встановлено, що водні витяжки з трави *A. millefolium* доцільно застосовувати як протизапальні засоби [102].

Trumbeckaite S., Venetis R., L. Bumblauskiene L. та ін. досліджено антиоксидантну активність екстрактів, одержаних з трави *A. millefolium*. Встановлено, що вона пов'язана з наявністю фенольних сполук, що інгібують вільні радикали. Також встановлено вплив досліджувальних екстрактів на ізольовану мітохондріальну функцію серця щурів. У залежності від концентрації вони викликали зниження частоти дихання без зміни цілісності внутрішньої мітохондріальної мембрани. Концентрації, які не впливали на частоту дихання, суттєво зменшували наявність  $H_2O_2$  у мітохондріях [104].

Dias M. I., Barros L., Duenas M. та ін. визначено антиоксидантні властивості *in vitro* та протипухлинний потенціал (проти клітинних ліній грудної клітки, легенів, шийки матки та гепатоцелюлярної карциноми) метанольного екстракту, настою та відвару трави *A. millefolium* [129]. Amini Navaie B., Kavoosian S., Fattahi S. повідомляють про цитотоксичну активність водних та водно-етанольних екстрактів трави *A. millefolium* на клітини раку молочної залози MCF-7 [116].

Eghdami A., Sadeghi F. встановлено антиоксидантну активність на моделі 2,2-дифенілпікрилгідразилу метанольних та водних екстрактів трави *A. millefolium*. Антиоксидантна активність метанольного екстракту складала 75 %, водного – 50,8 % [149].

Bafrani H. H., Parsa Y, Yadollah-Damavandi S. та ін. проведено біохімічне та фармакологічне дослідження водно-етанольного екстракту трави *A. millefolium* у дозі 200 мг/кг та 400 мг/кг на моделі нефролітіазу, викликаного введенням етиленгліколю у щурів. Встановлено виражене відновлення у сечі вмісту оксалатів та цитратів [121].

Noureddini M., Rasta V. вивчено протизапальну дію водного екстракту трави *A. millefolium* на моделі формалінового набряку лапки щурів при оральному введенні у дозах: 80, 160 та 320 мг/кг [179].

Болгарські науковці визначили антиоксидантну активність відвару та екстракту, отриманих звичайним та мікрохвильовим методом з трави *A. millefolium*. Використовували фармакологічні аналізи: DPPH-, ABTS-, FRAP- та CUPRAC. Загальний вміст фенольних сполук у екстрактах, що виявляють антиоксидантну активність, знаходився в діапазоні  $2,74 \pm 0,01$  мг/г та  $7,92 \pm 0,09$  мг/г [106].

Останнім часом у країнах світу продовжується дослідження фармакологічної активності лікарських засобів з рослинної сировини перспективних видів та умов зростання: *A. setacea*, *A. nobilis*, *A. teretifolia*, *A. coarctata*, *A. kotschy* subsp. *kotschy*, *A. lycanica*, *A. wilhelmsii*, *A. fragrantissima*, *A. hamzaoglui*, *A. santolina* [65, 75, 86, 101, 178 ].

Смойловською Г. П., Абрамовим А.В. встановлено гостру токсичність та гемостатичну активність ліофілізованого екстракту з трави деревію щетинистого. Дослідження системи згортання крові проведено у тварин з експериментальним токсичним гепатитом за показниками: час згортання крові, протромбіновий час і концентрація фібрину крові. Встановлено, що ліофілізований екстракт з трави рослини містить до  $5,79 \pm 0,05\%$  філохінону. При дослідженні гострої токсичності середня смертельна доза становила понад 2000 мг/кг (практично нетоксична

речовина). Курсове призначення тваринам із токсичним гепатитом екстракту та розчину вікасолу приводило до зменшення проявів гіпокоагуляції: зменшення протромбінового часу та часу згортання крові, підвищення концентрації фібрину у крові до  $14,2 \pm 1,2$  мг/мл [78].

Турецькими вченими встановлено цитотоксичну активність екстрактів трави *A. coarctata*, *A. kotschy* subsp. *kotschy* та *A. lycanica*. Встановлено кореляцію між антиоксидантними властивостями екстрактів та загоєнням ран. Отримані дані продемонстрували кореляцію між загальним вмістом фенолів (TPC), активністю знешкодження вільних радикалів та загальною антиоксидантною здатністю (TAC). Серед досліджуваних видів найвищий вміст TPC (148,00 мг/г) (148,00 мг GAE/г екстракту), TAC (2,080 UAE), найбільш виражене вилучення радикалів ( $EC_{50} = 32,63$  мг/мл), загоєння ран та цитотоксична активність була притаманна для екстракту трави *A. kotschy* subsp. *kotschy* [132].

Дослідниками з Ірану встановлено виражену антибактеріальну та протигрибкову активність ефірної олії з трави *A. wilhelmsii* L. проти *Esch. coli* та *C. albicans* з найнижчою мінімальною пригнічуючою інгібуючою концентрацією та мінімальною бактерицидною концентрацією ( $2 \pm 0,0$ - $2 \pm 0,0$  г/мл,  $1 \pm 0,5$ - $1 \pm 0,5$  г/мл) відповідно. Згідно з отриманими даними, ефірні олії *A. wilhelmsii* проявляла вищу активність у кожній антиоксидантній системі, приділяючи особливу увагу тесту на відбілювання  $\beta$ -каротину ( $IC_{50}$ : 19 мг/мл) та знижуючи потужність ( $EC_{50}$ : 10 мг / мл) [178].

Al-Snafi A. E. досліджено протидіабетичні, протизапальні, знеболюючі, протимікробні, антиаритмічні, протитромбозні, антисперматогенні, інсектицидні, протирепелентні властивості ефірної олії трави *A. santolina* [109].

Вчені з Турції дослідили антиоксидантну активність екстрактів з трави *A. nobilis* subsp. *sipylea*. Її визначали за результатами аналізу пригнічення радикалів 2,2-феніл-1-пікрілгідразилу (DPPH). Настій та відвар з трави *A. nobilis* subsp. *sipylea* виявляли відносно високу антиоксидантну активність  $IC_{50}$  61,0 мкг/мл та 83,1 мкг/мл у порівнянні з етанольним (96 %) та гексановим

екстрактами. Отримані результати показали, що відвар з трави *A. nobilis* subsp. *sipylea* є перспективним джерелом природних антиоксидантів [106].

Йорданські вчені проводили дослідження біологічної активності водних та водно-етанольних екстрактів з трави *A. fragrantissima*. Досліджено ефективність інгібування антиоксидантів, тромбоцитів, проліферації та ацетилхолінестерази, антимікробна дія. Грампозитивні бактерії показали чутливість до водно-етанольного екстракту в дифузійному тесті на агарових лунках. Не спостерігалось значної активності щодо грамнегативних бактерій та *C. albicans*. Водно-етанольний екстракт виявляв бактерицидну активність щодо *Str. pneumoniae* та *Bac. cereus* у високих концентраціях (MIC 12,5 мг/мл). Піжтверджено ефективність традиційного антимікробного використання виду у народній медицині Йорданії. Експериментальним шляхом було встановлено антитромбоцитарну та антипроліферативну активність водно-етанольного екстрактів. [126].

Турецькі вчені вперше дослідили антиоксидантну та антимікробну активність ефірної олії та метанольного екстракту з трави *A. hamzaoglu* Arabacı & Budak. [129].

Тржецинським С. Д., Мозуль В. І., Жерновою Г. А визначена ранозагоювальна активність мазі з ефірної олії трави *A. innundata* на моделі хімічного опіку шкіри щурів, викликаного 20 % етанольним розчином сульфатної кислоти. Спостерігали збільшенні швидкості регенерації дефекту шкірного покриву, що свідчить про перспективність застосування ефірної олії д. заплавного у мазях для лікування опіків [66, 86].

У світовій медицині добре відомі фітопрепарати з видів деревію. Найбільша номенклатура характерна для країн Європейського союзу: Alasenn Krutergranulat, Befelka–Tinctur, Cesrasanol, Chelidophyt N, Chtsranthol, Cicaderma, Dr. Kleinschrod's Cor–Insuffin–Tropfen, Doppelherz, Floradix Multipretten Kruuter–Dragees, Gallexier, Kneipp Schafgarbe–Pflanzensaft Frauentrost, Marianon “Dr. Klein” N, Origanal grosser Bittner balsam, Salus Schafgraben–Tropfen, Schamill Schafgarbe–Extrakt, Siligutal–Tropfen, Stomachysat Burger, Tonzilgon, (Німеччина); Menodoron–

Торфе (Австрія); Diacure (Франція); Sanofi (Польща); Romazulan (Румунія). В Україні та країнах Євразії виробляють: Вундехіл, Ротокан, Фітулвент Фітобальзам, Фітон СД (Україна), Настойку Панкова сложная, Бальзамы Караваева (Витаон, Аурон, Соматон, Геморатон) (РФ), ЛІВ-52 (Індія) [44, 76].

Траву *A. millefolium* широко застосовують у зборах з вираженою ранозагоюювальною, протизапальною і збуджуючою апетит дією: Hevert–Magen–Galle–Leber–Tee, Salus Leber–Galle–Tee Krutertee № 18 (Німеччина); Gallen–und Labertee, Kruterhaus Mag. Kottas Fruhjars und Herbstkurtee, Kruterhaus Mag. Kottas – tee gegen Blahungen, Kruterhaus Mag. Kottas Fruhjars Magen und Darmtee, Sturkungs und krufugungstee nach Dr. Bochming, Windtreibender Tee nach Dr. Bohming (Австрія); Tisane Digestive Weleda (Франція); Збір для збудження апетиту, збір шлунковий №2, фіточай протигемороїдальний (Україна) [62, 68, 69].

Таким чином, аналіз наукових джерел літератури показав, що недостатньо досліджено хімічний склад перспективних ефірноолійних видів роду *Achillea* L. флори України (*A. collina* та *A. micrantoïdes*). Не досліджена токсичність, гепатопротекторна, антиоксидантна та гемостатична дія їх екстрактів в експериментах на лабораторних тваринах. Вивчення перспективних ефірноолійних видів роду *Achillea* з тривалим терміном вегетації та впровадження ефективних лікарських засобів на їх основі, сприятиме вирішенню актуальної проблеми, пов'язаної зі збільшенням заготівлі ЛРС з вираженою фармакологічною активністю.



## РОЗДІЛ 2

### ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Об'єкти дослідження

Об'єктами фармакогностичного дослідження було обрано траву двох видів роду Деревій: деревію пагорбового (*Achillea collina* J. Becker ex Reichenb.) та деревію подового (*Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka), які поширені у південних регіонах України. У таблиці 2.1 наведені географічні дані про місця заготівлі сировини для досліджень.

Таблиця 2.1 – Інформація про місця заготівлі сировини для досліджень

Область	Географічні координати місця заготівлі	Рік
Запорізька	м. Славгород (48.092779 п. ш., 35.521007 с. д.)	2017
	м. Новогупалівка (48.024413 п. ш., 35.372024 с. д.)	2017
Дніпро-петровська	м. Синельникове (48.319821 п. ш., 35.456528 с. д.)	2016
	м. Павлоград (48.559807 п. ш., 35.943735 с. д.)	2016
Донецька	м. Дружківка (48.584034 п. ш., 37.494505 с. д.)	2016
	м. Краматорськ (48.766497 п. ш., 37.648802 с. д.)	2017
Херсонська	м. Генічеськ (46.175490 п. ш., 34.755469 с. д.)	2017
	м. Нова Каховка (46.758399 п. ш., 33.240998 с. д.)	2017
Миколаївська	м. Олександрівка (47.713474 п. ш., 31.249130 с. д.)	2016
	м. Снігурівка (47.086068 п. ш., 32.829337 с. д.)	2016
Харківська	м. Лозова (48.848890 п. ш., 36.304246 с. д.)	2017
	м. Барвінково (48.931732 п. ш., 37.050262 с. д.)	2017

Для визначення динаміки накопичення БАР сировину заготовляли з червня по жовтень, з 10 по 15 число кожного місяця.

Ідентифікацію рослин проводили при консультативній допомозі професора кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету д-ра фарм. наук Сербіна А. Г. та за сприяння канд. біол. наук, доцента Гамулі Ю. Г., порівнюючи з гербарними зразками, які зберігаються на кафедрі ботаніки та екології Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна.

В якості сировини для проведення комплексного фармакогностичного аналізу заготовляли верхівки пагонів довжиною (10-15) см з прилеглим суцвіттям та листям. Траву заготовляли впродовж фенологічної фази (червень-жовтень 2017-2019 рр.), відповідно до рекомендацій ДФУ [26, 28].

Сировину висушували у сушильній шафі «Termolab СНОЛ 24/350» за температури не вище 30-35 °С протягом 10 год, періодично перегортаючи.

## **2.2 Відомості про прилади, методи і реактиви**

Дослідження проводили з використанням повітряно-сухої рослинної сировини відповідно до відомих методів ідентифікації [26, 28, 62].

Використовували атестовані та повірені прилади, стандартні зразки, сертифіковані хімічні реактиви та розчинники кваліфікації «ч.д.а», «х.ч.», «для ВЕРХ» згідно вимог ДФУ [26].

Реактиви і титровані розчини, використані для якісного та кількісного аналізу, готували за рекомендаціями ДФУ 2.1 (розділ 4 «Реактиви») [26].

Експериментальні дослідження проводили методами висхідної одномірної, висхідної двомірної ПХ та ТШХ, ГХ/МС, ВЕРХ, УФ-спектрофотометрії [1, 2, 9, 12, 16-18, 24, 25].

Попередні хроматографічні дослідження БАР проводили методами ПХ на папері марки Filtrak FN 1, 3, 7, 14 та ТШХ на пластинках «Silufol UV-254», «Silufol UV-366» (Avalier, Чехія), ПТСХ-А-УФ та «Merk silica gel F254» (ТШХ Силикагель 60 F254, Німеччина), «Sorbfil» ПТСХ-А-УФ і «Merk silicagel F254» (ТШХ Силикагель 60 F254, Німеччина). Результати значення Rf на хроматограмах є середніми величинами 3-5 вимірювань.

Розчинники для приготування хроматографічних систем мали кваліфікацію ч.д.а./х.ч.: бензол (ч.д.а.), ацетон (ч.д.а.), етилацетат (ч.д.а.), вода очищена (ч.д.а.), кислота ацетатна (х.ч.), петролейний естер (ч.д.а.), кислота мурашина (х.ч.), *n*-бутанол (ч.д.а.), етанол (ч.д.а.), піридин (х.ч.), хлороформ (х.ч.), формахід (х.ч.). Для хроматографування застосовували рухомі фази розчинників (співвідношення розчинників у об'ємних частках):

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

№ 2 – етилацетат – кислота оцтова – кислота мурашина – вода (100:11:11: 25);

№ 3 – 15 % кислота оцтова;

№ 4 – 2% кислота оцтова;

№ 5 – етилацетат – кислота оцтова – вода (10 : 2 : 3);

№ 6 – *n*-бутанол – кислота оцтова – вода (40 : 12 : 28);

№ 7 – 96 % етанол – концентрований розчин амоніаку (16 : 4,5);

№ 8 – хлороформ – 96% етанол – кислота оцтова – вода (6 : 2 : 0,1 : 0,1);

№ 9 – кислота мурашина – вода – метилкетон – етилацетат (10 : 10 : 30 : 50);

№ 10 – бензол – петролейний естер (1 : 1);

№ 11 – 96 % етанол – хлороформ – амоніак концентрований – вода (70 :40:20 :2);

№ 12 – *n*-бутанол – мурашина кислота – вода (30:5:10);

№ 13 – етилацетат – толуол (5: 95);

№ 14 – *n*-бутанол – піридин – вода (6:4:3).

На хроматограмах речовини виявляли за забарвленням плям у денному світлі, за флюоресценцією їх у фільтрованому УФ-світлі, до і після обробки хромогенними реактивами [62]:

А – пари амоніаку;

Б – 5 % етанольний розчин алюмінію (III) хлориду;

В – 10 % етанольний розчин натрію гідроксиду;

Г – 1% етанольний розчин заліза (III) хлориду;

Д – 1% етанольний розчин анісового альдегіду;

Е – 5 % розчин фосфорно-молібденової кислоти;

Ж – 0,04 % розчин бромкрезолового зеленого в метанолі;

- З – 0,1 % розчин 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію у 95 % етанолі;
- И – 0,05% розчином бромфенолового синього;
- К – 0,05% розчином бромтимолового синього;
- Л – розчин анілін-фталату.

Спектри поглинання досліджували, реєструючи оптичну густину в УФ - та видимій областях спектру на спектрофотометрі «Specord-200 UV/Vis Lambda 365 (Analytic Jena)» в кюветах з товщиною шару 10 мм.

ВЕРХ дослідження проводили на хроматографі “Agilent 1260 Infinity HPLC System Open LABCDS Software” (Японія).

ГХ-МС дослідження було проведено на приладі Agilent Technologies 7890В з мас-спектрометричним детектором 5977В (Agilent technologies, USA).

Елементний склад сировини вивчали на спектрографі ДФС-8.

Вивчення фармакологічних властивостей одержаного екстракту проводили *in vivo* та *in vitro*.

### **2.3 Виявлення та визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин у траві *A. collina* та *A. micranthoides***

Для виявлення груп БАР та їх подальшого кількісного визначення у досліджуваній сировині використовували водні, спиртово-водні витяжки а також, ліпофільні та олійні екстракти [62].

*Одержання водних витяжок:* до 5 г висушеної та подрібненої до розміру частинок 2-5 см трави додавали 50 мл води очищеної, нагрівали на водяній бані БВ-4 «MICRO med» ( $t = 100^{\circ}\text{C}$ ) в колбі зі зворотним холодильником протягом 1 год. Цей процес повторювали ще двічі з додаванням нових порцій розчинника. Об'єднані витяжки охолоджували, відфільтровували крізь паперовий фільтр та випаровували під вакуумом (1:1). Одержані таким чином витяги використовували для виявлення полісахаридів, органічних кислот та дубильних речовин.

*Одержання спиртово-водних витяжок (70 %, 96 %):* 5 г здрібноної рослинної сировини, додавали 50 мл етанолу певної концентрації, нагрівали на

киплячій водянній бані в конічній колбі зі зворотним холодильником протягом 1 год. Процес повторювали ще двічі новими порціями розчинника. Об'єднані витяжки охолоджували, відфільтровували крізь паперовий фільтр та випарювали під вакуумом (1:1). Одержані спирто-водні витяги використовували для виявлення флавоноїдів, та гідроксикоричних кислот.

### 2.3.1 Ефірна олія

*Ідентифікацію компонентів ефірної олії* проводили методом ТШХ у рухомій фазі № 13. Приготування витягів для хроматографування проводили наступним чином: до 2 г здрібноної на порошок сировини додають 25 мл етилацетату, струшують протягом 5 хв, фільтрують і випарюють до сухого залишку на водянній бані. Одержаній залишок розчиняють у 0,5 мл толуолу.

Після висушування на повітрі хроматограми обробляли реактивом Д та прогрівали за температури 100-105 °С протягом 3-5 хв. Компоненти ефірної олії проявлялись у вигляді смуг червоного, синього, сірого, фіолетового та жовтого кольору.

*Кількісний вміст ефірної олії у сировині* визначали за методом Клевенджера у пристрої відповідно до вимог ДФУ (2.8.12) [26].

До 100,0 г (точна наважка) попередньо подрібноної ( $d = 3$  мм) повітряно-сухої сировини додавали 500 мл води. Перед екстрагуванням сировину обробляли ультразвуком на установці «УЗДН-А1200Т» з частотою 50 Гц до повного поглинання сировиною води. Процес перегонки з водяною парою проводили на водянній бані БВ-4 «MICRO med» ( $t=100$  °С) протягом 4 год. Прилад охолоджували до кімнатної температури, вимірювали об'єм рідини в збірнику.

Вміст ефірної олії розраховували в об'ємно-вагових відсотках у перерахунку на повітряно-суху рослинну сировину [62].

*Аналіз компонентного складу ефірної олії* проводили методом ГХ-МС на хроматографі Agilent Technology 7890 В із мас-спектрометричним детектором 5977В на мікрокапілярних колонках у запрограмованому режимі.

Використовували мікрокапілярну хроматографічну колонку DB-5ms, довжиною 30 м, діаметром 0,32 мм. Інжектор: автоінжектор 7693, Split (20:1). Температура детектора 250 °С. Температура термостата колонок програмувалася від 50 до 320 °С (4 град/хв). Об'єм введеної проби 0,1 мкл. У хроматографічну колонку пробу вводили в режимі splitless зі швидкістю 1,2 мл/хв протягом 0,2 хв. Постійний потік газ-носія (гелій) 1,2 мл/хв.

Для ідентифікації летких сполук використовували бібліотеку мас-спектрів NIST 05 та WILEY 2007 із загальною кількістю спектрів більше 470000 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS та NIST.

Для розрахунку кількісного вмісту летких сполук застосовували метод внутрішнього стандарту. Розрахунок вмісту компонентів (С, мг/кг) проводили за формулою (1):

$$C = K1 \times K2, \quad (1)$$

де:  $K1 = P1/P2$  ( $P1$  – площа піку речовини, що досліджується,  $P2$  – площа піку стандарту);

$K2 = 50m$  (50 – маса внутрішнього стандарту (мкг), який вводили у зразок,  $m$  – наважка зразка (г)).

*Визначення кількісного вмісту проазуленів у досліджуваних ефірних оліях* проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на хамазулен, за методикою ДФУ, яка наведена в монографії «Деревій» [27].

Для детального вивчення компонентного складу ефірної олії трави досліджуваних видів нами були отримані 70% етанольні екстракти (1:10).

*Аналіз компонентного складу екстрактів* досліджували методом ГРХ-МС за допомогою газового хроматографа Agilent 7890В з мас-спектрометричним детектором 5977В. Хроматографічна колонка DB-5ms довжиною 30 м x 250 мкм x 0,25 мкм. Швидкість газу-носія (гелій) – 1,3 мл/хв. Об'єм інжекції – 0,5 мкл. Поділ потоку – 1:5. Температура блоку введення проб – 200 °С → 12°С/с → 265 °С. Температура термостата: програмована, 70 °С (затримка 1 хв) → 10°С/хв → 270 °С

(затримка 4 хв). Загальний час хроматографування – 25 хв. Температура інтерфейсу ГХ/МС – 275 °С; джерела іонів – 230 °С; квадрупольного мас-аналізатора – 150 °С. Тип іонізації: ЕІ при енергії електронів 70 еВ. Діапазон масових чисел, що був сканований: 30-700  $m/z$ . Для ідентифікації компонентів використана бібліотека мас-спектрів NIST14.

### 2.3.2 Флавоноїди

Попереднє виявлення флавоноїдів у сировині досліджуваних видів проводили методами висхідної, багаторазової ПХ та ТШХ спиртово-водних екстрактів.

Хроматографування екстрактів проводили у рухомих фазах № 1-4 у порівнянні з достовірними зразками рутину, кверцетину, апігеніну, лютеоліну, гіперозиду, кемпферолу. Проявляли хроматограми реактивами А, Б, В, Г [43, 63].

*Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у траві* досліджуваних видів проводили методом диференціальної спектроскопії [80] при одночасному гідролізі глікозидів флавоноїдів та їх екстракції 50% етанолом, оскільки сировина містить значну кількість флавоноїдів саме у формі глікозидів. Визначення проводили за наступною методикою [63]:

1,0 г (точна наважка) подрібненої сировини вміщували в колбу зі шліфом місткістю 100 мл, додавали 30 мл 50 % етанолу, який містить 1 мл 1% розчину кислоти хлористоводневої конц., і нагрівали на киплячій водяній бані протягом 30 хв, охолоджували, фільтрували у мірку колбу місткістю 100 мл. Екстракцію повторюють іще тричі, вказаним вище методом. Об'єднані витяги доводять до позначки 50% етанолом (розчин А).

У мірну колбу місткістю 25 мл переносили 2 мл розчину А, 1 мл 1 % розчину алюмінію хлориду в 95 % етанолі і доводили об'єм розчину 95 % етанолом до мітки. Через 40 хв вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 400 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

*Розчин порівняння:* 2 мл розчину А доведеного 95% етанолом до позначки у мірній колбі місткістю 25 мл. Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін і абсолютно суху сировину у відсотках (X) обчислювали за формулою (2):

$$X = \frac{A \times 100 \times 25 \times 100}{A_{1\%}^{1\text{см}} \times m \times 2 \times (100 - w)}, \quad (2)$$

де:  $A$  – оптична густина досліджуваного розчину;

$A_{1\%}^{1\text{см}}$  – питомий показник поглинання комплексу лютеоліну з алюмінію хлоридом у 95 % етанолі за довжини хвилі 400 нм, рівний 549,41;

$m$  – маса сировини, г;

$w$  – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

*Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у ліпофільних екстрактах* проводили методом прямої спектрофотометрії спиртово-хлороформних розчинів екстрактів, використовуючи в якості розчину порівняння олійний розчин  $\beta$ -каротину за наступною методикою [59]:

1,0 г (точна наважка) ліпофільного екстракта розчиняли у спиртово-хлороформній суміші (2:1) у мірній колбі місткістю 100 мл і доводили об'єм розчину до позначки. 5 мл отриманого розчину переносили у мірну колбу місткістю 50 мл і доводили об'єм тим же розчинником до позначки. Оптичну густина отриманого розчину вимірювали на спектрофотометрі за довжини хвилі 430 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм. Одночасно в тих же умовах проводили вимірювання оптичної густини робочого ФСЗ кверцетина.

*Розчин робочого стандартного зразка кверцетина:* 0,01 г (точна наважка) СЗ кверцетина, попередньо висушеного за температури від 50 до 60° С протягом 1 год, вміщували у мірну колбу місткістю 100 мл, додавали 50 мл суміші 95% етанол – хлороформа (2:1), нагрівали на водяній бані і перемішували до повного розчинення, охолоджували и доводили об'єм до позначки (розчин А). 5 мл розчину А переносили у мірну колбу місткістю 100 мл і доводили до позначки сумішю 95% етанол – хлороформ (2:1) до позначки



*Розчин порівняння:* 0,1 г (точна наважка) 1% розчину  $\beta$ -каротину розчиненого у кукурудзяній олії, що відповідає вимогам ДФУ [], розчиняли у 100 мл суміші 95% етанол – хлороформ до позначки.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на кверцетин розраховували за формулою (3):

$$X = \frac{A_1 \times m_2 \times 50}{A_2 \times m_1}, \quad (3)$$

де:  $A_1$  – оптична густина досліджуваного розчину;

$A_2$  – оптична густина СЗ кверцетина;

$m_1$  – маса ліпофільного екстракта, г;

$m_2$  – маса СЗ кверцетина, г.

### 2.3.3 Гідроксикоричні кислоти

Ідентифікацію гідроксикоричних кислот проводили у спиртово-водних екстрактах методами одномірної ПХ у рухомих фазах № 1-3 та ТШХ у рухомих фазах № 8, 9, у порівнянні з достовірними зразками хлорогенової, ферулової, *p*-кумарової, кофейної та бензойної кислот. Виявлення гідроксикоричних кислот проводили після перегляду хроматограм у денному та фільтрованому УФ-світлі та після обробки реактивами А, Г [1, 2, 53, 45, 62].

*Визначення кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот у досліджуваній сировині проводили спектрофотометричним методом за довжини хвилі 525 нм у перерахунку на хлорогенову кислоту за методикою ДФУ, яка викладена у монографії «Кропиви листя» [27].*

### 2.3.4 Фенольні сполуки методом ВЕРХ

*Дослідження складу та визначення кількісного вмісту сполук фенольної природи проводили методом ВЕРХ за методикою, узгодженою із методикою загальної статті «Рідинна хроматографія» ДФУ 2.1 [24], на хроматографі Agilent*

Technogies (модель 1100), укомплектованому поточним вакуумним дегазатором G1379A, чотирьох каналним насосом градієнту низького тиску G13111A, автоматичним інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A та діодноматричним детектором G 1316A.

1,0 г (точна наважка) подрібненої рослинної сировини ( $d = 0,1$  мм) вносили в колбу місткістю 100 мл, додавали 25 мл етанолу, нагрівали на киплячому водяному огрівнику ( $t = 70-80$  °C) «ВБ micromed» протягом 15 хв. Одержані витяги фільтрували в мірну колбу місткістю 100 мл. Екстракцію повторювали ще двічі в таких же умовах, по 30 мл протягом 15 хв. Розчини охолоджували, об'єднані витяги фільтрували крізь паперовий фільтр у колбу місткістю 100 мл. 5 мл витягу вносили до мірної колби місткістю 50 мл і доводили об'єм тим же розчинником до позначки.

Отримані розчини вводили в колонку приладу хроматографічна колонка «ZORBAX-SB C-18» діаметром 2,1 та довжиною 150 мм була заповнена октадецилсилільним сорбентом ( $d = 3,5$  мкм). За рухомої фази використовували: кислоту трифтороцтову 0,2 %, метанол безв. та суміш кислоти трифтороцтової 0,2 % зі спиртом метиловим 70 %.

Режим хроматографування: швидкість подачі рухомої фази 0,25 мл/хв.; робочий тиск елюента 240-300 кПа; температура термостату колонки 32 °C; об'єм проби 5 мкл. Параметри детектування: масштаб вимірювань 1,0; час сканування 0,5 с; параметри зняття спектра – кожен пік 190-600 нм;  $\lambda = 313$  нм, 350 нм [8].

### **2.3.5 Поліфенольні сполуки**

Виявлення сполук поліфенольної природи у досліджуваних видах сировини проводили у водних та спиртово-водних екстрактах за допомогою загальновідомих якісних реакцій на таніни та методами висхідної ПХ та ТШХ у рухомих фазах № 5, 6 [20, 62]. Ідентифікацію сполук поліфенольної природи проводили за характерним забарвленням у видимому та УФ-світлі, до та після обробки хромогенними реактивами А, Б, В, Г.

*Визначення кількісного вмісту поліфенольних сполук* проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на пірогалол, за методикою ДФУ, яка наведена у монографії «Деревій» [27].

*Кількісне визначення сполук поліфенольної природи* проводили методом ВЕРХ на хроматографі “Agilent 1260 Infinity HPLC System Open LABCDS Software” (Японія).

1,0 г (точна наважка) рослинної сировини попередньо подрібнювали до діаметра часток ( $d = 0,3$  мм), вносили в колбу ємністю 100 мл, заливали 30 мл етанолу (метанолу), нагрівали на водяній бані БВ-4 «MICRO med» ( $t = 100$  °C) протягом 30 хв при ретельному перемішуванні. Операцію проводили ще двічі новими порціями екстрагента. Витяжки об'єднували, охолоджували, протягом 30 хв одержану витяжку центрифугували на пристрої «MICRO med CM-3.01», фільтрували в колбу ємністю 100 мл і доводили до мітки. Проби фільтрували крізь тефлоновий мембранний фільтр ( $d = 0,45$  мкм) у віалу для кількісного аналізу.

Одночасно в колонку приладу за тих же умов вводили розчини ФСЗ танінів. При проведенні аналізу швидкість відповідної подачі рухомої фази 1 мл/хв; тиск елюенту робочий від 240 до 300 кПа; температура термостата колонки 35 °C; об'єм використаної проби 5 мкл. Використовували наступні параметри: масштаб вимірювань 1,0;

- час сканування 0,5 сек;
- параметри  $\lambda = 330$  нм;
- колонка Zorbax SB-C18; 30 мм x 4,6 мм; 1,8 мкм.

Умови проведення ВЕРХ дослідження: 1) Бінарний градієнт – А: H<sub>2</sub>O (трифтороцтова кислота 0,1%), В: CH<sub>3</sub>CN (трифтороцтова кислота 0,1%).

Ідентифікацію компонентів суміші визначали за параметрами: час утримування стандартного зразка і спектральні характеристики досліджуваних речовин. Кількісний вміст компонентів розраховували за калібрувальним графіком [5].

### 2.3.6 Вітамін K<sub>1</sub>

Ідентифікацію вітаміну K<sub>1</sub> у траві досліджуваних видів роду Деревій здійснювали методом ТШХ у рухомій фазі № 10 [98]. Для аналізу отримували гексанові витяги з досліджуваної сировини за наступною методикою:

1,0 г подрібненої рослинної сировини, вносили у колбу місткістю 15 мл, додавали 10 мл *n*-гексану і перемішували на механічному струшувальному пристрої протягом 10 хв., випарювали на киплячому водяному огрівнику протягом 5 хв. до 1 мл. 0,1 мл витягу наносили на стартову смугу хроматографічних пластин. Підсушували на повітрі 3-5 хв., проводили хроматографічне розділення протягом 30-40 хв. Після закінчення процесу, висушували на пристрої «УСП-2» ООО «ИМИД» за температури 40 °С протягом 2-3 хв. і проглядали в УФ-світлі. На пластинках спостерігали плями з жовто-зеленою флюоресценцією, що свідчило про присутність вітаміну K<sub>1</sub> (Rf = 0,67). Паралельно вимірювали Rf 1% розчину стандартного зразку вітаміну K<sub>1</sub> фірми «Superleko Analytical, Sigma-Aldrich» (USA). При подальшому обприскуванні одержаних хроматограм реактивом E спостерігали буро-цегляне забарвлення плям [36].

*Кількісне визначення вмісту вітаміну K<sub>1</sub> у сировині* проводили методом спектрофотометрії за наступною методикою: точну наважку (0,5 г) досліджуваної рослинної сировини, вносили в конічну колбу ємністю 100 мл та екстрагували тричі по 25 мл розчином етанолу 96 % на водяній бані протягом 15 хв., охолоджували.

Об'єднані витяжки фільтрували крізь фільтрувальний папір у колбу ємністю 100 мл, запобігаючи потрапляння рослинної сировини на фільтр, який промивали 10 мл етанолу 96 %. У витяжку додавали 2 мл 1% розчину желатини, нагрівали на киплячій водяній бані протягом 3 хв до коагуляції осаду, охолоджували та фільтрували крізь паперовий фільтр у мірну колбу ємністю 100 мл, додавали 96 % етанолу до позначки. 5 мл отриманого розчину переносили у мірну колбу ємністю 100 мл та доводили тим же розчинником до позначки.

Оптичну густину розчину вимірювали на спектрофотометрі за довжини хвилі 265 нм. Як розчин порівняння використовували етанол 96 %. Паралельно в ідентичних умовах визначали оптичну густину розчину стандартного зразка вітаміну К<sub>1</sub> фірми «Superleko Analytical, Sigma Aldrich» (USA) (10 мкг/мл).

Вміст вітаміну К<sub>1</sub> (у %) у перерахунку на стандартний зразок вітаміну К<sub>1</sub> обчислювали за формулою (4):

$$x = \frac{D_1 \times m_0 \times 100 \times 100}{D_0 \times m_1 \times (100 - W)} \quad (4)$$

де: D<sub>1</sub> – оптична густина досліджуваного розчину;

D<sub>0</sub> – оптична густина стандартного розчину;

m<sub>1</sub> – наважка досліджувальної ЛРС, г;

m<sub>0</sub> – наважка стандартного зразка вітаміна К<sub>1</sub>, г;

W – втрата в масі при висушуванні, % [77].

### 2.3.7 Жирині кистоти

*Отримання ліпофільних фракцій.* Для аналізу складу жирних кислот у траві досліджуваних видів були отримані ліпофільні фракції, шляхом екстракції сировини гексаном в апараті Сокслета протягом 1 год (1:50). Вміст ліпофільних речовини визначали гравіметричним методом [62].

Аналітичну наважку подрібненої сировини поміщали у пакетик з фільтрувального паперу, зав'язували, зважували на аналітичних вагах. Збирали всі частини апарату Сокслета, через холодильник наливали гексаном, до тих пір поки рідина не переллється через сифон у колбу, потім у екстрактор наливали ще 1/3 від загального об'єму гексану. Екстракцію проводили на водяній бані, обережно, не перегріваючи розчинник більше 60 °С. Після закінчення екстракції, діставали пакетик, відгоняли розчинник до повного видалення, висушуючи у сушильній шафі при 80 °С, прийомник зважували. Знаючи вагу порожнього прийомника вираховували процентний вихід ліпофільного екстракту за формулою (5):

$$X = \frac{(A - B) \cdot 100}{B}; \quad (5)$$

де: А – вага прийомника з ліпофільним екстрактом, г;

Б – вага погожного прийомника, г;

В – наважка сировини, г.

*Аналіз жирнокислотного складу ліпофільних фракцій проводили методом газової хроматографії метилових естерів жирних кислот на хроматографі Agilent Technology 7890 В із мас-спектрометричним детектором 5977В на мікрокапілярних колонках у запрограмованому режимі.*

У скляну ампулу відміряли 30-50 мкл ліпофільної фракції, доливали 2,5 мл метилюючої суміші й ампули запаювали. Потім їх поміщали в термостат з температурою 105 °С на 3 год. Після закінчення метилування ампули відкривали, вміст переносили у пробірку, додавали порошкоподібний сульфат цинку на кінчику скальпеля, доливали 2 мл води очищеної і 2 мл гексану для екстракції метилових естерів. Після ретельного збовтування і відстоювання екстракт фільтрували і використовували для хроматографічного аналізу.

Для хроматографування використовували мікрокапілярну хроматографічну колонку DB-5ms, довжиною 30 м, діаметром 0,32 мм. Інжектор: автоінжектор 7693, Split (20:1). Температура детектора 250 °С. Температура термостата колонок програмувалася від 50 до 320 °С (4 град/хв). В хроматографічну колонку пробу вводили в режимі splitless зі швидкістю 1,2 мл/хв протягом 0,2 хв. Постійний потік газу-носія (гелій) 1,2 мл/хв. Ідентифікацію метилових естерів жирних кислот здійснювали за часом утримання піків у порівнянні зі стандартною сумішшю.

Розрахунок складу метилових естерів проводили методом внутрішньої нормалізації за загальноприйнятою методикою. Для метилування використовували суміш хлороформу з метанолом і сульфатною кислотою у співвідношенні 100:100:1.

### 2.3.8 Органічні кислоти

Наявність кислоти аскорбінової та інших вільних органічних кислот у досліджуваних об'єктах, підтверджували методом ТШХ водних витягів (1:5) у рухомій фазі № 7 та методом ПХ у рухомих фазах № 11, 12. Хроматограми висушували на сушарці УСП – 2 (ООО «ІМІД») за температури 30 °С і переглядали у денному та УФ-світлі. В якості стандартних зразків використовували: аскорбінову, лимонну, бурштинову, оксалатну, винну, яблучну кислоти. Хроматограми проявляли реактивом І та К для виявлення вільних органічних кислот, та реактивом З, для виявлення аскорбінової кислоти [24, 62].

*Кількісний вміст аскорбінової кислоти* у траві досліджуваних видів визначали спектрофотометричним методом, за методикою ДФУ, яка наведена у монографії «Шипшина» [27].

*Кількісний вміст суми вільних органічних кислот* в перерахунку на яблучну кислоту визначали титриметричним методом за методикою ДФУ, яка наведена у монографії «Шипшини плоди<sup>N</sup>» [27].

### 2.3.9 Полісахариди

*Кількісний вміст груп полісахаридів (ВРПС, ПР та ГЦ)* визначали гравіметричним методом, за методикою [99].

Для очищення сировини від спирторозчинних речовин 100,0 г знежиреної петролейним етером сировини екстрагували 80 % етанолом при нагріванні на киплячій водяній бані впродовж 2 год.

*Виділення ВРПС.* Повітряно-сухий шрот, що залишився, двічі екстрагували 100 мл води протягом 2 год на киплячій водяній бані. Екстракцію проводили при постійному перемішуванні. Отримані витяжки об'єднували та концентрували. До одержаних концентратів додавали трикратний об'єм етанолу, отримані осадки відфільтровували, промивали 96 % етанолом, етилацетатом і висушували до постійної маси [32].

*Виділення ПР.* Пектинові речовини вилучали шляхом трикратної екстракції висушеного шроту рівними об'ємами 5 % розчину щавлевої кислоти та 0,5 % розчином амонію оксалату при температурі 80-85 °С протягом 2 год. Одержані витяжки об'єднували та концентрували. ПР висаджували трикратною кількістю 96 % етанолу. Утворений осад відфільтровували, послідовно промивали 96 % етанолом та етилацетатом і висушували до постійної маси [32].

*Виділення ГЦ.* Повітряно-сухий шрот, що залишився після виділення ПР двічі екстрагували п'ятикратним об'ємом 7 % розчину натрію гідроксиду за кімнатної температури впродовж 12 год. Лужну витяжку відфільтровували, фільтрат підкисляли кислотою ацетатною льодяною до випадіння осаду ГЦ А, який в подальшому відфільтровували та висушували до постійної маси [32].

До фільтрату, що залишився після виділення ГЦ А, додавали двократну кількість 96 % етанолу і відфільтровували осад ГЦ Б, промиваючи його 96 % етанолом та етилацетатом. Одержаний осад висушували до постійної маси [32]. Вміст вираховували за формулою (6)

$$X = \frac{(m_1 - m_0) \times 1000}{m \times (100 - W)} \quad (6)$$

де:  $m$  – маса наважки випробовуваної сировини, г;

$m_0$  – маса фільтра, г;

$m_1$  – маса фільтра із залишком, г;

$W$  – втрата в масі при висушуванні, %.

*Дослідження моносахаридного складу методом ТШХ з попереднім гідролізом.* Для визначення мономерного вмісту ВРПС, ПР і ГЦ проводили кислотний гідроліз фракцій. Для цього, наважку полісахаридних фракцій розчиняли у 2 мл води і гідролізували 2 мл 20 % розчину кислоти сульфатної при нагріванні на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 5 год. Нейтралізували гідролізати до нейтральної реакції за універсальним індикатором барію карбонатом. Одержані розчини фільтрували, потім фільтрати випарювали до 0,5 мл та наносили на пластину «Sorbfil» для хроматографування в системі



№ 4. Поряд наносили достовірні зразки моноцукрів. Після висушування хроматограми обробляли реактивом Л та нагрівали протягом 10 хв у сушильній шафі за температури 100-105°C. Моносахариди проявлялися у вигляді червоно-бурих та коричневих плям [34, 52].

### 2.3.10 Елементний склад

*Дослідження якісного складу та кількісного вмісту елементів* було проведено в ДНУ НТК «Інститут монокристалів» НАН України. Попередньо досліджувану повітряно-суху рослинну сировину подрібнювали до розміру часток 0,3 мм. 0,1 г (точна наважка) вносили до камери приладу. Визначення проводили методом ААС (прилад КАС-120, Україна, ВО «Електрон») з атомізацією в повітряно-ацетиленовому полум'ї [86].

Аналізовану пробу обвуглювали при нагріванні у муфельній печі за температури не більше 500 °С з попередньою обробкою проб розчином кислоти сульфатної розведеної. Випарювання проб проводили з кратерів графітових електродів у розряді дуги перемінного струму (джерело збудження спектрів типу ИВС-28) при силі струму 16 А, напрузі 220 В та експозиції 60 с. Область спектра – 250-350 нм. Спектри реєстрували на спектрографі ДФС-8 з дифракційною решіткою 600 штр/мм і трилінзовою системою освітлення щілини. Інтенсивність ліній у спектрах аналізованих проб і градуйованих зразках фіксували на мікрофотометрі МФ-1 ( $\lambda = 196-423$  нм).

Визначали інтенсивність поглинання при наступних смугах (нм): Al – 308,2; Hg – 253,6; Ni – 305,0; Mn – 280,1; Pb – 283,3; As – 286,0; Cd – 326,1; Mo – 317,0; Co – 345,3; Sr – 346,4; Zn – 328,2; Cu – 324,7. Для переходу від значень аналітичних сигналів до концентрацій використовували комплект градуйованих зразків (штучних сумішей оксидів та солей металів, що відповідають складу різнотрав'я). Інтервал (визначеного вмісту мас. % до золи) складає: Mn – від  $2 \cdot 10^{-4}$  до 1; Cu – від  $1 \cdot 10^{-4}$  до  $5 \cdot 10^{-2}$ ; Ni, Pb, Ca – від  $5 \cdot 10^{-4}$  до  $1 \cdot 10^{-2}$ ; Cd – від  $5 \cdot 10^{-3}$  до  $1 \cdot 10^{-2}$ ; Mo, Co – від  $2 \cdot 10^{-4}$  до  $1 \cdot 10^{-2}$ ; Sr – від  $1 \cdot 10^{-2}$  до 1; Zn – від  $1 \cdot 10^{-2}$  до 2.

Вимірювання проводили за кімнатної температури.

Калібрувальні графіки в інтервалі вимірюваних концентрацій неорганічних елементів будували за допомогою стандартних проб розчинів солей металів (ICORM-23-27). Відносне стандартне відхилення (для 6 паралельних вимірювань) не перевищувало 30 % при визначенні числових значень концентрацій елементів.

## **2.4 Вивчення морфолого-анатомічних ознак**

Макро- і мікроскопічне дослідження проводили за загальноприйнятими методиками [3, 4, 17].

Для мікроскопічних досліджень використовували свіжозібрані надземні частини (суцвіття, листя, стебло) досліджуваних видів, фіксовані в суміші гліцерин-етанол-вода (1:1:1). Повітряно-суху рослинну сировину для просвітлення кип'ятили в 3-5 % водному розчині натрію гідроксиду 2-3 хв, не допускаючи зайвого розм'якшення. Після кип'ятіння матеріал промивали 2-3 рази водою очищеною й готували препарат у розчині хлоралгідрату [68, 69].

Діагностичні мікроскопічні ознаки досліджуваної сировини фіксували за допомогою біноккулярного мікроскопа: «MICRO med» XS-3330 з відео пристроєм CCD 5,0 mPix, «Біолам» (ЛОМО) з цифровою фотокамерою. Використовували збільшення: 80, 120, 160, 400, 600 та 800 разів. Фотографії обробляли у комп'ютерній програмі «Adobe Photoshop CS3 Мікроскопічний аналіз проводили у статистично достовірній кількості (не менш 10 для кожного зразка рослинної сировини) [16, 26].

## **2.5 Методики визначення числових показників та технологічних параметрів сировини**

Відбір проб досліджуваної рослинної сировини для аналізу та визначення сторонніх домішок в них проводили за фармакопейними методиками ДФУ 2.0.1.(2.8.20, 2.8.2).

*Втрату в масі при висушуванні* сировини визначали гравіметричним методом за методикою, яка наведена у загальній статті «Втрата в масі при висушуванні» ДФУ 2.0.1 (2.2.32).

*Золу загальну* визначали гравіметричним методом за методикою яка наведена у загальній статті «Загальна зола» ДФУ 2.0.1 (2.8.1).

Золу нерозчинну у 10% розчині кислоти хлористоводневої визначали гравіметричним методом за методикою, яка наведена у загальній статті «Зола, не розчинна в хлористоводневій кислоті» ДФУ 2.0.1.

#### *Методики визначення технологічних параметрів сировини*

Визначення об'ємної густини сировини, насипної густини, питомої маси, пористості, порізності, вільного об'єму шару, коефіцієнту поглинання екстрагенту проводили за загальновідомими методиками наведеними у [12, 35].

## **2.6 Дослідження біологічної активності ліпофільних екстрактів**

Гостру токсичність, гепатопротекторну, антиоксидантну, гемостатичну активність, ранозагоювальну та антимікробну дію отриманих ліпофільних екстрактів (ЛЕ) з трави досліджуваних видів визначали в експериментах на лабораторних щурах [15, 29, 31, 40-42, 48, 64, 71, 82].

Усі дослідження були проведені у відповідності з рекомендаціями до проведення доклінічної оцінки потенційних лікарських засобів Державного Експертного Центра МЗ України[29].

Дослідження біологічної активності ЛЕДГ та ЛЕДП проводили на базі Навчального медико-лабораторного центру ЗДМУ (атестовано Державним експертним центром МОЗ України) та на кафедрі фармакології і медичної рецептури ЗГМУ під керівництвом д. б. н., проф. Беленічева І. Ф. та д. мед. н., проф. Абрамова А. В.

Досліди виконано на 130 білих безпородних щурах обох статей, масою 180-190 г та 220-240 г, які отримували з розплідника Інституту Фармакології і токсикології АМН України. Тварини були в карантині впродовж 14 днів. Під час

експерименту тварини знаходились у стандартних умовах за температури 18-24 °С, вологості 50-60 %, природному світловому режимі «день-ніч», на постійному харчовому та питному режимі згідно правил утримання експериментальних тварин, встановлених Директивою Європейського Союзу 2010/63/EU та Наказом Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 р. № 249.

Усі маніпуляції з тваринами здійснювали згідно до міжнародних вимог «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, який використовують в експериментальних і інших наукових цілях» (м. Страсбург, 1986 р.), GLP та згідно методичних рекомендацій ДП «Державний експертний центр МОЗ України» [26, 152]. Протоколи експериментальних досліджень та їх результати затвердженні рішенням Комісії з біоетики ЗДМУ (протокол № 33 от 26.10.2018 р.).

### **2.6.1 Визначення гострої токсичності**

Визначення гострої токсичності досліджуваних екстрактів проводили за методичними рекомендаціями Стефанова О.В., використовуючи класифікацію Сидорова К.К. [40, 82].

Всі тварини розподілялись випадковим чином за групами. В якості критерію прийнятності рандомізації вважали відсутність зовнішніх ознак захворювань і гомогенність груп за масою тіла ( $\pm 20\%$ ).

Для визначення напівлетальної дози ( $LD_{50}$ ), досліджуваних екстрактів, їх вводили білим щурам обох статей внутрішньошлунково за допомогою зонду у вигляді водної емульсії, стабілізованої Твін-80, одноразово. Тварини були розподілені на 5 груп по 6 тварин в кожній. Вводили кілька доз зразків, включаючи дозу, яка не викликає загибелі жодної тварини і дозу, що викликає загибель усіх тварин в групі. Після введення зразків ЛЕДГ та ЛЕДП вели спостереження протягом двох тижнів. Експериментальне дослідження тривало 14 днів. За цей період фіксували загальний стан та клінічні симптоми інтоксикації. Перед початком експерименту, а також на 2-у, 7-у, 14-у добу піддослідних тварин

зважували, проводили облік споживаної кількості їжі й води. На 14 день експерименту всі тварини були піддані евтаназії (тіопентал натрію – 40 мг/кг) з наступним патоморфологічним дослідженням [41, 46, 47, 94].

Розрахунок проводили за формулою (7):

$$ЛД_{50} = ЛД_{100} - \frac{\sum(Z \cdot d)}{n}, \quad (7)$$

де:  $Z$  – середня арифметична величина, отримана від поділу навпіл кількості загиблих від двох суміжних доз;

$d$  – інтервал між двома поруч стоячими дозами;

$n$  – кількість тварин для кожної дози.

Загиблі та живі тварини через два тижні спостережень досліджували патологоанатомічно.

## **2.6.2 Вивчення гепатопротекторної, антиоксидантної та гемостатичної активності**

Визначення специфічної гепатопротекторної, антиоксидантної та гемостатичної активності досліджуваних екстрактів проводили на моделі хронічного алкогольного гепатиту (ХАГ).

Експериментальний ХАГ викликали щоденним внутрішньошлунковим введенням щурам за допомогою металевго зонда 20 % етанолу в дозі 8 г/кг протягом 60 діб. Після введення етанолу протягом 30 діб внутрішньошлунково за допомогою металевго зонда вводили досліджувані ЛЕДГ та ЛЕДП і референс-препарат Гепабене, («MerckleGmbH»/«Ratiopharm International GmbH», Германия) 100 мг/кг [15, 64].

У цій серії експерименту було п'ять груп тварин:

I – інтактні (10 щурів);

II – контрольні – неліковані з хронічним алкогольним гепатитом, що отримували фізіологічний розчин (10 щурів);

III – тварини з хронічним алкогольним гепатитом (ХАГ), які одержували ЛЕДГ (10 щурів);

IV – тварини з ХАГ, які одержували ЛЕДП (10 щурів);

V – тварини з ХАГ, які одержували Гепабене (10 щурів).

Щодня реєстрували летальність. На 90 добу експерименту через 1 год. після ін'єкції препаратів тварин тестували за тривалістю тіопенталового сну, для визначення детоксикаційної функції печінки. Для цього тваринам усіх груп вводили внутрішньоочередно тіопентал-натрію (40 мг/кг). Після закінчення тесту тварин при ознаках пробудження виводили з експерименту шляхом декапітації. Для біохімічних досліджень забиралася кров і печінка.

Гепатопротекторну активність ЛЕДГ, ЛЕДП оцінювали по зниженню біохімічних маркерів – білірубіну, активності трансаміназ (АлАТ, АсАТ) у сироватці крові [15, 41] та зниженню тривалості тіопенталового сну експериментальних тварин [15].

Про антиоксидантну активність тест-зразків констатували за збільшенням активності СОД, зниженням продуктів окислювальної модифікації білку – АФГ і КФГ у печінці [48]. Кров забирали з черевної артерії шприцем. Відразу визначали показники згортання крові – час згортання і протромбіновий час, та концентрацію фібрину в крові [48, 77].

Сироватку крові отримували центрифугуванням – 3000 об/хв протягом 30 хв. (лабораторна центрифуга СМ-6). Сироватку крові зберігали у пластикових пробірках ( $-20^{\circ}\text{C}$ ). У сироватці крові визначали фібрин [77]. Печінку промивали охолодженим 0,15 М КСІ ( $4^{\circ}\text{C}$ ) 1:10. Відмиту печінку очищали від жиру, сполучної тканини, вирізали судини, з внутрішніх порожнин видаляли згустки крові і ще раз відмивали 0,15 М КСІ ( $4^{\circ}\text{C}$ ) 1:10. Потім гомогенізували в 10-кратному обсязі середовища при ( $2^{\circ}\text{C}$ ), що містить (в ммоль): сахарози - 250, трис-НСІ-буфера – 20, ЕДТА-1 (рН 7,4). За температури ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) методом диференційного центрифугування на рефрижераторній центрифuzі Sigma 3-30k (Німеччина) виділяли мітохондріальну фракцію [29, 48].

Для очищення мітохондріальної фракції від великих клітинних фрагментів попередньо проводилося центрифугування протягом 7 хв. при 1000g, а потім супернатант повторно центрифугували протягом 20 хв. при 17000g [48].

Активність трансаміназ (АлАТ, АсАТ) и білірубину в сировотці крові визначали на автоматичному біохімічному пристрої Prestige 24i. Використовували наступні тест-системи для оцінки біохімічних показників: АлТ № кат. – 4-416, АсТ № кат. – 4-14, загальний білірубін – № кат. 4-445 фірми Cormay (Polska). Для оцінки інтенсивності оксидативного стресу в цитозольній фракції гомогенату печінки визначали маркери окислювальної модифікації білку печінки – альдегідфенілгідрозони (АФГ) і карбоксифенілгідрозони (КФГ), а також нітротирозин [64].

Показники окислювальної модифікації білку (ОМБ) визначались за методом В. Halliwell за взаємодією окиснених амінокислотних залишків з 2,4-динітрофенілгідразиним (2,4-ДНФГ) й утворенням альдегідфенілгідрозонів (АФГ) і карбоксилфенілгідрозона (КФГ), які мають спектр поглинання 274 нм та 363 нм відповідно [64]. Нітротирозин визначали в цитозольній фракції гомогенату печінки твердофазним імуносорбентним сендвіч м методом ELISA, ELISA Kit (Cat. № НК 501-02) фірми Hycult Biotech.

### **2.6.3 Вивчення ранозагоювальної активності**

Для дослідження ранозагоювальної дії ліпофільних екстрактів з трави деревію пагорбового та деревію подового на лабораторних тваринах (білі безпородні щури обох статей, масою 220-240 г) була використана модель термічного опіку. Моделювали однакові за глибиною і площею опіки. Перед нанесенням опіку шерсть ретельно вистригали на ділянці 3x3 см, після чого прикладали на 5 с. мідну пластину розміром 10x10 мм, що нагрівається нікелевою спіраллю, що призводило до розвитку опіку ступенів 3 «а» і «б». Експеримент проводили під легким ефірним наркозом. Загоєння опіків відбувалося відкритим способом. Протягом усього експерименту оцінювали загальний стан піддослідних

тварин (колір шкіри і слизових, слинотеча, наявність крововиливів і тріщин, поведінку тварин, обсяг споживаної води і кількість спожитої їжі, активність, тремор), визначали масу тіла. Щодня визначали клінічні показники репаративної регенерації: швидкість епіталізації методом планіметрії, реєстрували ліквідацію перифокальної реакції, відторгнення струпа, поява грануляції, початок крайової епітелізації, повну епітелізацію.

Проводили дослідження активності ЛЕДП та ЛЕДГ і референс-препарату – мазі з олією обліпихи, виробництва ТОВ «Фітолік», Україна (Код АТС D03A X50) – засобу, що застосовується в медичній практиці для місцевого лікування опіків, ран, у порівнянні з нелікованими тваринами (контрольна група). У кожній групі було по 10 тварин. Досліджувані зразки і зразки з олією обліпиховою наносили на всю поверхню рани за допомогою ватного тампону раз на добу. Курс лікування становить 50 діб.

Для досліджень відібрали п'ять груп тварин:

1. Інтактні тварини (10 щурів).
2. Тварини, які отримали термічний опік (10 щурів).
3. Тварини з термічним опіком, яких лікували ЛЕДГ (10 щурів).
4. Тварини з термічним опіком, яких лікували ЛЕДП (10 щурів).
5. Тварини з термічним опіком, які отримували мазь з обліпихою (10 щурів).

На 50 добу експеримента тварин усіх груп наркотизували тіопенталом натрію (40 мг/кг). Потім у тварин відбирали кров з очеревинної артерії, переносячи її в заздалегідь заготовлені пробірки. У крові визначали молекулярні маркери запалення і оксидативного стресу. С-реактивний білок визначали твердофазним імуносорбентним сендвідж-методом ELISA, ELISA Kit фірми Biomerica (ReF: 7033, Lot 2349) і виражали в нг/л. Інтелейкін-1b (ІІ-1b) визначали твердофазним імуносорбентним сендвідж-методом ELISA, ELISA Kit фірми Bioscience (ReF: BMS224 HS, Lot 105505000) і виражали в пг/мл. Prestige 24i, використовуючи набір фірми Corning (№ каталога 4-480, серія 210-3131). Нітротирозин визначали твердофазним імуносорбентним сендвідж-методом



ELISA, ELISA Kit (Cat. № НК 501-02) фірми Hycult Biotech і виражали в нм/г тканини.

#### 2.6.4 Дослідження протимікробної та протигрибкової активності

Антимікробну активність серій ЛЕДГ та ЛЕДП досліджували на базі мікробіологічної лабораторії Навчального медико-лабораторного центра Запорізького державного медичного університету. Дослідження проводились під керівництвом зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології к.мед.н., Поліщук Н. М. Досліди виконували *in vitro* за допомогою диско-дифузійного методу з використанням еталонних тест-штамів, що відносились до різних груп мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* – ATCC 25923, *Escherichia coli* – ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* – ATCC 27853, *Pseudomonas vulgaris* – ATCC 4636, *Bacillus subtilis* – ATCC 6633, *Candida albicans* – ATCC 885-653 (дріжджоподібні гриби роду *Candida*).

При проведенні дослідів використовували добові культури бактерій, з яких у фізіологічному розчині готували суспензії густиною 0,5 за Мак-Фарландом, що відповідало  $5 \times 10^6$  КУО/мл для *Candida albicans* та  $1,5 \times 10^8$  КУО/мл для всіх інших мікрорганізмів.

Також для дослідів використовували паперові диски просочені ЛЕДГ та ЛЕДП. Для їх виготовлення брали готові паперові диски діаметром 6 мм, які в лабораторній практиці використовуються для просочування антибіотиками. Диск занурювали на декілька секунд, після чого його підсушували та використовували у дослідженнях.

Добову культуру тест-штаму засівали на поверхню агару Мюлера-Хінтона, підсушували впродовж 5-10 хв, потім на поверхню агару викладали просочені диски. Посіви інкубували при  $35 \pm 1$  °C протягом 18 год. у дослідженнях з *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas vulgaris* і *Staphylococcus aureus* та 48 год. в експериментах з *Candida albicans*.

Чутливість/резистентність до ліпофільних екстрактів визначали за наявністю/відсутністю зон затримки росту навколо диску з ліпофільним екстрактом. Діаметр затримки росту вимірювали в міліметрах з точністю до 1 мм. Вимірювання проводили у шести дослідах [67].

## **2.7 Статистична обробка отриманих результатів досліджень**

Результати досліджень розраховували із застосуванням стандартного статистичного пакету ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoftInc., №AXXR712D833214FAN5), а також «SPSS 16.0», «Microsoft Office Excell 2003».

Нормальність розподілення оцінювали за критерієм Shapiro-Wilk. Дані представлені у вигляді середнього значення. Достовірність відмінностей між середніми значеннями визначали за критерієм Стьюдента при нормальному розподілі. У разі розподілу, відмінного від нормального, або аналізу порядкових змінних використовували критерій U Mann-Whitney.

Для порівняння незалежних змінних в більш ніж двох вибірках застосовували дисперсійний аналіз (ANOVA) при нормальному розподілі або критерій Kruskal-Wallis для розподілу, відмінного від нормального. Для усіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності  $<0,05$  (95%) [26].

**РОЗДІЛ 3**  
**ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ**  
**БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН А. *COLLINA* І А. *MICRANTHOIDES***

**3.1 Дослідження летких сполук**

Ідентифікацію компонентів ефірної олії проводили при хроматографуванні етилацетатних витягів з листя та суцвіть досліджуваних видів методом ТШХ у рухомій фазі № 13. Фотографія типової хроматограми наведена на рис. 3.1.

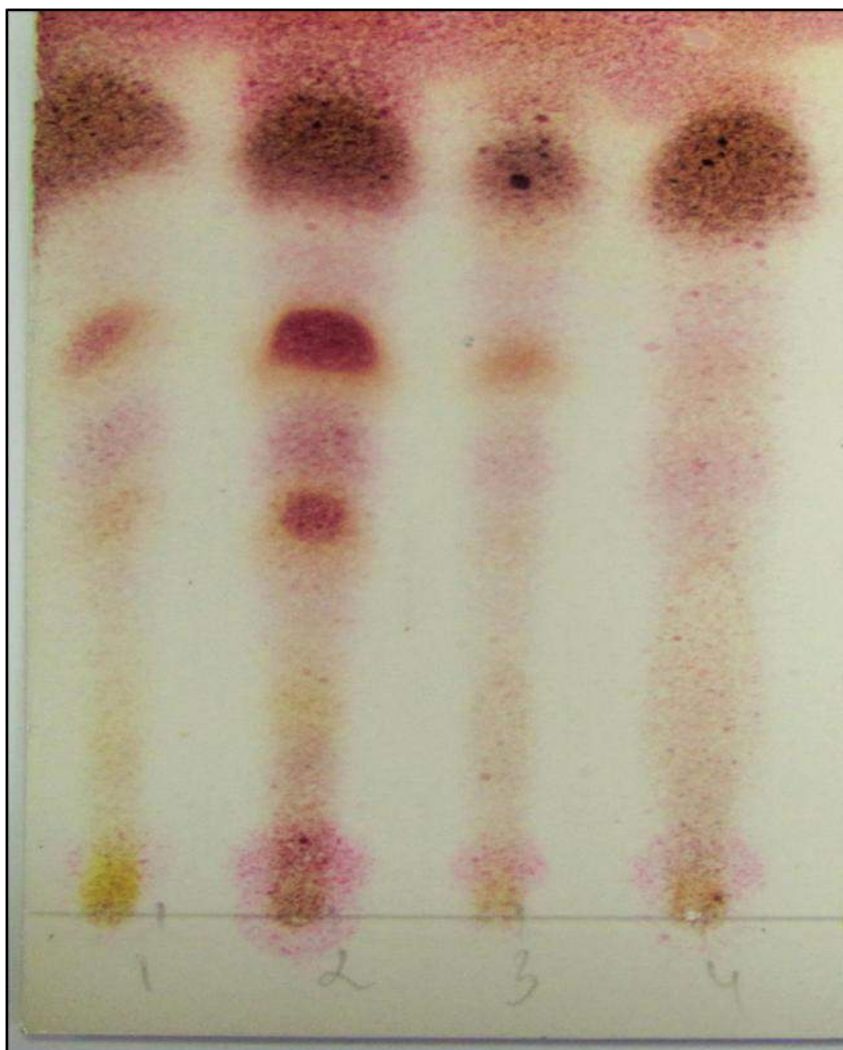


Рисунок. 3.1 – Фотографія хроматограми етилацетатних витягів сировини досліджуваних видів: 1 – листя *A. collina*, 2 – суцвіття *A. collina*, 3 – листя *A. micranthoides*, 4 – суцвіття *A. micranthoides*.

Після проявлення хроматограм реактивом Д (рис. 3.1) на ній відмічали зони забарвлені у червоний, синій, або фіолетовий колір. Так при аналізі отриманих хроматограм було виявлено не менше 15 зон різного ступеня інтенсивності та різного забарвлення, що свідчить про наявність у екстрактах з трави досліджуваних видів сполук терпенової природи.

Аналіз джерел літератури показав що, значна кількість досліджень рослин роду Деревій присвячена вивченню вмісту та складу ефірної олії [122, 124, 126, 127, 150, 151]. Так, найбільший вміст ефірної олії знайдено в *A. stepposa* – 3,5%, *A. rannonica* – 3,0%, *A. submillefolium* – 2,45% [14, 50, 78]. ДФУ регламентує вміст ефірної олії у траві *A. millefolium* не менше 2 мл/кг.

Для оцінки кількісного вмісту ефірної олії у досліджуваних видах сировини використовували метод гідродистиляції у апараті Клевенджера з послідуочим визначенням суми проазуленів, у перерахунку на хамазулен в отриманих оліях. Вміст ефірної олії визначений у %, у перерахунку на абсолютно суху сировину. Результати дослідження наведені у табл. 3.1.

Таблиця 3.1 – Вміст ефірної олії та суми проазуленів у траві *A. collina* та *A. micranthoides*, Запорізька обл., м. Славгород, липень 2017 р.

Сировина	<i>A. collina</i>		<i>A. micranthoides</i>	
	Вміст, %		Вміст, %	
	Ефірної олії	Проазуленів в ефірній олії	Ефірної олії	Проазуленів в ефірній олії
Суцвіття	3,22 ± 0,28	35,81 ± 0,81	3,04 ± 0,66	13,43 ± 0,52
Листя	1,67 ± 0,15	18,55 ± 0,54	1,11 ± 0,12	7,11 ± 0,33
Стебло	0,44 ± 0,09	4,33 ± 0,12	0,32 ± 0,15	1,36 ± 0,06
Трава	2,87 ± 0,24	21,77 ± 0,67	2,13 ± 0,21	9,06 ± 0,97

Як видно з таблиці, вихід ефірної олії з трави *A. micranthoides* дещо менший (2,13 ± 0,21 %) ні з трави *A. collina* (2,87 ± 0,24 %). Переважна кількість ефірної олії міститься саме у суцвіттях обох досліджуваних видів – листя містить майже у

три рази менше ефірної олії ніж суцвіття. Стебла обох видів містять мінімальну кількість ефірної олії, тому при розробці МКЯ на сировину слід регламентувати довжину стебла. Щодо суми проазуленів, то їх вміст у ефірній олії *A. collina* був практично у два рази вищий ніж у траві *A. micranthoides*.

Відомо, що проазулені, зокрема, хамазулен, володіють протизапальною, антибактеріальною, протиалергічною активністю, а високий їх вміст у ефірній олії трави *A. collina* дає підстави прогнозувати наявність цих видів активності у лікарських засобах на її основі.

У доступній нам літературі відомостей по компонентний склад ефірних олій досліджуваних видів сировини знайдено не було, тому одним з етапів нашої роботи стало дослідження якісного складу ефірних олій. Дослідження проводили методом ГХ/МС. Результати визначення компонентного складу ефірних олій досліджуваних видів наведені на рис. 3.2 та рис. 3.3 та представлені у табл. 3.2.

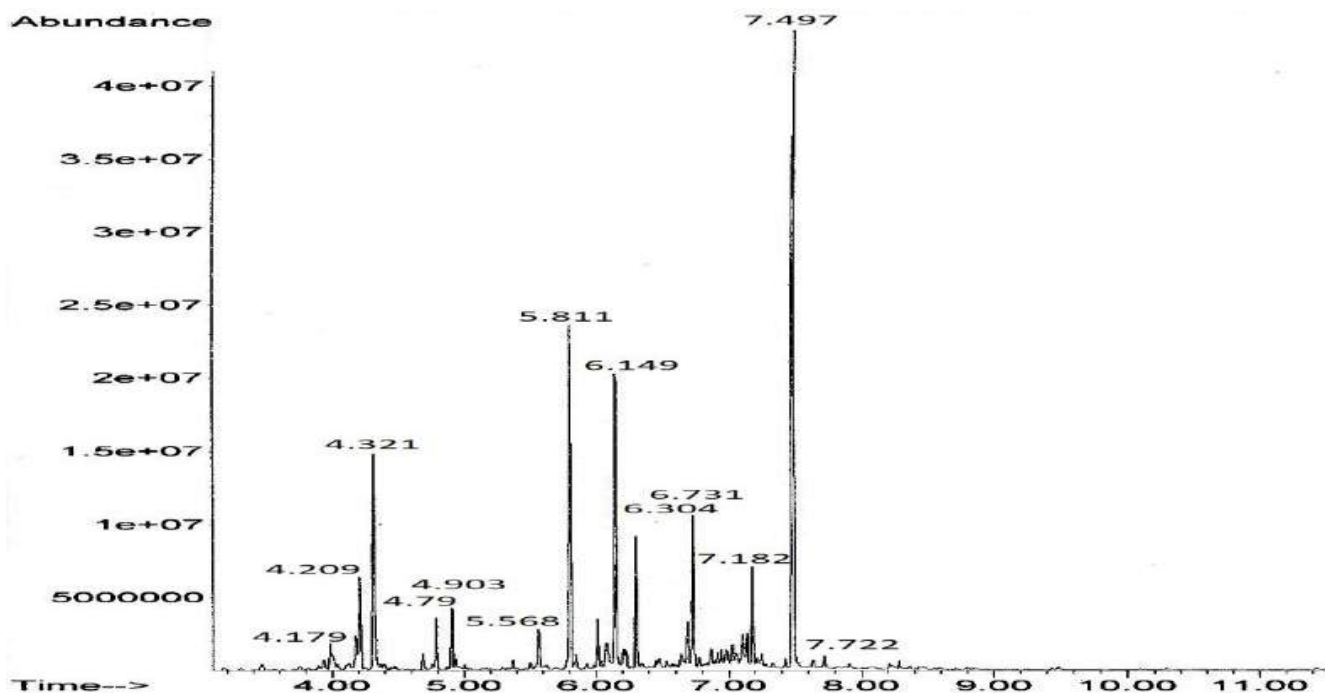


Рисунок 3.2 – ГХ-МС ефірної олії трави *A. collina*, м. Славгород, Запорізька обл., липень 2017 р.

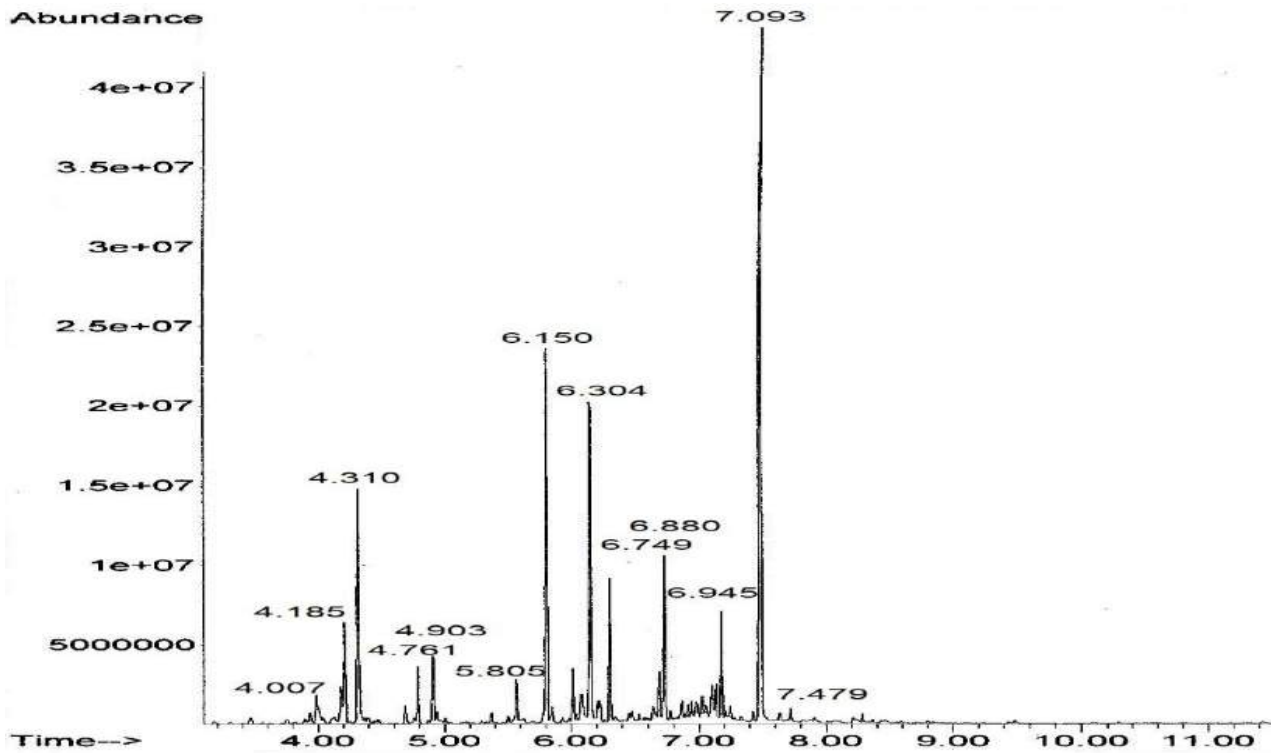


Рисунок 3.3 – ГХ-МС ефірної олії трави *A. micranthoides*, м. Славгород, Запорізькій обл., липень 2017 р.

Таблиця 3.2 – Компонентний склад ефірної олії з трави *A. collina* та *A. micranthoides*, Запорізька обл., м. Славгород, липень 2017 р.

Сполука	<i>A. collina</i>		<i>A. micranthoides</i>	
	Час утрим., хв	% від суми летких сполук	Час утрим., хв	% від суми летких сполук
1	2	3	4	5
$\alpha$ -пінен	3,467	0,31 $\pm$ 0,12	3,461	0,40 $\pm$ 0,20
камфен	3,935	0,41 $\pm$ 0,11	-	-
$\beta$ -пінен	3,989	1,55 $\pm$ 0,13	3,900	0,19 $\pm$ 0,11
мірцен	4,125	0,53 $\pm$ 0,12	3,9360	0,45 $\pm$ 0,11
борнеол	4,179	1,37 $\pm$ 0,11	4,310	4,21 $\pm$ 0,13
терпінен-4-ол	4,321	8,81 $\pm$ 0,07	4,476	0,28 $\pm$ 0,13
$\alpha$ -терпінеол	4,393	0,30 $\pm$ 0,20	4,684	0,26 $\pm$ 0,11

Продовж. табл. 3.2

1	2	3	4	5
цис-карвеол	4,689	0,60 ± 0,13	4,690	4,93 ± 0,20
туйен-2-іл ацетат	4,790	1,68 ± 0,11	3,176	8,84 ± 0,13
тимол	4,503	2,04 ± 0,14	4,498	7,31 ± 0,15
карвакрол	5,372	0,30 ± 0,07	5,503	0,58 ± 0,07
евгенол	5,568	1,60 ± 0,13	5,372	0,23 ± 0,11
каріофілен	5,811	11,60 ± 0,46	5,805	1,43 ± 0,20
гумулен	5,853	0,65 ± 0,08	5,902	1,45 ± 0,12
α-каріофілен	6,013	1,50 ± 0,11	6,749	18,39 ± 0,57
4,7-метилазулен	6,078	1,51 ± 0,14	6,250	1,81 ± 0,11
δ-кадінен	6,149	10,28 ± 0,13	6,150	6,80 ± 0,13
патхоулен	6,209	0,44 ± 0,08	7,058	0,59 ± 0,11
елемол	6,304	3,90 ± 0,57	6,589	0,28 ± 0,14
неролідол	6,476	0,35 ± 0,20	-	-
спатуленол	6,689	1,44 ± 0,08	6,684	1,41 ± 0,11
каріофіленоксид	6,731	4,81 ± 0,07	6,749	18,39 ± 1,75
вірідіфлорол	6,779	0,30 ± 0,39	-	-
β-гумулен	6,868	0,58 ± 0,14	6,078	1,45 ± 0,39
гермакрен-D	6,915	0,50 ± 0,17	6,209	0,46 ± 0,20
α-каріофіленол	6,945	0,58 ± 0,20	6,541	1,57 ± 0,11
зінгіберенол	6,980	0,95 ± 0,18	-	-
фарнезол	7,028	0,76 ± 0,07	10,542	0,39 ± 0,20
β-евдесмол	7,057	0,59 ± 0,17	6,945	4,59 ± 1,75
α-евдесмол	7,105	1,36 ± 0,07	6,980	1,27 ± 0,39
α-кадінол	7,141	1,05 ± 0,20	6,304	1,81 ± 0,14
γ-костол	7,182	2,86 ± 0,57	-	-
8-епі-α-бісаболл	7,253	0,44 ± 0,20	7,253	0,69 ± 0,07

Продовж. табл. 3.2

1	2	3	4	5
$\alpha$ -бісаболол	7,431	0,29 $\pm$ 0,17	7,337	0,21 $\pm$ 0,07
хамазулен	7,497	28,61 $\pm$ 1,75	7,479	0,78 $\pm$ 0,39
$\alpha$ -феландрен	7,639	0,34 $\pm$ 0,07	10,542	5,51 $\pm$ 0,17
фарнезілацетат	7,722	0,47 $\pm$ 0,39	10,544	0,39 $\pm$ 0,08
булнезол		-	7,093	11,29 $\pm$ 1,75
міртенол		-	10,612	1,57 $\pm$ 0,14

Методом ГХ-МС встановлено наявність в ефірній олії трави *A. collina* 40 сполук, що становило 85,10 % від загальної кількості ідентифікованих сполук. Домінуючими компонентами були: хамазулен (28,61  $\pm$  1,75 %), каріофілен (11,60  $\pm$  0,46 %),  $\delta$ -кадінен (10,28  $\pm$  0,13 %), терпінен-4-ол (8,81  $\pm$  0,07 %) та каріофілен оксид (4,81  $\pm$  0,07 %).

В ефірній олії трави *A. micranthoides* було ідентифіковано 32 сполуки. Домінуючими компонентами виявились: каріофілен оксид (18,39  $\pm$  1,75 %),  $\alpha$ -каріофілен (18,39  $\pm$  0,57 %), булнезол (11,29  $\pm$  1,75 %), туйен-2-іл ацетат (8,84  $\pm$  0,13 %),  $\delta$ -кадінен (6,80  $\pm$  0,13 %),  $\alpha$ -феландрен (5,51  $\pm$  0,17 %).

Як показав аналіз отриманих даних, домінуючими компонентами ефірної олії досліджувальних видів є такі монотерпени:  $\alpha$ -пінен,  $\beta$ -пінен, сабінен, 1,8-цинеол. Сесквітерпеноїди представлені хамазуленом та його похідними, каріофіленом,  $\delta$ -кадіненом, каріофілен оксидом.

Порівняння компонентів ефірної олії фармакопейного виду д. звичайного з досліджувальними видами показав значні відмінності у складі окремих компонентів та їх вмісту. У ефірній олії д. пагорбового та д. подового домінуючими є сесквітерпени: хамазулен та його похідні, каріофілен,  $\delta$ -кадінен, каріофілен оксид. Азулен та його похідні мають широкий спектр біологічної активності. Відома їх протизапальна, бактеріостатична, антисептична дія. У зв'язку з довшим періодом вегетації досліджуваних видів, ніж у д. звичайного, накопичуються більш високі концентрації БАР у д. пагорбовому та д. подовому,



зокрема азулен та його похідні. Таким чином, докладне вивчення динаміки накопичення окремих компонентів ефірної олії є перспективним напрямком для подальших досліджень.

Компонентний склад летких сполук настоянок, досліджуваних видів вивчали методом ГХ-МС. Хроматограми летких сполук наведено на рис. 3.3, 3.4. час утримання ідентифікованих речовин та їх кількісний вміст наведено у табл. 3.4 та 3.5.

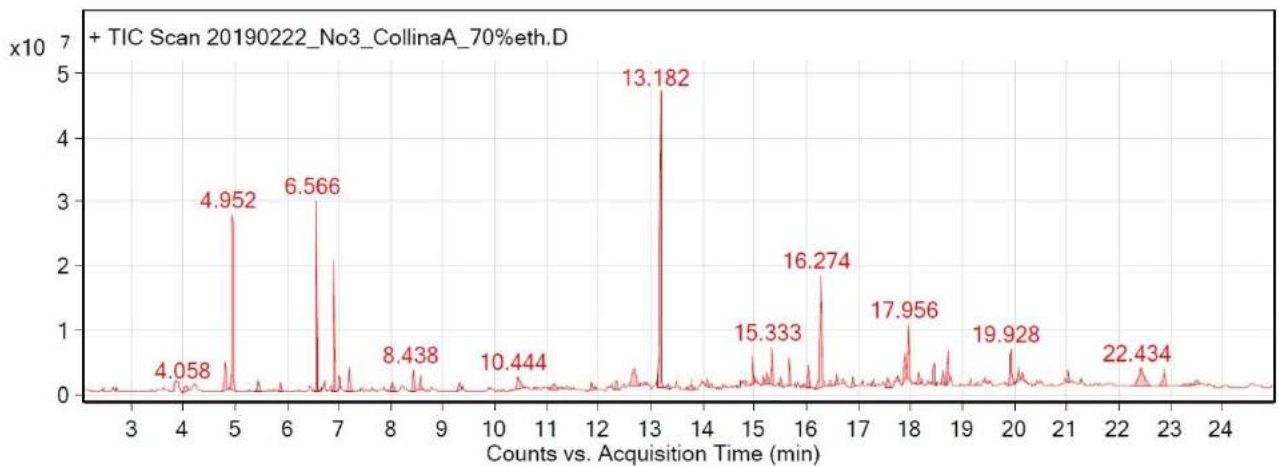


Рисунок 3.4 – ГХ-МС летких сполук *A. collina*.

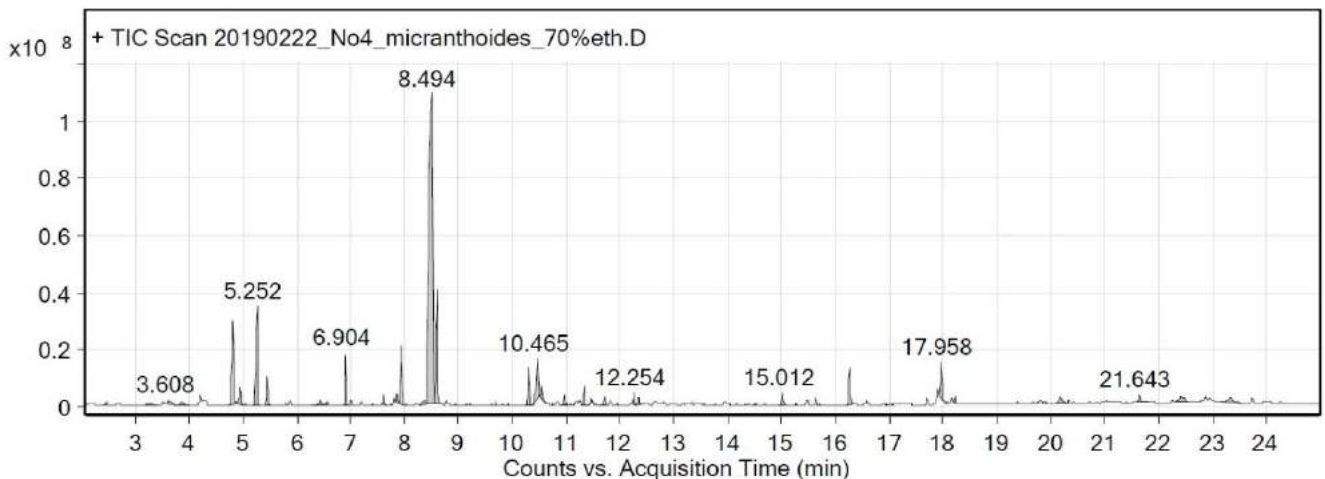


Рисунок 3.5 – ГХ-МС летких сполук *A. micranthoides*.

За результатом аналізу у настоянці з трави *A. collina* було ідентифіковано та визначено кількісний вміст 10 летких сполук, серед яких у найбільшій кількості накопичується нафталенментанол, еукаліптол.

У настоянці трави *A. micranthoides* визначений вміст 9 летких речовин. За кількісним вмістом переважали тимол та  $\gamma$ -терпієн, 3-метил-4-ізопропілфенол, тімоквієн.

Таблиця 3.3 – Компонентний склад та кількісний вміст ідентифікованих летких сполук настоянки трави *A. collina*, Запорізька обл., липень 2017 р.

Час утримання, хв	Назва сполуки	Кількісний вміст, %
4,952	Еукаліптол	12,41 $\pm$ 0,12
6,566	2-Борнанон	8,39 $\pm$ 0,09
6,905	Біцикло гептан 2-ол	5,88 $\pm$ 0,06
8,571	Тимол	15,01 $\pm$ 0,15
13,182	Нафталенментанол	15,61 $\pm$ 0,16
14,963	2-Гідроксипропан	1,47 $\pm$ 0,15
16,274	Гексадеканова кислота	8,61 $\pm$ 0,09
17,956	Васенова кислота	3,06 $\pm$ 0,04
19,928	Реуносин	1,41 $\pm$ 0,14
22,434	Еукосан	0,79 $\pm$ 0,08

Таблиця 3.4 – Компонентний склад та кількісний вміст домінуючих летких сполук настоянки трави *A. micranthoides*, Запорізька обл., липень 2017р

Час утримання, хв	Назва сполуки	Кількісний вміст, %
5,252	$\gamma$ - терпієн	17,30 $\pm$ 0,18
6,904	біцикло-гептан	5,85 $\pm$ 0,06
7,937	тімоквієн	10,02 $\pm$ 0,01
8,494	тимол	45,00 $\pm$ 0,45
8,597	3-метил-4-ізопропілфенол	14,24 $\pm$ 0,15
10,304	каріофілен	6,06 $\pm$ 0,06
10,465	P-каміндіон	3,19 $\pm$ 0,04
10,542	аромадендрен	2,73 $\pm$ 0,03
10,964	нафтален	2,12 $\pm$ 0,02

Відмінністю сировини д. подового від іншого виду є наявність у більшій кількості компонентів ефірної олії, а саме: каріофілену, каріофілен оксиду,

аромадендрену,  $\gamma$ -терпінену. Тимолу було майже у 3 рази більше, ніж у настоянці трави д. пагорбового.

### 3.2 Дослідження флавоноїдів

Фармакологічна дія флавоноїдів залежить від їх класу. Для ізофлавоноїдів характерна естрогенна, для катехинів – в'язуча та протизапальна дія на слизові оболонки; флавоноли викликають спазмолітичний, гіпотензивний, бактерицидний ефект. Як спазмолітики діють також халкони, флавоноли (ліквіритин), флавоноли (кверцетин, рутин), флавоноли (апигенін). Помірну протипухлинну дію виявляють лейкоантоціанідини – пеларгонідин, дельфінідин, ціанідин [6, 8, 11, 157, 160, 163].

На даний час компонентний склад та кількісний вміст поліфенольних сполук у рослинній сировині *A. micranthoides* та *A. collina* майже не досліджено.

В результаті проведених хроматографічних досліджень у траві обох досліджуваних видів, у порівнянні з стандартними зразками флавоноїдів ідентифіковано апигенін, лютеолін, кверцетин та рутин.

Вміст суми флавоноїдів у досліджуваних видах сировини визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на лютеолін та абсолютно суху сировину. Перерахунок вмісту суми флавоноїдів проводили на лютеолін, тому що при ідентифікації сполук методом ВЕРХ, встановлено, що домінуючими за вмістом є флавоноли – апигенін та лютеолін. Для більш повної оцінки вмісту суми флавоноїдів було обрано метод в якому одночасно з екстракцією флавоноїдів із сировини проводять гідроліз їх глікозидів кислотою хлористоводневою.

Результати визначення вмісту суми флавоноїдів наведені у таблиці 3.5.

Вміст суми флавоноїдів у траві *A. collina* склав  $2,61 \pm 0,12$  %, у траві *A. micranthoides* –  $2,37 \pm 0,14$  %. За літературними даними, у траві д. звичайного міститься до 3 % флавоноїдів (лютеолін, космосиїн, рутин, арметин, кастицин, кемпферол, глікозиди кверцетину, кемпферолу, ізорамнетину) [14, 50, 78], що корелюється з одержаними нами результатами.

Таблиця 3.5 – Вміст суми флавоноїдів у траві *A. collina* та *A. micranthoides*, Запорізька обл., м. Славгород, липень 2017 р.

Сировина	Вміст, %	
	<i>A. collina</i>	<i>A. micranthoides</i>
Суцвіття	3,17 ± 0,21	2,85 ± 0,32
Листя	2,46 ± 0,17	1,34 ± 0,27
Стебло	0,66 ± 0,07	0,42 ± 0,09
Трава	2,61 ± 0,12	2,37 ± 0,14

У найбільшій кількості флавоноїди накопичуються у суцвіттях обох видів і їх вміст досить близький, проте листя *A. collina* містять практично двічі більше флавоноїдів ніж *A. micranthoides*. Найменша кількість флавоноїдів зафіксована у стеблах обох рослин.

### 3.3 Дослідження гідроксикоричних кислот

На хроматограмах гідроксикоричні кислоти виявляли за характерною блакитною флуоресценцією в УФ-світлі, які ставали інтенсивнішими при обробці парами амоніаку. При обробці хроматограм реактивом Г у денному світлі зони набували темно-зеленого кольору.

В результаті хроматографічних досліджень у траві досліджуваних видів у порівнянні з достовірними зразками гідроксикоричних кислот, встановлено присутність хлорогенової та кофейної кислот.

Визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот у траві досліджуваних видів сировини визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на хлорогенову кислоту та абсолютно суху сировину. Результати дослідження представлені у табл. 3.6.

Таблиця 3.6 – Вміст суми гідроксикоричних кислот у траві *A. collina* та *A. micranthoides*, Запорізька обл., м. Славгород, липень 2017 р.

Сировина	Вміст, %	
	<i>A. collina</i>	<i>A. micranthoides</i>
Суцвіття	1,72 ± 0,17	1,35 ± 0,27
Листя	2,13 ± 0,21	2,28 ± 0,32
Стебло	0,14 ± 0,07	0,12 ± 0,09
Трава	1,64 ± 0,12	1,13 ± 0,14

Вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та абсолютно суху сировину у траві *A. collina* склав  $1,64 \pm 0,06$  %, у траві *A. micranthoides* –  $1,13 \pm 0,07$  %. Найбільшу кількість гідроксикоричних кислот було виявлено у листі, найменшу (практично у 15 разів) у стеблах.

### 3.4 Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ

Більш докладне уявлення про якісний склад та кількісний вміст сполук фенольної природи у траві досліджуваних видів отримали при аналізі сировини методом ВЕРХ. Хроматографічні профілі дослідження фенольних сполук трави *A. collina* та *A. micranthoides* наведені на рис. 3.6 та 3.7.

Склад та вміст ідентифікованих фенольних сполук у перерахунку на абсолютно суху сировину у траві досліджуваних видів наведений у табл. 3.7.

За результатами ВЕРХ аналізу, у траві *A. collina* ідентифіковано 12 флавоноїдів (загальний вміст  $1,26 \pm 0,13$  %) та 11 гідроксикоричних кислот ( $0,93 \pm 0,09$  %); у траві *A. micranthoides* – 8 флавоноїдів ( $1,17 \pm 0,12$  %) та 12 гідроксикоричних кислот ( $0,83 \pm 0,05$  %). Більшість ідентифікованих сполук виявились спільними для обох досліджуваних видів і їх кількісний вміст істотно не відрізнявся. Серед гідроксикоричних кислот за вмістом домінують хлорогенова, кофейна та криптохлорогенова кислоти.

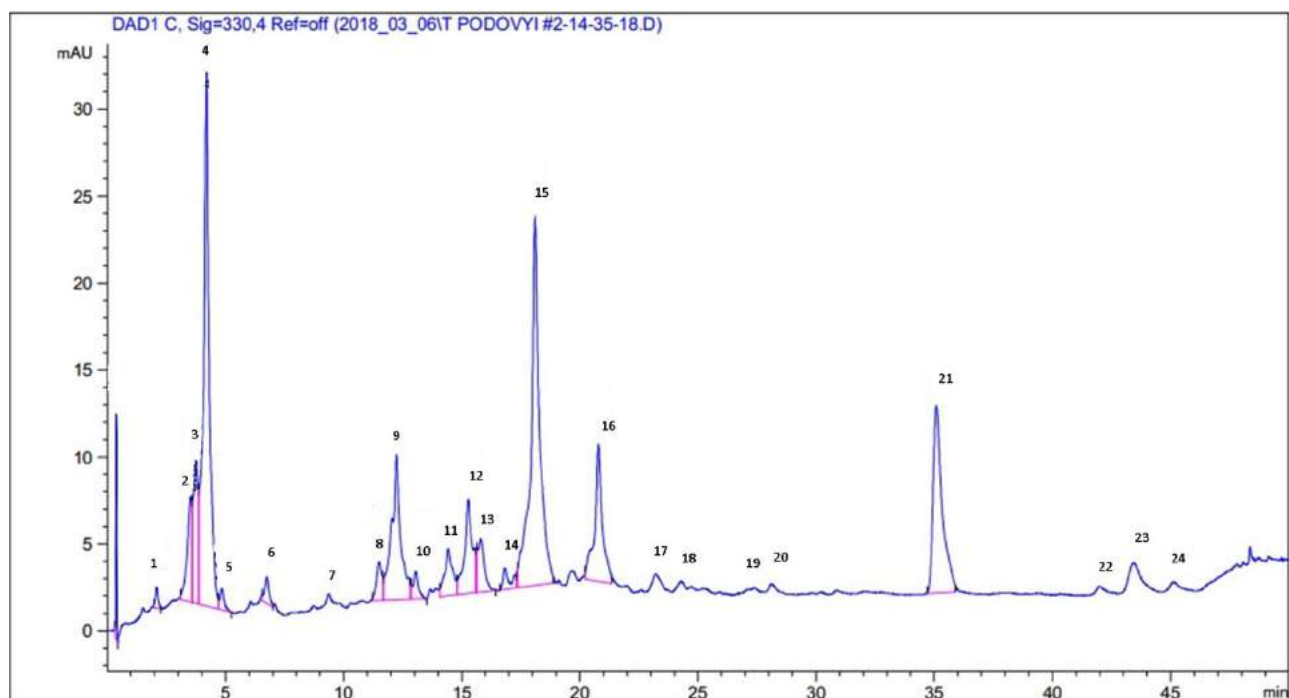


Рисунок 3.6 – ВЕРХ-хроматограма фенольних сполук у траві *A. collina*. 1 – *n*-кумарова кислота; 2 – ферулова кислота; 3 – кофейна кислота; 4 – хлорогенова кислота; 5 – ізохлорогенова кислота; 6 – неохлорогенова кислота; 7 – криптохлорогенова кислота; 8 – ізовітексин; 9 – лютеолін-6-С-глюкозид; 10 – сапонарін; 11 – лютеолін-7,3'-диглюкозид; 12 – кверцетин-3-О-рутинозид; 13 – рутин; 14 – ізорамнетин-О-ацетилгексозид; 15 – апігенін-7,4'-ди-О-глюкозид; 16 – лютеолін-7-О-глюкозид; 17 – 3,4-О-дикавоїлхінна кислота; 18 – 3,5-О-дикавоїлхінна кислота; 19 – 4,5-О-дикавоїлхінна кислота; 20 – розмаринова кислота; 21 – апігенин-7-О-глюкозид; 22 – лютеолін; 23 – апігенін; 24 – хризаріол.

Таблиця 3.7 – Якісний склад та кількісний вміст сполук фенольної природи у траві досліджуваних видів, Запорізька обл.,

№ з/п	Сполука	<i>A. collina</i>		<i>A. micranthoides</i>	
		Час утрим. (хв.)	Кількісний вміст, %	Час утрим. (хв.)	Кількісний вміст, %
1	2	3	4	5	6
Гідроксикоричні кислоти					
1	<i>n</i> -Кумарова кислота	2,10	0,07 ± 0,01	2,49	0,01 ± 0,01
2	Ферулова кислота	3,53	0,01 ± 0,01	–	–

Продовж. табл. 3.7

1	2	3	4	5	6
3	Кофейна кислота	3,75	0,01 ± 0,01	3,91	0,26 ± 0,03
4	Хлорогенова кислота	4,20	0,42 ± 0,03	4,50	0,41 ± 0,03
5	Ізохлорогенова кислота	4,85	0,08 ± 0,01	4,91	0,05 ± 0,01
6	Неохлорогенова кислота	6,75	0,04 ± 0,01	6,82	0,05 ± 0,01
7	Криптохлорогенова кислота	9,45	0,17 ± 0,01	9,41	0,01 ± 0,01
8	Розмаринова кислота	35,10	0,04 ± 0,02	27,35	0,01 ± 0,01
9	3,4-О-дикавоїлхінна кислота	20,79	0,03 ± 0,01	12,40	0,03 ± 0,01
10	3,5-О-дикавоїлхінна кислота	23,39	0,02 ± 0,01	-	-
11	4,5-О-дикавоїлхінна кислота	27,50	0,04 ± 0,01	-	-
Флавоноїди					
12	Ізовітексин	11,51	0,02 ± 0,01	11,81	0,01 ± 0,01
13	Сапонарин	11,72	0,03 ± 0,01	-	-
14	Кверцетин-3-О-рутинозид	15,28	0,07 ± 0,01	15,31	0,21 ± 0,01
15	Ізорамнетин-О-ацетил-гексозид	18,10	0,06 ± 0,01	16,82	0,01 ± 0,01
16	Лютеолін-7,3'-ди-глюкозид	12,25	0,02 ± 0,01	14,41	0,02 ± 0,01
17	Лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид	19,79	0,19 ± 0,02	20,85	0,15 ± 0,02
18	Лютеолін- 6-С-глюкозид	12,25	0,17 ± 0,01	23,40	0,20 ± 0,01
19	Апігенін-7,4'-ди-О-глюкозид	16,84	0,34 ± 0,04	18,30	0,38 ± 0,05
20	Апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозид	28,34	0,25 ± 0,02	35,61	0,10 ± 0,01

1	2	3	4	5	6
21	Апігенін-5-О-β-D- глюко-піранозид	-	-	43,62	0,03 ± 0,01
22	Кемпферол	-	-	45,31	0,03 ± 0,01
23	Лютеолін	42,01	0,03 ± 0,01	48,52	0,02 ± 0,01
24	Апігенін	43,29	0,05 ± 0,01	49,30	0,01 ± 0,01
25	Хризариол	45,18	0,03 ± 0,01	-	-
Сума флавоноїдів (%)		1,26 ± 0,13		1,17 ± 0,12	
Сума гкк (%)		0,93 ± 0,07		0,83 ± 0,05	

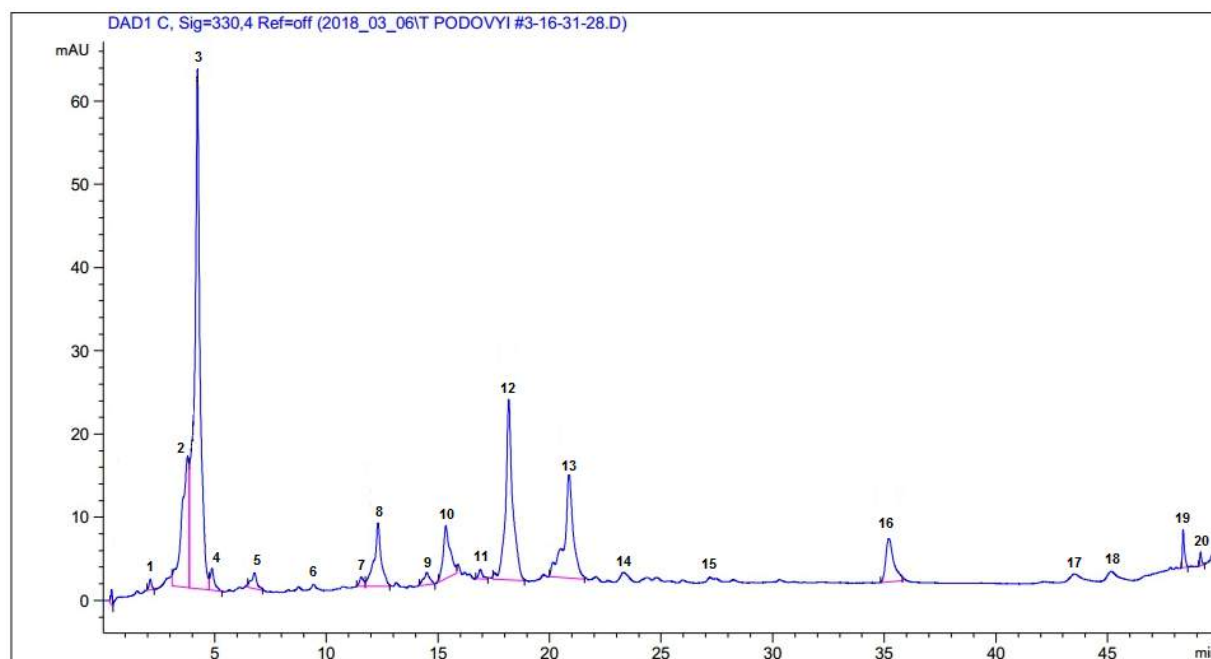


Рисунок 3.7 – ВЕРХ-хроматограма фенольних сполук трави *A. micranthoides*. 1 – *n*-кумарова кислота; 2 – кофейна кислота; 3 – хлорогенова кислота; 4 – ізохлорогенова кислота; 5 – неохлорогенова кислота; 6 – криптохлорогенова кислота; 7 – ізовітексин; 8 – лютеолін-6-С-глюкозид; 9 – лютеолін-7,3'-ди-О-глюкозид; 10 – кверцетин-3-О-рутинозид; 11 – ізорамнетин-О-ацетилгексозид; 12 – апігенін-7,4'-ди-О-глюкозид; 13 – лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид; 14 – 3,4-О-дикавоїл хінна кислота; 15 – розмаринова кислота; 16 – апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозид; 17 – апігенін-5-О-β-D-глюкопіранозид; 18 – кемпферол; 19 – лютеолін; 20 – апігенін.



Вміст гідроксикоричних кислот і траві *A. collina* виявився вищим ніж у траві *A. micranthoides*: *n*-кумарової кислоти – у 7 разів, криптохлорогенової – у 17 разів. В той же час вміст кофейної кислоти, навпаки, виявився значно вищим у траві *A. collina*.

В обох досліджуваних видах, серед флавоноїдів домінують за вмістом глікозиди флавонів – апігеніна та лютеоліна: апігенін-7,4'-ди-О-глюкозид, апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозид, лютеолін- 6-С-глюкозид, лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид.

### 3.5 Дослідження поліфенольних сполук

За допомогою загальноприйнятих якісних реакцій (з 1% розчином желатини, 1% розчином хініну гідро хлориду, 30% розчином феруму (III) амонію сульфату та 1% розчином феруму (III) хлориду) у траві досліджуваних видів підтверджено наявність дубильних речовин конденсованої групи.

При перегляді хроматограм водних витягів у траві *A. collina* та *A. micranthoides* встановлено наявність не менш як 20 речовин, які при обробці реактивами А, Б, В, Г проявляли властивості фенольних сполук.

Вміст суми поліфенольних сполук визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на пірагалол і абсолютно суху сировину [22]. Результати дослідження наведені у таблиці 3.8.

Таблиця 3.8 – Вміст суми поліфенольних сполук у траві *A. collina* та *A. micranthoides*, Запорізька обл., м. Славгород, липень 2017 р.

Сировина	Вміст, %	
	<i>A. collina</i>	<i>A. micranthoides</i>
Суцвіття	3,67 ± 0,36	3,13 ± 0,74
Листя	5,33 ± 0,77	4,32 ± 0,55
Стебло	1,14 ± 0,07	1,56 ± 0,08
Трава	4,23 ± 0,17	3,48 ± 0,14

В результаті дослідження встановлено, що вміст суми поліфенольних сполук у траві *A. collina* склав  $4,23 \pm 0,17$  %, у траві *A. micranthoides* –  $3,48 \pm 0,14$  %. Вміст суми поліфенолів виявився найвищим у листі обох видів, найменший – у стеблах. Згідно ДФУ, вміст суми поліфенольних сполук у траві д. звичайного має становити не менше 2%, що корелюється з результатами нашого дослідження. За даними ряду авторів [14, 50, 51, 78], що досліджували інші види, які зростають на території України (*A. distans*, *A. stricta*, *A. millefolium*, *A. pannonica*, *A. setacea*, *A. carpatica*) вміст поліфенольних сполук у траві сягає 3,5-5,05%.

Результати вивчення якісного складу та кількісного вмісту поліфенольних сполук у траві досліджуваних видів наведено у табл. 3.9. ВЕРХ-хроматограми даного експерименту наведені на рис. 3.8 та 3.9.

Таблиця 3.9 – Якісний склад та кількісний вміст сполук поліфенольної природи у траві *A. collina* та *A. micranthoides*, Запорізька обл.

№ з/п	Сполука	<i>A. collina</i>		<i>A. micranthoides</i>	
		Час утрим.(хв.)	Кількісний вміст, %	Час утрим.(хв.)	Кількісний вміст, %
1	Елагова кислота	1,162	$0,06 \pm 0,01$	2,119	$0,05 \pm 0,01$
2	Галова кислота	1,809	$0,80 \pm 0,02$	4,379	$0,70 \pm 0,03$
3	3,5-дигідрокси-бензойна кислота	3,982	$0,02 \pm 0,01$	4,839	$0,02 \pm 0,01$
4	Катехін	4,834	$0,06 \pm 0,01$	7,333	$0,06 \pm 0,02$
5	2,5-дигідрокси-бензойна кислота	5,982	$0,02 \pm 0,01$	9,810	$0,02 \pm 0,01$
6	Епігалокатехін	7,880	$0,07 \pm 0,02$	12,233	$0,07 \pm 0,03$
7	Епігалокатехінгалат	11,11	$0,10 \pm 0,01$	15,308	$0,10 \pm 0,01$
8	Епікатехін	16,353	$2,8 \pm 0,04$	17,518	$2,10 \pm 0,05$
9	Епікатехінгалат	20,337	$0,12 \pm 0,02$	18,229	$0,12 \pm 0,01$
10	Галокатехін	24,765	$0,08 \pm 0,01$	18,572	$0,13 \pm 0,02$
11	Галокатехінгалат	-	-	20,205	$0,09 \pm 0,01$
12	3,4,5-триметокси-цинамонова кислота	27,110	$0,02 \pm 0,01$	24,898	$0,02 \pm 0,01$
Сума поліфенольних сполук			$4,05 \pm 0,03$	$3,48 \pm 0,02$	

За результатами експерименту у траві *A. collina* ідентифіковано 11 сполук, загальним вмістом  $4,05 \pm 0,07$  %; у траві *A. micranthoides* – 12 сполук, загальним вмістом  $3,48 \pm 0,09$  % відповідно. У найбільшій кількості у сировині досліджуваних видів містяться: епікатехін, галова кислота, епікатехінгалат, галокатехін.

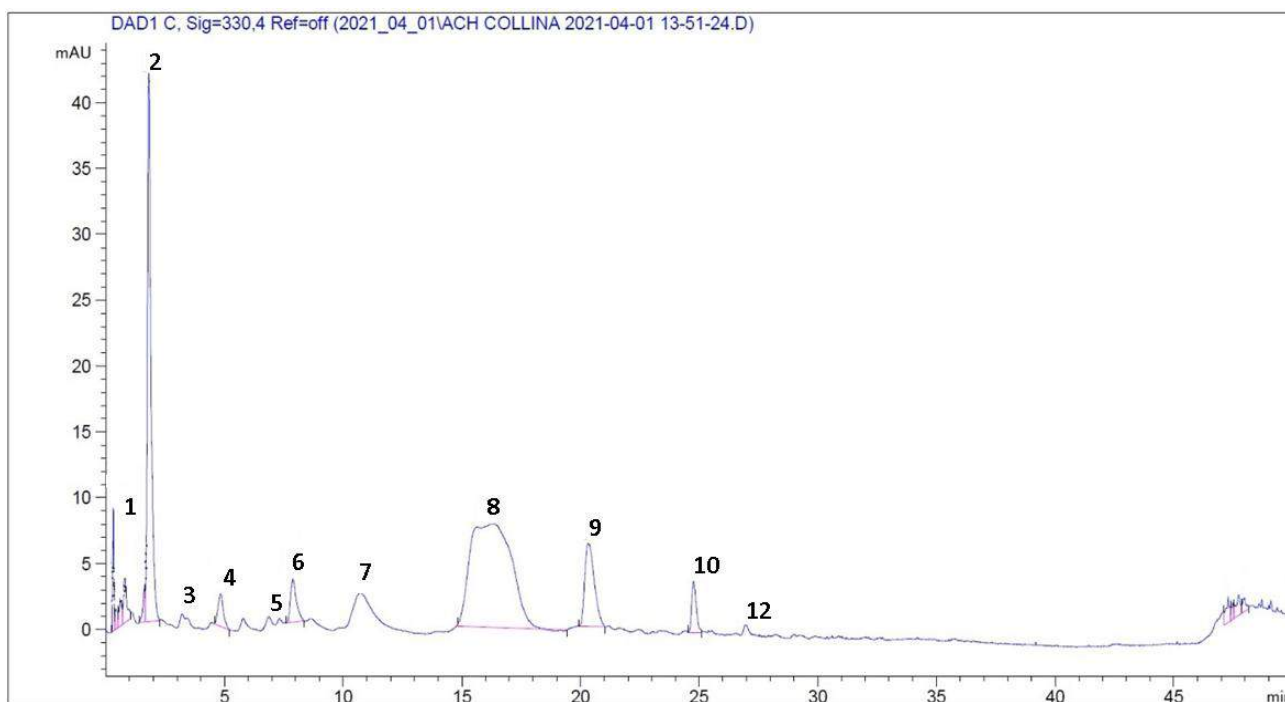


Рисунок 3.8 – ВЕРХ-хроматограма поліфенольних сполук трави *A. collina*. 1 – елагова кислота, 2 – галова кислота, 3 – катехін, 4 – епігалокатехін, 5 – епігалокатехінгалат, 6 – епікатехін, 7 – епікатехінгалат, 8 – галокатехін, 9 – 3,4,5-триметоксицинамонова кислота, 10 – галокатехін, 12 – 3,4,5-триметоксицинамонова кислота

Висока частка епікатехіну та галової кислоти дозволяють припустити, що в клітинах досліджувальних рослин основну частину танінів складають конденсовані таніни. Використовуючи дані ВЕРХ і кількісного аналізу суми поліфенольних сполук визначеного спектрофотометричним методом, ми припускаємо, що основна частина досліджених речовин складають поліфеноли, імовірно є танінами. Конденсовані таніни мають властивості антиоксидантів. Вони мають антиканцерогені, антисклеротичні і антиалергічні властивості [48, 53, 81].

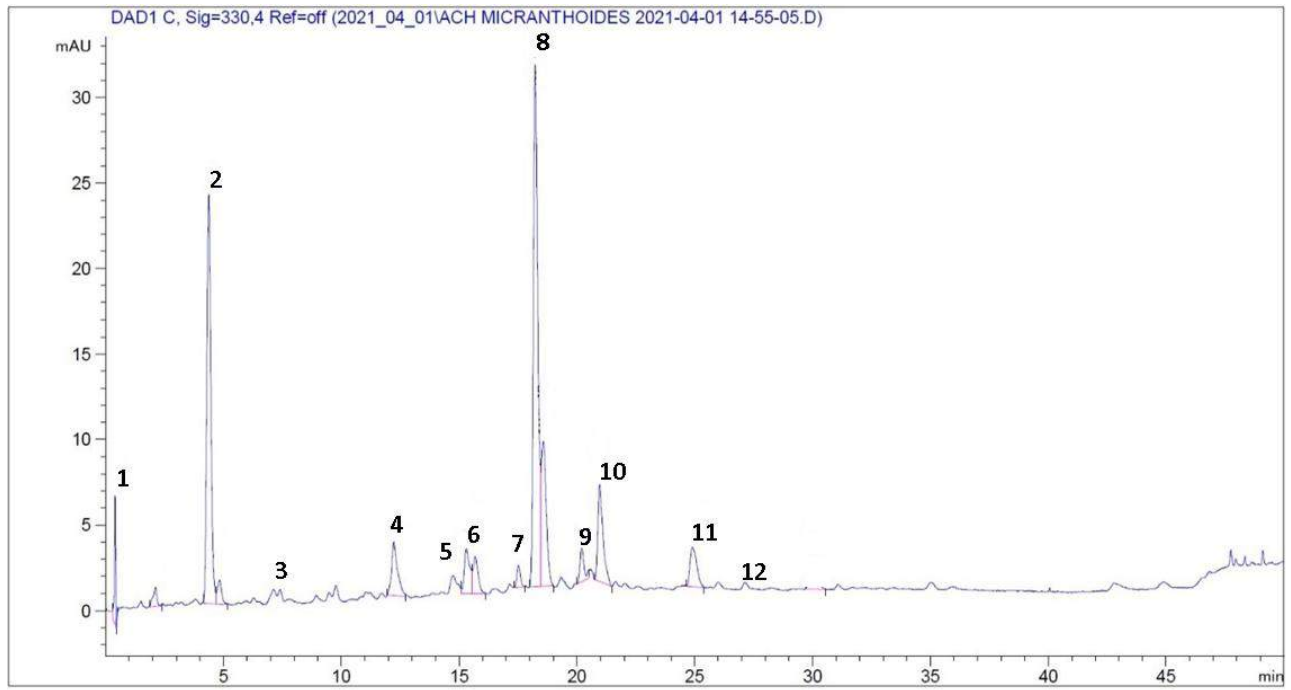


Рисунок 3.9 – ВЕРХ-хроматограма сполук поліфенольної природи *A. micranthoides*. 1 – елагова кислота, 2 – галова кислота, 3 – 3,5-дигідрокси-бензойна кислота, 4 – катехін, 5 – 2,5-дигідрокси-бензойна кислота, 6 – епігалокатехін, 7 – епігалокатехін галат, 8 – епікатехін, 9 – епікатехінгалат, 10 – галокатехін, 11 – галокатехінгалат, 12 – 3,4,5-триметокси-цинамонова кислота.

За антиоксидантною активністю вони в десятки разів перевершують вітаміни С, Е і каротиноїди. Їх відносять до речовин, які мають Р-вітамінну активність, регулюють проникність капілярів і сприяють підвищенню пружності їх стінок [5].

Поліфенольні сполуки, за літературними даними проявляють антиоксидантну, протизапальну, антимуґагенну активність.

Однією з основних причин патологічних змін в людському організмі, що призводять до передчасного старіння і розвитку багатьох хвороб, таких як серцево-судинні та онкологічні захворювання, є надмірний вміст у біологічних рідинах вільних кисневих радикалів. Таким чином, досліджувана нами сировина та екстракти отримані з неї імовірно можуть виявляти антиоксидантні, капілярозміцнюючі властивості.

### 3.6 Дослідження вітаміну K<sub>1</sub>

Види роду *Achillea* L. містять біологічно активні речовини, що проявляють гемостатичну активність. Одним з них є похідні 2-метил-3-фітил-1,4-нафтохінон. Вітамін K<sub>1</sub> (філохінон) синтезується зеленими рослинами. Вітаміни групи К в дозі 1 мкг/кг маси тіла людини на добу, необхідні організму для нормального утворення в печінці білків плазми крові: проконвертину, протромбіну, факторів Стюарта та Крісмасу. При їх нестачі в організмі синтезуються, так звані, дефектні молекули протромбіну, які не здатні створювати комплекси з іонами кальцію.

При перегляді хроматограм у видимому світлі та після обробки хромогенним реактивом Е, у всіх досліджуваних зразках у порівнянні з достовірним зразком було встановлено присутність вітаміну K<sub>1</sub>. Схема хроматограми досліджуваних екстрактів наведена на рис. 3.11.

Вміст вітаміну K<sub>1</sub> у досліджуваній сировині визначали спектрофотометричним методом. Спектри поглинання етанольних витяжок з досліджуваної сировини за довжини хвилі 200-750 нм наведені на рис. 3.11 та 3.12.

Результати визначення кількісного вмісту вітаміну K<sub>1</sub> у траві досліджуваних видів наведені у таблиці 3.10.

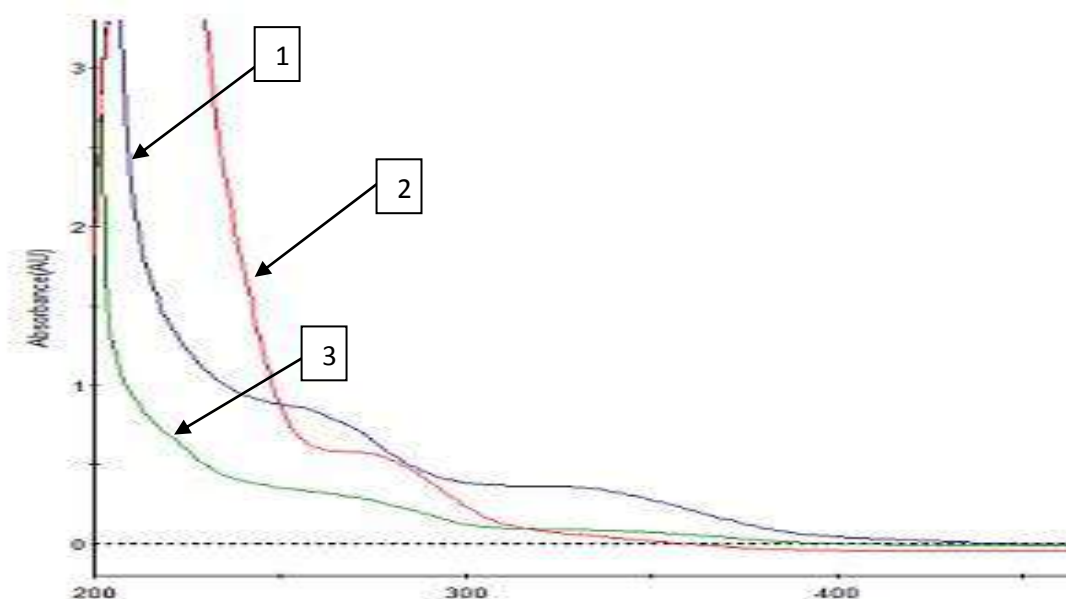


Рисунок 3.10 – Спектр поглинання етанольної витяжки листя (1), суцвіть (2) та стебел (3) *A. collina*.

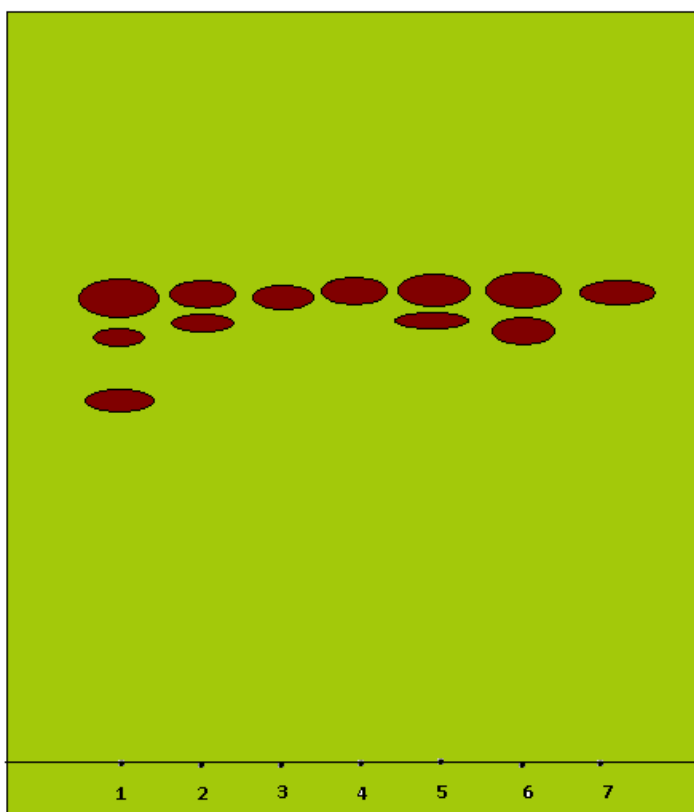


Рисунок 3.11 – Схема ТШХ-хроматограми, отриманої в умовах дослідження вітаміна  $K_1$ . Треки випробуваних розчинів: *A. collina*: 1 – суцвіття, 2 – листя, 3 – стебла; 4 – ФСЗ вітаміна  $K_1$ ; *A. micranthoides*: 5 – суцвіття, 6 – листя, 7 – стебла.

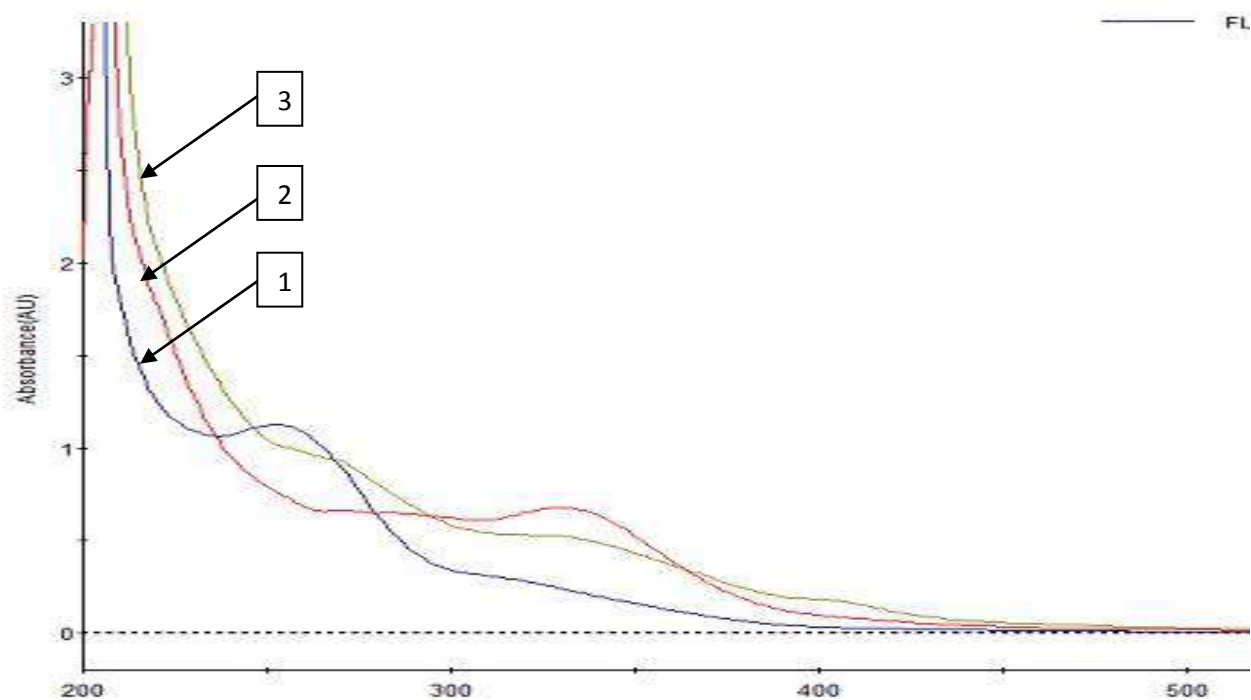


Рисунок 3.12 – Спектри поглинання етанольних витягів листя (1), суцвіть (2) та стебел (3) *A. micranthoides*.

Таблиця 3.10 – Вміст вітаміну К<sub>1</sub> у траві *A. collina* та *A. micranthoides*, Запорізька обл., м. Славгород, липень 2017 р.

Об'єкт	Вміст, %	
	<i>A. collina</i>	<i>A. micranthoides</i>
Суцвіття	1,68 ± 0,17	2,36 ± 0,114
Листя	3,78 ± 0,24	4,63 ± 0,15
Стебло	1,35 ± 0,09	1,52 ± 0,12
Трава	2,43 ± 0,11	3,18 ± 0,21

Отримані дані свідчать про те, що кількісний вміст вітаміну К<sub>1</sub> у період цвітіння в *A. micranthoides* (3,18 ± 0,21%) був вищим, ніж в *A. collina* (2,43 ± 0,11%). Різниця, в накопиченні вітаміну К<sub>1</sub> пов'язана з філогенетичними особливостями видів. Накопичення вітаміну К<sub>1</sub> у досліджувальних об'єктах проходить у наступній закономірності: листя > суцвіття > стебло.

Згідно з літературними публікаціями рівень накопичення вітаміну К<sub>1</sub> сягає від 2,92 ± 0,14 % (*A. steposa*) до 3,58 ± 0,18 % (*A. millefolium*) [78, 77]. У більшості досліджуваних видів роду *Achillea* L. накопичення вітаміну К<sub>1</sub> було на рівні показників трави офіційного виду *A. millefolium*. Отриманні нами результати були аналогічними або перевищували показники трави д. звичайного.

До теперішнього часу стандартизація трави видів роду *Achillea* L. відбувається за вмістом ефірної олії та поліфенолів [26]. У зв'язку з високою біологічною активністю вітаміну К<sub>1</sub> доцільним та обґрунтованим є визначення вмісту цієї речовини у траві видів роду *Achillea* L.

### 3.7 Дослідження жирних кислот

Жирні кислоти відіграють важливу роль у біохімічних процесах людського організму [1, 33]. Ненасичені жирні кислоти лінолева, ліноленова, олеїнова та арахідонова є незамінними, вони регулюють ліпідний обмін, забезпечують нормальний ріст та розвиток організму, обумовлюють міцність та еластичність

кровоносних судин, підвищують стійкість організму до шкідливого впливу ультрафіолетового та радіаційного опромінення. Вони містяться лише в рослинних жирних оліях, не синтезуються в організмі людини, але вкрай потрібні для багатьох біохімічних процесів. Ненасичені жирні кислоти складають основу клітинних мембран, забезпечуючи їх гнучкість, і суттєво впливають на всі процеси, що відбуваються в клітинах. Вони беруть участь у метаболізмі гормонів, біосинтезі жирів, мають імуностимулюючу та протипухлинну дію. Важливою функцією поліненасичених жирних кислот є їхня роль як попередника групи сполук, що регулюють тканинний або клітинний обмін. Недостатнє надходження есенціальних жирних кислот з їжею зумовлює порушення ліпідного обміну, виникнення атеросклерозу та інших серцево-судинних захворювань, сприяє виникненню онкологічних захворювань. Біоактивні ліпідні сполуки (жирні кислоти, фосфоліпіди) є важливими ліпофільними речовинами, які є обов'язковими компонентами біологічних мембран, відіграють важливу роль в енергетиці живої клітини.

Жирнокислотний склад трави д. пагорбового та д. подового на теперішній час ще не вивчений.

Для вивчення складу та вмісту жирних кислот у траві досліджуваних видів були отримані ліпофільні екстракти (екстракція гексаном). Вихід ліпофільної фракції з трави *A. collina* склав  $3,55 \pm 0,07\%$ , з трави *A. micranthoides* –  $2,79 \pm 0,05\%$  відповідно.

Отримані ліпофільні екстракти являють собою майже тверді маси за кімнатної температури, які на холоді тверднуть і стають крихкими. Отримані екстракти коричнево-зеленого кольору зі характерним запахом притаманним сировині. Екстракти не розчинні у воді, добре розчинні у 96% етанолі, хлороформі, гексані, ацетоні та рослинних оліях.

Жирнокислотний склад ліпофільних екстрактів досліджували методом ГХ-МС. ГХ-хроматограми метилових естерів жирних кислот наведені на рис. 3.13 та 3.14. Якісний склад ідентифікованих жирних кислот та їх вміст від загальної суми кислот представлено у таблиці 3.11.



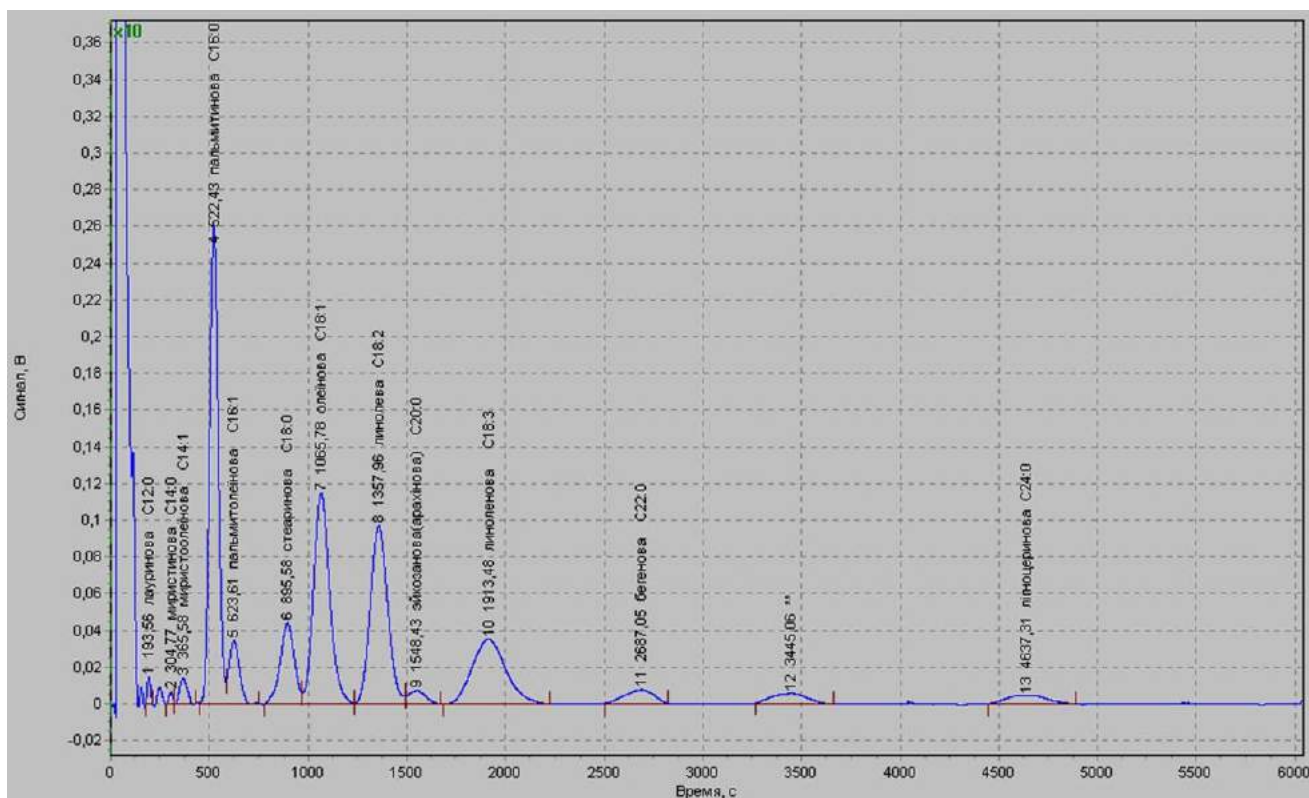


Рисунок 3.13 – ГР–хроматограма метилових естерів жирних кислот трави *A. collina*.

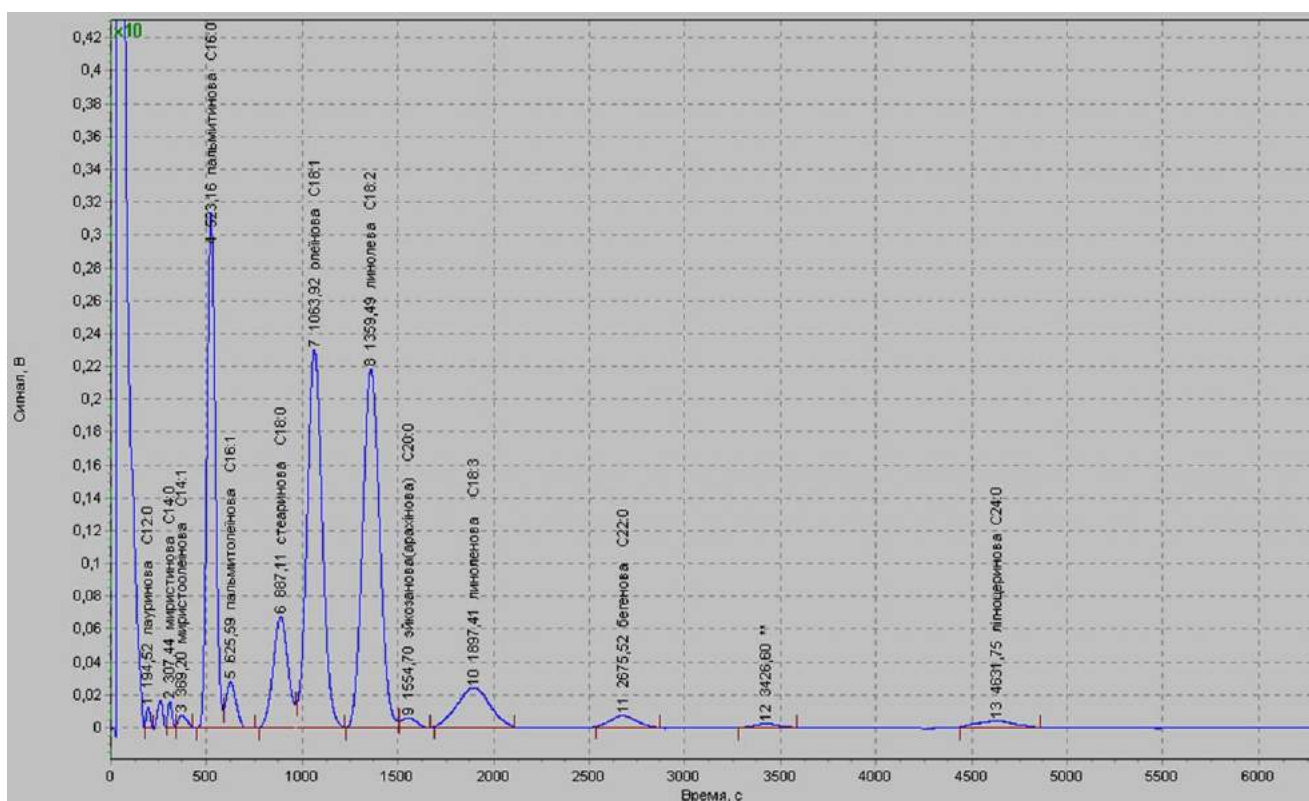


Рисунок 3.14 – ГР–хроматограма метилових естерів жирних кислот трави *A. micranthoides*.

Таблиця 3.11 – Компонентний склад та вміст жирних кислот у гексанових екстрактах з трави досліджуваних видів, Запорізька обл., липень 2017 р

№ з/п	Кислота	Вміст, у % від загальної кількості	
		<i>A. collina</i>	<i>A. micranthoides</i>
Насичені жирні кислоти			
1	лауринова (додеканова)	0,78 ± 0,11	0,40 ± 0,17
2	міристинова (тетрадеканова)	0,32 ± 0,08	0,55 ± 0,13
3	пальмітинова (гексадеканова)	24,98 ± 1,09	20,31 ± 0,36
4	стеаринова (октадеканова)	7,00 ± 0,07	7,95 ± 0,19
5	арахінова (эйкозанова)	1,54 ± 0,49	1,02 ± 0,23
6	бегенова (докозанова)	2,60 ± 0,33	1,58 ± 0,88
7	лігноцеринова (тетракозанова)	2,25 ± 0,49	1,35 ± 0,49
Сума насичених кислот		39,47	33,16
Ненасичені жирні кислоти			
8	миристоолеїнова	1,87 ± 0,07	0,56 ± 0,09
9	пальмітолеїнова (гексадеценава)	4,63 ± 0,08	2,73 ± 0,08
10	олеїнова (октадеценава)	20,30 ± 0,08	26,67 ± 0,28
11	лінолева (октадекадієнова)	18,98 ± 0,49	29,71 ± 2,68
12	ліноленова (октадекатрієнова)	12,15 ± 0,08	6,52 ± 0,28
13	ерукова (докозєнова)	2,60 ± 0,88	0,65 ± 0,49
Сума ненасичених кислот		60,53	66,84

У траві обох видів було ідентифіковано 13 жирних кислот (7 насичених і 6 ненасичених). Співвідношення насичених та ненасичених кислот у гексанових екстрактах з трави *A. collina* склало (1 : 1,5), з трави *A. micranthoides* (1 : 2) відповідно.

Серед насичених кислот за вмістом значно домінує пальмітинова кислота, вміст якої становить 63% від суми ідентифікованих насичених кислот у

гексановому екстракті *A. collina*, та 61 % у гексановому екстракті з трави *A. micranthoides*.

Щодо ненасичених кислот, то домінуючими за вмістом у обох гексанових екстрактах виявились: олеїнова, лінолева та ліноленова кислоти.

Жирні кислоти, які є структурними елементами клітин, у зв'язку зі своїми важливими функціями ретельно вивчаються. За даними літератури, у траві д. стиснутого (*Achillea stricta*), домінуючими були лінолева, пальмітинова, лігноцеринова та олеїнова кислоти.

### 3.8 Дослідження органічних кислот

Виявлення вільних органічних кислот у водних екстрактах проводили методом ПХ та ТШХ. Кислоти ідентифікували у порівнянні із ФСЗ, за величиною  $R_f$  та за появою характерного жовтого забарвлення плям на синьому тлі хроматограми, при обробці реактивом И. Наявність аскорбінової кислоти встановлювали за появою білих плям на рожевому фоні хроматограф при обробці реактивом З.

За результатами аналізу у траві досліджуваних видів було ідентифіковано, аскорбінову, яблучну, лимонну та винну кислоти.

Сумарний вміст суми вільних органічних кислот визначений титриметричним методом у перерахунку на яблучну кислоту наведений у таблиці 3.12.

Як видно з таблиці, найбільший вміст органічних кислот виявився у суцвіттях обох видів, найменший у стеблах трави. Сумарний вміст вільних органічних кислот у траві *A. collina* склав  $3,28 \pm 0,24\%$ , у траві *A. micranthoides* –  $2,16 \pm 0,20\%$  відповідно. Отримані нами дані корелюються з даними аналогічних досліджень трави інших видів деревію, що зростають у західних регіонах України (від 1,8% до 3,2%) [50, 51].

Таблиця 3.12 – Результати визначення вмісту органічних кислот у траві *A. collina* та *A. micranthoides*, Запорізька обл., м. Славгород, липень 2017 р.

Об'єкт	Вміст, %	
	<i>A. collina</i>	<i>A. micranthoides</i>
Суцвіття	3,33 ± 0,20	2,57 ± 0,18
Листя	2,46 ± 0,17	1,68 ± 0,10
Стебло	1,11 ± 0,08	0,84 ± 0,06
Трава	3,28 ± 0,24	2,16 ± 0,20

Результати спектрофотометричного визначення вмісту аскорбінової кислоти у траві досліджуваних видів представлено у таблиці. 3.13.

Таблиця 3.13 – Кількісний вміст аскорбінової кислоти у трав видів роду *Achillea L.* в залежності від місця зростання, у %

Місце заготівлі	<i>A. collina</i>			<i>A. micranthoides</i>		
	трава	листя	суцвіття	трава	листя	суцвіття
1	2	3	4	5	6	7
Запорізька обл., м. Славгород	0,17±0,11	0,79±0,15	0,63±0,09	0,68±0,09	1,14±0,13	0,64±0,06
Дніпропетровська обл., м. Синельникове	0,10±0,10	0,76±0,14	0,88±0,08	0,61±0,08	0,65±0,12	0,57±0,06
Херсонська обл. м. Генічеськ	0,68±0,09	0,77±0,12	0,54±0,05	0,65±0,06	0,96±0,10	0,42±0,04
Миколаївська обл., м. Олександрівка	0,64±0,10	0,52±0,12	0,76±0,07	0,73±0,06	1,02±0,10	0,49±0,05
Харківська обл., м. Лозова	0,81±0,08	0,58±0,10	0,48±0,04	0,58±0,06	0,85±0,07	0,34±0,03

Найбільше накопичувалось аскорбинової кислоти у листі обох видів: д. пагорбового до  $0,79 \pm 0,15$  %, у д. подового до  $1,14 \pm 0,13$  %. У траві д. пагорбового вміст аскорбинової кислоти досягав  $0,81 \pm 0,08$  %, д. подового -  $0,73 \pm 0,06$  %. Вміст аскорбинової кислоти в залежності від місця зростання істотно не змінювався.

### 3.9 Дослідження полісахаридів

Більшість рослинних полісахаридів мають вагомe терапевтичне значення, яке пов'язують з їх протипухлинною, протизапальною, противірусною, антибактеріальною, імуномодельюючою, антиоксидантною активністю. Деякі водорозчинні полісахариди проявляють антипроліферативний, антиексудативний та протизапальний ефект [34]. Пектинові речовини ефективні для профілактики та лікування цукрового діабету, при захворюваннях кишечника, мають протизапальну дію. Усі полісахариди є адсорбентами, найактивніші з них – пектини. Відомо, що полісахариди впливають на розвиток сумарного фармакологічного ефекту препаратів, одержаних із рослинної сировини. Спираючись на вищесказане, ми вважали за доцільне дослідити кількісний вміст та якісний склад різних груп полісахаридів [60].

При проведенні низки загальноприйнятих якісних реакцій для виявлення вуглеводі, у водних витягах з досліджуваної рослинної сировини були виявлені: вільні цукри (з мідно-тарtratним реактивом давали червоний осад), водорозчинних полісахаридів (при додаванні 96% етанолу спостерігали появу білого аморфного осаду; з 0,5 % розчином карбазолу і кислотою сульфатною – червоно-фіолетове забарвлення) [62].

Визначення кількісного вмісту фракцій полісахаридів провели гравіметричним методом, у перерахунку на абсолютно суху сировину. Результати досліджень представлені в табл. 3.14.

Таблиця 3.14 – Вміст фракцій полісахаридів та їх моносахаридний склад трави досліджуваних видів, Запорізька обл., м. Володимирівка, липень 2017 р.

Сировина	Фракція	Вміст, %	Моносахаридний склад
<i>A. collina</i>	ВРПС	8,23 ± 0,82	Glc, Gal, Rhamn, Xyl, Ara
	ПР	3,67 ± 0,21	GalA, GlcA, Xyl, Ara, Rhamn,
	ГЦ А	1,55 ± 0,18	Glc, Xyl, Ara, Rhamn,
	ГЦ Б	0,68 ± 0,08	Glc, Xyl, Ara, Rhamn,
<i>A. micranthoides</i>	ВРПС	7,61 ± 0,66	Glc, Gal, Rhamn, Xyl, Ara
	ПР	3,03 ± 0,27	GalA, GlcA, Xyl, Rhamn,
	ГЦ А	1,12 ± 0,15	GalA, Glc, Rhamn, Ara
	ГЦ Б	0,87 ± 0,09	Glc, Rhamn, Ara

*Примітка:* ВРПС – водорозчинні полісахариди, ПР – пектинові речовини, ГЦ А – геміцелюлоза фракція А, ГЦ Б – геміцелюлоза фракція Б., Glc – *D*-глюкоза, Gal – *D*-галактоза, *L*-Ara – арабіноза, *L*-Xyl – ксилоза, *D*-Rhamn – *L*-рамноза, GalA – галактоуронова кислота, GlcA – глюкуронова кислота.

Одержані нами фракції полісахаридів, обох досліджуваних рослин, являють собою аморфні порошки, які добре розчинялися у воді, водних розчинах кислот та лугів, нерозчинні в органічних розчинниках. Фракція ВРПС це аморфний порошок сірого кольору, ПР – аморфний порошок світло-коричневого кольору, який досить повільно розчиняється у воді, і при нагріванні утворює гелеподібний колоїдний розчин, а фракції ГЦ А і Б – світло-коричневого кольору.

Як видно з таблиці, вміст фракцій полісахаридів у траві обох досліджуваних видів був дуже близьким. У найбільшій кількості у траві досліджуваних видів містяться ВРПС: *A. collina* – 8,23 ± 0,82%, *A. micranthoides* – 7,61 ± 0,66% відповідно.

За величиною та інтенсивністю забарвлення плям на хроматографах встановлено, що основними мономерними ланками ВРПС трави *A. collina* є:

переважно – рамноза, арабіноза, глюкоза, ксилоза; у складі ПР глюкуронова та галактуринова кислоти. Щодо моноцукрів трави *A. micranthoides* є: переважно – глюкоза, галактоза, ксилоза, рамноза, арабіноза; у складі ПР глюкуронова та галактуринова кислоти та рамноза.

### 3.10 Дослідження елементного складу

ЛРС містять різноманітний елементний склад, який відрізняється своєю біологічною дією на організм людини та високою активністю в каталітичних, регуляторних, окислювальних, відновних реакціях [23, 54, 74].

Лікарські рослини можуть вибірково накопичувати важливі мінеральні елементи, які необхідні для лікування та профілактики багатьох захворювань. Деякі токсичні хімічні елементи, які поглинаються рослинами з навколишнього середовища, у високих концентраціях є небезпечними для людини та негативно впливають на стан її здоров'я.

Вибіркова властивість рослин до накопичення хімічних елементів суттєво впливає на фармакологічну та мікробіологічну активність [23, 46, 73].

Разом з тим, деякі хімічні елементи можуть модулювати вироблення вторинних метаболітів (алкалоїдів, терпеноїдів, фенольних сполук, сапонінів, полісахаридів, флавоноїдів) залежно від виду рослин, а також від діючої концентрації цих елементів.

Елементний склад сировини *A. collina* та *A. micranthoides* вивчений недостатньо, але викликає великий інтерес.

Визначення вмісту елементного складу проводили методом атомно-адсорбційної спектрофотометрії. Результати аналізу наведені у табл. 3.15.

Отримані експериментальні дані щодо елементного складу трави досліджуваних видів, свідчать про наявність в сировині не менше 19 елементів. Обидва види сировини мають однаковий якісний елементний склад, і відрізняється тільки їх кількісний вміст.

Таблиця 3.15 – Мінеральний склад трави *A. collina* та *A. micranthoides*, Запорізька обл., м. Славгород, липень 2017 р.

№ з/п	Назва елемента	Кількісний вміст, мг/100 г	
		<i>A. collina</i>	<i>A. micranthoides</i>
1	K	2760,0 ± 100,1	2500,0 ± 99,8
2	Ca	920,0 ± 55,3	390,0 ± 3,21
3	Na	70,0 ± 13,2	29,0 ± 58,33
4	Mg	287,0 ± 45,32	195,0 ± 41,88
5	Si	800,0 ± 27,11	145,0 ± 18,65
6	P	230,0 ± 11,3	126,0 ± 9,54
7	Al	9,2 ± 1,32	9,7 ± 1,31
8	Mn	5,1 ± 3,31	2,9 ± 0,10
9	Fe	115,0 ± 5,22	68,0 ± 5,77
10	Zn	13,8 ± 0,21	7,7 ± 0,21
11	Sr	1,7 ± 0,21	0,58 ± 0,69
12	Ni	0,11 ± 0,10	0,048 ± 0,21
13	Mo	0,057 ± 0,10	0,077 ± 0,10
14	Co	<0,03	<0,03
15	Cd	<0,01	<0,01
16	As	<0,01	<0,01
17	Hg	<0,01	<0,01
18	Pb	0,40 ± 0,02	<0,03
19	Cu	0,69 ± 0,03	0,43 ± 0,06
Загальний вміст		5213,07 ± 262,28	3474,33 ± 239,66

Встановлено, що вміст токсичних хімічних елементів знаходиться в рослинах у межах норм встановлених ДФУ (Co<0,03 мг/100 г; Cd<0,01 мг/100 г; As<0,01 мг/100 г; Hg<0,01 мг/100 г; Pb до 0,37±0,03 мг/100 г; Ni<0,03 мг/100 г; Mo<0,03 мг/100 г).



Серед макроелементів у траві *A. collina* у домінуючих кількостях накопичувались (у мг/100 г): К ( $2760,0 \pm 100,1$ ), Са ( $920,0 \pm 55,3$ ), Si ( $800 \pm 27,11$ ), Mg ( $287 \pm 45,32$ ); серед мікроелементів: Fe ( $115 \pm 5,22$ ), Zn ( $13,8 \pm 0,21$ ), Al ( $9,2 \pm 1,32$ ), Mn ( $5,1 \pm 3,31$ ).

Встановили таку закономірність накопичення елементів у *A. collina*: К > Са > Si > Mg > Fe.

У траві *A. micranthoides* спостерігали накопичення таких мікроелементів (у мг/100 г): К ( $2500,0 \pm 99,8$ ), Са ( $390,0 \pm 3,21$ ), Mg ( $195,0 \pm 41,88$ ), Si ( $145,0 \pm 18,65$ ); серед мікроелементів: Fe ( $68,0 \pm 5,77$ ), Al ( $9,7 \pm 1,31$ ), Zn ( $7,7 \pm 0,21$ ).

Накопичення елементів у траві *A. micranthoides* встановлено у наступній закономірності: К > Са > Mg > Si > Fe.

Таким чином, у траві досліджуваних видів переважали такі елементи як: К ( $2500,0 \pm 99,8$  мг/100 г і  $2760,0 \pm 100,1$  мг/100 г) та Са ( $920,0 \pm 55,3$  мг/100 г і  $390,0 \pm 3,21$  мг/100 г), Fe ( $115,0 \pm 5,22$  мг/100 г і  $68,0 \pm 5,77$  мг/100г).

## ВИСНОВКИ

1. Вперше проведено комплексне порівняльне фармакогностичне вивчення трави двох видів роду Деревій, які поширені у південних регіонах України – деревію пагорбового (*Achillea collina* J. Becker ex Reichenb.) та деревію подового (*Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka).

2. Досліджено якісний склад та кількісний вміст ефірної олії трави обох видів методами ТШХ та ГХ/МС. Методом гідродистиляції визначений вміст ефірної олії у суцвіттях, листі та стеблах досліджуваних видів. Встановлено, що найбільша кількість ефірної олії накопичується у суцвіттях, найменша у стеблах досліджуваних видів. Вміст ефірної олії у траві деревію пагорбового склав  $2,87 \pm 0,24\%$ , у траві деревію подового  $2,13 \pm 0,21\%$ .

3. Методом ГХ/МС визначений якісний склад та кількісний вміст компонентів ефірної олії. В ефірній олії деревію пагорбового трави ідентифіковано 40 сполук, серед яких за вмістом домінують : хамазулен ( $28,61 \pm$

1,75 %), каріофілен ( $11,60 \pm 0,46$  %),  $\delta$ -кадінен ( $10,28 \pm 0,13$  %), терпінен-4-ол ( $8,81 \pm 0,07$  %) та каріофілен оксид ( $4,81 \pm 0,07$  %). В ефірній олії деревію подового трави виявлено 32 сполуки, у найбільшій кількості з яких містяться: каріофілен оксид ( $18,39 \pm 1,75$  %),  $\alpha$ -каріофілен ( $18,39 \pm 0,57$  %), булнезол ( $11,29 \pm 1,75$  %), туйен-2-іл ацетат ( $8,84 \pm 0,13$  %),  $\delta$ -кадінен ( $6,80 \pm 0,13$  %),  $\alpha$ -феландрен ( $5,51 \pm 0,17$  %).

4. Досліджено склад та вміст сполук фенольної природи: флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, поліфенольних сполук.

У траві деревію пагорбового та деревію подового спектрофотометрично визначено вміст флавоноїдів, у перерахунку на лютеолін -  $2,61 \pm 0,12\%$  та  $2,37 \pm 0,14$ ; гідроксикоричних кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту -  $1,64 \pm 0,12$  та  $1,13 \pm 0,14\%$ ; поліфенольних сполук, у перерахунку на пірогалол -  $4,23 \pm 0,17\%$  та  $3,48 \pm 0,14\%$  відповідно. Виявлено, що вміст фенольних сполук дещо вищий у деревію пагорбового трави.

5. Вперше методом ВЕРХ у траві деревію пагорбового ідентифіковано 12 флавоноїдів ( $1,26 \pm 0,13$  %), 11 гідроксикоричних кислот ( $0,93 \pm 0,09$  %) та 11 поліфенольних сполук ( $4,05 \pm 0,07$  %); у траві деревію подового – 8 флавоноїдів ( $1,17 \pm 0,12$  %), 12 гідроксикоричних кислот ( $0,83 \pm 0,05$  %) та 12 поліфенольних сполук ( $3,48 \pm 0,09$  %). В обох видах за вмістом домінують глікозиди апігеніна та лютеоліна, хлорогенова та кофейна кислоти, епікатехін, галова кислота та епікатехінгалат.

6. Спектрофотометричним методом у суцвіттях, листі і стеблах обох видів встановлений вміст вітаміну  $K_1$ . Встановлено, що вітамін  $K_1$  накопичується у листі рослин. Вміст вітаміну  $K_1$  у деревію подового трави ( $3,18 \pm 0,21\%$ ) був вищим, ніж у деревію пагорбового трави ( $2,43 \pm 0,11\%$ ).

7. Екстракцією гексаном отримані ліпофільні фракції з трави і досліджений їх жирнокислотний склад. Ідентифіковано 13 жирних кислот. Домінуючими за вмістом у обох екстрактах виявились: олеїнова, лінолева та ліноленова кислоти.

8. Методом ТШХ в траві обох видів встановлено присутність аскорбінової, яблучної, лимонної та винної кислот. Титриметрично, у перерахунку на яблучну

кислоту визначений вміст суми вільних органічних кислот, який виявився значно вищим у деревію пагорбового траві ( $3,28 \pm 0,24$  % проти  $2,16 \pm 0,20$  %).

Досліджено динаміку накопичення аскорбінової кислоти у суцвіттях, листі та траві обох видів в залежності від місця зростання рослин. Вміст аскорбінової кислоти в залежності від місця зростання істотно не змінювався і знаходився в межах від 0,73% до 0,81 %.

9. Гравіметрично визначений вміст фракцій полісахаридів та методом ПХ досліджений їх мономерний склад. У найбільшій кількості у траві досліджуваних видів містяться ВРПС ( $8,23 \pm 0,82\%$  та  $7,61 \pm 0,66\%$  відповідно). У складі полісахаридних комплексів ідентифіковані: рамноза, арабіноза, глюкоза, ксилоза, глюкуронова та галактуринова кислоти.

10. Встановлений елементний склад трави обох видів. Виявлено 19 макро- і мікроелементів, серед яких домінують калій, кальцій, магній, залізо, цинк.

*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено у таких публікаціях:*

1. Phytochemical composition of polyphenolic compounds of *Achillea collina* Becker ex Rchb. / I. F. Duyun, O. V. Mazulin, G. P. Smoilovska, G. V. Mazulin. *Development and modernization of medical science and practice: experience of Poland and prospects of Ukraine: Collective monograph*. Vol. 2. Lublin: Izdevnieciba "Baltija Publishing", 2017. P. 69-85.
2. Хімічний склад поліфенольних сполук у траві деревію подового (*Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka) / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, Т. В. Опрошанська, Г. В. Мазулін. *Фармацевтичний журнал*. 2020. Т. 75, № 1. С. 80-87.
3. Дуюн І. Ф. Фітохімічне дослідження *Achillea collina* J. Becker ex Reichenh. *Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук* : матеріали IV регіон. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих учених з всеукр. участю, 27 листоп. 2015 р. Запоріжжя, 2015. С. 17-19.

4. Дуюн И. Ф., Смйловская Г. П., Мазулин Г. В. Фитохимическое изучение состава эфирного масла травы тысячелистника холмового. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации: сб. тезисов докладов 69 науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием, 15-17 апр. 2015 г. Минск, 2015. С. 1668.*
5. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В., Мазулін Г. В. Фармакогностичне вивчення трави деревію пагорбового флори України. *Медична наука та практика: Актуальні питання взаємодії: зб. матеріалів міжнар. наук.-практичної конференції, 4-5 вер. 2015 р. Київ, 2015. С. 86-89.*
6. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В. Дослідження ефірноолійних видів роду *Achillea* L. флори України. *Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine International research and practice conference, Apr. 28-29. Lublin, 2017. P. 151-153.*
7. Дуюн И. Ф., Лукина И. А. Полифенольный состав соцветий *Achillea collina* (Becker ex Rchb.). *Инновации в медицине и фармации - 2017. Фармацевтические науки: дистанц. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, окт. 2017 г. Минск, 2017. С. 636-640.*
8. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В. Фармакогностичне дослідження трави *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka під час вегетації. *Advances of Science, Proceeding of articles the international scientific conference, 6 Apr. 2018. Karlovy Vary; Kyiv, 2018. P. 223-233.*
9. Дуюн І. Ф. Фітохімічне дослідження ефірної олії деревію пагорбового. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27-28 верес. 2018 р. Тернопіль: ТДМУ, 2018. С. 21-22.*
10. Дуюн І. Ф. Фитохимическое изучение биологически активных соединений *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka. *Фундаментальная наука в современной медицине 2018: сб. материалов сателлитной дистанц. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых. Минск : БГМУ, 2018. С. 114-118.*

11. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В. Фармакогностичне дослідження трави *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka під час вегетації. *Advances of Science, Proceeding of articles the international scientific conference*, 6 Apr. 2018. Karlovy Vary; Kyiv, 2018. P. 223-233.
12. Dujun I. F. Phytochemical research contents of essential oil with the accumulation of azulene in the herb species of *Achillea* L. Topical issues of new drugs development: *Abstracts of XXV International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Student-Kharkiv*, Apr. 18-20, 2018. Kharkiv: NUPh, 2018. P. 35-37.
13. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В. Поліфенольні сполуки трави деревію подового. *Сучасні теоретико-практичні аспекти реалізації впровадження. «Стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» у первинну ланку охорони здоров'я: матеріали наук. симпозіуму з міжнар. участю, 22 листоп. 2019 р. Київ, 2019. С. 52-53.*
14. Dujun I. F., Mazulin O. V., Mazulin G. V. Study of polyphenolic compounds of *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka herbs. *Relevant tissues of modern medicine: International research and practice conference*. Lublin, Republic of Poland, Oct. 20-21, 2017. Lublin, 2017. P. 126-129.

## РОЗДІЛ 4

### ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНИХ ТЕРМІНІВ ЗАГОТІВЛІ ТА УМОВ СУШІННЯ, ВИВЧЕННЯ МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНОЇ БУДОВИ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТРАВИ *A. COLLINA* ТА *A. MICRANTHOIDES*

#### 4.1 Дослідження динаміки накопичення ефірної олії

У науковій та народній медицині види роду Деревій застосовують як ефективні лікарські засоби з протизапальною, кровоспинною, антибактеріальною активністю [8-12, 15, 36, 73, 76, 78, 99-103]. Основними групами БАР, які обумовлюють фармакологічну активність сировини є: ефірна олія, яка багата похідними азулену [біцикло-[5.3.0]-дека-1,3, 5, 7, 9-пентаєн], і мають виражену протизапальну, ранозагоювальну, імуностимулювальну та протимікробну активність та вітамін К<sub>1</sub>, який відповідає за виражену гемостатичну активність сировини [30, 60, 180, 198].

Кількісний вміст БАР у рослинній сировині визначається як її природним складом, так у значний мірі залежить від оптимальних термінів заготівлі. Тому, одним із етапів нашої роботи стало дослідження впливу місця зростання та термінів заготівлі сировини на вміст ефірної олії та вітаміну К<sub>1</sub> у траві досліджуваних видів.

Рослинну сировину для дослідження динаміки накопичення груп БАР у сировині заготовляли у період з червня по жовтень 2016-2017 рр.

Кількісний вміст ефірної олії визначали за методом Клевенджера, перегонкою з водяною парою в пристрої рекомендованому ДФУ 2.0.

Вміст суми проазуленів в ефірній олії, встановлювали спектрофотометричним методом у перерахунку на хамазулен.

Результати проведених досліджень вивчення динаміки накопичення ефірної олії та вміст проазуленів в ній наведені у табл. 4.1 та 4.2.

Таблиця 4.1 – Вміст ефірної олії та суми проазуленів у її складі в зразках трави *A. collina*, заготовленої у (червні-жовтні) 2016-2017 рр., з різних місяців зростання

Місце заготівлі	Вміст, % уперерахунку на абсолютно суху сировину									
	червень		липень		серпень		вересень		жовтень	
	ЕО	ПА	ЕО	ПА	ЕО	ПА	ЕО	ПА	ЕО	ПА
Запорізька обл., м. Славгород, 2017 р.	0,77±0,31	5,11± 0,49	1,05±0,31	7,00±0,68	2,00±0,31	21,55±1,88	2,75±0,31	30,60±2,80	2,73±0,31	30,58 ± 2,81
Дніпропетровська обл., м. Синельникове, 2016 р	0,69±0,31	6,13± 0,58	1,15±0,31	8,21± 0,78	1,98±0,31	20,66±1,98	2,31±0,31	29,88±2,77	2,29±0,31	29,80 ± 2,85
Херсонська обл., м. Генічеськ, 2017 р.	0,65±0,31	6,22± 0,59	1,12±0,31	9,11 ± 0,87	1,90±0,31	19,22±1,78	2,20±0,31	28,89±2,65	2,19±0,31	28,77± 2,66
Миколаївська обл., м. Олександрівка 2016 р.	0,65±0,31	7,14±0,67	0,98±0,31	10,23 ±0,98	2,03±0,31	22,19±2,10	2,25±0,31	29,16±2,77	2,23±0,31	29,00±2,81
Донецька обл., м. Дружківка, 2016 р.	0,62±0,31	6,10±0,58	1,00±0,31	8,25± 0,79	1,89±0,31	18,81±1,65	2,48±0,31	30,12±2,98	2,47±0,31	29,86± 2,87
Харківська обл., м. Лозова, 2017 р.	0,79±0,31	6,50±0,59	0,95±0,31	9,50± 0,89	2,03±0,31	17,23±1,55	2,46±0,31	29,99±2,71	2,43±0,31	29,11± 2,80

Примітка: ЕО – ефірна олія, ПА – сума проазуленів.

Таблиця 4.2 – Вміст ефірної олії та суми проазуленів у її складі вузразках трави *A. micranthoides*, заготовленої у (червні-жовтні) 2016-2017 рр, з різних місцях зростання

Місце заготівлі	Вміст, % уперерахунку на абсолютно суху сировину									
	червень		липень		серпень		вересень		жовтень	
	ЕО	ПА	ЕО	ПА	ЕО	ПА	ЕО	ПА	ЕО	ПА
Дніпропетровська обл., м. Павлоград, 2016 р	1,12±0,11	6,10±0,59	1,50±0,15	7,80±0,77	2,69±0,27	12,55±1,27	3,17±0,31	16,20±1,58	3,19±0,31	16,22±1,59
Херсонська обл., м. Нова Каховка, 2017 р.	1,13±0,12	6,22±0,61	1,52±0,15	7,88±0,77	2,70±0,28	12,83±1,28	3,31±0,33	16,75±1,68	3,30±0,32	17,33±1,70
Миколаївська обл., м. Снігурівка 2016 р.	1,10±0,10	6,33±0,62	1,49±0,15	7,00±0,69	2,61±0,26	13,00±1,29	3,20±0,31	16,99±1,69	3,22±0,32	17,00±1,70
Донецька обл., м. Краматорськ, 2017 р.	1,12±0,13	6,09±0,61	1,53±0,16	7,11±0,70	2,67±0,27	12,73±1,28	3,22±0,29	17,68±1,76	3,22±0,30	17,62±1,75
Харківська обл., м. Барвінково, 2017 р.	1,14±0,10	6,22±0,63	1,52±0,16	7,22±0,72	2,71±0,28	13,30±1,29	3,34±0,33	17,90±1,78	3,34±0,32	17,88±1,75

Примітка: ЕО – ефірна олія, ПА – сума проазуленів.



Згідно з отриманими даними, оптимальним терміном заготівлі трави *A. collina* є період з вересня по жовтень, оскільки саме в цей період сировина накопичує максимальну кількість ефірної олії – до  $2,73 \pm 0,31$  %. При цьому вміст похідних азулену був достатньо постійним та складав від  $28,77 \pm 2,66\%$  до  $30,58 \pm 2,81$  %.

При аналізі отриманих даних вивчення динаміки накопичення ефірної олії у траві *A. micranthoides*, встановили що максимальна кількість ефірної олії відмічається на прикінці вегетаційного періоду – у вересні-жовтні. Накопичення речовини було дещо вищим ніж у траві *A. collina*. З різних місць заготівлі вихід ефірної олії він складав від  $3,19 \pm 0,31$  % до  $3,99 \pm 0,34$  %. При цьому вміст похідних азулену був нижчим, ніж у *A. collina* та складав від  $16,22 \pm 1,59$  % до  $18,52 \pm 1,61$  %.

За матеріалами проведених досліджень, в практику МОЗ України впроваджено інформаційний лист: «Оптимальні терміни заготівлі трави *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb (деревію горбкового)».

#### 4.2 Дослідження динаміки накопичення вітаміну K<sub>1</sub>

Відомо що для настоїв, екстрактів та фітопрепаратів з трави видів роду Деревій притаманна виражена гемостатична дія. Одним з основних компонентів, для якого притаманна ця активність є вітамін K<sub>1</sub> (2-метил-1,4-нафтохінон). Для встановлення динаміки його накопичення у траві досліджуваних видів у різні фази вегетації рослин проводили наступні дослідження.

Вміст вітаміну K<sub>1</sub> у досліджуваних зразках сировини встановлювали спектрофотометричним методом.

Отримані дані визначення кількісного вмісту вітаміну K<sub>1</sub> у зразках трави *A. collina* та *A. micranthoides*, заготовленої у різних регіонах України під час вегетації (червень-жовтень) 2016-2017 рр., наведено у табл. 4.3. та 4.4.

Таблиця 4.3 – Динаміка накопичення вітаміну К<sub>1</sub> в траві *A. collina* в залежності від строків заготівлі сировини і місяця зростання

Місце заготівлі	Вміст вітаміну К <sub>1</sub> , %				
	червень	липень	серпень	вересень	жовтень
Дніпропетровська обл., м. Синельникове, 2016 р.	1,89±0,18	2,15±0,22	2,87±0,31	2,88±0,29	2,89±0,31
Херсонська обл. м. Генічеськ, 2017 р.	1,82±0,19	2,12±0,21	3,18±0,31	3,15±0,30	3,19±0,31
Миколаївська обл., м. Олександрівка, 2016 р.	1,89±0,18	2,10±0,20	3,21±0,31	3,22±0,33	3,23±0,31
Донецька обл., м. Дружківка, 2016 р.	1,87±0,17	2,17±0,22	3,27±0,31	3,26±0,32	3,27±0,31
Харківська обл., м. Лозова, 2017 р.	1,90±0,19	2,15±0,30	3,30±0,31	3,29±0,31	3,31±0,31

Таблиця 4.4 – Динаміка накопичення вітаміну К<sub>1</sub> в траві *A. micranthoides* в залежності від строків заготівлі сировини і місяця зростання

Місце заготівлі	Вміст вітаміну К <sub>1</sub> , %				
	червень	липень	серпень	вересень	жовтень
Дніпропетровська обл., м. Павлоград, 2016 р.	2,86 ±0,27	3,10±0,30	3,65±0,35	3,64±0,36	3,66±0,36
Херсонська обл., м. Нова Каховка, 2017 р.	2,91±0,28	3,12±0,29	3,20±0,31	3,19±0,31	3,21±0,31
Миколаївська обл., м. Снігурівка, 2016 р.	2,89±0,29	3,00±0,30	3,69±0,36	3,70±0,37	3,74±0,37
Донецька обл., м. Краматорськ, 2017 р.	2,97±0,28	3,11±0,29	3,59±0,35	3,58±0,36	3,58±0,36
Харківська обл., м. Барвінково, 2017 р.	2,95±0,30	3,09±0,30	3,48±0,35	3,47±0,34	3,47±0,35

Отримані дані свідчать про найбільше накопичення вітаміну  $K_1$  у траві *A. collina* саме у вересні – жовтні. З різних місць заготівлі вміст вітаміну  $K_1$  складав від  $2,95 \pm 0,26$  % до  $3,31 \pm 0,31$  %. При цьому рівень накопичення сполуки був практично незмінним з серпня по жовтень.

Щодо другого досліджуваного виду, то як показав аналіз отриманих даних, досить високий рівень накопичення вітаміну  $K_1$  у траві *A. micranthoides*, під час вегетації саме у серпні – жовтні. З різних місць заготівлі він складав від  $3,21 \pm 0,31$  % до  $3,92 \pm 0,39$  %. При цьому цей показник практично не змінювався з вересня по жовтень, що свідчило про особливості накопичення цієї сполуки у сировині досліджуваних видів.

На підставі отриманих результатів можливе зробити висновок, що оптимальним терміном заготівлі трави *A. collina* та *A. micranthoides* слід вважати вересень-жовтень, при максимальному збереженні товарознавчих показників та максимальному накопиченні діючих БАР.

### 4.3 Визначення оптимальних умов сушіння

Забезпечення належної якості лікарської рослинної сировини багато в чому залежить від дотримання ряду умов. Важливу роль відіграють терміни заготівлі та режим сушіння сировини. Згідно з вимогами ДФУ 2.0 трава деревію звичайного стандартизується за вмістом ефірної олії [26]. Саме тому, дослідження впливу температурного режиму сушіння на вихід ефірної олії є одним із головних етапів нашої роботи.

Вміст ефірної олії та її основних компонентів у досліджуваних зразках сировини нами визначався через 3-9 год сушіння у сушильній шафі «Termolab СНОЛ 24/350» за температури 30-35 °С.

Результати експериментального дослідження впливу температурного режиму сушіння на вихід ефірної олії та її основних компонентів у траві досліджуваних видів наведено у табл. 4.5 та 4.6.

Таблиця 4.5 – Вміст ефірної олії та суми проазуленів в її складі при сушінні трави *A. collina* , 2016-2017 рр.

Місце заготівлі	Вміст, %	Час сушіння (год.)					
		6	7	8	9	10	11
Запорізька обл., м. Славгород, 2017 р.	ЕО	2,73 ± 0,31	2,75 ± 0,31	2,53 ± 0,24	1,92 ± 0,18	1,25 ± 0,11	0,95 ± 0,08
	ПА	29,55 ± 2,74	30,60 ± 2,78	30,71 ± 2,79	30,74 ± 2,89	31,17 ± 2,91	31,69 ± 2,88
Дніпропетров. обл., м. Синельникове 2016 р	ЕО	2,29 ± 0,31	2,31 ± 0,31	2,14 ± 0,19	1,80 ± 0,17	1,19 ± 0,10	0,75 ± 0,07
	ПА	28,00 ± 2,75	28,15 ± 2,77	28,21 ± 2,79	28,30 ± 2,78	28,66 ± 2,77	28,77 ± 2,79
Херсонська обл., м. Генічеськ, 2017 р.	ЕО	2,19 ± 0,31	2,20 ± 0,31	2,09 ± 0,18	1,77 ± 0,16	1,25 ± 0,11	0,81 ± 0,07
	ПА	27,24 ± 2,64	27,32 ± 2,64	27,39 ± 2,62	27,43 ± 2,60	27,50 ± 2,64	27,65 ± 2,65
Миколаївська обл., м. Олександрівка 2016 р.	ЕО	2,23 ± 0,31	2,25 ± 0,31	2,07 ± 0,18	1,83 ± 0,17	1,20 ± 0,11	0,90 ± 0,08
	ПА	28,69 ± 2,74	28,77 ± 2,75	28,80 ± 2,76	28,85 ± 2,76	28,90 ± 2,75	28,99 ± 2,77
Донецька обл., м. Дружківка 2016 р.	ЕО	2,47 ± 0,312	2,48 ± 0,31	2,29 ± 0,20	1,90 ± 0,18	1,28 ± 0,12	0,88 ± 0,08
	ПА	9,33 ± 2,73	29,55 ± 2,76	29,60 ± 2,78	29,65 ± 2,79	29,75 ± 2,80	29,88 ± 2,81
Харківська обл., м. Лозова, 2017 р.	ЕО	2,43 ± 0,31	2,46 ± 0,31	2,32 ± 0,21	1,95 ± 0,18	1,33 ± 0,12	0,91 ± 0,08
	ПА	29,11 ± 2,80	30,00 ± 2,79	30,09 ± 2,82	30,12 ± 2,87	30,22 ± 2,89	30,35 ± 2,90

Примітка: ЕО – ефірна олія, ПА – сума проазуленів.

Таблиця 4.6 – Вміст ЕО та суми похідних азулену в її складі при сушінні трави *A. micranthoides*, 2016-2017 рр.

Місце заготівлі	Вміст, %	Час сушіння, год.					
		6	7	8	9	10	11
Запорізька обл., м. Новогупалівка, 2017 р.	ЕО	3,99 ± 0,34	3,80 ± 0,33	3,60 ± 0,35	2,79 ± 0,28	1,29 ± 0,13	1,11 ± 0,11
	ПА	18,52 ± 1,61	17,50 ± 1,60	16,43 ± 1,59	16,32 ± 1,58	15,50 ± 1,52	14,42 ± 1,41
Дніпропетровська обл., м. Павлоград, 2016 р.	ЕО	3,19 ± 0,31	3,15 ± 0,31	3,00 ± 0,30	2,89 ± 0,29	1,19 ± 0,11	1,12 ± 0,11
	ПА	16,22 ± 1,59	16,19 ± 1,60	16,00 ± 1,59	15,78 ± 1,56	15,12 ± 1,51	14,22 ± 1,44
Херсонська обл., м. Нова Каховка, 2017 р.	ЕО	3,30 ± 0,321	3,28 ± 0,32	3,10 ± 0,30	2,77 ± 0,28	1,30 ± 0,13	1,21 ± 0,12
	ПА	7,33 ± 1,70	17,22 ± 1,69	16,23 ± 1,62	15,53 ± 1,49	15,33 ± 1,54	14,33 ± 1,41
Миколаївська обл., м. Снігурівка, 2016 р.	ЕО	3,22 ± 0,32	3,19 ± 0,30	3,17 ± 0,31	2,68 ± 0,25	1,22 ± 0,12	1,22 ± 0,13
	ПА	17,00 ± 1,70	16,99 ± 1,65	16,77 ± 1,64	15,62 ± 1,51	15,00 ± 1,50	14,00 ± 1,40
Донецька обл., м. Краматорськ, 2017 р.	ЕО	3,22 ± 0,30	3,20 ± 0,29	3,12 ± 0,31	2,62 ± 0,26	1,84 ± 0,19	1,12 ± 0,11
	ПА	17,62 ± 1,75	17,55 ± 1,74	16,60 ± 1,66	15,60 ± 1,50	15,10 ± 1,49	14,11 ± 1,39
Харківська обл., м. Барвінково, 2017 р.	ЕО	3,34 ± 0,32	3,30 ± 0,33	3,14 ± 0,30	2,61 ± 0,27	1,82 ± 0,18	1,14 ± 0,12
	ПА	17,88 ± 1,75	17,66 ± 1,70	17,58 ± 1,69	15,77 ± 1,55	15,18 ± 1,52	14,10 ± 1,35

Примітка: ЕО – ефірна олія, ПА – сума проазуленів.

У ході проведених досліджень експериментальним шляхом було встановлено оптимальні терміни сушіння дослідженої сировини. Траву *A. collina* та *A. micranthoides* доцільно висушувати в сушильній шафі за температури 35-40 °С протягом 6-8 год.

За матеріалами досліджень у практику МОЗ України впроваджено інформаційний лист: «Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* j. Becker ex Reichenb. (деревію горбкового)»

#### **4.4 Макро- і мікроскопічний аналіз**

##### **4.4.1 Макро- і мікроскопічний аналіз трави *A. collina***

###### *Встановлення морфологічних діагностичних ознак трави *A. collina**

Сировина являє собою цілі або різані, висушені квітучі верхівки трави *A. collina*. Фрагменти листя зеленого або сірувато-зеленого кольору, слабо опушені на верхній поверхні та сильно опушені на нижній поверхні, довжина 1,5-2 см двічі-перисторозсічені, довгасто-ланцетні, з цілокраїм стрижнем. Суцвіття яйцеподібні або циліндричні 3-4 мм шириною; зібрані у відносно щільні щитоподібні кошики діаметром 5-10 см. складається із 5-6 несправжньоязичкових крайових квіток і 5-6 трубчастих серединних квіток. Листочки обгортки жовтувато-зелені, з ледь помітною буруватою облямівкою. Крайові язичкові квітки білі або рожеві. Стебла подрібнені та фрагментовані, опушені, зелені, частково коричневі, завтовшки до 1,5 см, зі світлою серцевиною. Плід-сім'янка. Запах слабкий, ароматний.

За результатами макроскопічного аналізу досліджуваних нами зразків трави *Achillea collina* пропонуємо проект ідентифікації А у МКЯ «Деревію пагорбового трава».

###### *Встановлення анатомічних діагностичних ознак трави *A. collina**

Клітини верхньої (рис. 4.1) та нижньої епідерми (рис. 4.2) листка паренхімні, з потовщеними звивистими оболонками. Продихів багато, оточені 4-5 біляпродиховими клітинами. Тип продихового апарату – аномоцитний.

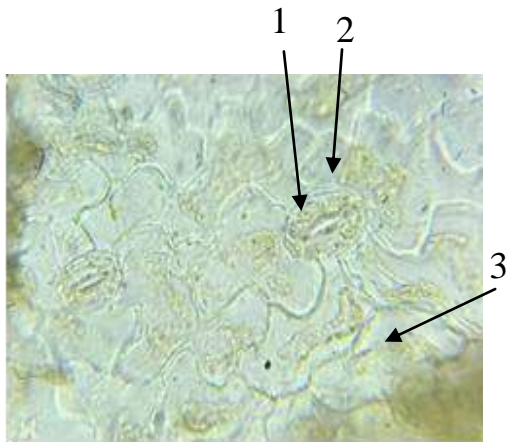


Рисунок 4.1 – Фрагмент верхньої епідерми листка: 1 – продих, 2 – біляпродихова клітина, 3 – базисна клітина епідерми

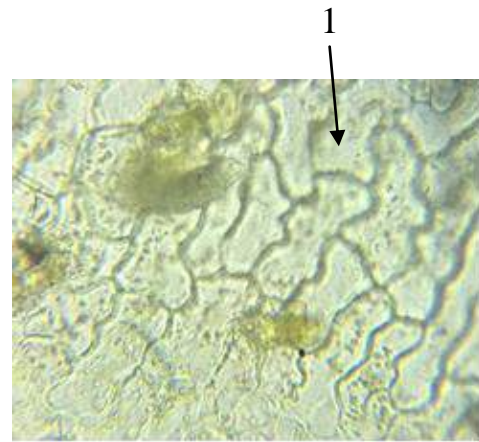


Рисунок 4.2 – Фрагмент нижньої епідерми листка: 1 - базисна клітина епідерми

Опушення верхньої епідерми рідке (рис. 4.3), нижньої – середнє (рис. 4.4) та представлене простими 4-6 клітинними волосками, у яких нижні клітини стискаються, а верхня – дуже видовжена та створює павутинисте опушення (вона часто обламується) (рис. 4.5). На верхній епідермі часто розташовані ефіроолійні залозки, які утворені 8 клітинами, що розташовані у два ряди та чотири яруси (діагностична ознака родини айстрові) (рис. 4.6).



Рисунок 4.3 – Фрагмент опушення верхньої епідерми листка: 1 – простий багатоклітинний волосок, 2 – ефіроолійна залозка

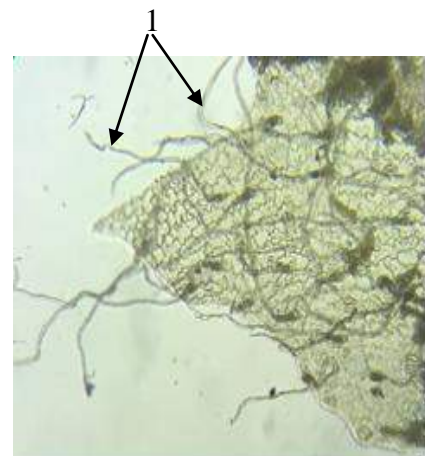


Рисунок 4.4 – Фрагмент опушення нижньої епідерми листка: 1 – прості багатоклітинні волоски



Рисунок 4.5 –Фрагмент епідерми листка з простими волосками



Рисунок 4.6 – Ефіроолійна залозка на верхній епідермі листка

Центральна жилка на поперечному зрізі трикутної форми та представлена трьома провідними пучками (рис. 4.7). Клітини епідерми над жилкою видовжені паренхімні, оболонки потовщені, прямостінні, з прямими порами (рис. 4.8). Продихи зустрічаються рідко, тип продихового апарату – аномоцитний. Опушення середнє та представлене простими волосками, такими ж, що зустрічаються на епідермі листка (рис. 4.5).

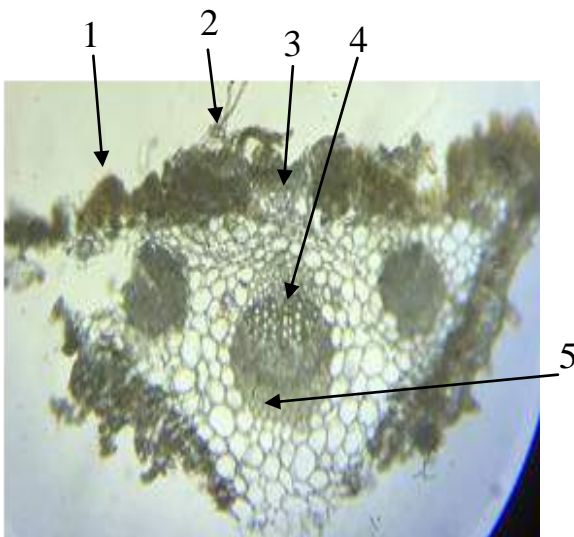


Рисунок 4.7 – Центральна жилка листка на поперечному зрізі: 1 – епідерма, 2 – простий багатоклітинний волосок, 3 – пластинчасто-кутова коленхіма, 4 – провідний пучок, 5 – склеренхімна обкладка пучка зі сторони флоєми



Рисунок 4.8 – Фрагмент епідерми центральної жилки: 1- потовщена оболонка клітини епідерми



Під епідермою жилки у ребрах містяться один-два шари пластинчасто-кутової коленхіми. Провідні пучки колатеральні, закриті, зі сторони флоєми оточені склеренхімною обкладкою (рис. 4.7).

Стебло округле з ледь виступаючими ребрами (рис. 4.9). Клітини епідерми паренхімні видовжені або прозенхімні, оболонки потовщені, прямостінні, пронизані прямими порами (рис. 4.10). Опушення середнє, представлене простими волосками, які зустрічаються на епідермі листка.

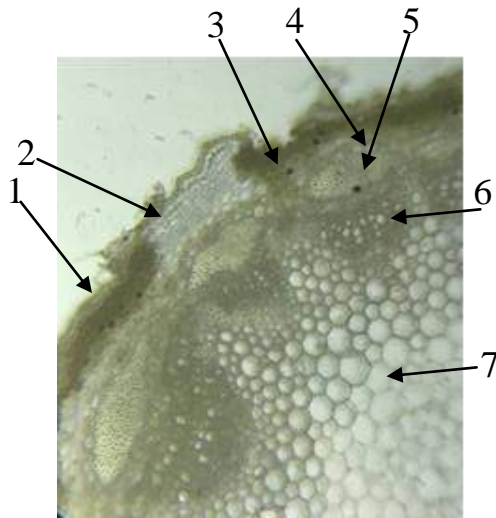


Рисунок 4.9 – Фрагмент стебла на поперечному зрізі: 1 – епідерма, 2 – пластинчасто-кутова коленхіма, 3 – хлоренхіма, 4 – ендодерма, 5 – склеренхімна обкладка пучка, 6 – відкритий колатеральний провідний пучок, 7 – виповнена серцевина



Рисунок 4.10 – Фрагмент епідерми стебла: 1 – базисна клітина епідерми

Під епідермою у ребрах стебла знаходиться багат шарова пластинчасто-кутова коленхіма (рис. 4.11), а між ними 1-3 шари хлоренхіми. Над провідними пучками розташована одношарова ендодерма (рис. 4.9). Центральний осьовий циліндр перехідного типу будови. Пучки відкриті колатеральні зі склеренхімною обкладкою зі сторони флоєми. Серцевина виражена добре, виповнена клітинами основної паренхіми у верхній та середній частині стебла, у нижній частині – порожниста.

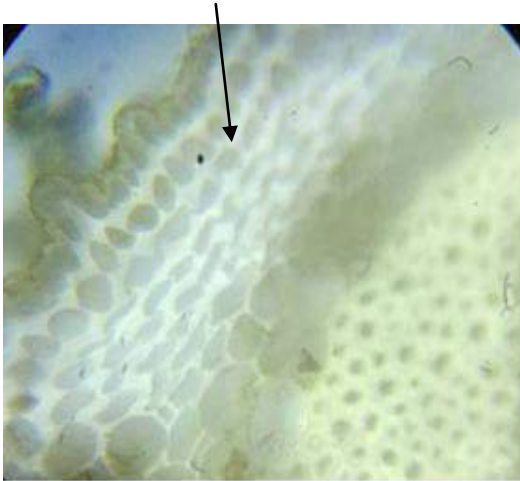


Рисунок 4.11 – Фрагмент пластинчато-кутової коленхіми у ребрі стебла

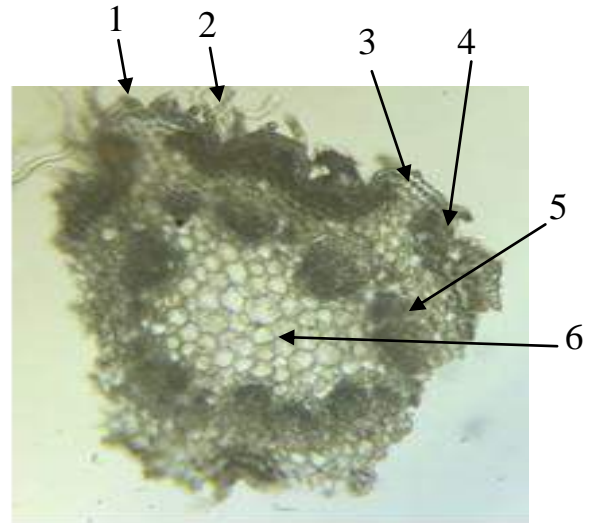


Рисунок 4.12 – Вісь суцвіття на поперечному зрізі: 1 – епідерма, 2 – волосок, 3 – пластинчато-кутова коленхіма, 4 – хлоренхіма, 5 – відкритий колатеральний провідний пучок, 6 – виповнена серцевина

Головна вісь суцвіття на поперечному зрізі – овальна, ребриста (рис. 4.12). Клітини епідерми осі паренхімні, чотирикутні, з прямими оболонками (рис. 4.13). Продихи зустрічаються часто, тип продихового апарату – аномоцитний. Опушення середнє та представлене простими багатоклітинними волосками, які зустрічаються на епідермі листка (рис. 4.5).

Під епідермою у ребрах знаходиться 2-3 шари пластинчато-кутової коленхіми, а між ними – 2-3 шари хлоренхіми. Центральний осьовий циліндр перехідного типу будови, пучки відкриті колатеральні. Серцевина виражена, виповнена клітинами основної паренхіми.

Клітини епідерми обгортки кошика паренхімні або видовжено-паренхімні, з потовщеними оболонками та поздовжньо-зморшкуватою кутикулою (рис. 4.14). Продихів багато, тип продихового апарату – аномоцитний. Опушення середнє, представлене простими волосками, такими ж, що й на епідермі листка (рис. 4.5).



Рисунок 4.13 – Фрагмент епідерми вісі суцвіття: 1 – базисна клітина епідерми, 2 – біляпродихова клітина, 3 – продих

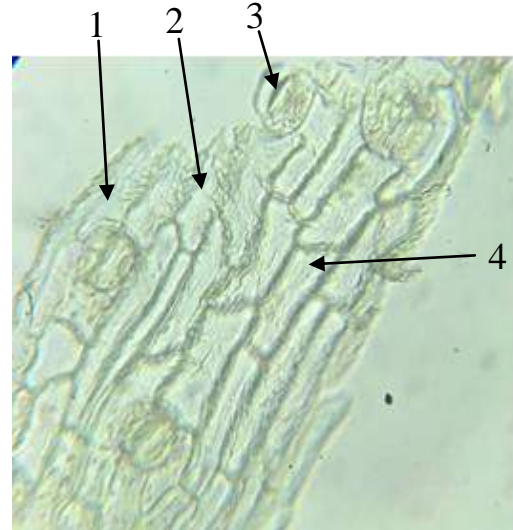


Рисунок 4.14 – Фрагмент епідерми листочка обгортки кошика: 1 – біляпродихова клітина, 2 – базисна клітина епідерми, 3 – продих, 4 – поздовжньо-зморшкувата кутикула

Клітини епідерми віночка паренхімні, 4-5-кутні, з незначно потовщеними оболонками (рис. 4.15). Опушення відсутнє. На віночку несправжньоїязичкової квітці у великій кількості наявні ефіроолійні залозки, які складаються з 8 клітин, що розташовані у два ряди та чотири яруси.



Рисунок 4.15 – Фрагмент віночка несправжньоїязичкової квітці з ефіроолійними залозками

*Встановлені характерні відмінні мікроскопічні ознаки трави рослини:*

*для листка:* форма та розміри клітин епідерми; тип продихового апарату – аномоцитний; наявність простих, 4-6 клітинних волосків, у яких нижні клітини стискаються, а верхня – дуже видовжена та створює павутинисте опушення; наявність на верхній епідермі ефіроолійних залозок, які утворені 6 клітинами, що розташовані у два ряди та чотири яруси;

*для жилки:* форма та розміри клітин епідерми; опушення простими багатоклітинними волосками; наявність пластинчасто-кутової коленхіми, та склеренхімної обкладинки зі сторони флоєми у провідних пучках;

*для стебла:* форма; опушення простими багатоклітинними волосками; пластинчасто-кутова коленхіма, ендодерма; перехідний тип будови центрального осьового циліндру; вираженість серцевини та її виповненість;

*для головної осі суцвіття:* форма; наявність простих багатоклітинних волосків; пластинчасто-кутова коленхіма; перехідний тип будови центрального осьового циліндру.

#### **4.4.2 Макро- і мікроскопічний аналіз трави *A. micranthoides***

*Встановлення морфологічних діагностичних ознак трави *A. micranthoides**

Сировина складеться з цілих або різаних квітучих верхівок трави *A. micranthoides*. Фрагменти листя темно-зеленого кольору, перисторозсічене на лінійні сегменти, сильно опушені з тонко загостреною білуватою верхівкою. Сегменти листка розгалужені, не налягають один на одного. Поверхня листка з обох сторін покрита волосками. Суцвіття численні, зібрані у негусто-складні щитки. Загальне квітколоже від випуклого до конічного. Обгортки яйцеподібні, 3-4 мм довжини, 2-2,5 мм ширини. Ложе кошика опукле, має несправжньоязичкові крайові квітки із жовтуватим віночком. Плід-сім'янка, яйцеподібна. Стебла подрібнені та фрагментовані, опушені, світло-зелені, частково коричневі, завтовшки до 1 см, присутні волоски. Запах слабкий, ароматний.

За результатами макроскопічного аналізу досліджуваних нами зразків трави *Achillea micranthoides* пропонуємо проект ідентифікації А у МКЯ «Деревію подового трава»:

*Встановлення анатомічних діагностичних ознак трави A. micranthoides*

Клітини верхньої (рис. 4.16) та нижньої епідерми (рис. 4.17) листка паренхімні, з потовщеними звивистими оболонками. Клітини нижньої епідерми вкриті поздовжньо-зморшкуватою кутикулою (рис. 4.17). Продихів багато (на нижній епідермі дуже багато), оточені 4-5 біляпродиховими клітинами.



Рисунок 4.16 – Фрагмент верхньої епідерми листка: 1 - продих, 2 – біляпродихова клітина, 3 – базисна клітина епідерми

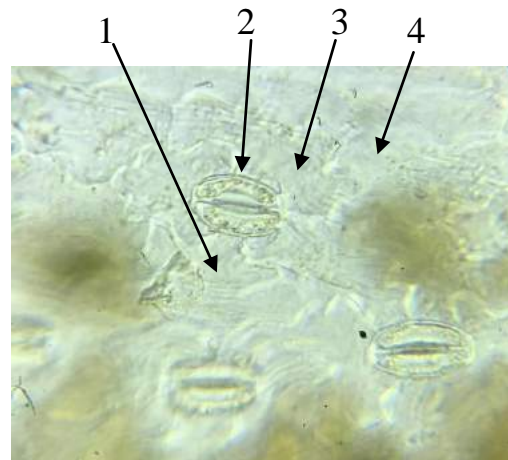


Рисунок 4.17 – Фрагмент нижньої епідерми листка: 1 - поздовжньо-зморшкувата кутикула, 2- продих, 3 – біляпродихова клітина, 4 – базисна клітина епідерми

Тип продихового апарату – аномоцитний. Опушення верхньої епідерми густе (рис. 4.18), нижньої – рідке (рис. 4.19). На верхній та нижній епідермі волоски дворядні, багатоклітинні (8-10 клітин) (рис. 4.20). На нижній епідермі зустрічаються ще прості 4-6 клітинні волоски, у яких нижні клітини стискаються, а верхня – сильно видовжена та створює павутинисте опушення (рис. 4.19). На верхній епідермі часто, а на нижній рідше знаходяться ефіроолійні залозки, які утворені 6 клітинами, що розташовані у два ряди та чотири яруси (діагностична ознака родини айстрові) (рис. 4.21).



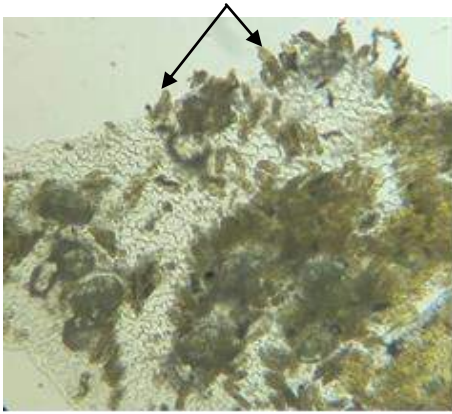


Рисунок 4.18 – Фрагмент опушення  
верхньої епідерми листка

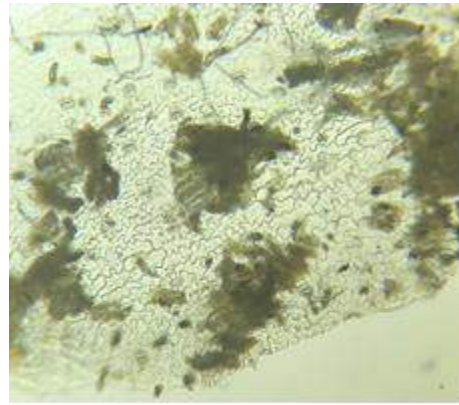


Рисунок 4.19 – Фрагмент опушення  
нижньої епідерми листка



Рисунок 4.20 – Фрагмент епідерми  
листка з простими дворядними  
волосками



Рисунок 4.21 – Ефіроолійна залозка  
на епідермі листка

Центральна жилка на поперечному зрізі трикутної форми та представлена трьома провідними пучками (рис. 4.22). Клітини епідерми над жилкою видовжені паренхімні, оболонки потовщені, прямо стінні, з прямими порами (рис. 4.23). Опушення густе та представлене простими волосками, які зустрічаються на нижній епідермі листка (рис. 4.19).

Провідні пучки колатеральні, закриті, зі сторони флоєми та ксилеми оточені склеренхімною обкладкою (рис. 4.22).

Черешок на поперечному зрізі ниркоподібної форми (рис. 4.24). Клітини епідерми черешка паренхімні, 4-6-кутні з потовщеними прямо-стінними оболонками, які пронизані прямими порами (рис. 4.25). Опушення середнє та

представлене простими багатоклітинними волосками, які зустрічаються на нижній епідермі листка (рис. 4.19).

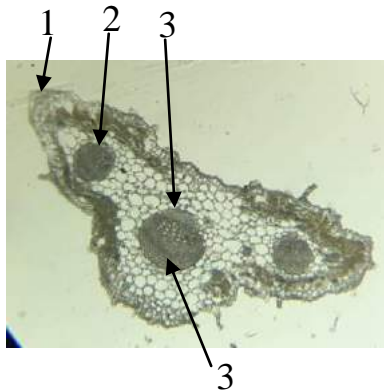


Рисунок 4.22 – Центральна жилка листка на поперечному зрізі: 1 – епідерма, 2 – провідний пучок, 3 – склеренхімна обкладка пучка

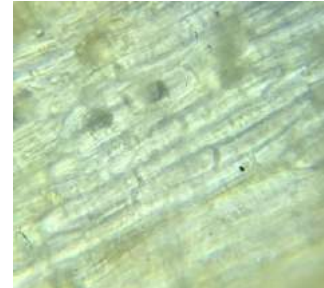


Рисунок 4.23 – Фрагмент епідерми центральної жилки



Рисунок 4.24 – Фрагмент черешка на поперечному зрізі: 1- епідерма, 2 – склеренхімна обкладка повідного пучка, 3 – паренхімна обкладка пучка

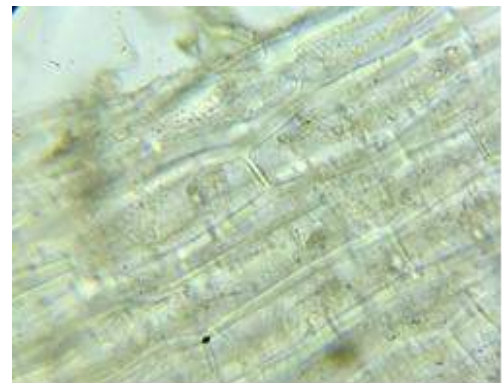


Рисунок 4.25 – Фрагмент епідерми черешка

Провідна система представлена трьома провідними пучками (колатеральні), середній крупніший, два менші розташовані по кутах черешка (рис. 4.24). Над центральним пучком зі сторони флоєми та ксилеми знаходиться багаторядна склеренхімна обкладка, а над нею пучок оточений паренхімною обкладкою, яка утворена паренхімними тонкостінними клітинами більшого діаметру ніж клітини основної паренхіми черешка.

Стебло округле з випуклими виступаючими ребрами (рис. 4.26). Клітини епідерми паренхімні видовжені або прозенхімні, оболонки потовщені, прямостінні, пронизані прямими порами (рис. 4.27). Опушення густе, представлене простими волосками, які зустрічаються на нижній епідермі листка (рис. 4.19).

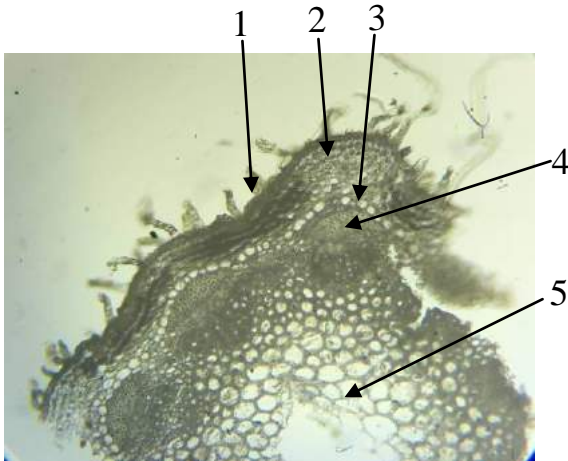


Рисунок 4.26 – Фрагмент стебла на поперечному зрізі: 1 – епідерма з волосками, 2 – пластинчастокутова коленхіма, 3 – ендодерма, 4 – склеренхімна обкладка відкритого колатерального провідного пучка, 5 – серцевина



Рисунок 4. 27 – Фрагмент епідерми стебла

Під епідермою у ребрах стебла знаходиться багат шарова пластинчастокутова коленхіма (рис. 4.28), а між ними 1-3 шари хлоренхіми. Над провідними пучками розташована одношарова ендодерма (рис. 4.26). Центральний осьовий циліндр пучкового типу будови. Пучки відкриті колатеральні зі склеренхімною обкладкою зі сторони флоєми. Серцевина виражена добре, виповнена клітинами основної паренхіми у верхній та середній частині стебла, у нижній частині – порожниста.

Головна вісь суцвіття на поперечному зрізі – округла, ребриста (рис. 4.29). Клітини епідерми осі паренхімні, чотирикутні, з прямими оболонками та поздовжньо-зморшкуватою кутикулою (рис. 4.30). Продихи зустрічаються рідко, тип продихового апарату – аномоцитний. Опушення густе та представлене простими багатоклітинними волосками, які зустрічаються на



нижній епідермі листка (рис. 4.20) та ефіроолійними залозками, що складаються з 6 клітин (рис. 4.21).

Клітини епідерми обгортки кошика паренхімні, з потовщеними оболонками (рис. 4.31). Опушення рідке, представлене простими волосками, які зустрічаються на нижній епідермі листка (рис. 4.19).

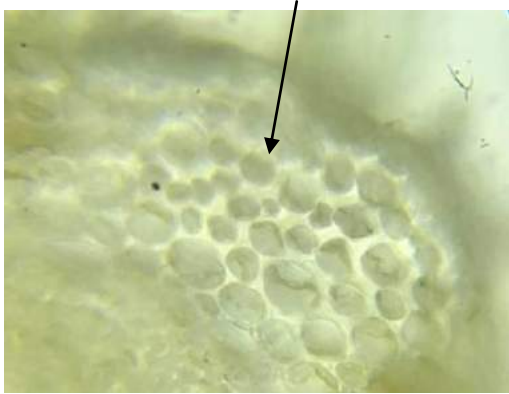


Рисунок 4.28 – Фрагмент пластинчато-кутової коленхіми у ребрі стебла

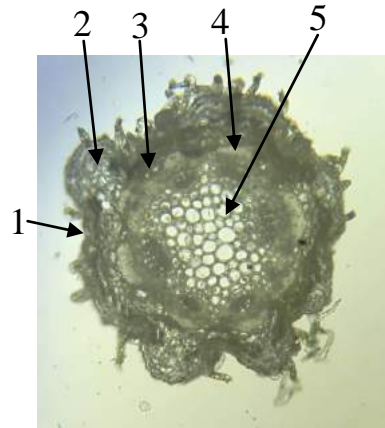


Рисунок 4.29 – Вісь суцвіття на поперечному зрізі: 1 – епідерма з простими волосками, 2 – пластинчато-кутова коленхіма, 3 – ендодерма, 4 – склеренхімна обкладка відкритого колатерального провідного пучка, 5 – серцевина

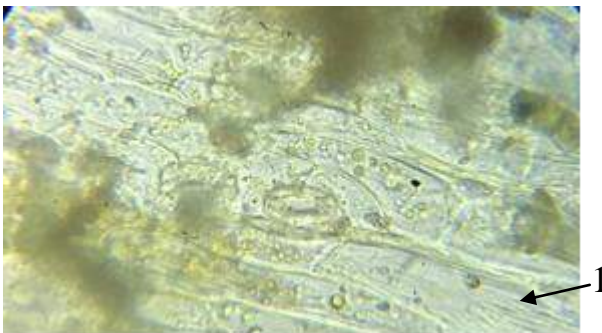


Рисунок 4.30 – Фрагмент епідерми осі суцвіття: 1 – поздовжньо-зморшкувата кутикула

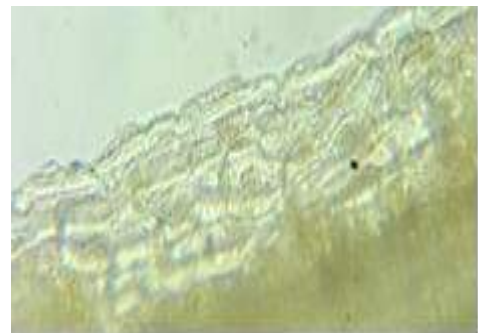


Рисунок 4.31 – Фрагмент епідерми листочка обгортки кошика

Клітини епідерми віночка паренхімні, з незначно потовщеними оболонками. Опушення відсутнє.

*Характерні відмінні анатомічні ознаки трави деревію подового.*

*Для листка:* форма та розміри клітин епідерми; тип продихового апарату – аномоцитний; поздовжньо-зморшкувата кутикула на нижній епідермі; наявність дворядних, багатоклітинних волосків на верхній та нижній епідермі та простих, 4-6 клітинних волосків, у яких нижні клітини стискаються а верхня – дуже видовжена та створює павутинисте опушення на нижній епідермі; наявність на верхній та нижній епідермі ефіроолійних залозок, які утворені 6 клітинами, що розташовані у два ряди та чотири яруси;

*Для жилки:* форма та розміри клітин епідерми; опушення простими багатоклітинними волосками, які зустрічаються на нижній епідермі листка; наявність склеренхімної обкладинки зі сторони флоєми та ксилеми у провідних пучках;

*Для черешка:* форма та розміри клітин епідерми; опушення простими багатоклітинними волосками, які зустрічаються на нижній епідермі листка; наявність склеренхімної обкладки зі сторони флоєми та ксилеми у провідних пучках та паренхімної обкладки над склеренхімою;

*Для стебла:* форма; опушення простими багатоклітинними волосками, які зустрічаються на нижній епідермі листка; пластинчасто-кутова коленхіма; ендодерма; пучковий тип будови центрального осьового циліндру; присутність серцевини та її виповненість;

*Головна вісь суцвіття:* форма; поздовжньо-зморшкувата кутикула на клітинах епідерми; наявність простих багатоклітинних волосків та ефіроолійних залозок; пластинчасто-кутова коленхіма; ендодерма; пучковий тип будови центрального осьового циліндру; склеренхімна обкладка над флоємою провідних пучків;

*Для обгортки:* форма клітин епідерми; прості багатоклітинні волоски;

*Для віночка:* форма клітин епідерми.

За результатами морфолого-анатомічного дослідження встановлені відмінні ознаки досліджуваних видів, які наведені у табл. 4.7. Отримані дані були використані при розробці МКЯ на траву досліджуваних видів.

Таблиця 4.7 – Порівняльна характеристика відмінних морфолого-анатомічних діагностичних ознак досліджуваної сировини

<i>A. collina</i>	<i>A. micranthoides</i>
<p>листя:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- опушення верхньої епідерми рідке, нижньої – середнє;</li> <li>- відсутня кутикула;</li> <li>- відсутні дворядні, багатоклітинні волоски;</li> <li>- наявні ефіроолійні залозки тільки на верхній епідермі</li> </ul>	<p>листя:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- опушення верхньої епідерми густе, нижньої – рідке;</li> <li>- наявна поздовжньо-зморшківата кутикула на нижній епідермі;</li> <li>- наявні дворядні, багатоклітинні волоски на верхній та нижній епідермі,</li> <li>- наявні ефіроолійні залозки на верхній та нижній епідермі</li> </ul>
<p>жилка:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- форма - трикутна;</li> <li>- опушення середнє;</li> <li>- наявна пластинчасто-кутова колєнхіма;</li> <li>- склерєнхімна обкладка пучка зі сторони тільки флоєми</li> </ul>	<p>жилка:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- форма – широко-трикутна;</li> <li>- опушення густе;</li> <li>- відсутня колєнхіма;</li> <li>- склерєнхімна обкладка пучка зі сторони флоєми і ксилєми</li> </ul>
<p>черешок:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- відсутній (листя сидяче)</li> </ul>	<p>черешок:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- форма – ниркоподібна;</li> <li>- наявність склерєнхімної обкладки зі сторони флоєми та ксилєми;</li> <li>- наявність парєнхімної обкладки над склерєнхімою</li> </ul>
<p>стебло:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- опушення середнє;</li> <li>- форма ребер (плєскаті);</li> <li>- перехідний тип будови центрального циліндра</li> </ul>	<p>стебло:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- опушення густе;</li> <li>- форма ребер (опуклі);</li> <li>- пучковий тип будови центрального циліндра</li> </ul>
<p>вісь суцвіття:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- відсутня кутикула;</li> <li>- відсутні залозки;</li> <li>- відсутня ендодерма;</li> <li>- перехідний тип будови центрального осьового циліндра;</li> <li>- відсутня склерєнхімна обкладка пучка</li> </ul>	<p>вісь суцвіття:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- поздовжньо-зморшківата кутикула на клітинах епідерми;</li> <li>- наявність ефіроолійних залозок;</li> <li>- наявність ендодерми;</li> <li>- пучковий тип будови центрального осьового циліндра;</li> <li>- наявність склерєнхімної обкладки над флоємою провідних пучків</li> </ul>

<i>A. collina</i>	<i>A. micranthoides</i>
епідерма обгортки кошика: - опушення середнє; - наявна поздовжньо- зморшкувата кутикула	епідерма обгортки кошика: - опушення рідке; - відсутня кутикула
епідерма віночка: - клітини епідерми 4-5-кутні; - наявні ефіроолійні залозки	епідерма віночка: - клітини епідерми округлі; - відсутні залозки

#### 4.5 Визначення числових показників якості

Лікарську рослинну сировину і лікарські засоби, отримані на її основі, успішно використовують у медицині тільки тоді, коли вони відповідають чинним нормативним документам за вимогами ДФУ [24-28].

Головним документом який регламентує якість лікарської рослинної сировини на території України є Державна Фармакопея України, зокрема її монографія «Лікарська рослинна сировина». Дана монографія передбачає стандартизацію лікарської рослинної сировини за наступними параметрами:

- встановлення макроскопічних діагностичних ознак (ІДЕНТИФІКАЦІЯ А);
- встановлення мікроскопічних діагностичних ознак (ІДЕНТИФІКАЦІЯ В);
- встановлення якісного складу (ІДЕНТИФІКАЦІЯ С) та кількісного вмісту (КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ) основних БАР сировини;
- визначення показників доброякісності сировини (ВИПРОБУВАННЯ).

На сьогодні відсутні відповідні монографії на рослинну сировину *A. collina* та *A. micranthoides*. Відсутність монографії у ДФУ не дає можливості застосовувати д. пагорбовий та д. подовий у офіціальній медицині. З огляду на вищесказане, подальшим етапом нашої роботи було визначення її числових показників якості та розробка проекту МКЯ на сировину.

Визначення числових показників доброякісності досліджуваних зразків сировини проводили гравіметричним методом згідно відповідних методик ДФУ, які неведені у розділі 2. Результати експериментів наведено у табл. 4.8.

Таблиця 4.8 – Числові показники якості трави *A. collina* та *A. micranthoides*,

Показник якості	Значення, %	
	<i>A. collina</i>	<i>A. micranthoides</i>
Втата в масі при висушуванні	9,87 ± 0,25	9,63 ± 0,20
Зола загальна	7,12 ± 0,15	6,62 ± 0,12
Зола, нерозчинна в 10% розчині кислоти хлористоводневої	2,12 ± 0,07	1,87 ± 0,05

Як видно з таблиці, втрата в масі при висушуванні трави обох досліджуваних видів встановлена практично на одному рівні і не перевищує вимог ДФУ до лікарської рослинної сировини деревію звичайного трава.

Щодо загальної золи, то цей показник виявився дещо вищим для трави *A. collina* (5,12 ± 0,15%) ніж для трави *A. micranthoides* (4,62 ± 0,12%), що у деякій мірі можна пояснити відмінностями вмісту мікро- та мікроелементів у сировині. Вміст золи нерозчинної у кислоті хлористоводневій також виявився дещо вищим у траві *A. collina* (1,12 ± 0,07% проти 0,87 ± 0,05%), хоча для обох видів він встановлений у межах норм допустимих ДФУ для деревію звичайного трави.

#### 4.6 Визначення технологічних параметрів трави *A. collina* та *A. micranthoides*

Визначення технологічних параметрів трави досліджуваних видів проводили за загальноприйнятими методиками, які наведено у розділі 2. Результати дослідження представлені у табл. 4.9.

Таблиця 4.9 – Технологічні параметри трави *A. collina* та *A. micranthoides*

Технологічний параметр	Результат визначення	
	<i>A. collina</i>	<i>A. micranthoides</i>
Середній розмір часток (мм)	2-4	2-4
Насипна маса (г/см <sup>3</sup> )	0,45 ± 0,05	0,38 ± 0,04
Об'ємна вага (г/см <sup>3</sup> )	0,37 ± 0,05	0,41 ± 0,05
Питома вага (г/см <sup>3</sup> )	1,35 ± 0,07	1,40 ± 0,06
Пористість сировини (г/см <sup>3</sup> )	0,62 ± 0,04	0,57 ± 0,05
Порізність шару (г/см <sup>3</sup> )	0,22 ± 0,06	0,24 ± 0,05
Вільний об'єм шару (г/см <sup>3</sup> )	2,14 ± 0,10	2,22 ± 0,12
Коефіцієнт поглинання кукурудзяної олії Р	2,23 ± 0,15	2,56 ± 0,10

Отримані показники були використані при розробці технології одержання та враховані при отриманні ліпофільних екстрактів з трави д. пагорбового та трави д. подового.

#### 4.7 Стандартизація деревію пагорбового трави

*Проект МКЯ*

### ДЕРЕВІЮ ПАГОРБОВОГО ТРАВА

#### ACHILLEA COLLINA HERBA

Зібрані в період цвітіння трава (суцвіття з прилеглим листям 10-15 см), дворічної трав'янистої рослини деревію пагорбового (*Achillea collina* J. Becker ex Reichenb.) родини айстрових (*Asteraceae*).

*Вміст:*

- ефірна олія: не менше 2,5 % ефірної олії, у перерахунку на суху сировину;
- флавоноїди: не менше 2,5 % флавоноїдів у перерахунку на лютеолін та суху сировину;
- вітамін К<sub>1</sub>: не менше 2,0 % у перерахунку на вітамін К<sub>1</sub>.

## ІДЕНТИФІКАЦІЯ

**А.** Листки сірувато-зеленого кольору, сильно опушені, до 11 см довжиною, 0,5-2,3 мм шириною, двічі-перисто розсічені на лінійні сигменти, довгасто-ланцетні, з цілокраєм стрижнем. Часточки сигментів яйцевидні, верхівкові – трикутні або трикутно-ланцетні, з хрящуватим вістрям, уздовж складені і щільно притиснуті один до одного. Кошики зібрані у щиток на верхівці пагона. Кошики яйцеподібні або циліндричні 3-4 мм шириною; зібрані у відносно щільні щитовидні суцвіття діаметром 5-10 см. Листочки обгортки жовтувато-зелені, з ледь помітною буруватою облямівкою. Крайові язичкові квітки білі або рожеві. Стебла густо опушені, зелено-сірі, подовжньо борозенчасті, завтовшки до 2 мм, із світлою серцевиною.

**В.** Мікроскопічне дослідження (2.8.32). Клітини верхньої та нижньої епідерми листка паренхімні, з потовщеними звивистими оболонками. Продихи часті, оточені 4-5 біля продиховими клітинами. Тип продихового апарату – аномоцитний. Опушення верхньої епідерми рідке, нижньої – середнє та представлене простими 4-6 клітинними волосками, у яких нижні клітини стискаються, а верхня – дуже видовжена та створює павутинисте опушення (вона часто обламується). На верхній епідермі зібрані ефіроолійні залозки, які утворені 6 клітинами, що розташовані у два ряди та чотири яруси. Центральна жилка на поперечному зрізі трикутної форми та представлена трьома провідними пучками. Клітини епідерми над жилкою видовжені паренхімні, оболонки потовщені, прямо стінні, з прямими порами. Продихи зустрічаються рідко, тип продихового апарату – аномоцитний. Опушення середнє та представлене простими волосками, які зустрічаються на епідермі листка. Під епідермою жилки у ребрах міститься один-два шари пластинчасто-кутової колєнхіми, а між ними 1-3 шари хлорєнхіми. Провідні пучки колєтеральні закриті, зі сторони флоєми оточені склєренхімною обкладкою. Стебло округле з ледь виступаючими ребрами. Клітини епідерми парєнхімні видовжені або проєнхімні, оболонки потовщені, прямо стінні, пронизані прямими порами. Над провідними пучками розташована одношарова ендодєрма. Центральний

осьовий циліндр перехідного типу будови. Пучки відкриті колатеральні зі склеремхімною обкладкою зі сторони флоєми. Серцевина виражена добре, виповнена клітинами основної паренхіми у верхній та середній частині стебла, у нижній частині – порожниста. Головна вісь суцвіття на поперечному зрізі – овальна, ребриста. Клітини епідерми осі паренхімні, чотирикутні, з прямими оболонками. Продихи зустрічаються часто, тип продихового апарату – аномоцитний. Центральний осьовий циліндр перехідного типу будови, пучки відкриті колатеральні. Серцевина виражена, виповнена клітинами основної паренхіми. Клітини епідерми обгортки кошика паренхімні або видовжено-паренхімні, з потовщеними оболонками та поздовжньо-зморшкуватою кутикулою. Опушення середнє, представлене простими волосками, які зустрічаються на епідермі листка. Клітини епідерми віночка паренхімні, 4-5-кутні, з незначно потовщеними оболонками. Опушення відсутнє. На віночку несправжньої язичкової квітки у великій кількості наявні ефіроолійні залозки, які складаються з 6 клітин, що розташовані у два ряди та чотири яруси.

#### С. Тонкошарова хроматографія (ДФУ 2.2.27)

*Випробуваний розчин.* До 2,0 г здрібненої на порошок сировини додають 25 мл *етилацетату*, струшують протягом 5 хв, фільтрують і випарюють до сухого залишку на водяній бані. Одержаній залишок розчиняють у 0,5 мл *толуолу Р*.

*Розчин порівняння.* 10 мг *цинеолу Р* і 10 мг *гвайазулену Р* розчиняють у 20 мл *толуолу Р*.

*Пластинка:* ТШХ пластинка із шаром *силікагелю Р*.

*Рухома фаза:* *етилацетат Р* - *толуол Р* (5 : 95).

*Об'єм проб:* 20 мкл, смугами.

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

*Висушування:* на повітрі.

*Виявлення:* обприскують розчином *анісового альдегіду розчином Р*, нагрівають при температурі (100 – 105) °С протягом (5-10) хв і переглядають при денному світлі.



*Результати:* на хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися: у верхній частині—червона зона (гвайазулен), у середній частині-синя або сірувато-синя зона (цинеол). На хроматограмі випробуваного розчину мають виявлятися: фіолетова зона – дещо вище зони гвайазулену; нижче цієї зони-червонувато-фіолетова зона; нижче-одна або дві нечітко розділені зони від сірувато-фіолетового до сіруватого кольору; червонувато-фіолетова зона - дещо вище зони цинеолу на хроматограмі розчину порівняння. Можуть виявитися інші слабкі зони. Нижче наведено послідовність зон хроматограм

<b>Верхня частина пластинки</b>	
гвайазулен: червона зона	фіолетова зона червоно-фіолетова зона
цинеол: синя (сірувато-синя) зона	зона від сірувато-фіолетового до зеленувато-сірого кольору червонувато-фіолетова зона
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробуваний розчин</b>

#### ВИПРОБУВАННЯ

**Сторонні домішки** (ДФУ 2.8.2). Стебел (до 5 мм у діаметрі) не більше 5,0 %, побурілих і пожовтілих частин рослин не більше 3,0 %; сторонніх часточок не більше 2,0 %, у тому числі домішок мінерального походження не більше 1,0 %.

**Втрата в масі при висушуванні** (ДФУ 2.2.32). Не більше 12,0 %. 0,500 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) сушать при температурі 105 °С протягом 2 год.

**Зола загальна** (ДФУ 2.4.16). Не більше 10,0 %.

**Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті** (2.8.1). Не більше 2,5 %.

#### КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

**Ефірна олія**

Визначення проводять за методикою ДФУ 2.0 , яка описана у монографії «Деревій».

### **Флавоноїди**

*Вихідний розчин:* 1,0 г здрібненої на порошок сировини (355) вміщують в колбу зі шліфом місткістю 100 мл, додають 30 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*, який містить 1 мл 1% розчину кислоти хлористоводневої конц., і нагрівають на киплячій водяній бані протягом 30 хв, охолоджують, фільтрують у мірку колбу місткістю 100 мл. Екстракцію повторюють іще тричі, вказаним вище методом. Об'єднані витяги доводять до позначки *етанолом (50 %, об/об) Р*, (розчин А).

У мірну колбу місткістю 25 мл переносять 2 мл розчину А, 1 мл 1 % розчину алюмінію хлориду в *етанолі (95 %, об/об) Р*, і доводять об'єм розчину *етанолом (95 %, об/об) Р*, до мітки. Через 40 хв вимірюють оптичну густину розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 400 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

*Розчин порівняння:* 2 мл розчину А доведеного *етанолом (95 %, об/об) Р*, до позначки у мірній колбі місткістю 25 мл.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін і абсолютно суху сировину у відсотках (X) обчислюють за формулою (1):

$$X = \frac{A \times 100 \times 25 \times 100}{A_{1\%}^{1\text{см}} \times m \times 2 \times (100 - w)}, \quad (1)$$

де: *A* – оптична густина досліджуваного розчину;

$A_{1\%}^{1\text{см}}$  – питомий показник поглинання комплексу лютеоліну з алюмінію хлоридом у 95 % етанолі Р за довжини хвилі 400 нм, рівний 549,41;

*m* – маса сировини, г;

*w* – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

### **Вітамін К<sub>1</sub>**

*Вихідний розчин.* 0,500 г здрібненої на порошок сировини (355) (ДФУ 2.9.12) поміщають у конічну колбу місткістю 100 мл, додають 25 мл *етанолу (95 %, об/об) Р*, кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 15 хв і фільтрують крізь тампон із вати у колбу місткістю 100 мл. Тампон із вати

додають до залишку у круглодонну колбу та екстрагують 2 порціями, по 25 мл кожна, *етанолу* (95 %, об/об) *P*, кожний раз проводячи кип'ятіння зі зворотним холодильником протягом 15 хв, охолоджують до кімнатної температури, фільтрують кожну витяжку крізь тампон із вати у колбу. Одержані охолоджені об'єднані етанольні витяжки фільтрують крізь паперовий фільтр у мірну колбу, доводять об'єм розчином *етанолу* (95 %, об/об) *P* до 100,0 мл, обполіскуючи колбу та паперовий фільтр.

*Компенсаційний розчин*: Розчин *етанолу* (95 %, об/об) *P*.

Оптичну густину розчину вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 265 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин. Паралельно в ідентичних умовах визначають оптичну густину розчину стандартного зразку вітаміну К<sub>1</sub> фірми «Superleko Analytical, Sigma Aldrich» (USA) (10 мкг/мл).

Вміст вітаміну К<sub>1</sub> (у %) в перерахунку на стандартний зразок вітаміну К<sub>1</sub> обчислювали за формулою:

$$x = \frac{D_1 \times m_0 \times 100 \times 100}{D_0 \times m_1 \times (100 - W)}$$

де:  $D_1$  – оптична густина досліджуваного розчину;

$D_0$  – оптична густина стандартного розчину;

$m_1$  – наважка досліджувального ЛРС, г;

$m_0$  – наважка стандартного зразка вітаміна К<sub>1</sub>, г;

$W$  – втрата в масі при висушуванні, %.

Нами було проведено дослідження 6 серій трави *A. collina* на відповідність розробленим параметрам стандартизації. Дані про місця заготівлі серій трави *A. collina* наведені нижче:

Серія 1/2017 ЗС – Запорізька обл., м. Славгород, 2017 р.

Серія 2/2016 ДС – Дніпропетров. обл., м. Синельникове 2016 р.

Серія 3/2017 ХГ – Херсонська обл., м. Генічеськ, 2017 р.

Серія 4/2016 МО – Миколаївська обл., м. Олександрівка 2016 р.

Серія 5/2016 ДД – Донецька обл., м. Дружківка 2016 р.

Серія 6/2017 ХЛ – Харківська обл., м. Лозова, 2017 р.

Результати проведеної стандартизації досліджуваних серій трави д. пагорбового представлені у табл. 4.10.

При дослідженні 6 серій трави деревію пагорбового на відповідність розробленим параметрам стандартизації встановлено, що всі вони відповідають розробленим параметрам.

#### **4.8 Стандартизація деревію подового трави *A. micranthoides***

*Проект МКЯ*

### **ДЕРЕВІЮ ПОДОВОГО ТРАВА**

### **ACHILLEA MICRANTHOIDES HERBA**

Зібрані в період цвітіння трава (суцвіття з прилеглим листям 10-15 см), дворічної трав'янистої рослини деревію подового (*Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka ) родини айстрових (*Asteraceae*).

*Вміст:*

- ефірна олія: не менше 2,0% ефірної олії, у перерахунку на суху сировину;
- флавоноїди: не менше 2,0% флавоноїдів у перерахунку на лютеолін та суху сировину;
- вітамін К<sub>1</sub>: не менше 2% у перерахунку на вітамін К<sub>1</sub>.

#### **ІДЕНТИФІКАЦІЯ**

**А.** Листки сірувато-зеленого кольору, сильно опушені, до 11 см довжиною, 0,5-2,3 мм шириною, двічі-перисто розсічені на лінійні сегменти, довгасто-ланцетні, з цілокраїм стрижнем. Часточки сегментів яйцевидні, верхівкові – трикутні або трикутно-ланцетні, з хрящуватим вістрям, уздовж складені і щільно притиснуті один до одного. Кошики зібрані у щиток на верхівці пагона. Кошики яйцеподібні або циліндричні 3-4 мм шириною; зібрані у відносно щільні щитовидні суцвіття діаметром 5-10 см. Листочки обгортки жовтувато-зелені, з ледь помітною буруватою облямівкою. Крайові язичкові

квітки білі або рожеві. Стебла густо опушені, зелено-сірі, подовжньо борозенчасті, завтовшки до 2 мм, із світлою серцевиною.

**В.** Мікроскопічне дослідження (2.8.32). Клітини верхньої та нижньої епідерми листка паренхімні, з потовщеними звивистими оболонками. Продихи часті, оточені 4-5 біля продиховими клітинами. Тип продихового апарату – аномоцитний. Опушення верхньої епідерми рідке, нижньої – середнє та представлене простими 4-6 клітинними волосками, у яких нижні клітини стискаються, а верхня – дуже видовжена та створює павутинисте опушення (вона часто обламується). На верхній епідермі зібрані ефіроолійні залозки, які утворені 6 клітинами, що розташовані у два ряди та чотири яруси. Центральна жилка на поперечному зрізі трикутної форми та представлена трьома провідними пучками. Клітини епідерми над жилкою видовжені паренхімні, оболонки потовщені, прямо стінні, з прямими порами. Продихи зустрічаються рідко, тип продихового апарату – аномоцитний. Опушення середнє та представлене простими волосками, які зустрічаються на епідермі листка. Під епідермою жилки у ребрах міститься один-два шари пластинчасто-кутової коленхіми, а між ними 1-3 шари хлоренхіми. Провідні пучки колатеральні закриті, зі сторони флоєми оточені склеренхімною обкладкою. Стебло округле з ледь виступаючими ребрами. Клітини епідерми паренхімні видовжені або прозенхімні, оболонки потовщені, прямо стінні, пронизані прямими порами. Над провідними пучками розташована одношарова ендодерма. Центральний осьовий циліндр перехідного типу будови. Пучки відкриті колатеральні зі склеренхімною обкладкою зі сторони флоєми. Серцевина виражена добре, виповнена клітинами основної паренхіми у верхній та середній частині стебла, у нижній частині – порожниста. Головна вісь суцвіття на поперечному зрізі – овальна, ребриста. Клітини епідерми осі паренхімні, чотирикутні, з прямими оболонками. Продихи зустрічаються часто, тип продихового апарату – аномоцитний. Центральний осьовий циліндр перехідного типу будови, пучки відкриті колатеральні. Серцевина виражена, виповнена клітинами основної паренхіми. Клітини епідерми обгортки кошика паренхімні або видовжено-

паренхімні, з потовщеними оболонками та поздовжньо-зморшковатою кутикулою. Опушення середнє, представлене простими волосками, які зустрічаються на епідермі листка. Клітини епідерми віночка паренхімні, 4-5-кутні, з незначно потовщеними оболонками. Опушення відсутнє. На віночку несправжньої язичкової квітки у великій кількості наявні ефіроолійні залозки, які складаються з 6 клітин, що розташовані у два ряди та чотири яруси.

### С. Тонкошарова хроматографія (ДФУ 2.2.27)

*Випробуваний розчин.* До 2,0 г здрібноної на порошок сировини додають 25 мл *етилацетату*, струшують протягом 5 хв, фільтрують і випарюють до сухого залишку на водяній бані. Одержаній залишок розчиняють у 0,5 мл *толуолу Р*.

*Розчин порівняння.* 10 мг *цинеолу Р* і 10 мг *гвайазулену Р* розчиняють у 20 мл *толуолу Р*.

*Пластинка:* ТШХ пластинка із шаром *силікагелю Р*.

*Рухома фаза:* *етилацетат Р* - *толуол Р* (5 : 95).

*Об'єм проб:* 20 мкл, смугами.

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

*Висушування:* на повітрі.

*Виявлення:* обприскують розчином *анісового альдегіду розчином Р*, нагрівають при температурі (100 – 105) °С протягом (5-10) хв і переглядають при денному світлі.

*Результати:* на хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися: у верхній частині—червона зона (гвайазулен), у середній частині-синя або сірувато-синя зона (цинеол). На хроматограмі випробуваного розчину мають виявлятися: фіолетова зона – дещо вище зони гвайазулену; нижче цієї зони-червонувато-фіолетова зона; нижче-одна або дві нечітко розділені зони від сірувато-фіолетового до сіруватого кольору; червонувато-фіолетова зона - дещо вище зони цинеолу на хроматограмі розчину порівняння. Можуть виявитися інші слабкі зони. Нижче наведено послідовність зон хроматограм

<b>Верхня частина пластинки</b>	
гвайазулен: червона зона	фіолетова зона червоно-фіолетова зона
цинеол: синя (сірувато-синя) зона	зона від сірувато-фіолетового до зеленувато-сірого кольору червонувато-фіолетова зона
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробуваний розчин</b>

## ВИПРОБУВАННЯ

**Сторонні домішки** (ДФУ 2.8.2). Стебел (до 5 мм у діаметрі) не більше 5%, побурілих і пожовтілих частин рослин не більше 3%; сторонніх часточок не більше 2%, у тому числі домішок мінерального походження не більше 1%.

**Втрата в масі при висушуванні** (ДФУ 2.2.32). Не більше 12,0 %. 0,500 г здрібноної на порошок сировини (355) (2.9.12) сушать при температурі 105 °С протягом 2 год.

**Зола загальна** (ДФУ 2.4.16). Не більше 10%.

**Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті** (2.8.1). Не більше 2,5%.

## КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

### Ефірна олія

Визначення проводять за методикою ДФУ 2.0 , яка описана у монографії «Деревій».

### Флавоноїди

*Вихідний розчин:* 1,0 г здрібноної на порошок сировини (355) вміщують в колбу зі шліфом місткістю 100 мл, додають 30 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*, який містить 1 мл 1% розчину кислоти хлористоводневої конц., і нагрівають на киплячій водяній бані протягом 30 хв, охолоджують, фільтрують у мірку колбу

місткістю 100 мл. Екстракцію повторюють іще тричі, вказаним вище методом. Об'єднані витяги доводять до позначки *етанолом (50 %, об/об) Р*, (розчин А).

У мірну колбу місткістю 25 мл переносять 2 мл розчину А, 1 мл 1 % розчину алюмінію хлориду в *етанолі (95 %, об/об) Р*, і доводять об'єм розчину *етанолом (95 %, об/об) Р*, до мітки. Через 40 хв вимірюють оптичну густину розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 400 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

*Розчин порівняння*: 2 мл розчину А доведеного *етанолом (95 %, об/об) Р*, до позначки у мірній колбі місткістю 25 мл.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін і абсолютно суху сировину у відсотках (X) обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \times 100 \times 25 \times 100}{A_{1\%}^{1\text{см}} \times m \times 2 \times (100 - w)}$$

де: *A* – оптична густина досліджуваного розчину;

$A_{1\%}^{1\text{см}}$  – питомий показник поглинання комплексу лютеоліну з алюмінію хлоридом у 95 % етанолі Р за довжини хвилі 400 нм, рівний 549,41;

*m* – маса сировини, г;

*w* – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

### **Вітамін К<sub>1</sub>**

*Вихідний розчин*. 0,500 г здрібноної на порошок сировини (355) (ДФУ 2.9.12) поміщають у конічну колбу місткістю 100 мл, додають 25 мл *етанолу (95 %, об/об) Р*, кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 15 хв і фільтрують крізь тампон із вати у колбу місткістю 100 мл. Тампон із вати додають до залишку у круглодонну колбу та екстрагують 2 порціями, по 25 мл кожна, *етанолу (95 %, об/об) Р*, кожний раз проводячи кип'ятіння зі зворотним холодильником протягом 15 хв, охолоджують до кімнатної температури, фільтрують кожен витяжку крізь тампон із вати у колбу. Одержані охолоджені об'єднані етанольні витяжки фільтрують крізь паперовий фільтр у мірну колбу, доводять об'єм розчином *етанолу (95 %, об/об) Р* до 100,0 мл, обполіскуючи колбу та паперовий фільтр.



*Компенсаційний розчин: Розчин етанолу (95 %, об/об) Р.*

Оптичну густину розчину вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 265 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин. Паралельно в ідентичних умовах визначають оптичну густину розчину стандартного зразку вітаміну К<sub>1</sub> фірми «Superleko Analytical, Sigma Aldrich» (USA) (10 мкг/мл).

Вміст вітаміну К<sub>1</sub> (у %) в перерахунку на стандартний зразок вітаміну К<sub>1</sub> обчислювали за формулою:

$$x = \frac{D_1 \times m_0 \times 100 \times 100}{D_0 \times m_1 \times (100 - W)}$$

де: D<sub>1</sub> – оптична густина досліджуваного розчину;

D<sub>0</sub> – оптична густина стандартного розчину;

m<sub>1</sub> – наважка досліджувального ЛРС, г;

m<sub>0</sub> – наважка стандартного зразка вітамін К<sub>1</sub>, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Нами було проведено дослідження 6 серій трави *A. micranthoides* на відповідність розробленим параметрам стандартизації.

Серія 1/2017 ЗН – Запорізька обл., м. Новогупалівка, 2017 р.

Серія 2/2016 ДП – Дніпропетровська обл., м. Павлоград, 2016 р.

Серія 3/2017 ХН – Херсонська обл., м. Нова Каховка, 2017 р.

Серія 4/2016 СМ – Миколаївська обл., м. Снігурівка, 2016 р.

Серія 5/2017 ДК – Донецька обл., м. Краматорськ, 2017 р.

Серія 6/2017 ХБ – Харківська обл., м. Барвінково, 2017 р.

Результати проведеної стандартизації досліджуваних серій трави д. подового представлені у табл. 4.11.

При дослідженні серій трави *A. collina* та *A. micranthoides*, було встановлено, що всі вони відповідають показникам МКЯ (табл. 4.10, 4.11).

Таблиця 4.10 – Показники якості деревію пагорбового трави відповідно до вимог ДФУ

Параметр	Серія					
	1/2017 ЗС	2/2016	3/2017 ХГ	4/2016 МО	5/2016 ДД	6/2017 ХЛ
Макроскопічні ознаки	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ
Мікроскопічні ознаки	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ
Ідентифікація С	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ
Втрата в масі при висушуванні, не більше 12,00 %	9,88%	9,85%	9,87%	9,86%	9,89%	9,87%
Зола загальна, не більше 10,00 %	7,09%	7,11%	7,10%	7,12%	7,15%	7,13%
Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті, не більше 2,50 %	2,10%	2,13%	2,09%	2,13%	2,14%	2,10%
Ефірна олія, не менше 2,50 %	2,89%	2,91%	2,87%	2,85%	2,87%	2,88%
Флавоноїди, не менше 2,50 %	2,60%	2,59%	2,61%	2,60%	2,58%	2,62%
Вітамін К <sub>1</sub> , не менше 2,00 %	2,42%	2,40%	2,43%	2,44%	2,46%	2,41%

Таблиця 4.11 – Показники якості дерев'яної подробиці відповідно до вимог ДФУ

Параметр	Серія					
	1/2017 ЗН	2/2016 ДП	3/2017 ХН	4/2016 СМ	5/2017 ДК	6/2017 ХБ
Макроскопічні ознаки	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ
Мікроскопічні ознаки	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ
Ідентифікація С	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ	Відповідають проекту МКЯ
Втрата в масі при висушуванні, не більше 12,00 %	9,60%	9,63%	9,66%	9,60%	9,61%	9,65%
Зола загальна, не більше 10,00 %	6,61%	6,60%	6,62%	6,64%	6,67%	6,60%
Зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті, не більше 2,50 %	1,87%	1,85%	1,88%	1,86%	1,90%	1,84%
Ефірна олія, не менше 2,00 %	2,15%	2,16%	2,14%	2,13%	2,10%	2,16%
Флавоноїди, не менше 2,00 %	2,39%	2,34%	2,37%	2,32%	2,35%	2,40%
Вітамін К <sub>1</sub> , не менше 2,00 %	3,19%	3,15%	3,18%	3,17%	3,17%	3,18%

## ВИСНОВКИ

1. Досліджені особливості накопичення ефірної олії та вітаміну К<sub>1</sub> в траві обох видів в залежності від термінів заготівлі сировини і місця зростання. Оптимальним терміном заготівлі трави є період з вересня по жовтень.

2. Досліджено вплив часу сушіння трави на вихід ефірної олії. Встановлено, що оптимальним терміном сушіння сировини в сушильній шафі за температури 35-40 °С є 6-8 год.

3. Досліджено морфолого-анатомічну будову трави обох видів та встановлені відмінні анатомічні ознаки: структура поверхні листа у *A. collina* відсутня кутикула, у *A. micranthoides* наявна поздовжньо-зморшкувата кутикула на нижній епідермі, відсутні дворядні, багатоклітинні волоски у *A. collina*, наявні дворядні, багатоклітинні волоски на верхній та нижній епідермі у *A. micranthoides*. Відрізняється тип будови центрального циліндра-у *A. collina* він перехідний, у *A. micranthoides*-пучковий.

4. Розроблені проекти МКЯ на деревію пагорбового траву та деревію подового траву. Запропоновано основні параметри стандартизації відповідно до вимог ДФУ: макро- та мікроскопічний аналіз, ідентифікація компонентів ефірної олії методом ТШХ, кількісне визначення суми флавоноїдів, ефірної олії та вітаміну К<sub>1</sub>, числові показники (зольність, вміст сторонніх домішок, втрата в масі при висушуванні). Проведено дослідження 6 серій сировини на відповідність розробленим вимогам.

*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено у таких публікаціях:*

1. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В., Лукіна І. А. Накопичення вітаміну К<sub>1</sub> у траві перспективних видів роду *Achillea* L. *Молодий вчений*. 2018. № 5. С. 45-48.

2. Дослідження накопичення поліфенольних сполук у траві деревію горбкового (*Achillea collina* J. Becker ex Reichenb.) / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська, Т. В. Опрошанська, Г. В. Мазулін. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 1. С. 76-80.

3. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В., Смойловська Г. П. Дослідження накопичення похідних азулену в лікарських рослинній сировині перспективних видів роду *Achillea* L. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*: тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження д-ра фар мац. наук, проф. О. М. Гайдукевича, 12-13 квіт. 2018 р., м. Харків. Харків НФаУ, 2018. С. 266-267.

4. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В., Опрошанська Т. В. Дослідження анатомічної будови надземних органів *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka. *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 1. С. 72-77.

5. Оптимальні терміни заготівлі трави *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb. (деревію горбкового) / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, І. А. Лукіна, Г. П. Смойловська. Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я. Київ: Укрмедпатентінформ, 2018. Вип. 16 з проблеми «Фармація», № 151-2018. 4 с.

6. Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb. (деревію горбкового) / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, І. А. Лукіна., Г. П. Смойловська інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я. Київ: Укрмедпатентінформ, 2018. Вип. 17 з проблеми «Фармація», № 152-2018. 4 с.

**РОЗДІЛ 5**  
**РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ, ДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДУ,**  
**СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТА ПІДТВЕРДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ**  
**АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТІВ З ТРАВИ *A. COLLINA* ТА**  
***A. MICRANTHOIDES***

**5.1. Обґрунтування технології одержання ліпофільних екстрактів**

Результати фітохімічних досліджень показали спорідненість хімічного складу трави *A. collina* та *A. micranthoides*. Тому для обрання найбільш перспективного виду сировини для створення нових лікарських засобів, шляхом вивчення фармакологічної активності, нами був розроблений та опрацьований у лабораторних умовах спосіб отримання ліпофільних екстрактів з трави *A. collina* (ЛЕДГ) та трави *A. micranthoides* (ЛЕДП).

*Методика одержання ліпофільних екстрактів з трави A. collina (ЛЕДГ) та трави A. micranthoides (ЛЕДП):*

100,0 г повітряно-сухої сировини, здрібненої на порошок (355) трави деревіюпагорбового, вміщували у скляну ємність та заливали 500 мл рафінованої дезодорованої олії кукурудзяної у співвідношенні 1:5.

Екстракцію проводили на водяній бані за температури 50 °С протягом 1 год. Сировину залиту екстрагентом залишали для мацерації на добу. Отриманий екстракт відфільтрували, сировину віджимали, шрот відокремлювали. Екстракт відстоювали у прохолодному місці при температурі +5 °С протягом 7 діб. Осад, що випав у процесі відстоювання, відокремлювали.

Вихід ліпофільних екстрактів склав: ЛЕДГ – 332 ± 7 мл, ЛЕДП – 343 ± 10 мл.

Технологічна блок-схема отримання екстрактів, на прикладі ЛЕДГ, наведена на рис. 5.1.

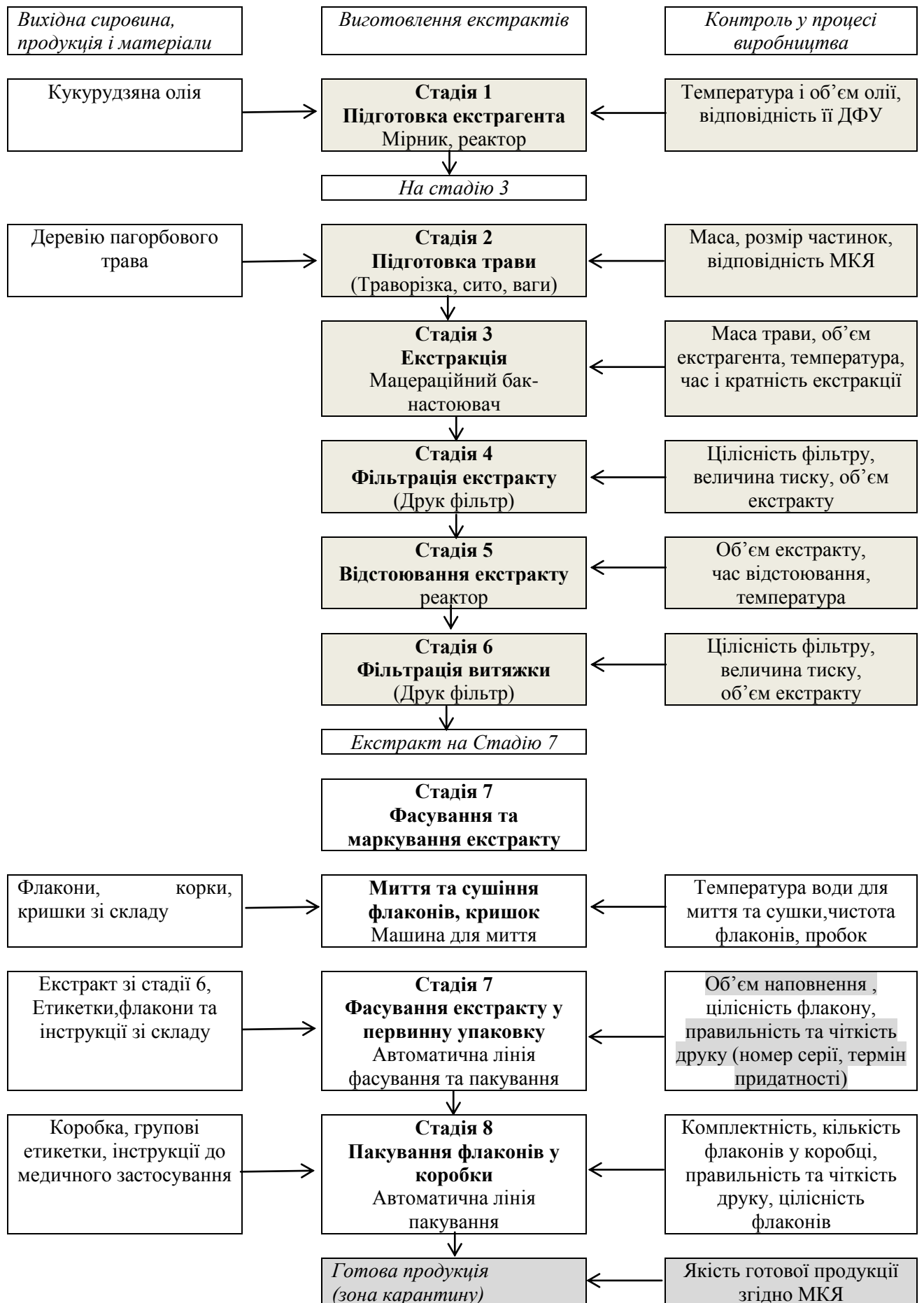


Рисунок 5.1 – Технологічна блок-схема одержання ліпофільних екстрактів.

Одержані екстракти являють собою прозорі маслянисті речовини, зеленувато-жовтого кольору, з характерним ароматним запахом, притаманним сировині, з якої вони були одержані.

Для подальшого хімічного дослідження та стандартизації були отримані наступні серії екстрактів:

*Серії ЛЕДГ:*

Серія Е-1/2017 ЗС – Запорізька обл., м. Славгород, 2017 р.

Серія Е-2/2016 ДС – Дніпропетров. обл., м. Синельникове 2016 р.

Серія Е-3/2017 ХГ – Херсонська обл., м. Генічеськ, 2017 р.

Серія Е-4/2016 МО – Миколаївська обл., м. Олександрівка 2016 р.

Серія Е-5/2016 ДД – Донецька обл., м. Дружківка 2016 р.

Серія Е-6/2017 ХЛ – Харківська обл., м. Лозова, 2017 р.

*Серії ЛЕДП:*

Серія Е-1/2017 ЗН – Запорізька обл., м. Новогупалівка, 2017 р.

Серія Е-2/2016 ДП – Дніпропетровська обл., м. Павлоград, 2016 р.

Серія Е-3/2017 ХН – Херсонська обл., м. Нова Каховка, 2017 р.

Серія Е-4/2016 СМ – Миколаївська обл., м. Снігурівка, 2016 р.

Серія Е-5/2017 ДК – Донецька обл., м. Краматорськ, 2017 р.

Серія Е-6/2017 ХБ – Харківська обл., м. Барвінково, 2017 р.

## **5.2 Дослідження хімічного складу ліпофільних екстрактів**

Синергізм комплексу флавоноїдних агліконів і ефірних олій, роблять основний внесок у антиоксидантну, гепатопротекторну та антимікробну активність отриманих екстрактів [85]. Тому ми вважали за доцільне визначення їх кількісного вмісту в екстрактах.

Виявлення агліконів флавоноїдів проводили метою ТШХ у рухомих фазах № 1-4. Хроматограми переглядали у видимому та УФ-світлі до та після обробки хромогенними реактивами А, Б, В, Г.



У порівнянні з достовірними зразками флавоноїдів в усіх серіях обох досліджуваних екстрактів було встановлено присутність апігеніну, лютеоліну та кверцетину.

Ідентифікацію компонентів ефірної олії проводили при хроматографуванні гексанових розчинів досліджуваних екстрактів методом ТШХ у рухомій фазі № 13з послідовним проявленням реактивом Д [24, 62].

При проявленні хроматограм для кожного екстракта було виявлено не менше як 10 зон забарвлених у червоний, фіолетовий, синій та сірий колір, що свідчить про присутність у досліджуваних екстрактах ефірної олії. Інтенсивність плям на хроматограмах вказувала на досить високий вміст ефірної олії в одержаних ліпофільних екстрактах, що у значній мірі пояснює виявлену антимікробну активність ліпофільних екстрактів.

Кількісне визначення вмісту суми флавоноїдів проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на кверцетин, використовуючи в якості розчину порівняння олійний розчин  $\beta$ -каротину.

Вибір такого методу дослідження обумовлений тим, що у екстракційних олійних лікарських засобах домінують аглікони флавоноїдів, але поруч з цим до екстрактів переходять і інші ліпофільні речовини [97], які істотно впливають на похибку визначення. Для виключення впливу каротиноїдів при визначенні кількісного вмісту суми флавоноїдів у ліпофільних екстрактах, вимірювання оптичної густини робочих розчинів проводили на фоні розчину порівняння  $\beta$ -каротину [79].

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на кверцетин, у ЛЕДГ склав  $0,75 \pm 0,05\%$ , у ЛЕДП -  $0,62 \pm 0,05\%$  відповідно.

### **5.3 Стандартизація ліпофільних екстрактів**

Згідно рекомендацій ДФУ 2.0 визначали органолептичні показники (колір, запах), розчинність (табл. 5.1), проводили визначення якісного складу

та кількісного вмісту основних груп БАР, які обумовлюють фармакологічну активність - флавоноїдів та ефірної олії.

Для стандартизації ліпофільних екстрактів визначали показники якості в 6 серіях досліджуваного екстракту, отриманого в лабораторних умовах (табл. 5.1).

Таблиця 5.1 – Показники якості ЛЕДП та ЛЕДГ

№	Назва параметру	Результати спостереження	
		ЛЕДГ	ЛЕДП
1	Опис	Прозора масляниста рідина, зеленувато-жовтого кольору, з характерним ароматом	Прозора масляниста рідина, зелено-жовтого кольору, з характерним ароматом
2	Розчинність у воді очищеній холодній	Не розчинний	Не розчинний
3	Розчинність у воді очищеній гарячій	Не розчинний	Не розчинний
4	Розчинність у хлороформі Р	Розчинний	Розчинний
5	Розчинність у гексані Р	Розчинний	Розчинний
6	Розчинність у н-бутанолі Р	Розчинний	Розчинний

*Проект МКЯ*

## **ДЕРЕВІЮ ПАГОРБОВОГО ТРАВИ ЕКСТРАКТ ЛІПОФІЛЬНИЙ**

*Achillea collinae herbae extractum lipophilicum*

Екстракт одержано із деревію пагорбового трави

*Вміст:* Не менше 0,50 % суми флавоноїдів у перерахунку на кверцетин.

### **ВИРОБНИЦТВО**

Екстракт виготовляють методом мацерації протягом доби сировини з використанням рафінованої, дезодорованої кукурудзяної олії у співвідношенні 1:5.

Точну наважку 100,0 подрібненої повітряно-сухої рослинної сировини деревію пагорбового заливали у співвідношенні 1:5 нагрітої олією кукурудзяною (t=60°C). Використовували пристрій «УЗДН-1200 Т» при t=35-

40<sup>0</sup> С протягом 1 год. Екстрагували на водяній бані. Екстракцію повторювали ще двічі, за подібними умовами, додаючи нові порції сировини. Додавали органічний розчинник-гексан. Проводили екстракцію. Одержані екстракти об'єднували. Залишали до повного охолодження до температури  $t=23-25^{\circ}\text{C}$  протягом 24 годин. Отриманий екстракт фільтрували, сировину віджимали, шрот відокремлювали. Відстоювали у прохолодному місці при температурі +5<sup>0</sup>С протягом 24 годин. Осад відстоювали, відфільтровували.

Вихід екстракту не менше 300 мл.

#### ВЛАСТИВОСТІ

*Опис.* Прозора масляниста рідина, зеленувато-жовтого кольору, з характерним запахом. Розчинний у хлороформі, н-гексані, н-бутанолі. кольору з ароматним запахом.

*Розчинність.* Розчинний у хлороформі *P*, гексані *P*, н-бутанолі *P* і нерозчинний у воді очищеній *P* гарячій чи холодній.

#### ІДЕНТИФІКАЦІЯ

*A. Тонкошарова хроматографія (ДФУ 2.2.27)*

#### **Флавоноїди**

*Випробовуваний розчин.* 0,1 г екстракту розчиняють у 10 мл суміші 96% етанол *P*- хлороформ *P*, (2:1), нагрівають на водяній бані за температури 45<sup>0</sup> С протягом 5 хв, перемішуючи, охолоджують.

*Розчин порівняння.* 1,0 мг кверцетин *P* розчинають у метанолі *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10,0 мл.

*Пластинка:* ТШХ пластинка «Sorbfil» із шаром силікагелю *P*.

*Рухома фаза:* мурашина кислота безводна *P* – вода *P* – метилетилкетон *P* – етилацетат *P* (10:10:30:50).

*Об'єм проб:* 10 мкл, смугами.

*Відстань, що має пройти рухома фаза:* 10,0 см від лінії старту.

*Висушування:* в потоці повітря за кімнатної температури протягом 5 хв.

*Виявлення:* нагрівають за температури від 100 до 105 °С протягом 5 хв, теплу пластинку обприскують розчином 10г/л дифеніл борної киислоти

аміноетилового ефіру Р у метанолі Р, потім розчином 50 г/л макроголу 400Р у метанолі Р. потім сушать на повітрі протягом 1 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

*Результати:* На хроматограмі випробуваного розчину виявляються дві чіткі зони в середній третині хроматограми, які тим не менш можуть бути частково перекритими; в нижній третині хроматограми виявляється чітка зона інтенсивно оранжевої або жовтої флуоресценції.

На хроматограмі випробуваного розчину можуть виявлятися також інші флуоресціюючі зони.

<b>Верхня частина пластинки</b>	
<i>Кверцетин:</i> жовта або оранжева флуоресціююча зона	Жовта або оранжева флуоресціююча зона  Інтенсивна жовта або оранжева флуоресціююча зона
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробовуваний розчин</b>

#### **В. Тонкошарова хроматографія (ДФУ 2.2.27) Ефірна олія**

*Випробуваний розчин.* До 0,10 г екстракту додають 25 мл *етилацетату*, струшують протягом 5 хв, фільтрують і випарюють до сухого залишку на водяній бані. Одержаній залишок розчиняють у 0,5 мл *толуолу Р*.

*Розчин порівняння.* 10 мг *цинеолу Р* і 10 мг *гвайазулену Р* розчиняють у 20 мл *толуолу Р*.

*Пластинка:* ТШХ пластинка із шаром *силікагелю Р*.

*Рухома фаза:* *етилацетат Р* - *толуол Р* (5 : 95).

*Об'єм проб:* 20 мкл, смугами.

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

*Висушування:* на повітрі.

*Виявлення:* обприскують розчином *анісового альдегіду розчином Р*, нагрівають при температурі (100 – 105) °С протягом (5-10) хв і переглядають при денному світлі.

*Результати:* на хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися: у верхній частині—червона зона (гвайазулен), у середній частині-синя або сірувато-синя зона (цинеол).

<b>Верхня частина пластинки</b>	
гвайазулен: червона зона	фіолетова зона червоно-фіолетова зона
цинеол: синя (сірувато-синя) зона	зона від сірувато-фіолетового до зеленувато-сірого кольору червонувато-фіолетова зона
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробуваний розчин</b>

На хроматограмі випробуваного розчину мають виявлятися: фіолетова зона – дещо вище зони гвайазулену; нижче цієї зони-червонувато-фіолетова зона; нижче-одна або дві нечітко розділені зони від сірувато-фіолетового до сіруватого кольору; червонувато-фіолетова зона - дещо вище зони цинеолу на хроматограмі розчину порівняння. Можуть виявитися інші слабкі зони. Нижче наведено послідовність зон хроматограм

#### ВИПРОБОВУВАННЯ

**Мікробіологічна чистота.** В 1 г препарату може бути виявлено не більше 500 бактерій і 40 дріжджових та пліснявих грибів (у сумі). Не допускається наявність бактерій *Esherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*, бактерій роду *Salmonella*.

## КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

### *Флавоноїди*

**Вихідний розчин.** 1,0 г (точна наважка) ліпофільного екстракта розчиняють у суміші 96% *етанол Р – хлороформ Р* (2:1) у мірній колбі місткістю 100 мл і доводять об'єм розчину до позначки. 5 мл отриманого розчину переносять у мірну колбу місткістю 50 мл і доводять об'єм тим же розчинником до позначки. Оптичну густину отриманого розчину вимірюють на спектрофотометрі за довжини хвилі 430 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

Одночасно в тих же умовах проводили вимірювання оптичної густини робочого стандартного зразка кверцетина.

*Розчин робочого стандартного зразка кверцетина:* 0,01 г (точна наважка) *кверцетина Р*, попередньо висушеного за температури від 50 до 60° С протягом 1 год, вміщують у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 50 мл суміші 95% *етанола Р – хлороформа Р* (2:1), нагрівають на водяній бані і перемішують до повного розчинення, охолоджують і доводять об'єм до позначки (розчин А). 5 мл розчину А переносять у мірну колбу місткістю 100 мл і доводять до позначки сумішю 95% *етанол Р-хлороформ Р* (2:1) до позначки

*Розчин порівняння:* 0,10 г 1% розчину β-каротину Р розчиненого у кукурудзяній олії, що відповідає вимогам ДФУ [26], розчиняють у 100 мл суміші 95% *етанол Р- хлороформ Р* до позначки.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на кверцетин розраховують за формулою:

$$X = \frac{A_1 \times m_2 \times 50}{A_2 \times m_1},$$

де  $A_1$  – оптична густина досліджуваного розчину;

$A_2$  – оптична густина СЗ кверцетина;

$m_1$  – маса ліпофільного екстракта, г;

$m_2$  – маса СЗ кверцетина, г.

Таблиця 5.2 – Показники якості ЛЕДГ та ЛЕДП відповідно до вимог МКЯ

Параметр	ЛЕДГ, Серія					
	Е-1/2017 ЗС	Е-2/2016	Е-3/2017 ХГ	Е-4/2016 МО	Е-5/2016 ДД	Е-6/2017 ХЛ
Вихід не менше 300 мл	337 мл	335 мл	332 мл	337 мл	330 мл	331мл
Опис	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ
Розчинність	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ
Ідентифікація флавоноїди	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ
Ідентифікація ефірна олія	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ
Флавоноїдів не менше 0,50%	0,75%	0,77 %	0,69 %	0,76 %	0,78 %	0,77 %
	ЛЕДП, Серія					
	Е-1/2017 ЗН	Е-2/2016 ДП	Е-3/2017 ХН	Е-4/2016 СМ	Е-5/2017 ДК	Е-6/2017 ХБ
Вихід не менше 300 мл	343 мл	344 мл	340 мл	341 мл	347 мл	345 мл
Опис	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ
Розчинність	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ
Ідентифікація флавоноїди	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ
Ідентифікація ефірна олія	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ	Відповідає проекту МКЯ
Флавоноїдів не менше 0,50%	0,62%	0,60 %	0,64 %	0,61 %	0,63 %	0,61 %

## 5.4 Підтвердження фармакологічної активності ліпофільних екстрактів

### 5.4.1 Вивчення гострої токсичності ліпофільних екстрактів

Результати дослідження гострої токсичності екстрактів представлені в таблиці 5.1 і свідчать про те, що одноразове внутрішньошлункове введення зразка ЛЕДГ в дозі 1900 мг/кг не викликає загибелі жодної тварини. При введенні зразка в дозі 2200 мг/кг загинув 1 щур у період між 1 і 2 добою, а 5 тварин залишалися живими. Від дози 2500 мг/кг протягом 36 годин загинуло 3 тварини з 6. Введення екстракту ЛЕДГ в дозі 2800 мг/кг викликало загибель 4 тварин у нічний час, на 1 добу спостереження. Одноразове внутрішньошлункове введення ЛЕДГ в дозі 3100 мг/кг викликало 100 % загибель тварин протягом доби.

Таблиця 5.3 – Результати досліду по визначенню гострої токсичності зразків ЛЕДГ (*A. collina*) при одноразовому внутрішньо шлунковому введенні білим безпородним щурам через 2 тижні спостереження

Доза, мг/кг (№ групи)	1900 (1)	2200 (2)	2500 (3)	2800 (4)	3100 (5)
Вижило	6	5	3	2	0
Загинув	0	1	3	4	6

$$LD_{50} = 3100 - \frac{3450}{6} = 2535 \pm 215 \text{ мг/кг}$$

Спостереження за тваринами, які отримували проміжні дози ЛЕДГ, дозволили нам визначити  $LD_{50}$  при внутрішньошлунковому введенні, яка становить  $2535 \pm 255$  мг/кг.



Дані, представлені в таблиці 5.2, свідчать про те, що одноразове внутрішньошлункове введення ЛЕДП в дозі 1900 мг/кг не викликало загибелі жодної тварини. При введенні ЛЕДП в дозі 2200 мг/кг загинули 2 щури в період між 1 і 2 добою, а 4 тварини залишалися живими. Від дози 2500 мг/кг протягом 36 годин загинуло 3 тварин з 6. Введення зразка ЛЕДП в дозі 2800 мг/кг викликало загибель 5 тварин в нічний час за 1 добу спостереження. Одноразове внутрішньошлункове введення зразка ЛЕДП в дозі 3100 мг/кг викликало 100 % загибель тварин протягом доби.

Таблиця 5.4 – Результати досліджень по визначенню гострої токсичності зразка ЛЕДП при одноразовому внутрішньошлунковому введенні білим безпородним щурам через 2 тижні спостереження

Доза, мг/кг (№ групи)	1900 (1)	2200 (2)	2500 (3)	2800 (4)	3100 (5)
Вижило	6	4	3	1	0
Загинуло	0	2	3	5	6

$$LD_{50} = 3100 - \frac{3750}{6} = 2475 \pm 198 \text{ мг/кг}$$

Спостереження за тваринами, які отримували проміжні дози ЛЕДП дозволили нам визначити  $LD_{50}$ , яка становить  $2475 \pm 198$  мг/кг.

Картина гострого отруєння тварин, які отримали токсичну дозу зразків ЛЕДП та ЛЕДГ при внутрішньошлунковому введенні, характеризувалася млявістю, гіподинамією. Через 2 години спостерігали загальмованість, пасивність, була виражена полідипсія у всіх щурів. Через кілька хвилин симптоми посилювались, дихання стає ледве помітним, слабким, відсутні будь-які рухи. Загибель тварин відбувалася від паралічу дихального центру.

У тварин, які отримували проміжні дози зразків ЛЕДП та ЛЕДГ, та вижили до 14 діб, протягом 12 годин спостерігалася млявість, загальмованість,

пасивність, полідипсія. Дихання чейн-стоксовського типу, проявлялось внаслідок порушення кровопостачання і зниження збудливості дихального центру. Через 24 годин симптоми поступово почали слабшати, аж до повного зникнення. Через 48-72 години після введення ЛЕДП та ЛЕДГ шурам, дихання нормалізувалося, відновилися рухова активність, з'явився здоровий апетит.

Таким чином, можна зробити висновок, що досліджувані ЛЕДП та ЛЕДГ при внутрішньошлунковому введенні відносяться до IV класу токсичності (малотоксичні речовини) за класифікацією токсичності сполук Сидорова К.К. [82] ( $LD_{50}$  ЛЕДП знаходиться в межах 2535 мг/кг, а  $LD_{50}$  ЛЕДГ - 2475 мг/кг відповідно).

#### **5.4.2 Вивчення гепатопротекторної, антиоксидантної та гемостатичної активності ліпофільних екстрактів**

Моделювання ХАГ призводило до токсичного пошкодження печінки - гіперферментамії АлАТ і АсАТ, підвищенню рівня загального білірубину і збільшення тривалості тіопенталового сну. Тривале введення етанолу призводить до активації оксидативного стресу. Багато авторів пов'язують це з підвищенням протизапальних цитокінів і стимуляції ІЛ-1 $\beta$ -залежних механізмів експресії іNOS, що призводить до підвищеної продукції цитотоксичних форм монооксиду азоту [48].

Важливу роль у продукції активних форм кисню при алкогольній хворобі належить мітохондрям. Саме біоенергетичними реакціями мітохондрій продукується велика кількість супероксидрадикалу. Оксидативний стрес призводить до пошкодження найбільш важливих полімерів - нуклеїнових кислот, білків і ліпідів. АФК викликають пошкодження ДНК (окислення, їх модифікація, розриви ланцюгів, пошкодження хромосом). У результаті цього знижується або зникає їх різноманітна функціональна активність (ферментативна, регуляторна, участь в матричних синтезах, транспорт іонів і

ліпідів), і як результат усього цього – спостерігаєм зміну функціонування гепатобіліарної системи [29, 48].

Курсове внутрішньошлункове введення зразків ЛЕДП та ЛЕДГ (в дозі 20 мг/кг) щурам з хронічним алкогольним гепатитом, як і референс-препарат Гепабене не впливало на зниження летальності тварин (у всіх експериментальних групах вона залишалася на рівні 30 %). Подальшими біохімічними дослідженнями встановлено, що зразки ЛЕДП та ЛЕДГ проявляли виражену детоксикуючу, гепатопротекторну, мембраностабілізуючу, антиоксидантну дію за умов ХАГ. Результати експерименту наведено у табл. 5.3.

Таблиця 5.5 – Вплив досліджуваних екстрактів на тривалість тіопеталового сну та біохімічні показники сироватки крові щурів з хронічним алкогольним гепатитом (ХАГ) на 90 добу експерименту

Експериментальні групи	% виживання	Тіопенталовий сон, хв	АлАТ, ммоль/л·год	АсАТ, ммоль/л·год	Загальний білірубін, мкмоль/л
Інтактна(п=10)	100	21,0 ± 2,5	120,7 ± 9,3	165,0 ± 10,5	3,0 ± 0,3
ХАГ (контроль) (п=10)	70	54,0 ± 2,0 <sup>+</sup>	350,0 ± 22,5 <sup>+</sup>	498,0 ± 22,1 <sup>+</sup>	7,7 ± 0,4 <sup>+</sup>
ХАГ+ЛЕДГ (п=10)	70	47,2 ± 1,22 <sup>*+</sup>	260,0 ± 11,0 <sup>*+</sup>	381,0 ± 10,0 <sup>*+</sup>	5,5 ± 0,1 <sup>*1+</sup>
ХАГ+ЛЕДП (п=10)	70	46,5 ± 1,35 <sup>*+</sup>	252,7 ± 10,5 <sup>*+</sup>	384,5 ± 12,0 <sup>*+</sup>	5,5 ± 0,2 <sup>*+</sup>
ХАГ+Гепабене (п=7)	70	48,1 ± 2,0 <sup>*+</sup>	260,0 ± 11,0 <sup>*+</sup>	400,0 ± 12,7 <sup>*+</sup>	5,9 ± 0,1 <sup>*+</sup>

Примітки: <sup>+</sup> -  $p < 0,05$  по відношенню до інтактної групи тварин

<sup>\*</sup> -  $p < 0,05$  відносно контрольної групи

<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  відносно групи Гепабене

Введення зразків №1 і №2 підвищувало детоксикаційну функцію печінки (зменшення тривалості тіопенталового сну на 12,6% і 13,8% відповідно). За цим показником досліджувані масла можна було порівняти з Гепабене. Введення зразків №1 і №2 щурам з ХАГ надавало захисну дію відносно мембран гепатоцитів - достовірне зниження активності АлАТ на 25,7% і 27,8% відповідно і АсАТ на 23,5% і 22,8% відповідно. За впливом на ці показники зразки масел деревію конкурували з Гепабене. На фоні введення зразків масел щурам з ХАГ зникли явища холестазу, що можна спостерігати щодо зниження в крові вмісту білірубину. Так, зразки №1 та №2 достовірно знижували рівень білірубину на 28,5% і за цим показником можна було порівняти з Гепабене. Виходячи з вищенаведеного слід зробити висновок, що за умов ХАГ курсове введення тваринам ЛЕДГ та ЛЕДП чинило виражену гепатопротекторну дію (табл. 5.4).

Виходячи з вищенаведеного, встановлено що за умов ХАГ курсове введення тваринам ЛЕДГ та ЛЕДП чинило виражену гепатопротекторну дію.

Таблиця 5.6 – Вплив досліджуваних ЛЕДГ та ЛЕДП на показники оксидативного стресу в гомогенаті печінки щурів з хронічним алкогольним гепатитом (ХАГ) на 90 добу експерименту

Експериментальні групи	АФГ, у.о./г білка	КФГ, у.о./г білка	Нітротирозин, нмол/г
Інтактна (n=10)	7,6 ± 0,2	4,32 ± 0,1	44,5 ± 3,7
ХАГ (контроль) (n=7)	30,1 ± 2,7 <sup>+</sup>	18,2 ± 1,0 <sup>+</sup>	205 ± 11,0 <sup>+</sup>
ХАГ+ЛЕДГ (n=7)	19,0 ± 0,7* <sup>+</sup>	14,7 ± 0,4* <sup>1+</sup>	143,0 ± 6,2* <sup>1+</sup>
ХАГ+ЛЕДП (n=10)	18,7 ± 0,8* <sup>+</sup>	14,8 ± 0,6* <sup>1+</sup>	145,5 ± 5,2* <sup>1+</sup>
ХАГ+Гепабене (n=7)	21,1 ± 1,1* <sup>+</sup>	17,8 ± 1,2	185,0 ± 10,0 <sup>+</sup>

Примітки: \* -  $p < 0,05$  по відношенню до контрольної групи тварин;

<sup>1</sup>- $p < 0,05$  по відношенню до групи Гепабене;

<sup>+</sup> -  $p < 0,05$  по відношенню до інтактної групи тварин.

Відомо, що хронічна алкогольна інтоксикація у щурів призводить до активації оксидативного і нітрозіруючого стресу, про що свідчило накопичення цитотоксичних продуктів окислювальної модифікації білку печінки (АФГ, КФГ) та нітротирозину, як маркера NO-залежного оксидативного стресу.

У цитозольній фракції гомогенату печінки щурів з ХАГ реєстрували збільшення на 306,6 % нітротирозину, КФГ на 321 % і АФГ на 296 %, що свідчило про активацію оксидативного стресу [48] (табл 5.4).

Введення зразків ЛЕДГ та ЛЕДП щурам з ХАГ приводило до достовірного зниження нітротирозину на 30,3 % і 29,3 %, АФГ на 36,8 % і 37,8 %, КФГ на 19,2 % і 18,6 % відповідно, що свідчить про антиоксидантні властивості досліджуваних зразків екстрактів (табл. 5.4).

За силою антиоксидантної дії досліджувані зразки достовірно перевершували референс-препарат Гепабене за такими показниками як зниження рівня КФГ і нітротирозину в печінці щурів з ХАГ [41, 43,].

Антиоксидантна активність ЛЕДГ, ЛЕДП ймовірно пов'язана з перериванням вільно-радикальних реакцій, що проходять на різних етапах оксидативного стресу. БАР, виділені з *A. collina* та *A. micranthoides* здатні виступати як скаведжери активних форм кисню, так і більшою мірою гідрофільних вільних радикалів [43, 48].

Зниження концентрації маркерів окислювальної модифікації в гепатоцитах – АФГ і КФГ на фоні введення ЛЕДГ та ЛЕДП говорить про здатність екстрактивних речовин регулювати рівень гідрофільних вільних радикалів у клітині.

Окисна модифікація білкових структур мембрани нейрона в умовах ішемії призводить до порушення генерації та провідності нервового імпульсу, десенситизації рецепторів, надалі ініціації апоптозу, формуванню когнітивного дефіциту. Одним з ключових механізмів дії багатьох антиоксидантів-нейропротекторів є їх здатність гальмувати процеси окисної модифікації білка і накопичувати маркерів карбонільних, карбоксильних продуктів (АФГ, КФГ).

Відомо, що етанол підвищує експресію iNOS і це є пусковим механізмом нітрозативного стресу [77, 81, 87]. Підвищення експресії мРНК iNOS може розглядатися як прояв NO-залежних механізмів алкогольного пошкодження печінки. Надлишок NO посилює експресію каспаз, які відносяться до родини IL-1 $\beta$ -конвертують протеаз, причетних до розгалуження ланцюга апоптозу. Надлишок АФК в нейроні, особливо OH $\cdot$  і ONOO $^-$ , здатний піддавати окислювальній модифікації нуклеїнових кислот, у результаті чого відбувається пошкодження дезоксирибози і поява нових ковалентних зв'язків («зшивок») [87]. Цитотоксичні форми монооксиду азоту призводять до порушення експресу геномного синтезу функціональних, структурних і регуляторних продуктів (ферментів, медіаторів, цитокінів, що регулюють білків, гормонів), збільшення проапоптичних генів CD95, зниження експресії білка bcl-2 [43]. Курсове призначення щурам з ХАІ ЛЕДП та ЛЕДГ приводило до зниження в печінці експресії мРНК iNOS відносно контрольної групи на 39,3 % та мРНК eNOS на 22,2 % відповідно. Підвищення експресії ендотеліальної синтази оксиду азоту та зниження експресії індукібельної синтази оксиду азоту може розцінюватися як прояв гепатопротекторного ефекту. Відомо, що низький рівень NO, обумовлений недостатньою активністю eNOS, в умовах алкоголізації, призводить до формування дисфункції ендотелію судин печінки, зниження детоксикаційної функції печінки, пригнічення процесів проліферації і репаративної регенерації [64].

Гепатопротекторна та антиоксидантна дія досліджуваних ЛЕДГ та ЛЕДП реалізується за рахунок вмісту в них біофлаваноїдів-катехінів, лейкоантоціанідів, халконів, флавонолів, які проявляють властивості скаведжерів активних форм кисню і NO, тормозять ліпопероксидацію фосфоліпідів клітинних мембран гепатоцитів, підвищують експресію глутатіонпероксидази, гальмують, обумовлений вільними радикалами, синтез прозапальних факторів та апоптоз [43, 87].

Так, дія ЛЕДГ та ЛЕДП на показники мРНК eNOS і мРНК iNOS пов'язана з антиоксидантними властивостями і здатністю переривати АФК-залежних механізмів експресії IL-1b и TNF-a (табл. 5.5) [48].

Таблиця 5.7 – Показники експресії мРНК eNOS та iNOS у печінці щурів після 60-добової ХАІ та 30-ті діб лікування

Група тварин	Експресія мРНК eNOS, у.е	Експресія мРНК iNOS, у.е.
Інтактна	1,00 ± 0,03	1,00 ± 0,27
Контрольна(ХАІ)	0,01 ± 0,02*	5,13 ± 0,02*
ХАІ+ЛЕДП	0,22 ± 0,01* <sup>1</sup>	3,11 ± 0,01* <sup>1+</sup>
ХАІ+ЛЕДГ	0,22 ± 0,01* <sup>1</sup>	3,13 ± 0,01* <sup>1+</sup>
ХАІ+Гепабене	0,02 ± 0,02* <sup>+</sup>	4,78 ± 0,01*

Примітки: \* -  $p \leq 0,05$  по відношенню до інтактних тварин;

<sup>1</sup> -  $p \leq 0,05$  по відношенню до контролю;

<sup>+</sup> -  $p \leq 0,05$  по відношенню до групи Гепабене.

У результаті проведених досліджень вивчення гемостатичної активності, було встановлено, що 60 добове введення етанолу призводить до порушення згортання крові - гіпокоагуляції. Так, у тварин контрольної групи спостерігалось збільшення часу згортання крові, збільшення ПТВ і зниження фібрину в крові (табл. 5.6).

Таблиця 5.8 – Вплив досліджуваних ЛЕДГ та ЛЕДП на показники системи згортання і систем крові щурів з хронічним алкогольним гепатитом (ХАГ) на 90 добу експерименту.

Експериментальні групи	Протромбіновий час (ПТВ),с	Час згортання крові (Т), с	Фібрин, мг/мл
Інтактна (n=10)	16,7 ± 1,2	146 ± 29	15,3 ± 1,3
ХАГ (контроль) (n=7)	35,3 ± 1,7 <sup>+</sup>	282 ± 21 <sup>+</sup>	9,0 ± 0,7 <sup>+</sup>
ХАГ+ЛЕДГ (n=7)	24,0 ± 2,1* <sup>1+</sup>	187 ± 16* <sup>+</sup>	11,2 ± 1,4* <sup>+</sup>
ХАГ+ЛЕДП (n=10)	25,0 ± 1,9* <sup>1+</sup>	178 ± 13*	10,2 ± 1,1 <sup>+</sup>
ХАГ+Гепабене (n=7)	30,2 ± 2,0* <sup>+</sup>	200 ± 13*	10,6 ± 1,4 <sup>+</sup>

Примітки: <sup>+</sup> -  $p < 0,05$  по відношенню до інтактної групи

\* -  $p < 0,05$  по відношенню до контрольної групи

<sup>1</sup> -  $p < 0,05$  по відношенню до групи з Гепабене

Курсове призначення тваринам з токсичним гепатитом зразків ЛЕДП та ЛЕДГ приводило до зменшення проявів гіпокоагуляції, про що свідчило достовірне зменшення часу згортання і протромбіновий час. За ступенем впливу на ці показники зразки ЛЕДП та ЛЕДГ достовірно перевершували Гепабене за ступенем впливу на показник протомбінового часу.

#### **5.4.3 Дослідження ранозагоювальної активності**

Оцінка результатів лікування опіків, представлена в таблиці 5.7, і свідчить про те, що застосування зразків ЛЕДП та ЛЕДГ, а також мазі з олією обліпихи справляло значну ранозагоювальну дію, прискорюючи регенераційні процеси.

Так, ліквідацію перифокальної реакції спостерігалася на 2,6 - 2,7 добу при лікуванні і на 4,5 добу без лікування. Відторгнення струпа реєстрували на 5,5-6 добу в групах, які отримували лікування ЛЕДГ та ЛЕДП і на 12,5 добу без лікування. Досліджувані зразки та референс-препарат в два рази прискорювали поява грануляції і початок крайової епітелізації. Повне загоєння рани в групі контролю спостерігали на 46 добу після опікової травми, а при застосуванні ЛЕДГ та ЛЕДП та мазі з обліпиховою олією на 24-26 добу.

Слід зазначити, що за всіма показниками досліджувані ЛЕДП та ЛЕДГ можна порівняти за ефективністю з маззю з обліпиховою олією. Ліпофільні екстракти за такими показниками, як швидкість відторгнення опікового струпа і за термінами повної епітелізації достовірно перевершують аналогічні показники групи контролю. Крім того, якщо в групі контролю у 7 з 10 тварин спостерігалася утворення келоїдних рубців, то у тварин, яких лікували ліпофільними екстрактами і маззю з обліпиховою олією, утворення келоїдів спостерігалася у 10 тварин з 20, а у решти тварин опіки гоїлися первинним натягом.



Таблиця 5.9 – Результати ранозагоювальної дії ЛЕДГ та ЛЕДП

Експериментальна група	Ліквідація перифокальної реакції	Відторгнення струпа	Поява грануляції	Початок раневої епітелізації	Закінчення загоєння (повна епітелізація)
Контроль	4,5 ± 0,52	12,5 ± 1,8	18,2 ± 1,2	20,1 ± 1,3	46,4 ± 3,6
ЛЕДГ	2,7 ± 0,48*	5,6 ± 0,69*	6,8 ± 0,63*	9,1 ± 0,83*	24,0 ± 1,15*
ЛЕДП	2,6 ± 0,51*	5,7 ± 0,82*	6,6 ± 0,84*	9,2 ± 0,63	23,8 ± 1,14*
Мазь з олією обліпиховою	2,6 ± 0,84*	5,9 ± 0,92*	7,4 ± 0,65*	10,2 ± 1,2	26,5 ± 1,12*

Примітка: \*-  $p < 0.05$  – достовірні відмінності від групи контролю.

У таблиці 5.8 наведені результати повного загоєння опікових ран при різних термінах спостереження. До 25-го дня наступала повна епітелізація опікових ран у 70 % щурів, яких лікували ЛЕДГ та ЛЕДП і у 60 %, пролікованих маззю з обліпиховою олією та у 10 нелікованих щурів. До 30-го дня лікування ці значення склали 90 %, 90 % і 30 % відповідно.

Таблиця 5.10 – Відсоток повністю епітелізованих опікових ран при використанні порівняльних засобів

Експериментальні групи	Епіталізація опікових ран, %	
	25-день	30-день
Контроль	10	30
ЛЕДГ	70	90
ЛЕДП	70	90
Мазь з обліпиховою олією	60	90

Закономірність, відзначена вище, збереглася і для такого критерію лікувальної ефективності випробуваних засобів, як показник повної епітелізації опікових ран.

Підтвердженням достовірності та вираженості захисної дії ЛЕДГ та ЛЕДП при експериментальному термічному опіку були також результати молекулярних досліджень крові щурів. У крові нелікованих тварин (контроль) через 50 діб після термічного опіку виявляли підвищення молекулярних специфічних маркерів запалення – С-реактивного білка в 6,61 раз та інтерлейкін Lb (ІЛ-1b) в 4,37 раз.

Після термічного опіку у щурів розвинувся оксидативний стрес, про що свідчило підвищення продуктів нітрозилування білків - нітротирозину в плазмі крові. Оксидативний стрес призводить до пошкодження найбільш важливих полімерів - нуклеїнових кислот, білків і ліпідів. АФК викликають пошкодження ДНК (окиснення білків, їх модифікація, розриви ланцюгів, пошкодження хромосом). У результаті знижується або зникає їх різноманітна функціональна активність (ферментативна, регуляторна, участь в матричних синтезах, транспорт іонів і ліпідів), і як результат усього цього - зниження репаративної регенерації [29, 43]. У крові тварин контрольної групи реєстрували підвищення нітротирозину в 3,5 раз, що свідчило про активацію оксидативного стресу (табл 5.9).

Курсове призначення експериментальним тваринам ЛЕДГ та ЛЕДП приводило до достовірного зниження С-реактивного білка в крові на 47,3 % та до достовірного зниження на 54,3 % ІЛ-1b. Лікування експериментальних тварин маззю з обліпиховою олією приводило до достовірного зниження С-реактивного білка в крові на 24,8 % та до достовірного зниження на 26,2 % ІЛ-1b. Слід відзначити, що ЛЕДП за ступенем впливу на С-реактивний білок та ІЛ-1b достовірно перевершує дію мазі з обліпиховою олією. Лікування термічного опіку ЛЕДП надавало антиоксидантну дію, про що свідчило зниження рівня нітротирозину на 43,2 %, в той час як мазі з обліпиховою олією знижувала цей показник на 47 %.

Таблиця 5.11 – Вплив досліджуваних засобів на молекулярні маркери запалення і оксидативного стресу в крові щурів з термічним опіком

Група тварин	ИЛ-1 $\beta$ , пг/мл	С- реактивний білок, нг/л	Нітротирозин, нм/г білка
Інтактна (n=10)	0,61 $\pm$ 0,04	1,12 $\pm$ 0,32	5,22 $\pm$ 0,47
Термічний опік (контроль) (n=10)	2,67 $\pm$ 0,53	7,41 $\pm$ 0,67	18,5 $\pm$ 1,43
Термічний опік+ ЛЕДГ (n=10)	1,22 $\pm$ 0,10*	3,90 $\pm$ 0,33*	10,5 $\pm$ 1,17*
Термічний опік+ЛЕДП (n=10)	1,27 $\pm$ 0,12*	3,82 $\pm$ 0,21*	9,7 $\pm$ 0,82*
Термічний опік + мазь з облепиховою олією (n=10)	1,97 $\pm$ 0,12*	5,57 $\pm$ 0,55*	9,8 $\pm$ 1,51*

Примітки: \*-зміни достовірні по відношенню до контрольної групи ( $p < 0,05$ )

Таким чином, вище наведені результати свідчать про ранозагоювальну активність ліпофільних екстрактів *A. collina* та *A. micranthoides*, які проявляються за рахунок багатоконпонентної ефірної олії. Вважаємо що, ранозагоювальну дію обумовлюють проазулені і сесквітерпени, що містяться в ефірній олії. Вони мають властивості скаведжерів гідроксилрадикала, пероксинітриту, алкоксильного радикала, а також здатні пригнічувати пероксидацію жирних кислот [37, 48]. Так, регулюючи концентрацію пероксинітриту та інших цитотоксичних форм NO, сесквітерпени здатні брати участь в АФК / SH- механізмах експресії генів, у тому числі відповідальних за синтез фактора росту ендотелію (VEGF), який бере участь в проліферації і міграції ендотеліальних клітин і проростанні судин у грануляційну тканину [60]. Крім того, проазулен і сесквітерпени здатні тормозити АФК-залежну експресію прозапальних цитокінів (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) і підвищену активність матриксних металопротеїназ, які руйнують позаклітинний матрикс і додатково перешкоджають загоєнню ран [41,48]. Також відомо, що антиоксиданти мають

здатність посилювати диференціювання фібробластів у міофібробласти, що також впливає на процес загоєння ран [48].

#### 5.4.4 Дослідження протимікробної та протигрибкової активності

В останні роки при проведенні антибіотикотерапії виникли дві великі проблеми: зростання частоти виділення антибіотикорезистентних штамів і постійне впровадження в медичну практику нових антибіотиків та нових лікарських форм з антибіотиками. Антибіотикорезистентність торкнулася усіх видів мікроорганізмів і є основною причиною зниження ефективності антибіотикотерапії.

Особливо поширеними є стійкі штами стафілокока, кишкової палички, протея, синьогнійної палички. Для вирішення цієї проблеми необхідно проводити дослідження та впроваджувати нові нетоксичні антимікробні засоби рослинного походження, які мають комплексну дію на мікробну флору та високий рівень безпеки при тривалому застосуванні.

Антимікробну активність серій ЛЕДГ та ЛЕДП досліджували на базі мікробіологічної лабораторії Навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету (зав. кафедри мікробіології, вірусології та імунології к. мед. н., доцент Поліщук Н. М. (Запорізький державний медичний університет).

Досліди виконували *in vitro* за допомогою диско-дифузійного методу з використанням еталонних тест-штамів, що відносились до різних груп мікроорганізмів: *Escherichia coli* – ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* – ATCC 27853, *Pseudomonas vulgaris* – ATCC 4636, *Staphylococcus aureus* – ATCC 25923, *Bacillus subtilis* – ATCC 6633, *Candida albicans* – ATCC 885-653 (дріжджоподібні гриби роду *Candida*).

Під час проведення мікробіологічних досліджень встановлено, що ліпофільні екстракти з трави *A. collina* проявляє виражену антибактеріальну дію по відношенню до *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 259220 та *Candida*

*albicans* ATCC 885-6530. Середній діаметр зони затримки росту для цих мікроорганізмів склав відповідно: 22 мм, 16 мм та 20 мм (табл. 5.10).

Протимікробна активність ЛЕДГ щодо *E.coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* нами не виявлена.

Таблиця 5.12 – Результати дослідження антимікробної активності ЛЕДГ та ЛЕДП,  $M \pm m$  ( $p \leq 0,05$ )

Назва об'єкту	Назва тест-штаму	Контроль, мм	Середній діаметр зони затримки росту, мм
ЛЕДГ	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6,1	22,3 ± 0,05
	<i>E. coli</i> ATCC 259220	6,3	16,7 ± 0,05
	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	6,3	7,1 ± 0,05
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 90270	6,2	7,4 ± 0,05
	<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	6,2	8,3 ± 0,05
	<i>C. albicans</i> ATCC 885/6530	6,1	18,8 ± 0,05
ЛЕДП	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6,2	25,6 ± 0,05
	<i>E. coli</i> ATCC 259220	6,2	20,1 ± 0,05
	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	6,1	7,2 ± 0,05
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 90270	6,1	7,3 ± 0,05
	<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	6,2	6,8 ± 0,05
	<i>C. albicans</i> ATCC 885/6530	6,1	16,1 ± 0,05

Ліпофільні екстракти трави *A. micranthoides* представлена більш широким спектром бактерицидної дії (табл. 5.10). Встановлено, що активність по відношенню до *S. aureus* (діаметри затримки росту склали 25,6 мм), *E. coli* (20,1 мм), та *Candida albicans* (16,1 мм). Ліпофільні екстракти з трави *A. micranthoides* не мала бактерицидної дії по відношенню тест-штаму *P. aeruginosa*, *B. subtilis*.

Таким чином, диско-дифузійним методом встановлено, що ЛЕДГ та ЛЕДП виявляють виражену антибактеріальну активність по відношенню до *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Candida albicans*.

## ВИСНОВКИ

1. Розроблено технологію одержання деревію пагорбового трави екстракту ліпофільного (ЛЕДГ) та деревію подового трави екстракт ліпофільний (ЛЕДП). Методом ТШХ ідентифіковано кверцетин та хамазулен. Спектрофотометрично визначений вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на кверцетин.

2. Розроблено проект МКЯ на одержану субстанцію «Деревію пагорбового трави екстракт ліпофільний», який стандартизовано за вмістом флавоноїдів.

3. В ході токсикологічних досліджень виявлено, що  $LD_{50}$  досліджуваних зразків ЛЕДГ та ЛЕДП - 2475 і 2535 мг/кг відповідно, при внутрішньошлунковому введенні. Вони відносяться до IV класу токсичності (мало токсичні) за класифікацією К.К. Сидорова.

4. Досліджувані ліпофільні екстракти проявляють гепатопротекторну активність на моделі ХАГ і не поступаються референс-препарату Гепабене за такими показниками, як зниження АлАТ і АсАТ та тривалістю тіопенталового сну. За силою антиоксидантної активності дослідженні субстанції перевищують референс-препарат Гепабене за такими показникам як рівень КФГ та нітротирозину в печінці щурів з ХАГ.

5. Досліджувані ліпофільні екстракти проявляють антиоксидатну активність на моделі ХАГ та перевищують референс-препарат Гепабене за такими показникам як: зниження рівня КФГ та нітротирозину в печінці щурів з ХАГ.

6. Досліджувані ліпофільні екстракти проявляють гемостатичну активність на моделі ХАГ.

7. Досліджувані ліпофільні екстракти (ЛЕДП та ЛЕДГ) проявляють ранозагоювальну активність, яка за силою конкурує з референс-препаратом за такими показниками як, відсоток повністю епітелізованих опікових ран и

перевершує його дію щодо зниження молекулярних маркерів запалення при ранового процесу – СРБ и ІЛ-1б.

8. Встановлено, що ЛЕДГ та ЛЕДП проявляє виражену антибактеріальну дію по відношенню до *S.aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, та *Candida albicans* ATCC 885-6530.

*Результати експериментальних досліджень розділу наведено у таких публікаціях:*

1. Изучение эффективности липофильного экстракта травы *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb. на модели термического ожога у крыс / И. Ф. Дуюн, А. В. Мазулин, И. Ф. Беленичев, А. В. Абрамов. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2019. Т. 13, № 6. С. 399-406.

2. Экспериментальное изучение гепатопротекторной и антиоксидантной активности экстракта травы *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka / И. Ф. Дуюн, А. В. Мазулин, И. Ф. Беленичев, А. В. Абрамов. *Фармакологія и лекарственная токсикологія*. 2019. Т. 13, № 1. С. 51-57.

3. Expression of mRNA iNOS and mRNA eNOS in the liver of rats with chronic alcohol intoxication and with the introduction of *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka herb extract / I. Belenichev, I. Duyun, O. Kamyshnyi, O. Mazulin, E. Suprun, L. Makeyeva. *Biological Markers in Fundamental and Clinical Medicine*. 2020. Vol. 4 N 1. P 6-10.

4. Патент на корисну модель № 139576 Україна, МПК (2020.01). А61К 36/00, А61Р 1/16. Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, І. Ф. Беленічев, А. В. Абрамов. № u 201906923 ; заявл. 20.06.19 ; опубл. 10.01.20, Бюл. № 24.

## ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та практичне вирішення наукового завдання, що полягає у пошуку нових джерел БАР серед представників роду Деревій, шляхом комплексного порівняльного фармакогностичного дослідження трави деревію пагорбового (*Achillea collina*) і деревію подового (*Achillea micranthoides*), отримання субстанцій на їх основі з гепатопротекторною, антиоксидантною, гемостатичною, ранозагоювальною та антимікробною активністю, розробки параметрів їх стандартизації.

1. Проведено аналіз та узагальнено дані наукових першоджерел щодо морфолого-анатомічних ознак, розповсюдження, хімічного складу, фармакологічної активності та застосування в медичній та фармацевтичній практиці рослин роду Деревій, показані перспективи використання трави д. пагорбового та д. подового для одержання лікарських рослинних засобів.

2. В траві д. пагорбового та траві д. подового, отриманих з них ліпофільних екстрактах методами фітохімічного аналізу ідентифіковані 40 компонентів ефірної олії, 14 флавоноїда, 11 гідроксикоричних кислот, 12 поліфенольних сполук, 2 вітаміна, 5 органічних кислот, 13 жирних кислот, 19 макро- та мікроелементів. Встановлений кількісний вміст ефірної олії, суми проазуленів в ній, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, поліфенольних сполук, вітамінів К<sub>1</sub> та С, органічних та жирних кислот, полісахаридів, макро- та мікроелементів.

3. Вперше досліджено динаміку накопичення ефірної олії, суми проазуленів, вітамінів К<sub>1</sub> та С у траві *A. collina* та *A. micranthoides*, в залежності від місця зростання та строків заготівлі. Визначені оптимальні параметри сушки трави *A. collina*.

4. Встановлено діагностичні макро- та мікроскопічні ознаки *A. collina* та *A. micranthoides* трави, визначено числові показники та технологічні параметри трави *A. collina* та *A. micranthoides*: втрата в масі при висушуванні, зола загальна, зола нерозчинна у 10% розчині кислоти хлористоводневої,



середній розмір часток, насипна маса, об'ємна та питома вага, пористості, порізності, вільного об'єму шару, коефіцієнту поглинання екстрагенту.

5. Вперше розроблено проекти МКЯ на траву *A. collina* та *A. micranthoides* та досліджено 6 серій на відповідність параметрам стандартизації

6. Вперше отримані ліпофільні екстракти з трави *A. collina* та *A. micranthoides*, вивчено їх хімічний склад. Розроблено проект МКЯ «Деревію пагорбового екстракт ліпофільний» та стандартизовано 6 серій екстрактів на відповідність вимогам МКЯ.

7. Вперше встановлено гостру токсичність ліпофільних екстрактів, досліджено їх гепатопротекторну, антиоксидантну, гемостатичну, ранозагоювальну та антимікробну активність.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / под ред. В. П. Георгиевского. Х. : НТМТ, 2011. Т. 1. 464 с.
2. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / под ред. В. П. Георгиевского. Х. : НТМТ, 2011. Т. 2. 474 с.
3. Анатомическое исследование *Achillea salicifolia* / М. Ю. Ишмуратова, Е. М. Сулеймен, А. Ш. Жанжаксина, Қ. Р. Шайдулла. *Экспериментальные и теоретические исследования в современной науке*. 2018. N 4. С. 60-65.
4. Атлас по анатомии растений (растительная клетка, ткани, органы) : [учеб. пособие для студентов высш. учеб. заведений] / А. Г. Сербин, Л.С. Картмазова, В. П. Руденко, Т. П. Гонтовая. Х. : Колорит, 2006. 86 с.
5. Баланчук Т. І., Мазулін О. В., Мазулін Г. В. Дослідження вмісту дубильних речовин у траві видів роду будяк (*Carduus* L.). *Зб. наук. праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2017. Вип. 28. С. 79-86.
6. Биологическая активность полифенолов растительного происхождения. Перспектива использования антоцианов в медицинской практике / Д. И. Писарев, О. О. Новиков, О. А. Селютина и др. *Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация*. 2012. № 10, вып. 18/2. С. 17-24.
7. Борский М. Н. Видовая самостоятельность и структура *Achillea micranthoides* Кюк. *Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки*. 2017. N4. С. 15-20.
8. Верниковская Н.А., Темердашев З. А. Идентификация и хроматографическое определение фенольных соединений в тысячелистнике обыкновенном. *Аналитика и контроль*. 2012. Т.16, N 2. С.188-195.
9. Вивчення компонентного складу ефірних олій деревію паннонського і деревію степового флори України / В. М. Герасимов, О. В.

Мазулін, С. В. Сур, О. М. Денисенко. *Фармацевтичний журнал*. 2006. N 1. С.86-89.

10. Вміст летких речовин у водно-етанольних екстрактах *Achillea collina millefolium* L. та *Achillea collina* J. Becker ex Rchb. / Г. В. Корнільєв, А. Є. Палій, В. Д. Работягов, Б. О. Виноградов. *Біологічні студії. Studia Biologica*. 2011. Т. 5, N 3. С. 103-108.

11. Войцехівська О. В., Ситтар О. В., Таран Н. Ю. Фенольні сполуки: різноманіття, біологічна активність, перспективи застосування. *Вісник Харківського національного університету. Серія біологія*. 2015. Т. 34, N 1. С. 104-119.

12. Гарна С. В., Ветров П. П., Георгіянц В. А. Взаємозв'язок основних технологічних параметрів рослинної сировини. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. № 1 (8). С. 54–57.

13. Герасимов В. М., Мазулін О. В., Денисенко О. М. Амінокислотний склад ефірноолійних видів роду деревій флори України. *Фармацевтичний журнал*. 2006. N 3. С. 90-92.

14. Герасимов В. М. Порівняльне фармакогностичне дослідження ефірно-олійних рослин роду *Achillea* L. флори України з метою одержання лікарських засобів ранозагоюючої дії : автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук : 15.00.02. Нац. фармацевт. ун-т. Харків, 2009. 18 с.

15. Геруш О. В. Гепатопротекторная активность нового лекарственного средства растительного происхождения на модели хронического гепатита/О.В. Геруш, Л.В. Яковлева, Е.Б. Леницкая//Рецепт. 2014. № 5 (97). С. 60-71.

16. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц; пер. с англ. М. : Практика, 2001. 459 с.

17. Грицик А. Р., Нейко О. В. Морфолого-анатомічне дослідження листків та квіток деревію розсунутого. *Фітотерапія*. 2008. Вип.2. С.65-67.

18. Грицик А. Р., Нейко О. В., Грицик Л. М. Доказова фармація: Розробка складу мазі на основі сировини деревію звичайного. *Український вісник психоневрології*. 2013. Т. 21, вип. 2 (75), додаток. С. 91-93.

19. Гудзенко А. В. Пошук речовин-маркерів серед летких сполук *Calendula officinalis* L., *Urtica dioica* L., *Sambucus nigra* L., *Achillea millefolium* L. та *Glycyrrhiza glabra* L. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2012. Т. 27, N 3. С. 19-25.

20. Гузьо Н. М., Ковальська Н. П., Грицик А. Р. Дослідження дубильних речовин парила звичайного. *Медична та клінічна хімія*. 2019. Т. 21, N 3. С. 97-103.

21. Даниленко И. Р., Апыхтин Н. Н., Племенков В. В. Содержание хамазулена в эфирном масле тысячелистника обыкновенного, произрастающего на различных почвах. *Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта*. 2012. Вып. 7. С. 33-37.

22. Данилова Н. А., Попов Д. М. Количественное определение дубильных веществ в корнях щавеля конского методом спектрофотометрии в сравнении с методом перманганатометрии. *Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация*. 2004. N 2. С. 179-182.

23. Дереча Л. М., М'ясоєдов В. В. Макро- та мікроелементи: сучасні уявлення про їх функціональне значення в теплокровному організмі. *Експериментальна та клінічна медицина*. 2007. N 4. С. 21-25.

24. Державна фармакопея України / Державне п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доповнення 1. Харків : Державне п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.

25. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 724 с.

26. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів. 2-е вид. Харків : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

27. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів. 2-ге вид. Харків : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 3. 1128 с.
28. Державна Фармакопея України. Доп. 2. / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 2-е вид. Х.: Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. 333 с.
29. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. К.: ВД «Авіцена», 2001. 528 с.
30. Дослідження фенольних сполук трави деревію звичайного / О. А. Кисличенко, О. М. Кошовий, А. М. Комісаренко, Т. П. Осолодченко. *Medical Chemistry*. 2011. Т.3, N 4 (49). С. 129-132.
31. Дроговоз С. М. Гепатопротектори. *Фармацевтична енциклопедія* / голова ред. ради В. П. Черних. 2 вид., переробл. і доповн. Київ : Моріон, 2010. С. 332-333.
32. Дученко М. А. Дослідження полісахаридів листя гледичії колючої. *Український біофармацевтичний журнал*. 2014. № 3 (32). С. 64-66.
33. Жирные и органические кислоты тысячелистника сжатого / С. Д. Тржецинский, Н. С. Фурса, О. Н. Денисенко, А. Ю. Дьяченко и др. *Бъдещите изследвания*. 2016. Т.8. *Биологии*. С. 49-52.
34. Исследование углеводного состава некоторых растений семейства *Asteraceae* / А. Ю. Ботов, А. П. Северин, В. Я. Яцюк, Л. Е. Сипливая. *Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова*. 2012. N 4. С. 1142-1145.
35. Ільїнська Н. І., Гонтова Т. М., Кічимасова Я. С. Вивчення технологічних параметрів сировини жоржини німфейної сорту Ken's Flame. *Український медичний альманах*. 2014. Т. 17, № 1. С. 86.
36. Кавтарадзе Н. В., Алания М. Д. Хромато спектрофотометрический метод количественного определения витамина К<sub>1</sub> в листьях *Urtica dioica* L. *Растительные ресурсы*. 2002. N 4. С. 118-120.

37. Кисличенко О. А., Комісаренко А. М., Новосел О. М. Ізопреноїдний склад спиртового екстракту трави *Achillea millefolium*. *Збірник наукових праць НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2012. Вип. 20, кн.3. С. 487-492.

38. Кисличенко О. А., Кошевий О. М., Комісаренко А. М. Амінокислотний та моноцукровий склад квіток *Achillea millefolium* Mill. *Український медичний альманах*. 2011. Т. 14, N 2. С. 91-93.

39. Кисличенко О. А., Кошевий О. М., Комісаренко А. М. Терпеноїдний склад надземних органів деревію звичайного (*Achillea millefolium* Mill.). *Фармац. журн.* 2012. N 2. С. 96-99.

40. Коваленко В. М., Стефанов О. В., Максимов Ю. М., Трахтенберг І. М. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Метод. рекомендації. – К.: ВД «Авіцена», 2001. – С. 74–91.

41. Кожемякін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А. та ін. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. – К.: Авіцена, 2002. 155 с.

42. Купчинин Д. А., Войтович Н. С., Осадчий А. Г. Скрининговое исследование противоописторхозной активности тысячелистника обыкновенного и тысячелистника благородного. *Онтусчіт Казакстан мемлекеттік фармацевтика академиясы хабаршы*. 2016 ж. Т. 4, N 77. С. 113-114.

43. Куркин В. А., Куркина А. В., Авдеева Е. В. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных средств. *Фундаментальные исследования*. 2013. N 11. С. 1897-1901.

44. Къосев П. А. Лекарственные растения: самый полный справочник. М. : Эксмо, 2011. 944 с.

45. Левицкий А. П., Вертикова Е. К., Селиванская И. А. Хлорогеновая кислота: биохимия и физиология. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2010. N 2. С. 6-17.

46. Ловкова М. Я., Бузук Г. Н. Лекарственные растения – концентраторы и сверх концентраторы меди и ее роль в метаболизме этих видов. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2011. Т. 47, N 2. С. 209-216.

47. Мельник О. А., Унгурян М. Л. Пошук лікарських засобів на основі рослинної сировини, що містять кислоту хлорогенову. *Фармацевтичний часопис*. 2011. N 1. С. 90-94.

48. Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільно радикальних процесів у дослідах *in vitro* : метод. рекомендації / І. Ф. Беленічев, Ю.І. Губський, В. В. Дунаєв, С. І. Коваленко. Київ : ДФЦ МОЗ України, 2001. 19 с.

49. Мозуль В. И., Смойловская Г. П., Мазулин А. В. Аминокислотный состав растений рода тысячелистник. *Запорожский медицинский журнал*. 2006. Т. 34, N 1. С. 140-141.

50. Нейко О. В., Грицик А. Р., Мельник М. В. Дослідження умов зростання та способів розмноження *Achillea millefolium* L. та *A. distans* в умовах Прикарпаття. *Фармацевтичний часопис*. 2017. Т.2. С.33-37.

51. Нейко О. В. Фармакогностичне дослідження рослин роду деревій та створення фітозасобів на їх основі : автореф. дис. ... канд. фармац. наук : 15.00.02. Львів. нац. мед. ун-т ім. Данила Галицького. Львів, 2018. 26 с.

52. Оленников Д. Н., Танхаева Л. М. Методика количественного определения группового состава углеводного комплекса растительных объектов. *Химия растительного сырья*. 2006. N 4. С. 29-33.

53. Определение гидроксикоричных кислот в лекарственном растительном сырье и объектах растительного происхождения / Ю. В. Медведев, О. И. Передеряев, А. П. Арзамасцев, К. И. Эллер и др. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2010. Т. 8, N 3. С. 25-31.

54. Определение содержания тяжелых металлов в лекарственном растительном сырье / И. В. Гравель, Н. В. Петров, И. А. Самылина и др. *Фармация*. 2008. N 7. С. 3-5.

55. Определитель высших растений Украины / Д. Н. Доброчаева, М. И. Котов, Ю. Н. Прокудин и др.; под ред. Ю.Н. Прокудина. Киев.: Наук. думка, 1987. 548 с.

56. Пат. на корисну модель № 55100 Україна, МПК А61Р 43/00. Спосіб отримання водного поліфенольного екстракту з трави деревію / Є. К. Ткаченко, С. В. Носийчук, Н. Г. Новосельська. № u2010048222 ; заявл. 22.04.2010 ; опубл. 10.12.2010. Бюл. N 23.

57. Пат. на корисну модель № 58468 Україна, МПК А61К 31/00. Спосіб стандартизації деревію звичайного (*Achillea millefolium* L.) в багатокомпонентних рослинних сумішах / А. В. Гудзенко, О. О. Цуркан, Т. В. Ковальчук. № u201012041 ; заявл. 11.10.2010; опубл. 11.04.2011. Бюл. N 7.

58. Пат. на корисну модель № 68825 Україна, МПК А61К 36/28. Спосіб одержання засобу з антимікробною активністю з трави деревію звичайного / О. А. Кисличенко, А. М. Комісаренко, О. М. Кошовий. № u201111938 ; заявл. 11.10.2011 ; опубл. 10.04.2012. Бюл. N 7.

59. Патент № 2085203 РФ. Способ количественного определения флавоноидов в экстракционных маслах из растительного сырья / А. В. Мазулин, Н. А. Калошина, В. В. Петренко, А. С. Прищепов. № RU94025420А заявл. 07.06.1994 ; опубл. 27.07.1997.

60. Патова О. А., Головченко В. В., Оводов Ю. С. Пектиновые полисахариды: структура, свойства. *Известия академии наук*. 2014. N 9. С. 1901-1924.

61. Перспективи створення фітозасобів з ранозагоювальною дією /А. Р. Грицик, Л. М. Грицик, Н. І. Тучак, В. А. Сологуб, О. В. Нейко. *Український вісник психоневрології*. 2009. Т.14, вип. 2 (59), додаток. С. 113-115.

62. Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини : навч. посіб. / [В. М. Ковальов, С. М. Марчишин, О. П. Хворост та ін.] ; за ред. В. М. Ковальова, С. М. Марчишин, О. П. Хворост, Т. І. Ісакової. Тернопіль : ТДМУ, 2014. 264 с.



63. Природные флавоноиды / Д. Ю. Корулькин, Абилов Ж. А., Музычкина Р. А., Г. А. Толстиков. Новосибирск : Академическое изд-во «Тео». 2007. 232 с.

64. Разработка экспериментальных моделей алкогольного гепатита различностепени тяжести /Петров А.Н., Шевчук М.К., Георгианова Е.К., Сивак К.В., Стосман К.И.//Токсикология. 2015. Т. 15, №7. С.23-37.

65. Рандушка Д., Шемшак Л., Габерова И. Цветовой атлас растений. Братислава : Обзор, 1990. 411 с.

66. Ранозаживляющая активность мази, содержащей эфирное масло травы тысячелистника пойменного / С. Д. Тржецинский, В. И. Мозуль, В. А. Жернова, Н. С. Фурса. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2014. Т.15, N 2. С. 50-53.

67. Решедько Г. К., Стецюк О. У. Особенности определения чувствительности микроорганизмов диско-диффузным методом. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2001. Т. 3, № 4. С. 348–355.

68. Самылина И. А. Фармакогнозия : атлас : учеб. пособие: в 2 т. / И. А. Самылина, О. Г. Аносова. М. : ГЭОТАР. Медиа, 2007. Т. 1. 192 с.

69. Самылина И. А. Фармакогнозия : атлас : учеб. пособие: в 2 т. / И. А. Самылина, О. Г. Аносова. М. : ГЭОТАР. Медиа, 2007. Т. 2. С. 81-86.

70. Семенова В. В., Гасанов Г. Н. Влияние высотной поясности на накопление микроэлементов *Achillea millefolium* (*Asteraceae*) в условиях республики Дагестан. *Растительные ресурсы*. 2018. Т. 54, N 1. С. 139-151.

71. Семенова М. О. Етика лікаря та права людини : положення при використанні тварин у біомедичних дослідях. *Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія*. 2003. Т. 22, N 2. С. 108-109.

72. Сербін А. Г., Сіра Л. М., Слободянюк Т. О. Фармацевтична ботаніка: підручник. Вінниця : Нова книга, 2015. 488 с.

73. Скальный А. В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. М. : Издат. дом «ОНИКС 21 век» ; Мир, 2004. 216 с.

74. Смірнов О. Є., Таран Н. Ю. Фітотоксичні ефекти алюмінію та механізми алюморезистентності вищих рослин. *Физиология растений и генетика*. 2013. Т. 45, N 4. С. 281-289.

75. Смойловська Г. П., Мазулін О. В., Светашов О. М. Бактеріостатична активність ефірних олій деяких представників секції *Millefolium* Koch. роду *Achillea* L. *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики*. Запоріжжя, 2014. Т. 16, N 3. С. 40-45.

76. Смойловская Г. П., Мазулин А. В., Гречаная Е. В. Содержание аминокислот в видах рода *Achillea* L. флоры Украины. *Запорожский медицинский журнал*. 2008. Т.1, N 2, т. 1.С. 135-136.

77. Смойловська Г. П., Мазулін О. В. Спектрофотометричне визначення вітаміну К у траві видів роду *Achillea* L. *Фармацевтичний часопис*. 2007. N 1 (1). С. 101-103.

78. Смойловська Г. П. Фармакогностичне дослідження видів роду *Achillea* L. з кровоспинною дією флори України : автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук : 15.00.02. Запоріж. держ. мед. ун-т. Запоріжжя, 2010. 23 с.

79. Спектрофотометрический метод определения содержания каротинов, ксантофиллов и хлорофиллов в экстрактах семян растений / О. В. Булда, В. В. Рассадина, Г. Н. Алексейчук, Н. А. Ламан *Физиология растений*. 2008. Т. 55, N 4. С. 604-611.

80. Спектрофотометрическое определение флавоноидов в растительном сырье / А. В. Булатов, М. Т. Фалькова, М. О. Пушина и др. *Аналитика и контроль*. 2012. Т. 16, N 4. С. 358-362.

81. Сравнение химико-аналитических методов определения танинов и антиоксидантной активности растительного сырья / Е. И. Рябинина и др. *Аналитика и контроль*. 2011. Т. 15, N 2. С. 202-204.

82. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств. К. : Авиценна, 2002. 568 с.

83. Сучасна фітотерапія : навч. посіб. / С. В. Гарна, І. М. Владимірова, Н. Б. Бурд та ін. – Харків: «Друкарня Мадрид», 2016. 580 с.

84. Сучасні комплексні фітопрепарати та рослинні харчові дієтичні добавки : довідковий посібник для студентів, провізорів-інтернів вищих медичних та фармацевтичних навчальних закладів III-IV рівня акредитації / О. В. Мазулін, А. О. Остапенко, Г. В. Мазулін та ін. – Запоріжжя: ФЛП Систерова Н.О. 2019. 460 с.

85. Тринеева О. В., Сливкин А. И. Изучение жирнокислотного состава растительных масел и масляных экстрактов фармацевтического назначения методами ГЖХ и ИКС. *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2008. Т. 16, N 2. С. 212-219.

86. Тринеева О. В., Сливкин А. И., Дортгулыев Б. Определение тяжелых металлов в лекарственном растительном сырье и масляных препаратах на его основе (на примере листьев крапивы двудомной и плодов облепихи крушиновидной). *Вестн. ВГУ. Сер. Химия, биология, фармация*. 2015. N 1. С. 152-155.

87. Турсыматова О.И. Биологическая активность флавоноидов/О.И. Турсыматова М.М. Дильмаханова // *Наука и Мир*. 2015. Т. 1, № 5. С. 28-29.

88. Тысячелистники / Сытник К. М., Андрощук А. Ф., Клоков М. В. и др.– Київ : Наук. Думка, 1984. 272 с.

89. Фармакогностическое изучение видов рода *Achillea* L. / С. Д. Тржецинский, В. И. Мозуль, Г. А. Жернова, Н. С. Фурса. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2014. Т. 14, N 1. С. 16-19. **77+**

90. Фармацевтична енциклопедія / голова ред. ради та автор передмови В. П.Черних. 2-ге вид., переробл. і доповн. Київ : "МОРІОН", 2010. 1632 с.

91. Фенольні речовини *Achillea millefolium* L. та *Achillea collina* J. Becker ex Rchb. при вирощуванні в умовах Південного берега Криму / Г. В. Корнільєв, А. Є. Палій, В. М. Єжов, В. Д. Работягов. Чорноморський ботанічний журнал. 2011. Т.7, N 4. С. 355-359.

92. Характеристика антирадикальной активности экстрактов из растительного сырья и содержание в них дубильных веществ и флавоноидов /

М. Н. Макарова, В. Г. Макаров, Н. М. Станкевич и др. *Растительные ресурсы*. 2005. № 2. С. 108-115.

93. Хромато-спектрометричне дослідження терпеноїдів ефірної олії *Achillea collina* Веск. /А. М. Ковальова, А. М. Комісаренко, О. А. Кисличенко, С. М. Комісаренко. *Фітотерапія*. Часопис. 2007. N 4. С. 69-71. 230

94. Цвелев Н. Н. Определитель сосудистых растений Северо-Западной России. СПб. : Изд-во СПУВА, 2000. 781 с.

95. Черепанов С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб., 1995. 992 с.

96. Черногород Л. Б. Эфирные масла видов рода *Achillea* (*Asteraceae*), содержащие франганол / Л. Б. Черногород, Б. А. Виноградов. *Раст. ресурсы*. Т. 42, N 2. С. 61-68.

97. Чечета О. В., Сафонова Е. Ф., Сдивкин А. И. Методика определения каротиноидов методом хроматографии в тонком слое сорбента. *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2008. Т. 8, N 2. С. 320-326.

98. Шелеметьева О. В., Сизова Н. В., Слепченко Г. Б. Определение содержания витаминов и биологически активных веществ в растительных экстрактах различными методами. *Химия растительного сырья*. 2009. N 1. С. 113-116.

99. Ющишена О. В., Цуркан О. О. Кількісне визначення різних груп вуглеводів в листі, стеблах та суцвіттях вітексу священного (*Vitex agnus-castus* L.) та вітексу коноплевидного (*Vitex cannabifolia* Sieb.). *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 4. С. 89-94.

100. A comparative study on the antioxidant activities and phenolic contents of different extracts of *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* and *Alcea apterocarpa* (Fenzi.) Boiss, endemic plants in Turkey / G. Anlas, O. Ustuner, F. U. Alkan et al. *Fresenius Environmental Bulletin*. 2017. Vol. 26, N 2a. P. 1423-1430.

101. A review on phytochemistry and medicinal properties of the genus *Achillea* / S. Saeidnia, A. Gohari, N. Mokhber-Dezfuli, F. Kiuchi. *Daru : Journal of Faculty of Pharmacy*. 2011. Vol. 19, N 3. P. 173-186.

102. Abdossi V., Kazemi M. Bioactivities of *Achillea millefolium* essential oil and its main terpenes from Iran. *International Journal of Food Properties*. 2016. Vol. 19, N 8. P. 1798-1808.
103. *Achillea millefolium* L. – phytochemical profile and in vitro antioxidant activity / L. Georgieva, A. Gadjalova, D. Mihaylova, A. Pavlov. *International Food Research Journal*. 2015. Vol. 22, N 4. P. 1347-1352.
104. *Achillea millefolium* L. s.l. herb extract: Antioxidant activity and effect on the heart mitochondrial functions /S. Trumbeckaite, R. Benetis, L. Bumblauskiene et al. *Food Chemistry*. 2011. Vol. 127, N 4. P. 1540-1548.
105. *Achillea millefolium*: Determination of metals and microscopic analysis of two group of different origins from bihor / E. Marian, B. Pasca, C. Zbarcea et al. Anable universitatii din Oradea, Fascicula Protectia Mediului, 2015. Vol. 25. P. 399-406.
106. Ahmadi A., Ezzatpanah H., Asgary S. Phytochemical, Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Essential oil from Flowers and leaves of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium*. *Journal of essential oil-bearing plants*.2017.Vol. 20, N 2. P. 395-409.
107. Akyalcin H., Arabaci T&Yildiz B. Pollen morphology of some *Achillea* L. sect. Babounya (DC.) O. Hoffm. (Asteraceae) species from Turkey. *Acta Botanica Gallica: Botany Letters*. 2014.Vol. 161, N 2. P. 129-149.
108. Alqasourni S. I., Abdel-Kader M. S. Screening of some Traditionally Used Plants for Their Hepatoprotective Effect. *Phytochemicals as Nutraceuticals. Global Approaches in Their Role in Nutrition and Health*. 2012.Vol. 14. P. 255-278.
109. Al-Snafi A. E. Chemical constituents and Pharmacological activities of Milfoil (*Achillea santolina* ). A review. *International Journal of Pharm. Tech. Researchs*. 2013.Vol. 5, N 3. P. 1373-1377.
110. Analysis of macroelements content of some medicinal and aromatic plants using Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS) / I. M. Imbrea, I. Radulov, A. L. Nicolin, F. Imbrea. *Romanian Biotechnological Letters*. 2016. Vol. 21, N 4. P. 11640-11649.

111. Anticancer and antimicrobial activities of some antioxidant-rich cameroonian medicinal plants / J. D. D. Tamokou, J. R. Chouna, E. Fischer-Fodor et al. *PLoS One*. 2013. Vol. 8,. N 2. P. 558-580.

112. Antifungal and herbicidal properties of essential oils and n-hexane extracts of *Achillea gypsocola* Hub – Mor. and *Achillea biebersternii* Afan. (*Asteraceae*) / S. Kordali, A. Cakir, T. A. Akcin et al. *Industrial Crops and Products*. 2009. Vol. 29, N 2 – 3. P. 562-570.

113. Antinoceptive and antiinflammatory activities and acute toxicity of *Achillea nobilis* subsp. *neilreichii* extract in mice and rats / N. U. Karabay – Yavasoglu, C. Karamenderes, S. Baykan, S. Apaydin. *Pharmaceutical Biology*. 2007. Vol. 45, N 2. P. 162-168.

114. Antioxidant activity and phenolic contents of *Achillea wilhemsii* / H. Fathi, B. Lashtoo Aghaee, M. A. Ebrahimzadeh et al. *Pharmacology on line*. 2011. N 2. P. 942-949.

115. Antioxidant and cytoprotective properties of infusion from leaves and inflorescences of *Achillea collina* Becker ex Rchb. / A. Giorgi, R. Bombeli, A. Luini, G. Speranza et al. 2009. Vol. 23, N 4. P. 540-545.

116. Antioxidant and cytotoxic effect of aqueous and hydroalcoholic extracts of the *Achillea millefolium* L. on MCF-7 Breast Cancer Cell Line / B. Amini Navaie, S. Kavosian, S. Fattahi et al. *IBBJ*. 2015. Vol. 1, N 3. P. 119-125.

117. Arsenic, cadmium and lead in medicinal herbs and their fractionation / S. Arpadjan, G. Çelik, S. Taşkesen, Ş. Güçer et al. *Food and chemical toxicology*. 2008. Vol. 46, N 8. P. 2871-2875.

118. Aytay Z., Duman H., Ekici M. Two new *Achillea* L. (*Asteraceae*) species from Turkey. *Turkish Journal of Botany*. 2016. Vol. 40. P. 373-379.

119. Benedek B., Kopp B. *Achillea millefolium* L. s. l. revisited: Recent findings confirm the traditional use / *Wien Med Wochenschr*. 2007. Vol. 157, N 13-14. P. 312-314.

120. Benedek B., Kopp B., Melzig M. F. *Achillea millefolium* L. s. l. – is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition. / *Journal Ethnopharmacology*. 2007. Vol. 113, N 2. P. 312-317.

121. Biochemical and pathological study of hydroalcoholic extract of *Achillea millefolium* L. on ethylene glycol-induced nephrolithiasis in laboratory rats. / H. H. Bafrani, Y. Parsa, S. Yadollah-Damavandi et al. *North American Journal of Medical Sciences*. 2014. Vol. 6, N 12. P. 638-642.

122. Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea biebersteinii* Afan (Asteraceae) / H. Özer, M. Sökmen, Ö. Barış et al. *Turkish Journal of Biology*. 2006. Vol. 30. P. 65-73.

123. Biological activities of the hydro-alcoholic and aqueous extracts of *Achillea fragrantissima* (Forssk.) / H. M. Hammad, S. A. Matar, S.-C. Litescu, S. Aduhamdaz et al. *Natural Science*. 2014. Vol. 6, N 1. P. 23-30.

124. Boskovic Z., Radulovic N., Stojanovic G. Essential oil composition of four *Achillea* species from the Balkans and its chemotaxonomic significance. / *Chemistry of Natural Compounds*. 2005. Vol. 41, N 6. P. 674-678.

125. Burk D. R., Cichacz Z. A., Daskalova S. M. Aqueous extract of *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) inflorescens suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW 264.7 murine macrophages. / *Journal of Medicinal Plants Research*. 2010. Vol. 6, N 1. P. 225-234.

126. Characterization and biological activity of *Achillea teretifolia* Willd. and *A. nobilis* L. subsp. *neilreichii* (Kerner) Formanek essential oils / F. Demirci, B. Demirci, I. Gurbuz, E. Yeşilada. *Turkish Journal of Biology*. 2009. Vol. 33. P. 129-136.

127. Characterization of volatile compounds of eleven *Achillea* species from Turkey and biological activities of essential oil and methanol extract of *A. hamzaoglu* Arabact & Budak . / F. P. Turkmenoglu, O. T. Agar, G. Akaydin et al. *Molecules*. 2015. Vol. 26, N 20. P. 11432-11458.

128. Chemical composition and biological activity of the volatile extracts of *Achillea millefolium* / D. Fakconieri, A. Piras, S. Porsedda, B. Marongiu et al. *Natural product communications*. 2011. Vol. 6, N 10. P. 1527-1530.
129. Chemical composition of the essential oils of *Achillea eriophora* DC. growing wild in Iran / K. Doozandeh, M. Dejam, F. Mohajeri, G. H. Mohebbi et al. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2015. Vol. 7, N 2. P. 748-754.
130. Chemical composition of the essential oils of some *Achillea species* growing wild in Turkey / O. Toncer, S. Basbag, S. Karaman, S. Dizaz et al. *International Journal of Agriculture&Biology*. 2010. Vol. 12, N 4. P. 527-530.
131. Chemical composition of wild and commercial *Achillea millefolium* L. and bioactivity of the methanol extract, infusion and decoction / M. I. Dias, L. Barros, M. Duenas et al. *Food Chemistry*. 2013. Vol. 141, N 4. P. 4152-4160.
132. Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Achillea collina* Becker ex Heimerl s.l. and *A. pannonica* Scheele essential oils / B. Bozin, N. Mimica–Dukic, M. Bogavac et al. *Molecules*. 2008. Vol. 13, N 9. P. 2058-2068.
133. Chemotypes in *Achillea collina* based on sesquiterpene lactone profile / M. Todorova, A. Trendafilova, B. Mikhova et al. *Phytochemistry*. 2007. Vol. 68, N. 13. P. 1722-1730.
134. Comparative investigation of 11 *Achillea collina* Becker accessiones concerning phenological, morphological, productional features and active agent content. / S. Kindlovits, B. Cserhati, K. Inotal, P. Rajhart et al. *6<sup>th</sup> International Symposium Breeding Research on Medicinal and Aromatic Plants, BREEDMAP 6, Quedlinburg, Germany, June 19-23*. 2016. P. 76-78.
135. Comparative studies on phenolic composition, antioxidant, wound healing and cytotoxic activities of selected *Achillea* L. species growing in Turkey / O. T. Agar, M. Dikmen, N. Ozturk et al. *Molecules*. 2015. Vol. 20, N 10. P. 7976-8000.
136. Comparison of the chemical composition of four yarrow (*Achillea millefolium* L.) morphotypes / K. Bimbiraite, O. Ragazinskiene, A. Maruska, O. Kornysova. *Biologija*. 2008. Vol. 54, N 3. P. 208-212.



137. Component composition of essential oils from four species of the genus *Achillea* growing in Kazakhstan / D. T. Sadyrbekov, E. M. Suleimenov, E. V. Tikhonova et al. *Chemistry of Natural Compounds*. 2006. Vol. 42, N 3. P. 294-297.
138. Composition and antimicrobial activity of *Achillea distans* essential oil / A. Konakchiev, M. Todorova, B. Mikhova et al. *Natural product communications*. 2011. Vol. 6, N 6. P. 905-906.
139. Composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea eriophora* / Y. Ghasemi, A. Khalaj, A. Mohagheghzadeh, A. Khosaravi. *Chemistry of Natural Compounds*. 2008. Vol. 44, N 5. P. 663-665.
140. Composition of *Achillea distans* Willd. subsp. *distans* root essential oil / J. Lazarevic, N. Radulović, B. Zlatković, R. Palić. *Natural product research*. 2010. Vol. 24, N 8. P. 718-731.
141. Cytotoxic and antioxidant activity of *Achillea alexandri – regis* / T. Kundakovic, T. Stanojkovic, Z. Juranic, N. Kovacevic. *Die Pharmazie*. 2005. Vol. 60, N 4. P. 319-320.
142. Determination of the chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Teucrium polium* and *Achillea millefolium* grown under North Anatolian ecological condition / J. E. Sevindik, Z. T. Abaci, G. Yamaner, M. Ayvaz. *Biotechnology&Biotechnological equipment*. 2016. Vol. 30, N 2. P. 375-380.
143. Development of an RP – HPLC method for the analysis of phenolic compounds in *Achillea millefolium* L. / R. Benetis, J. Raduien, V. Jaktas et al. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2008. Vol. 31, N 4. P. 596- 610.
144. Distribution of phenolic compounds in Middle european taxa of the *Achillea millefolium* L. aggregate / B. Benedek, N. Gjoncaj, J. Saukel, B. Kopp. *Chem. Biodivers*. 2007. Vol. 4, N 5. P. 849-857.
145. Dogan S., Diken E., Dogan M. Antioxidant, phenolic and protein contents of some medicinal plants. *J. Med. Plants Res*. 2010. Vol. 4, N 23. P. 2566-2572.

146. Dzung N. T-K., Khai P. N., Ludwig R. Quantitative determination of trace elements in some oriental products. *Internstional Scholarly and Scientific Research & Innivation*. 2010. Vol. 29, N 2. P. 293-303.

147. Ecological and biogeochemical assessment of elemental and biochemical composition of the vegetation of anthropogenically disturbed ecosystems (based on the example of *Achillea millefolium* L.) / A. L. Syso, T. I. Syromlyna, M. A. Myadelets et al. *Contemporary Problems of Ecology*. 2016. Vol. 9, N 5. P. 643-651.

148. Effect of the essential oil of *Achillea millefolium* L. in the production of hydrogen peroxide and tumor necrosis factor –  $\alpha$  in murine macrophages. / F. C. M. Lopes, F. P. Benzatti, C. M. Jordão Junior et al. // *Rev. Bras. Cienc. Farm.* 2005. Vol. 41, N 3. P. 401-405.

149. Eghdami A., Sadeghi F. Determination of total phenolic and flavonoids contents in methanolic and aqueous extract of *Achillea millefolium*. *The Journal of Organic Chemistry*. 2010. N 2. P. 81-84.

150. Essential oil composition of *Achillea filipendulina*, *A.arabica* and *A. eriophora* cultivated under temperature climate in Iran / M. Mottaghi, P. Shanjani, A. A. Jafari, M. Mizza. *Journal of Medicinal Plants and Byoproducts*. 2016. Vol. 5. N 2. P 153-158.

151. Essential oil variation among and within six *Achillea* species transferred from different ecological regions in Iran to the field conditions / M. Rahimmalek, B. Ebrahim, S. Tabatabaei et al. *Industrial Crops and Products*. 2009. Vol. 29, N 2-3. P. 348-355.

152. European convention for the protection of the vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. 52 s.

153. Evaluation of efficacy of preservatives associated with *Achillea millefolium* L. extract against *Bacillus subtilis* / L. E. Salvagnini, K. F. Migliato, V. L.B. Isaac et al. *Braz. J. Microbiol.* 2006. Vol. 37, N. 1. P. 75-77.

154. Expression of mRNA iNOS and mRNA eNOS in the liver of rats with chronic alcohol intoxication and with the introduction of *Achillea micranthoides*

Klok. et Krytzka herb extract / I. Belenichev, I. Duyun, O. Kamyshnyi, O. Mazulin, E. Suprun, L. Makyeyeva. *Biological Markers in Fundamental and Clinical Medicine*. 2020. Vol. 4 N 1. P 6-10.

155. Expression of mRNA iNOS and mRNA eNOS in the liver of rats with chronic alcohol intoxication and with the introduction of *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka herb extract / I. Belenichev, I. Duyun, O. Kamyshnyi, O. Mazulin, E. Suprun, & L. Makyeyeva. *Biological Markers in Fundamental and Clinical Medicine*. 2020. Vol.4. N 1. P 6-10.

156. Features of ontogenesis of *Asteraceae* Bercht. & Presl, Lamiaceae Martinov, Rutaceae Juss. families plants on Ivano-frankivsk national medicinal university collection plots of medical plants / A. R. Grytsyk, M. V. Melnyk, I. A. Sas, O. V. Neiko, R. A. Grytsyk. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality*. 2015. P. 208-211.

157. Flavonoid characterization and antioxidant activity of hydroalcoholic extracts from *Achillea ligustica* All. / C. Tuberoso, P. Montoro, S. Piacente et al. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2009. Vol. 50, N 3. P. 440-448.

158. Flavonoids in flower heads of three *Achillea* species belonging to *Achillea millefolium* group. / A. Trendafilova, M. Todorova, B. Mikhova, H. Duddeck. *Chemistry of Natural Compounds*. 2007. Vol. 43, N 2. P. 212- 213.

159. Gas chromatography with mass–spectrometric detection of the components of the essential oil from *Achillea carpatica* Blocki ex Dubovik and *Echinacea pallida* Nutt. /A. A. Kyslychenko, Ya. V. Dyakonova, A. N. Aleksandrov, R. Ye. Darmogray. *Herba Polonica*. 2008. Vol. 54, N 4. P. 62- 67.

160. Ghasemzadeh A., Ghasemzadeh N. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011. Vol. 5. P. 6697-6703.

161. Gomah E. N. Chemical composition, toxicity and growth inhibitory activities of essential oils of three *Achillea* species and their nano-emulsions against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Industrial Grops and Products*. 2014. Vol. 53. P. 252-260.

162. Grytskyk A. R., Neiko O. V., Melnyk M. V. Morphological-anatomical study of *Achillea* L. species in western region of Ukraine. *The Pharma Innovation Journal*. 2016. Vol. 2, N 4. P. 71-73.
163. Gudzenko A. Development and validation of a HPLC method for the simultaneous determination of luteolin and apigenin in herb of *Achillea millefolium* L. *The Pharma Innovation Journal*. 2013. Vol. 2, N 7. P. 7-14.
164. Heavy Metals Toxicity and Environment / P. B. Tchounwou et al. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*. 2012. Vol. 101. P. 133-164.
165. Husnu Can Baser K. Essential oils of *Achillea* species of Turkey. *Nat. Volatiles&Essent. Oils*. 2016. Vol. 3, N 1. P. 1-14.
166. In vitro antioxidant and antifungal properties of *Achillea millefolium* L. / I. Fierascu, C. Ungureanu, S. M. Avramescu et al. *Romanian Biotechnological Letters*. 2015. Vol. 20, N 4. P. 10626-10636.
167. In vitro estrogenic activity of *Achillea millefolium* L. / G. Innocenti, E. Vegeto, S. Dall'Acqua et al. *Phytomedicine*. 2007. Vol. 14, N 2-3. P. 147-152.
168. Influence of environmental factors on composition of phenolic antioxidants of *Achillea collina* Becker ex Rchb. / A. Giorgi, M. Madeo, G. Speranza, M. Cocucci. *Natural product research*. 2010. Vol. 24, N 16. P. 1546-1559.
169. Intraspecific variability of yarrow (*Achillea millefolium* L. s.l.) in respect of developmental and chemical traits / K. Baczek, O. Kosakowska, J. L. Przybyl et al. *Herba Polonica*. 2015. Vol. 61, N 3. P. 37-52.
170. Jokic N., Topalic-Trivunovic L., Rodic-Grabovac B. Flavonoidna jedinjenja biliaka roda *Achillea* L. i njihova bioloska aktivnost. *Glasnik hemicara, tehnologa Republike Srpske*. 2017. Vol. 13. P. 21-29.
171. Karamenderes C., Karabay Yavasoglu N. U., Zeybek U. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Achillea nobilis* L. subsp. *sipylea* and subsp. *neilreichii*. / *Chemistry of Natural Compounds*. 2007. Vol. 43, N 5. P. 632-634.

172. Karyological investigation of six *Achillea* L. (*Asteraceae*) species growing in Turkey / Y. Kiran, I. Turkoglu, F. Kirilmaz, T. Arabaci et al. *Caryologia*. 2012. Vol. 65, N 2. P. 101-195.

173. Karyological notes on another eight species of *Achillea* (*Asteraceae*) from Turkey / Y. Kiran, T. Arabaci, A. Sahin, I. Turkoglu. *Biology*. 2008. Vol. 63, N 3. P. 343-348.

174. Karyological notes on eight species of *Achillea* L. (*Asteraceae*, *Santolinoideae*) from Turkey / A. Sahin, Y. Kiran, T. Arabaci, I. Turkoglu. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2006. Vol. 151, N 4. P. 573-580.

175. Kazemi M., Rostami H. Chemical composition and biological activities of Iranian *Achillea wilhelmsii* essential oil: a high effectiveness against *Candida* spp. and *Escherichia* strains. *Nat. Prod. Res.* 2015. Vol. 29, N 3. P. 286-288.

176. Kyslychenko O. A. Flavonoids determination in the above ground part of *Achillea millefolium*. *Український медичний альманах*. 2014. Т. 17. N 3. С. 46-48.

177. Mais B., Yaser A. M., Ream N. Hypolipidemic effect of *Achillea biebersteinii* ethanolic extract in hamsters with diet-induced hypercholesterolemia. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 2016. Vol. 8, N 9. P. 1555-1559.

178. Nemeth E., Bernath J. Biological activities of yarrow species (*Achillea* spp.). *Curr. Pharm. Des.* 2008. Vol. 14, N 29. P. 3151-3167.

179. Nouredini M., Rasta V. Analgetic effect of aqueous extract of *Achillea millefolium* L. on Rat's Formalin Test. *Pharmacology on line*. 2008. N 3. P. 659-664.

180. Orav A., Arak E., Raal A. Phytochemical analysis of the essential oil of *Achillea millefolium* L. from various European countries. *Nat. Prod. Res.* – 2006. Vol. 20, N. 12. P. 1082-1088.

181. Palynomorphological data of some species of the Genus *Achillea* / A. Dauti, G. Kapidani, B. Pupuleku, N. Kallajxhiu et al. *Academic Journal of Interdisciplinary Studies MC SER Publis, Rome-Italy*. 2016. Vol. 5, N 3. P. 74-77.

182. Pharmacologic and toxicologic properties of lyophilic extract *Achillea setacea* Waldst. et Kit. / G. P. Smoylovska, O. V. Mazulin, A. V. Abramov, N. V. Bukhtiyarova. *Zaporozhye Medical Journal*. 2017. Vol. 19, N 6 (105). P. 823-826.

183. Phenolic compounds from *Achillea millefolium* L. and their bioactivity / S. Vitalini, G. Beretta, M. Iriti, S. Orsenigo et al. *Acta Biochimica Polonica*. 2011. Vol. 58, N 2. P. 203-209.

184. Phylloquinone (vitamin K<sub>1</sub>) content of vegetables / M. Damon, N. Z. Zhang, D. B. Haytowitz, S. L. Booth. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2005. Vol. 18, N 8. P. 751-758.

185. Phytochemical composition of polyphenolic compounds of *Achillea collina* Becker ex Rchb. / I. F. Duyun, O. V. Mazulin, G. P. Smoilovska, G. V. Mazulin. *Development and modernization of medical science and practice: experience of Poland and prospects of Ukraine: Collective monograph*. Vol. 2. Lublin: Izdevnieciba "Baltija Publishing", 2017. P. 69-85.

186. Polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities for two romanian subspecies of *Achillea distans* Waldst. et Kit. ex Willd. / D. Benedec, V. Laurian, O. Iliora et al. *Molecules*. 2013. Vol. 18, N 8. P. 8725-8739.

187. Quantitative HPLC determination of phenolic compounds in yarrow / R. Benetis, J. Radusiene, V. Jakstas et al. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2008. Vol. 42, N 3. P. 51-54.

188. Raal A., Orav A., Arak E. Essential oil content and composition in commercial *Achillea millefolium* L. herbs from different counties. *Journal of essential oil bearing plants*. 2012. Vol. 15, N 1. P. 22-31.

189. Radušienė J., Gudaitytė . Distribution of proazulenes and productivity in *Achillea millefolium* L. spontaneous populations. *Rev. Bras. Pl. Med. Botucatu*. – 2006. Vol. 8. P. 155-158.

190. Radusiene J., Gudaitytė O., Benetis R. Assessment of *Achillea cartilaginea* introduced from wild to field collection. *Acta Horticulture (ISHS)*. 2011. Vol. 925, N 10. P. 83-88.

191. Raj Kapoor B., Burkan Z. E., Kumar R. S. Oxidants and human diseases : role of antioxidant medicinal plants - a review. *Pharmacology*. 2010. Vol. 85, N 1. P. 1117-1131.
192. Reich E., Schibli A. High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants. Stuttgart : Thieme, 2007. 344 s.
193. Renger B., Vegh Z., Ferenczi-Fodor K. Validation of thin layer and high performance thin layer chromatographic methods. *Journal of chromatography. A*. 2011. Vol. 1218, N 19. P. 2712–2721.
194. Review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids / H. Sandhar, B. Kumar, S. Prasher et al. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 2011. Vol. 1, N 1. P. 25-41.
195. Rustian A., Faridchehr A., Ariaee M. Constituents and biological activities of Iranian *Achillea* species. *European Journal of pharmaceutical and*
196. Safety and antiulcer efficacy studies of *Achillea millefolium* L. after chronic treatment in Wistar rats / A. M. Cavalcanti, C. H. Baggio, C. S. Freitas et al. *J. Ethnopharmacol*. 2006. Vol. 107, N 2. P. 277-284.
197. Santana-Galvez J., Cisneros-Zellaos L., Jacobo-Velazquez D. A. Chlorogenic acid: recent advances on its dual role as a food additive and a nutraceutical against metabolic syndrome. *Molecules*. 2017. Vol. 22, N 3. P. 358-378.
198. Separation of sesquiterpenes from yarrow (*Achillea millefolium* L. s. l.) by LC – MS on non – porous columns / G. Montsko, B. Boros, A. Takatsy et al. *Chromatographia*. 2008. Vol. 67, N 5-6. P. 467-470.
199. Sharafzadeh S. Major constituents of the volatile oils of genus *Achillea* from Iran, concise review of researches. *Scientia Agriculturae*. 2013. Vol. 2, N 1. P. 1-2.
200. Sharma S. K., Singh I., Singh S. A review on medicinal plants having antioxidant potential. *Indian Journal in Pharmacy and Biotechnology*. 2013. Vol. 1, N 3. P. 404-409.

201. Sherma J. High performance liquid chromatography in phytochemical analysis. N. Y. : CRC Press, 2010. 975 p.
202. Siyahlou S., Barzin G., Entezari M. Review and study of *Achillea millefolium* essential oil compounds in various stages of development. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*. 2016. Vol. 10, N 8. P. 1112-1115.
203. Stalikas C. D. Extraction, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*. 2007. Vol. 30, N 18. P. 3268-3295.
204. Steinmann D., Ganzera M. Recent advances on HPLC/MS in medicinal plant analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2011. Vol. 55, N 4. P. 744-757.
205. The essential oil composition of *Achillea millefolium* L. cultivated under tropical condition in India / M. M. Nadim, A. A. Malik, J. Achmad et al. *World Journal of Agricultural Sciences*. 2011. Vol. 5, N 7. P. 561-565.
206. The importance of *Achillea* species and phenolic compounds in *Achillea schischkinii* Sosn. / E. Khazneh, G. Saltan, M. Tekin et al. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*. 2010. Vol. 39, N 1. P. 43-50.
207. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteini* Afan. (Asteraceae) / A. Sökmen, M. Sökmen, D. Daferera et al. *Phytotherapy Research*. 2004. Vol. 18, N 6. P. 451-456.
208. The protective ability of Mediterranean dietary plants against the oxidative damage : The role of radical oxygen species in inflammation and the : polyphenol, flavanoid and sterol contents / F. Conforti, S. Sosa, M. Marelli et al. *Food Chemistry*. 2009. Vol. 112, N 3. P. 587-594.
209. Tuberoso C., Kowalczyk A. Chemical composition of the essential oils of *Achillea millefolium* L. isolated by different distillation methods. *Journal of Essential Oil Research*. 2009. Vol. 21, N 2. P. 108-111.
210. Tzakou O., Loukis A. Chemical composition of the essential oil of *Achillea umbellate* growing in Greece. *Natural Product Research*. 2009. Vol. 23, N. 3. P. 264-270.



211. Ultra high pressure liquid chromatography for crude plant extract profiling. P. Eugster et al. *Journal of AOAC International*. 2011. Vol. 94, N 1. P. 51-70.

212. Umar A. S., Iqbal M. Nitrate accumulation in plants, factors affecting the process and human health implications. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 2007. Vol. 27, N 1. P. 45-57.

213. Volatile Constituents of *Achillea ligustica* All. by HS – SPME / GC / GC – MS. Comparison with essential oils obtained by Hydrodistillation from Corsica and Sardinia /A. Muselli, M. Pau, J. M. Desjobert et al. *Chromatographia*. 2009. Vol. 69, N 5-6. P. 575-585.

214. Waksmundzka-Hajnos. High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis. J. Sherma. N.Y.: CRC Press, 2010. 995 p.

215. Yarrow (*Achillea millefolium* L. s. l.): pharmaceutical quality of commercial samples /B. Benedek, K. Rothwangi–Wiltschnigg, E. Rozema et al. *Pharmazie*. 2008. Vol. 63, N 1. P. 23-26.

216. Yarrow (*Achillea millefolium* Linn.) a herbal medicinal plant with broad therapeutic use – a review / T. Lakshmi, R. V. Geetha, Anitha Roy, S. Arawind kumar. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2011. Vol. 9, N 2. P. 136-141.

217. Yazdanpanah E., Moradshahi A., Rowshan V. The effects of growth habit of medicinal plant yarrow (*Achillea Wilhelmsii* C. Koch.) on the essential oil constituents. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*. 2014. Vol. 4, N 4. P. 36-42.

218. Zhiani R., Moradi M. Chemical composition of essential oil of two *Achillea* cultivars in Khorasan, Iran. 2014. Vol. 4, N 6. P. 344-348.

219. The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-85676>

## ДОДАТКИ

**Додаток А**  
**СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА**

1. Phytochemical composition of polyphenolic compounds of *Achillea collina* Becker ex Rechb. / I. F. Duyun, O. V. Mazulin, G. P. Smoilovska, G. V. Mazulin. *Development and modernization of medical science and practice: experience of Poland and prospects of Ukraine: Collective monograph*. Vol. 2. Lublin: Izdevnieciba "Baltija Publishing", 2017. P. 69-85. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, самостійно виконала експериментальну частину дослідження).

2. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В., Лукіна І. А. Накопичення вітаміну К<sub>1</sub> у траві перспективних видів роду *Achillea* L. *Молодий вчений*. 2018. № 5. С. 45-48. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, виконала експериментальне дослідження, узагальнила результати).

3. Дослідження накопичення поліфенольних сполук у траві деревію горбкового (*Achillea collina* J. Becker ex Reichenb.) / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська, Т. В. Опрошанська, Г. В. Мазулін. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 1. С. 76-80. (Особистий внесок – брала участь у плануванні та виконанні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті).

4. Изучение эффективности липофильного экстракта травы *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb. на модели термического ожога у крыс / И. Ф. Дуюн, А. В. Мазулин, И. Ф. Беленичев, А. В. Абрамов. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2019. Т. 13, № 6. С. 399-406. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, виконала експериментальне дослідження, брала участь в узагальненні результатів, написанні статті).

5. Экспериментальное изучение гепатопротекторной и антиоксидантной активности экстракта травы *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka / И. Ф. Дуюн, А. В. Мазулин, И. Ф. Беленичев, А. В. Абрамов. *Фармакологія и лекарственная токсикологія*. 2019. Т. 13, № 1. С. 51-57.

(Особистий внесок – виконана частина експерименту, узагальненні результатів та написанні статті).

6. Хімічний склад поліфенольних сполук у траві деревію подового (*Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka) / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, Т. В. Опрошанська, Г. В. Мазулін. *Фармацевтичний журнал*. 2020. Т. 75, № 1. С. 80-87. (Особистий внесок – проведено літературний пошук за темою публікації, виконала експериментальне дослідження, брала участь в узагальненні результатів, написанні статті).

7. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В., Опрошанська Т. В. Дослідження анатомічної будови надземних органів *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka. *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 1. С. 72-77. (Особистий внесок – брала участь у постановці завдання, плануванні та виконанні експерименту, обробці та узагальненні результатів, написанні статті).

8. Expression of mRNA iNOS and mRNA eNOS in the liver of rats with chronic alcohol intoxication and with the introduction of *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka herb extract / I. Belenichev, I. Duyun, O. Kamyshnyi, O. Mazulin, E. Suprun, L. Maquyeva. *Biological Markers in Fundamental and Clinical Medicine*. 2020. Vol. 4 N 1. P 6-10. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, самостійно виконала експериментальну частину дослідження).

9. Патент на корисну модель № 139576 Україна, МПК (2020.01). А61К 36/00, А61Р 1/16. Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, І. Ф. Беленічев, А. В. Абрамов. № u 201906923 ; заявл. 20.06.19 ; опубл. 10.01.20, Бюл. № 24. (Особистий внесок – брала участь у патентному пошуку, проведенні експериментальних досліджень та оформленні патенту).

10. Дуюн І. Ф. Фітохімічне дослідження *Achillea collina* J. Becker ex Reichenh. *Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук* : матеріали ІV регіон. наук.-практ. конф.

студентів, аспірантів та молодих учених з всеукр. участю, 27 листоп. 2015 р. Запоріжжя, 2015. С. 17-19. (*Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез*).

11. Дуюн И. Ф., Смойловская Г. П., Мазулин Г. В. Фитохимическое изучение состава эфирного масла травы тысячелистника холмового. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации* : сб. тезисов докладов 69 науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием, 15-17 апр. 2015 г. Минск, 2015. С. 1668. (*Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез*).

12. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В., Мазулін Г. В. Фармакогностичне вивчення трави деревію пагорбового флори України. *Медична наука та практика : Актуальні питання взаємодії*: зб. матеріалів міжнар. наук.-практичної конференції, 4-5 вер. 2015 р. Київ, 2015. С. 86-89. (*Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез*).

13. Дуюн І. Ф., Мазулін Г. В., Смойловська Г. П. Види роду *Achillea* L. перспективне джерело ранозагоючих та кровоспинних лікарських засобів. *Сучасні аспекти медицини і фармації – 2016*: зб. тез Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, 12-13 трав. 2016 р. Запоріжжя, 2016. С. 216-217 (*Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез*).

14. Dujun I. F., Mazulin O. V., Mazulin G. V. Study of polyphenolic compounds of *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka herbs. *Relevant tissues of modern medicine: International research and practice conference*. Lublin, Republic of Poland, Oct. 20-21, 2017. Lublin, 2017. P. 126-129 (*Особистий внесок – брала участь у заготівлі сировини, отриманні екстракту, проведенні*

експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті).

15. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В. Дослідження ефірноолійних видів роду *Achillea* L. флори України. *Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine International research and practice conference*, Apr. 28-29. Lublin, 2017. P. 151-153 (Особистий внесок – брала участь у отриманні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез).

16. Дуюн І. Ф., Лукина И. А. Полифенольный состав соцветий *Achillea collina* (Becker ex Rchb.). *Инновации в медицине и фармации - 2017. Фармацевтические науки* : дистанц. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, окт. 2017 г. Минск, 2017. С. 636-640 (Особистий внесок – брала участь у проведенні літературного пошуку, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті).

17. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В. Фармакогностичне дослідження трави *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka під час вегетації. *Advances of Science, Proceeding of articles the international scientific conference*, 6 Apr. 2018. Karlovy Vary; Kyiv, 2018. P. 223-233 (Особистий внесок – брала участь у проведенні літературного пошуку, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті).

18. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В., Смойловська Г. П. Дослідження накопичення похідних азулену в лікарських рослинній сировині перспективних видів роду *Achillea* L. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження д-ра фар мац. наук, проф. О. М. Гайдукевича, 12-13 квіт. 2018 р., м. Харків. Харків НФаУ, 2018. С. 266-267 (Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез).

19. Дуюн І. Ф. Фітохімічне дослідження ефірної олії деревію пагорбового. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів*

створення лікарських препаратів : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27-28 верес. 2018 р. Тернопіль : ТДМУ, 2018. С. 21-22 (*Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез*).

20. Дуюн І. Ф. Фитохимическое изучение биологически активных соединений *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka. *Фундаментальная наука в современной медицине 2018* : сб. материалов сателлитной дистанц. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых. Минск : БГМУ, 2018. С. 114-118 (*Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез*).

21. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В. Фармакогностичне дослідження трави *Achillea micranthoides* Klok. et Krytzka під час вегетації. *Advances of Science, Proceeding of articles the international scientific conference*, 6 Apr. 2018. Karlovy Vary; Kyiv, 2018. P. 223-233 (*Особистий внесок – брала участь у проведенні літературного пошуку, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті*).

22. Duyun I. F. Phytochemical research contents of essential oil with the accumulation of azulenein the herbsspecies of *Achillea* L. Topicalissues of new drugs development : *Abstracts of XXV International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Student-Kharkiv*, Apr. 18-20, 2018. Kharkiv : NUPh, 2018. P.-35-37 (*Особистий внесок – брала участь у заготівлі сировини, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез*).

23. Дуюн І. Ф., Мазулін О. В. Поліфенольні сполуки трави деревію подового. *Сучасні теоретико-практичні аспекти реалізації впровадження. «Стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» у первинну ланку охорони здоров'я* : матеріали наук. симпозіуму з міжнар. участю, 22 листоп. 2019 р. Київ, 2019. С. 52-53 (*Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез*).

24. Оптимальні терміни заготівлі трави *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb. (деревію горбкового) / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, І. А. Лукіна, Г. П. Смойловська. Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я. Київ : Укрмедпатентінформ, 2018. Вип. 16 з проблеми «Фармація», № 151-2018. 4 с. (*Особистий внесок – брала участь у підготовці сировини, проведенні досліджень та оформленні інформаційного листа*).

25. Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* J. Becker ex Reichenb. (деревію горбкового) / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, І. А. Лукіна., Г. П. Смойловська Г. П. Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я. Київ : Укрмедпатентінформ, 2018. Вип. 17 з проблеми «Фармація», № 152-2018. 4 с. (*Особистий внесок – брала участь у підготовці сировини, проведенні досліджень та оформленні інформаційного листа*)



## Продовж. дод. А

### Апробація результатів дисертації

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

1. IV регіон. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих учених з всеукр. участю «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук» (Запоріжжя 27 листопада 2015 р., форма участі – публікація тез);

2. Науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием, . «Актуальные проблемы современной медицины и фармации» (Минск 15-17 апр. 2015 г., форма участі – публікація тез );

3. Науково-практична конференція «Вплив науково-технічного прогресу на розвиток медичної науки та практики: реалії сьогодення» ( Київ 10-11 липня 2015 р., форма участі – публікація тез);

4. Міжнародна науково-практична конференція «Медична наука та практика : Актуальні питання взаємодії»: (Київ, 4-5 вересня 2015 р., форма участі – публікація тез);

5. Всеукр. науково-практична конференція «Сучасні аспекти медицини і фармації» (Запоріжжя 12-13 травня 2016 р., форма участі – публікація тез);

6. International research and practice conference *Innovative technology in medicine: experience of Poland and Ukraine*( Lublin, Apr. 28-29. 2017. форма участі – публікація тез ;)

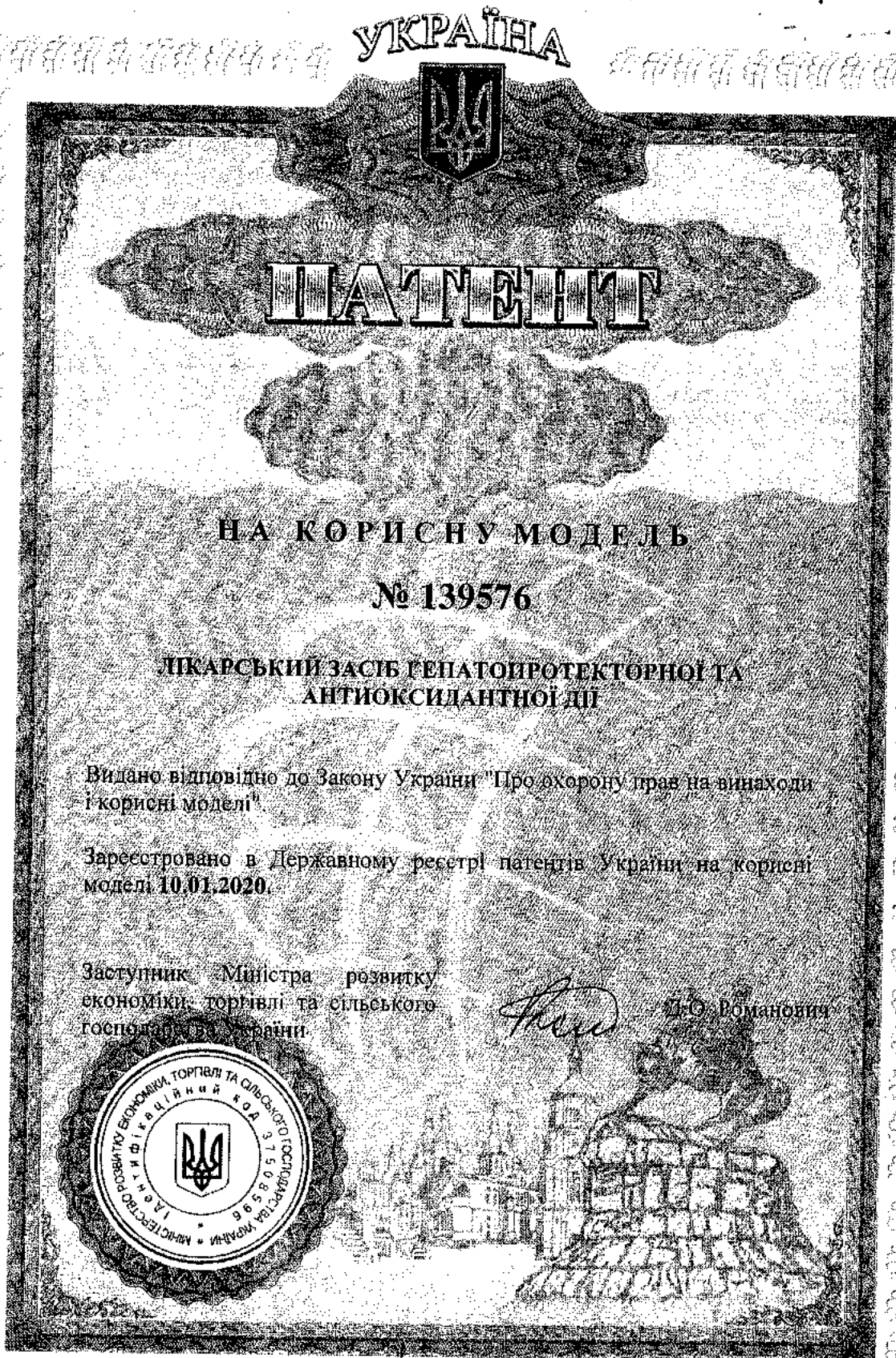
7. Всеукр. науково-практична конференція з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження д-ра фар мац. наук, проф. О. М. Гайдукевича, «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» ( Харків, НФаУ, 12-13 квітня 2018 р., форма участі – публікація тез);

8. VII Науково-практична конференція «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів»(Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р., форма участі – публікація тез);

9. Сателлитная дистанционная научная-практическая конференция студентов и молодых ученых. «Фундаментальная наука в современной медицине» (Минск : БГМУ, 2018 г., форма участі – публікація тез);

10. Науковий симпозіум з міжнародною участю «Стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» у первинну ланку охорони здоров'я «(Київ, 22 листопада 2019 р., форма участі – публікація тез).

## Додаток Б



## Додаток В

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

**ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ**

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СФЕРІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

№ 151 - 2018

Випуск 16 з проблеми  
«Фармація»  
Підстава: рішення ЕПК «Фармація»  
Протокол № 103 від 25.10.2017 р.

НАПРЯМ ВПРОВАДЖЕННЯ:  
ФАРМАЦІЯ

ОПТИМАЛЬНІ ТЕРМІНИ ЗАГОТІВЛІ ТРАВИ  
ACHILLEA COLLINA J. BECKER EX REICHENB  
(ДЕРЕВІЮ ГОРБКОВОГО)

УСТАНОВИ-РОЗРОБНИКИ:  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ  
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

УКРМЕДПАТЕНТИНФОРМ  
МОЗ УКРАЇНИ

А В Т О Р И:

ДУЮН І. Ф.,  
д. фарм. н., проф. МАЗУЛІН О. В.,  
к. фарм. н. ЛУКІНА І. А.,  
к. фарм. н. СМОЙЛОВСЬКА Г. П.

м. Київ

Продовж.дод. В

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

# ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СФЕРІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

№ 152 - 2018

Випуск 17 з проблеми  
«Фармація»  
Підстава: рішення ЕПК «Фармація»  
Протокол № 103 від 25.10.2017 р.

НАПРЯМ ВПРОВАДЖЕННЯ:  
ФАРМАЦІЯ

ПРИСКОРЕНІ УМОВИ СУШІННЯ ТРАВИ  
ACHILLEA COLLINA J. BECKER EX REICHENB  
(ДЕРЕВІЮ ГОРБКОВОГО)

УСТАНОВИ-РОЗРОБНИКИ:

ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ  
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

УКРМЕДПАТЕНТИНФОРМ  
МОЗ УКРАЇНИ

А В Т О Р И:

ДУЮН І. Ф.,  
д. фарм. н., проф. МАЗУЛІН О. В.,  
к. фарм. н. ЛУКІНА І. А.,  
к. фарм. н. СМОЙЛОВСЬКА Г. П.

м. Київ

## Додаток Г

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Професор з наукової роботи Запорізького  
державного медичного університету  
д. мед. н. професор В.О. Туманський

\_\_\_\_\_ 2021р.

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ  
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ (ПРОЕКТ)

ДЕРЕВІЮ ПАГОРБОВОГО ТРАВА  
ACHILLEA COLLINA HERBA

Термін введення встановлено з

« 06 » августа 2021

« 06 » августа 2024

## Продовж. дод. Г

### ЗБЕРІГАННЯ

Відповідно до ДГСТ 6077-80 та ДГСТ 17768-90. В сухому, захищеному від світла та вологи місці при температурі не вище 25°C.

### Термін придатності

2 роки.

Розробники:

Асистент каф. клінічної фармації,  
фармакотерапії, фармакогнозії та  
фармацевтичної хімії ЗДМУ



Дуюн І.Ф.

Проф. каф. клінічної фармації,  
фармакотерапії, фармакогнозії та  
фармацевтичної хімії ЗДМУ,  
докт. фарм. н., проф.



Мазулін О.В.

## Продовж. дод. Г

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи Запорізького  
державного медичного університету  
Д-мед.н. професор В.О. Туманський

2021р.

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ  
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ (ПРОЕКТ)

ДЕРЕВІЮ ПАГОРБОВОГО ТРАВИ ЕКСТРАКТ ЛІПОФІЛЬНИЙ

ACHILLEA COLLINA J. BECKER EX REICHENB.  
HERBAE EXTRACTUM LIPOPHILICUM

Термін введення встановлено з

«06» квітня 2021

«06» квітня 2024



## Продовж. дод. Г

друкувати на флаконі. Групова й транспортна тара відповідно до ДГСТ 17768-90.

### ТРАНСПОРТУВАННЯ

Згідно ДГСТ 17768-90.

### МАРКУВАННЯ

На етикетці вказують країну- виробник, назву підприємства-виробника, назву продукції латинською та українською мовами, співвідношення сировина-екстрагент, спосіб застосування, термін придатності, умови зберігання, номер серії, реєстраційний номер.

### ЗБЕРІГАННЯ

В сухому, захищеному від світла місці за температури не вище 25°C.

### ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

3 роки.

Розробники:

Асистент каф. клінічної фармації, фармакотерапії,  
фармакогнозії та фармацевтичної хімії ЗДМУ

 Дююн І.Ф.

Проф. каф. клінічної фармації, фармакотерапії,  
фармакогнозії та фармацевтичної хімії ЗДМУ,  
докт. фарм. н., проф.

 Мазулін О.В.

## Додаток Д



В.о. проректора  
з навчально-педагогічної роботи НФаУ,  
д.фарм.н., професор  
Владимирова І.М.

« 30 » 03 2021р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Патент на корисну модель 139576, МПК А61К 36/00 (2006.01). «Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії».

( назва пропозиції для впровадження )

1. Запорізький державний медичний університет; кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26; автори: д. фарм.н., проф. Мазулін О.В., д. біол. н., проф. Беленічев І.Ф., д. мед. н., проф. Абрамов А. В., Дуюн І.Ф.

( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )

2. Джерело інформації. Пат. 139576, МПК А61К 36/00 (2006.01). Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії / Дуюн І.Ф., Мазулін О.В., Беленічев І.Ф., Абрамов А.В.; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № 2019 06923; заявл. 20.06.2019; опубл. 10.01.2020, Бюл. №1.

( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № патенту тощо )

3. Рекомендовано впровадити до використання у науково-дослідна робота на кафедрі фармакогнозії фармацевтичного факультету Харківського національного фармацевтичного університету

( назва лікувально-профілактичної установи )

4. Строки впровадження IV семестр 2021 р.
5. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Патент на корисну модель може використовуватися в науково-дослідній роботі з отримання нових лікарських засобів з гепатопротекторної дії з видів роду <i>Achillea L.</i>		

6. *Зауваження, пропозиції.* Поширити дослідження нових лікарських засобів з гепатопротекторної дії видів роду *Achillea L.*, включити матеріал до проекти МКЯ на траву дерева пагорбового та дерева подового.

« 30 » 03 2021 р.

Відповідальний за впровадження:  
Професор кафедри ботаніки,  
доктор фарм. наук  
Сербін А.Г.

## Продовж.дод Д

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. Інформаційний лист МОЗУ Український центр наукової медінформації та патентно ліцензійної роботи №152-2018 «Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (деревію горбкового)»

( назва пропозиції для впровадження )

2. Запорізький державний медичний університет: кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26 автори: фарм.н., проф. Мазулін О.В., к. фарм. н. Смойловська Г.П., к. фарм. н. Лукіна І.А., Дуюн І.Ф.

( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )

3. Джерело інформації. Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (деревію горбкового) / О.В. Мазулін, І.Ф. Дуюн, І.А. Лукіна, Г.П. Смойловська // Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я. – К. : Укрмедпатентінформ, 2018. – №152-2018. – Вип. 33 з пробл. «Фармація». – 4 с.

( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № патенту тощо )

4. Рекомендовано впровадити до використання у науково-дослідну роботу та навчальний процес на кафедрі фармакогнозії фармацевтичного факультету Харківського національного фармацевтичного університету

( назва лікувально-профілактичної установи )

5. Строки впровадження IV семестр 2021 р.

6. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Інформаційний лист використовується у науково-дослідної роботи та навчальному процесі для раціонального використання рослинної сировини.		

7. Зауваження, пропозиції. Розроблений інформаційний лист може використовуватися у навчальному процесі та лекційному курсі провізорів для підготовки та удосконалення знань з заготівлі ЛРС фармацевтичного факультету Харківського національного фармацевтичного університету на кафедрі фармакогнозії.

«30» 03 2021 р.

Відповідальний за впровадження:  
 Професор кафедри ботаніки,  
 доктор фарм. наук

\_\_\_\_\_ Сербін А.Г.



## Продовж.дод Д



ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. проректора

з навчально-педагогічної роботи НФаУ,

д. фарм.н., професор

Владимирина І.М.

« 16 » 03 2021р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Патент на корисну модель 139576, МПК А61К 36/00 (2006.01). «Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії».

( назва пропозиції для впровадження )

1. Запорізький державний медичний університет; кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26; автори: д. фарм.н., проф. Мазулін О.В., д. біол. н., проф. Беленічев І.Ф., д. мед. н., проф. Абрамов А. В., Дуюн І.Ф.

( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )

2. Джерело інформації. Пат. 139576, МПК А61К 36/00 (2006.01). Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії / Дуюн І.Ф., Мазулін О.В., Беленічев І.Ф., Абрамов А.В.; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № 2019 06923; заявл. 20.06.2019 ; опубл. 10.01.2020, Бюл. № 1.

( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № патенту тощо )

3. Рекомендовано впровадити до використання у науково-дослідна робота на кафедрі фармакогнозії фармацевтичного факультету Харківського національного фармацевтичного університету

( назва лікувально-профілактичної установи )

4. Строки впровадження IV семестр 2021 р.
5. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Патент на корисну модель може використовуватися в науково-дослідній роботі з отримання нових лікарських засобів з гепатопротекторної дії з видів роду <i>Achillea L.</i>		

6. *Зауваження, пропозиції.* Поширити дослідження нових лікарських засобів з гепатопротекторної дії видів роду *Achillea L.*, включити матеріал до проекти МКЯ на траву дерева пагорбового та дерева подового.

« 25 » 03 2021 р.

Відповідальний за впровадження:

Професор каф. якості, стандартизації,

та сертифікації ліків ІПКСФ

доктор фарм. наук

Гарна С.В.

## Продовж.дод Д



ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. проректора  
з навчально-педагогічної роботи НФаУ,  
д.фарм.н, професор

Владимирова І.М.

«26» 03 2021 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Інформаційний лист МОЗУ Український центр наукової медінформації та патентно ліцензійної роботи №152-2018 «Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (дерев'я горбкового)»

( назва пропозиції для впровадження )

2. Запорізький державний медичний університет: кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26 автори: фарм.н., проф. Мазулін О.В., к. фарм. н. Смойловська Г.П., к. фарм. н. Лукіна І.А., Дуюн І.Ф.

( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )<sup>1</sup>

3. Джерело інформації. Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (дерев'я горбкового) / О.В. Мазулін, І.Ф. Дуюн, І.А. Лукіна, Г.П. Смойловська // Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я. – К. : Укрмедпатентінформ, 2018. – №152-2018. – Вип. 33 з пробл. «Фармація». – 4 с.

( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № патенту тощо )

4. Рекомендовано впровадити до використання у науково-дослідну роботу та навчальний процес на кафедрі фармакогнозії фармацевтичного факультету Харківського національного фармацевтичного університету

( назва лікувально-профілактичної установи )

5. Строки впровадження IV семестр 2021 р.  
6. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Інформаційний лист використовується у науково-дослідній роботі та навчальному процесі для раціонального використання рослинної сировини.		

7. Зауваження, пропозиції. Розроблений інформаційний лист може використовуватися у навчальному процесі та лекційному курсі провізорів для підготовки та удосконалення знань з заготівлі ЛРС фармацевтичного факультету Харківського національного фармацевтичного університету на кафедрі фармакогнозії.

«25» 03 2021 р.

Відповідальний за впровадження :  
Професор каф. якості, стандартизації  
та сертифікації ліків ПККСФ,  
доктор фарм. наук  
Гарна С.В.

## Продовж.дод Д

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**  
 Проректор з науково-педагогічної роботи  
 та післядипломної освіти  
 ПВНЗ «Київський медичний університет»  
 Д.мед.н., професор \_\_\_\_\_ Доан С.І.  
 «23» 04 2021р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

Патент на корисну модель 139576, МПК А61К 36/00 (2006.01). «Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії».

( назва пропозиції для впровадження )

1. Запорізький державний медичний університет; кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26; автори: д. фарм.н., проф. Мазулін О.В., д. біол. н., проф. Беленічев І. Ф., д. мед. н., проф. Абрамов А. В., Дуюн І.Ф.

( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )

2. Джерело інформації. Пат. 139576, МПК А61К 36/00 (2006.01). Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії / Дуюн І.Ф., Мазулін О.В., Беленічев І.Ф., Абрамов А.В.; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № 2019 06923; заявл. 20.06.2019; опубл. 10.01.2020, Бюл. № 1.

( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № патенту тощо )

3. Рекомендовано впровадити до використання у науково-дослідну роботу кафедри хімії ПВНЗ «Київський медичний університет»

( назва лікувально-профілактичної установи )

4. Строки впровадження III-IV семестр 2021 р.
5. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Патент на корисну модель впроваджено у науково-дослідну роботу для одержання нових лікарських засобів з гепатопротекторної дією з видів роду <i>Achillea L.</i>		

6. Зауваження, пропозиції. Поширити дослідження нових лікарських засобів з гепатопротекторної дії видів роду *Achillea L.*, включити матеріал до проекти МКЯ на траву деревію пагорбового та деревію подового.

«21» 04 21 р.

Відповідальний за впровадження :  
 Зав. каф. хімії ПВНЗ  
 д. фарм. н. \_\_\_\_\_ Гудзенко А.В.



## Продовж.дод Д

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
та післядипломної освіти  
ПВНЗ «Київський медичний університет»  
д.мед.н., професор Доан С.І.  
« 23 » 2021 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Інформаційний лист МОЗУ Український центр наукової медінформації та патентно-ліцензійної роботи №152-2018 «Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (деревію горбкового)»

( назва пропозиції для впровадження )

2. Запорізький державний медичний університет: кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26 автори: фарм.н., проф. Мазулін О.В., к. фарм. н. Смойловська Г.П., к. фарм. н. Лукіна І.А., Дуюн І.Ф.

( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )

3. Джерело інформації. Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (деревію горбкового) / О.В. Мазулін, І.Ф. Дуюн, І.А. Лукіна, Г.П. Смойловська // Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я. – К. : Укрмедпатентінформ, 2018. – №152-2018. – Вип. 33 з пробл. «Фармація». – 4 с.

( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № патенту тощо )

4. Рекомендовано впровадити у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедри хімії ПВНЗ «Київський медичний університет»

( назва лікувально-профілактичної установи )

5. Строки впровадження III-IV семестр 2021 р.

6. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Інформаційний лист використовується у науково-дослідній роботі та навчальному процесі для раціоналізації одержання лікарської рослинної сировини.		

7. Зауваження, пропозиції. Запропонований інформаційний лист доцільно рекомендувати відповідним промисловим фармацевтичним підприємствам для сушіння ЛРС, що містить ефірну олію.

« 27 » 04 21 р.

Відповідальний за впровадження :  
Зав. каф. хімії ПВНЗ  
д. фарм. н., Гудзенко А.В.

## Продовж.дод Д



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Інформаційний лист МОЗУ Український центр наукової медінформації та патентно ліцензійної роботи №151-2018 «Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (деревію горбкового).»  
 ( назва пропозиції для впровадження )

2. Запорізький державний медичний університет; кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26; автори: фарм.н., проф. Мазулін О.В., к. фарм. н. Смойловська Г.П., к. фарм. н. Лукіна І.А., Дуюн І.Ф.

( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )<sup>1</sup>

3. Джерело інформації. Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (деревію горбкового). / О.В. Мазулін, І.Ф. Дуюн, І.А. Лукіна, Г.П. Смойловська // Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я. – К. : Укрмедпатентінформ, 2018. – №151-2018. – Вип. 33 з пробл. «Фармація». – 4 с.

( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № патенту тощо )

4. Рекомендовано впровадити до використання у науково-дослідній роботі для підготовки студентів на кафедрі фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету

( назва лікувально-профілактичної установи )

5. Строки впровадження<sup>2</sup> з вересня 2019 р. по червень 2020 р.

6. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації

Показники <sup>3</sup>	За даними	
	Розробників <sup>1</sup>	Установи, яка проводила впровадження <sup>2</sup>
Інформаційний лист використовується у науково-дослідній роботі кафедри для підвищення якості аналізу рослинної сировини з трави <i>Achillea collina</i> Becker ex Reichenb (деревію горбкового)		

7. Зуваження, пропозиції. Розроблений інформаційний лист може використовуватися у науково-дослідній темі та удосконалення знань з заготівлі ЛРС на кафедрі фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету

«20» 10 2020 р.

Відповідальний за впровадження :  
 Професор кафедри фармакогнозії,  
 фармакології та ботаніки  
 доктор біол. наук, проф.

Тржецинский С.Д.



## Продовж.дод Д



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи НФаУ,  
д.фарм.н., професор

Владимирова І.М.

2021 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Патент на корисну модель 139576, МПК А61К 36/00 (2006.01). «Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії».

( назва пропозиції для впровадження )

1. Запорізький державний медичний університет; кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26; автори: д. фарм.н., проф. Мазулін О.В., д. біол. н., проф. Беленічев І.Ф., д. мед. н., проф. Абрамов А. В., Дуюн І.Ф.

( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )

2. Джерело інформації. Пат. 139576, МПК А61К 36/00 (2006.01). Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії / Дуюн І.Ф., Мазулін О.В., Беленічев І.Ф., Абрамов А.В.; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № 2019 06923; заявл. 20.06.2019 ; опубл. 10.01.2020, Бюл. № 1.

( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні данні статті, № патенту тощо )

3. Рекомендовано впровадити до використання у навчальному процесі для підготовки провізорів на кафедрі фармакогнозії фармацевтичного факультету Харківського національного фармацевтичного університету

( назва лікувально-профілактичної установи )

4. Строки впровадження з січня 2021 р. по червень 2021 р.
5. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Патент на корисну модель може використовуватися в науковому процесі для отримання нових лікарських засобів з гепатопротекторної дії з видів роду <i>Achillea L.</i>		

6. Зауваження, пропозиції. Розроблений патент на корисну модель може використовуватися у навчальному процесі для підготовки провізорів та удосконалення знань з метою отримання нових лікарських засобів з гепатопротекторної дії видів роду *Achillea L.* фармацевтичного факультету Харківського національного фармацевтичного університету на кафедрі фармакогнозії.

«16» 03 2021 р.

Відповідальний за впровадження:

Професор кафедри фармакогнозії,  
доктор фарм. наук, професор

Ковальов В. М.

## Продовж.дод Д



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

професор з наукової роботи,  
 Запорізького державного  
 медичного університету  
 д.м.н., професор

Туманський В.О.

2020 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Інформаційний лист МОЗУ Український центр наукової медінформації та патентно ліцензійної роботи №151-2018 «Оптимальні терміни заготівлі трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (деревію горбкового).»

( назва пропозиції для впровадження )

2. Запорізький державний медичний університет; кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26; автори: фарм.н., проф. Мазулін О.В., к. фарм. н. Смойловська Г.П., к. фарм. н. Лукіна І.А., Дуюн І.Ф.

( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )<sup>1</sup>

3. Джерело інформації. Оптимальні терміни заготівлі трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (деревію горбкового). / О.В. Мазулін, І.Ф. Дуюн, І.А. Лукіна, Г.П. Смойловська // Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я. – К. : Укрмедпатентінформ, 2018. – №151-2018. – Вип. 33 з пробл. «Фармація». – 4 с.

( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № патенту тощо )

4. Рекомендовано впровадити до використання у науково-дослідній роботі для підготовки студентів на кафедрі фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету

( назва лікувально-профілактичної установи )

5. Строки впровадження<sup>2</sup> з вересня 2019 р. по червень 2020 р.

6. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації

Показники <sup>3</sup>	За даними	
	Розробників <sup>1</sup>	Установи, яка проводила впровадження <sup>2</sup>
Інформаційний лист використовується у науково-дослідній роботі кафедри для підвищення якості аналізу рослинної сировини з трави <i>Achillea collina</i> Becker ex Reichenb (деревію горбкового)		

7. *Зауваження, пропозиції.* Розроблений інформаційний лист може використовуватися у науково-дослідній темі та удосконалення знань з заготівлі ЛРС на кафедрі фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету

«20» 10 2020 р.

Відповідальний за впровадження :

Професор кафедри фармакогнозії,  
 фармакології та ботаніки  
 доктор біол. наук, проф.

Тржецинский С.Д.

## Продовж.дод Д

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 проректор з наукової роботи  
 Тернопільського національного медичного  
 університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ  
 України  
 д. біол. н., проф. І. М. Кліш



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Інформаційний лист МОЗУ Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи №152-2018 «Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (деревію горбкового)»
2. Запорізький державний медичний університет: кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26 автори: фарм.н., проф. Мазулін О.В., к. фарм. н. Смойловська Г.П., к. фарм. н. Лукіна І.А., Дуюн І.Ф.
3. Джерело інформації. Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (деревію горбкового) / О.В. Мазулін, І.Ф. Дуюн, І.А. Лукіна, Г.П. Смойловська // Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я. – К. : Укрмедпатентінформ, 2018. – №152-2018. – Вип. 33 з пробл. «Фармація». – 4 с.
4. Рекомендовано впровадити до використання у навчальному процесі для підготовки провізорів на кафедрі фармації факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.
5. Строки впровадження з січня 2021 р. по червень 2021 р.
6. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Інформаційний лист використовується у навчальному процесі провізорів для раціонального використання рослинної сировини.		

7. Зауваження, пропозиції. Розроблений інформаційний лист може використовуватися у навчальному процесі провізорів для підготовки та удосконалення знань провізорів з заготівлі ЛРС на кафедрі фармації факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

« 08 » 04 2021 р.

Відповідальний за впровадження :

Завідувач кафедри фармації,  
 д. біол. наук

 проф. Л. С. Фіра



## Продовж.дод Д



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи НФаУ,  
д.фарм.н., професор

Владимирова І.М.

2021 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Інформаційний лист МОЗУ Український центр наукової медінформації та патентно ліцензійної роботи №152-2018 «Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina*. Becker ex Reichenb (деревію горбкового)»

( назва пропозиції для впровадження )

2. Запорізький державний медичний університет: кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26  
автори: фарм.н., проф. Мазулін О.В., к. фарм. н. Смойловська Г.П., к. фарм. н. Лукіна І.А., Дуюн І.Ф.

(установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )

3. Джерело інформації. Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (деревію горбкового) / О.В. Мазулін, І.Ф. Дуюн, І.А. Лукіна, Г.П. Смойловська // Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я. – К. : Укрмедпатентінформ, 2018. – №152-2018. – Вип. 33 з пробл. «Фармація». – 4 с.

(назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні данні статті, № патенту тощо)

4. Рекомендовано впровадити до використання у навчальному процесі для підготовки провізорів на кафедрі фармакогнозії фармацевтичного факультету Харківського національного фармацевтичного університету

( назва лікувально-профілактичної установи )

5. Строки впровадження з січня 2021 р. по червень 2021 р.

6. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Інформаційний лист використовується у навчальному процесі провізорів для раціонального використання рослинної сировини.		

7. Зауваження, пропозиції. Розроблений інформаційний лист може використовуватися у навчальному процесі провізорів для підготовки та удосконалення знань з заготівлі ЛРС фармацевтичного факультету Харківського національного фармацевтичного університету на кафедрі фармакогнозії.

«16» 03 2021р.

Відповідальний за впровадження:  
професор кафедри фармакогнозії,  
доктор фарм. наук, професор

Ковальов В.М.

## Продовж.дод Д



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
ДЗ «Дніпропетровська медична академія»  
к.мед.н, доцент С.В. Захаров  
« 15 » 2021 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Патент на корисну модель 139576, МПК А61К 36/00 (2006.01). «Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії».

( назва пропозиції для впровадження )

1. Запорізький державний медичний університет; кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26; автори: д. фарм.н., проф. Мазулін О.В., д. біол. н., проф. Бєленічев І. Ф., д. мед. н., проф. Абрамов А. В., Дуюн І.Ф.

( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )

2. Джерело інформації. Пат. 139576, МПК А61К 36/00 (2006.01). Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії / Дуюн І.Ф., Мазулін О.В., Бєленічев І.Ф., Абрамов А.В.; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № 2019 06923; заявл. 20.06.2019 ; опубл. 10.01.2020, Бюл. № 1.

( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № патенту тощо )

3. Рекомендовано впровадити для використання у навчальному процесі для підготовки студентів на кафедрі медичної біології, фармакогнозії та ботаніки ДЗ «Дніпропетровська медична академія».

( назва лікувально-профілактичної установи )

4. Строки впровадження з січня 2021 р. по червень 2021 р.
5. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Патент на корисну модель може використовуватися в науковому процесі для отримання нових лікарських засобів з гепатопротекторної дії з видів роду <i>Achillea</i> L.		

Зауваження, пропозиції. Розроблений патент на корисну модель може використовуватися у навчальному процесі кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки ДЗ «Дніпропетровська медична академія» для підготовки студентів та удосконалення знань щодо отримання нових лікарських засобів з гепатопротекторної дії видів роду *Achillea* L.

**Відповідальний за впровадження:**

завідувачка кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки

ДЗ «Дніпропетровська медична академія»

д.біол.н., професор



Шаторна В.Ф.

## Продовж.дод Д



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
ДЗ «Дніпропетровська медична академія»  
к.мед.н, доцент С.В. Захаров  
«15» \_\_\_\_\_ 2021 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Інформаційний лист МОЗУ Український центр наукової медінформації та патентно ліцензійної роботи №152-2018 «Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (деревію горбкового)»

( назва пропозиції для впровадження )

2. Запорізький державний медичний університет: кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26 автори: фарм.н., проф. Мазулін О.В., к. фарм. н. Смойловська Г.П., к. фарм. н. Лукіна І.А., Дуюн І.Ф.

( установа-розробник, її поштовий адрес, ПІБ авторів )

3. Джерело інформації. Прискорені умови сушіння трави *Achillea collina* Becker ex Reichenb (деревію горбкового) / О.В. Мазулін, І.Ф. Дуюн, І.А. Лукіна, Г.П. Смойловська // Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я. – К. : Укрмедпатентінформ, 2018. – №152-2018. – Вип. 33 з пробл. «Фармація». – 4 с.

( назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № патенту тощо )

4. Рекомендовано впровадити до використання у навчальному процесі для підготовки студентів на кафедрі медичної біології, фармакогнозії та ботаніки ДЗ «Дніпропетровська медична академія».

( назва лікувально-профілактичної установи )

5. Строки впровадження з січня 2021 р. по червень 2021 р.

6. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Інформаційний лист використовується у навчальному процесі студентів з питань раціонального використання рослинної сировини.		

7. Зауваження, пропозиції. Розроблений інформаційний лист може використовуватися у навчальному процесі студентів на кафедрі медичної біології, фармакогнозії та ботаніки ДЗ «Дніпропетровська медична академія».

### Відповідальний за впровадження:

завідувачка кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки  
ДЗ «Дніпропетровська медична академія»  
д.біол.н., професор

Шаторна В.Ф.





## Продовж.дод Д

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

проректор з наукової роботи  
Тернопільського національного медичного  
університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ  
України  
д. біол. н., проф. І. М. Кішч



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Патент на корисну модель 139576, МПК А61К 36/00 (2006.01). «Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії».
2. Запорізький державний медичний університет; кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії; м. Запоріжжя, пр. Маяковського 26; автори: д. фарм.н., проф. Мазулін О.В., д. біол. н., проф. Беленівчів І. Ф., д. мед. н., проф. Абрамов А. В., Дуюн І.Ф.
3. Джерело інформації. Пат. 139576, МПК А61К 36/00 (2006.01). Лікарський засіб гепатопротекторної та антиоксидантної дії / Дуюн І.Ф., Мазулін О.В., Беленівчів І.Ф., Абрамов А.В.; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № 2019 06923; заявл. 20.06.2019 ; опубл. 10.01.2020, Біол. № 1.
4. Рекомендовано впровадити до використання у навчальному процесі для підготовки провізорів на кафедрі фармації факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.
5. Строки впровадження з січня 2021 р. по червень 2021 р.
6. Ефективність впровадження згідно з критеріями, викладеними у джерелі інформації

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка проводила впровадження
Патент на корисну модель може використовуватися в науковому процесі для отримання нових лікарських засобів гепатопротекторної дії з ЛРС видів роду <i>Achillea L.</i>		

7. Зауваження, пропозиції. Розроблений патент на корисну модель може використовуватися у навчальному процесі для підготовки провізорів та удосконалення знань з метою отримання нових лікарських засобів з гепатопротекторної дії видів роду *Achillea L.* на кафедрі фармації факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

«28» 04 2021 р.

Відповідальний за впровадження :

Завідувач кафедри фармації,  
д. біол. наук

проф. Л. С. Фіра