

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

КОЛЯДЖИН ТАРАС ІВАНОВИЧ



УДК 615.014.2+582.794.1

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ
АСТРАНЦІЇ ВЕЛИКОЇ (*ASTRANTIA MAJOR L.*)

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Запоріжжя – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармації Івано-Франківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор **Грицик Андрій Романович**, Івано-Франківський національний медичний університет, завідувач кафедри фармації

Офіційні опоненти:

доктор фармацевтичних наук, професор **Одинцова Віра Миколаївна**, Запорізький державний медичний університет, професор кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки;

доктор фармацевтичних наук, професор **Ільїна Тетяна Василівна**, Національний фармацевтичний університет, професор кафедри фармакогнозії.

Захист відбудеться «18» чрудня 2020 року о 12⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 17.600.03 при Запорізькому державному медичному університеті (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26)

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

Автореферат розісланий «14» листопада 2020 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради



С. О. Васюк

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. На сьогоднішній день розвиток медицини і фармації характеризується тенденцією до більш інтенсивного використання лікарських речовин рослинного походження. Гострою є проблема розширення сировинної бази лікарських рослин, які проявляють антимікробну, протизапальну, кровозупинну та ранозагоювальну активність.

Перспективним та цінним джерелом біологічно активних речовин є види роду Астранція родини Селерові (*Apiaceae*). На території України зустрічається лише один вид – астранція велика (*Astrantia major* L.), траву якої використовують в народній медицині як кровозупинний, сечогінний та потогінний засоби, для зняття набряків різного походження, при жовтяниці у новонароджених, ревматичних болях у суглобах. БАР астранції великої представлені фенолкарбоновими та гідроксикоричними кислотами, полісахаридами, флавоноїдами, сапонінами, терпеноїдами, дубильними речовинами, органічними кислотами та ефірною олією. Лікарські препарати на основі трави астранції великої на вітчизняному фармацевтичному ринку відсутні.

Наявність у рослині значної кількості різних груп біологічно активних речовин, які проявляють різноманітну фармакологічну активність, не вивчений склад окремих груп діючих речовин і відсутність методик їх аналізу, вказують на перспективність фармакогностичного дослідження астранції великої з метою встановлення можливості створення лікарських засобів із протизапальною, кровозупинною та ранозагоювальною активністю.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри фармації ІФНМУ «Дослідження деяких дикорослих і культивованих лікарських рослин західного регіону України та розробка лікарських засобів на їх основі» (номер державної реєстрації 0110U006205) та «Дослідження культивованих і дикорослих лікарських рослин Західного регіону України та розробка технологій їх застосування з лікувальною метою» (номер державної реєстрації 0118U003809).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було фармакогностичне дослідження астранції великої, розробка методик стандартизації трави астранції великої, проведення фармакологічного скринінгу для обґрунтування можливості використання у медицині.

Для досягнення поставленої мети вирішувались такі завдання:

- проведення аналізу даних літератури щодо ботанічної характеристики, розповсюдження, хімічного складу і застосування астранції великої у медицині;
- дослідження хімічного складу надземних органів астранції великої;
- виділення комплексів БАР, які містяться у надземних органах астранції великої, та ідентифікація компонентів;
- розробка та обґрунтування технологічних параметрів одержання екстрактів з трави астранції великої, проведення їх стандартизації та фармакологічного скринінгу;

- встановлення основних морфолого-анатомічних діагностичних ознак трави астранції великої;
- вивчення природних запасів та встановлення можливості інтродукції астранції великої;
- встановлення терміну придатності сировини на основі моніторингу показників якості сировини;
- розробка проектів методів контролю якості сировини та субстанції, інструкції із заготівлі та сушіння сировини астранції великої.

Об'єкт дослідження: ідентифікація біологічно активних речовин з досліджуваних об'єктів, кількісне визначення вмісту біологічно активних речовин, стандартизація сировини та субстанцій, інтродукція досліджуваного об'єкта в умовах Прикарпаття.

Предмет дослідження: листки, квітки, трава, стебла астранції великої, сухі екстракти (екстрагенти – вода очищена та 70 % етанол), індивідуальні біологічно активні речовини, умови зростання рослини.

Методи дослідження. В експериментальному дослідженні використано наступні методи: морфолого-анатомічні – опис та ідентифікація астранції великої; ресурсознавчі – виявлення масивів заростей астранції великої, встановлення біологічного та експлуатаційного запасів рослинної сировини, можливого об'єму її щорічної заготівлі; фізичні та фізико-хімічні – ТШХ, ПХ, ВЕРХ, ААС, ГХ-МС та абсорбційна спектрофотометрія в УФ- та видимій областях; хімічні – ідентифікація і визначення кількісного вмісту БАР; фармакологічні, мікробіологічні та токсикологічні – дослідження гострої токсичності, антибактеріальної, кровозупинної, ранозагоювальної та протизапальної активності екстрактів; статистичні – математична обробка отриманих експериментальних даних.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше було проведено фітохімічні, фармакологічні та ресурсознавчі дослідження астранції великої. Вивчено вміст БАР в листках, квітках, траві, стеблах астранції великої. Опрацьовано оптимальні умови одержання екстрактів, методики аналізу якісного та кількісного вмісту діючих речовин.

Вперше в результаті фітохімічного дослідження трави астранції великої встановлено наявність основних груп БАР. Визначено кількісний вміст окиснюваних фенолів, суми поліфенолів, танінів, флавоноїдів, гідроксикоричних та органічних кислот, в тому числі кислоти аскорбінової.

Вперше методом ВЕРХ у траві астранції великої ідентифіковано та визначено кількісний вміст 17 індивідуальних сполук фенольної природи, у тому числі 8 метаболітів танінів, 5 флавоноїдів та 4 гідроксикоричних кислот. Домінуючим компонентом танінів трави астранції великої є епігалокатехін, флавоноїдів – рутин, гідроксикоричних кислот – хлорогенова кислота.

Вперше кількісно визначено вміст фракцій полісахаридів в траві астранції великої. Вміст ВРПС становить $2,71 \pm 0,12$ %, ПР – $1,59 \pm 0,21$ %, ГцА – $3,31 \pm 0,18$ %, ГцБ – $5,31 \pm 0,11$ %. До складу ВРПС входить глюкоза, арабіноза, рамноза; до складу ПР – глюкоза, фруктоза, арабіноза, галактуронова кислота; до

складу ГцА – глюкоза, фруктоза, арабіноза, рамноза, галактуронова кислота; до складу ГцБ – глюкоза, арабіноза, ксилоза, фруктоза.

Вперше методом ГХ-МС встановлено склад жирних кислот у траві астранції великої. Ідентифіковано 8 сполук, загальний вміст яких становить 8303,12 мг/кг. Серед ідентифікованих сполук у траві астранції великої виявлено 4 насичені жирні кислоти: пальмітинову, стеаринову, бегенову, лігноцеринову; 4 ненасичені жирні кислоти: пальмітолеїнову, лінолеву, ліноленову, олеїнову.

Вперше ідентифіковано та встановлено вміст 19 компонентів летких сполук та 3 фітостеролів в траві астранції великої методом ГХ-МС.

Вперше досліджено амінокислотний та елементний склад трави астранції великої. Встановлено, що домінуючими амінокислотами є аспарагінова кислота та гліцин.

Вперше визначено параметри екстракції БАР з трави астранції великої та одержано екстракти (екстрагенти – вода очищена та 70 % етанол). Екстракти є нетоксичними та проявляють антимікробну, протизапальну, кровозупинну та ранозагоювальну активність.

Новизну досліджень підтверджено патентом України на корисну модель № 130764 «Спосіб одержання екстракту трави астранції великої із кровозупинною дією» від 11.06.2018 р.

Вперше вивчено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки трави астранції, які використані для ідентифікації та стандартизації лікарської рослинної сировини. На основі проведених фенологічних та агротехнічних досліджень встановлено можливість інтродукції та акліматизації астранції великої в умовах Прикарпаття.

Практичне значення отриманих результатів. В результаті проведеного фармакогностичного дослідження розроблено проекти методів контролю якості на траву та екстракт астранції великої, інструкції із заготівлі та сушіння трави астранції великої.

Доведено можливість створення лікарських засобів протизапальної, кровозупинної та ранозагоювальної дії на основі БАР з трави астранції великої.

За результатами роботи видано монографію «Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації». Матеріали наукових досліджень впроваджено у навчальний процес кафедр хімії природних сполук та фармакогнозії Національного фармацевтичного університету; кафедри фармацевтичної хімії Вінницького національного медичного університету; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського; кафедри фармації Буковинського державного медичного університету; кафедри хімії та фармакогнозії Київського медичного університету; кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів НМАПО ім. П. Л. Шупика; кафедри фармакогнозії і ботаніки ЛНМУ імені Данила Галицького; кафедри фармації ННПО Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського; кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки Дніпропетровської медичної академії МОЗ України; кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії та технології ліків Запорізького державного

медичного університету; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету (акти впровадження від 07.02.18, 16.02.18, 19.02.18, 20.02.18, 22.02.18, 23.02.18, 26.02.18, 26.02.18, 27.02.18, 05.03.18, 20.03.18 р. відповідно) та практичну роботу випробувального центру державного підприємства «Івано-Франківськстандартметрологія», ТОВ «Фітолік» (акти впровадження від 14.03.18, 16.03.18 р. відповідно).

Особистий внесок здобувача. Наукові дослідження за темою дисертаційної роботи проводились у співавторстві з науковим керівником – д. фарм. н., проф. Грициком А. Р.

Основна частина роботи виконана автором особисто. Здобувачем самостійно здійснено аналіз наукових першоджерел щодо складу БАР, фармакологічної активності астранції великої; встановлено видову тотожність астранції великої; проведено виявлення, ідентифікацію та визначення вмісту БАР у траві астранції великої; встановлено основні параметри одержання екстрактів із трави астранції великої; досліджено якісний склад та вміст основних груп БАР в одержаних екстрактах; визначено фармакологічну активність та токсичність одержаних субстанцій; встановлено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки трави астранції великої; розроблено проекти МКЯ на сировину та сухий екстракт із трави астранції великої; розроблено інструкції із заготівлі та сушіння трави астранції великої.

Результати експериментальних досліджень самостійно проаналізовано та систематизовано, оформлено у вигляді таблиць, рисунків, діаграм, актів впровадження, проектів МКЯ, фотознімків. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, особистий внесок здобувача полягав у виконанні фітохімічних, фармакологічних, ресурсознавчих досліджень, що відображено у списку публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на 82-ій, 83-ій та 84-ій науково-практичних конференціях студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2013, 2014, 2015); Міжнародній міждисциплінарній науково-практичній конференції «Вода і здоров'я людини» (Ужгород, 2013); І міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 2014); XI науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Слобожанські читання. Медичне та фармацевтичне право України: інновації, якість, безпека та перспективи розвитку» (Харків, 2014); І міжнародній науково-практичній internet-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2014); IV науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології» (Харків, 2014); II міжнародній науковій конференції «Агробіорізноманіття для покращення харчування, здоров'я та якості життя» (Nitra, 2015); VIII міжнародній міждисциплінарній науково-практичній конференції «Сучасні аспекти збереження здоров'я людини» (Ужгород, 2015).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на спільному засіданні професорсько-викладацького складу Івано-Франківського національного медичного

університету, Національного фармацевтичного університету та Запорізького державного медичного університету 12 грудня 2019 року.

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 17 наукових праць, у тому числі 7 статей (із них 5 – у фахових наукових виданнях України, 2 – у виданнях іноземних держав), 1 патент України на корисну модель, 8 тез доповідей, 1 монографія.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 215 сторінках (обсяг основного тексту 137 сторінок) і складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису об'єктів і методів дослідження та трьох розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертацію ілюстровано 29 рисунками та 49 таблицями. Список використаних джерел містить 156 найменувань, з яких 131 кирилицею та 25 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Астранція велика – перспективна лікарська рослина (огляд літератури)

Проаналізовано дані наукових першоджерел щодо систематики, ботанічної характеристики та розповсюдження астранції великої, сучасного стану вивчення її хімічного складу, фармакотерапевтичної активності та шляхів застосування в медицині. Трава астранції великої містить велику кількість БАР, які зумовлюють виражену фармакологічну дію, та має широке використання у народній медицині. Аналіз наукових першоджерел показав, що хімічний склад астранції великої вивчено недостатньо і відсутні методики їх аналізу. Враховуючи вище зазначене, перспективним є фармакогностичне дослідження астранції великої.

Об'єкти і методи дослідження

У даному розділі наведено об'єкти та методи проведення фармакогностичних, технологічних, фармакологічних та ресурсознавчих досліджень з наведенням відомостей про використані прилади та реактиви.

Вивчення різних класів біологічно активних речовин в сировині астранції великої проводили з метою використання рослинної сировини і створення на її основі нових лікарських препаратів. Сировину заготовляли в Івано-Франківській області в різні фази вегетації з врахуванням особливостей заготівлі та бережливого відношення до флори.

Об'єктами для фітохімічних та морфолого-анатомічних досліджень були трава, листки, стебла та квітки астранції великої.

Об'єктами фітохімічних та фармакологічних досліджень стали сухі екстракти з трави астранції великої, отримані екстрагентами: водою очищеною та 70 % етанолом.

У розділі наведено методики для розділення суми фенольних сполук (ПХ, ВЕРХ); визначення жирних кислот та вуглеводнів (ГХ-МС); амінокислотного складу

(ПХ та з використанням амінокислотного аналізатора ААА Т-339 М «Mikrotechna–Praha»); складу полісахаридів (ПХ, ТШХ, гравіметрія); елементного складу (ААС); вмісту суми поліфенолів, танінів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот (абсорбційна спектрофотометрія в УФ- та видимій областях); складу та вмісту органічних кислот (ПХ, титриметрія); фармакологічні дослідження проводили *in vivo* та *in vitro* з використанням стандартних методик.

Вивчення складу біологічно активних речовин трави астранції великої

За допомогою реакцій ідентифікації, одно- та двовимірної ПХ встановлено, що трава астранції великої містить фенольні сполуки: гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, таніни; терпеноїди: тритерпенові сапоніни; алкалоїди; карбонові кислоти: аскорбінову, щавлеву, лимонну; вільні моноцукри, ВРПС; амінокислоти.

Методом ВЕРХ здійснено розділення суми фенольних сполук досліджуваного об'єкта. Ідентифіковано та встановлено кількісний вміст у траві астранції великої 17 сполук фенольної природи (табл. 1, рис. 1 - 2).

Одержані дані свідчать, що трава астранції великої містить значну кількість фенольних сполук: серед метаболітів танінів домінує епігалокатехін (1,553 %), флавоноїдів – рутин (0,18 %), а серед гідроксикоричних кислот – хлорогенова (1,02 %).

Таблиця 1

Фенольні сполуки трави астранції великої

Назва речовини	Вміст, %	Назва речовини	Вміст, %
Метаболіти танінів			
Галова кислота	0,035	Епікатехін	0,315
Галокатехін	0,668	Епікатехіну галат	0,035
Епігалокатехін	1,553	Катехіну галат	0,072
Катехін	0,614	Елагова кислота	0,024
Флавоноїди		Гідроксикоричні кислоти	
Апігенін	0,066	Кофейна кислота	0,11
Лютеолін	0,006	Ферулова кислота	0,055
Рутин	0,18	Розмаринова кислота	0,24
Гіперозид	0,0045	Хлорогенова кислота	1,02
Ізокверцитрин (кверцетин-3- <i>D</i> -глюкозид)	0,026		

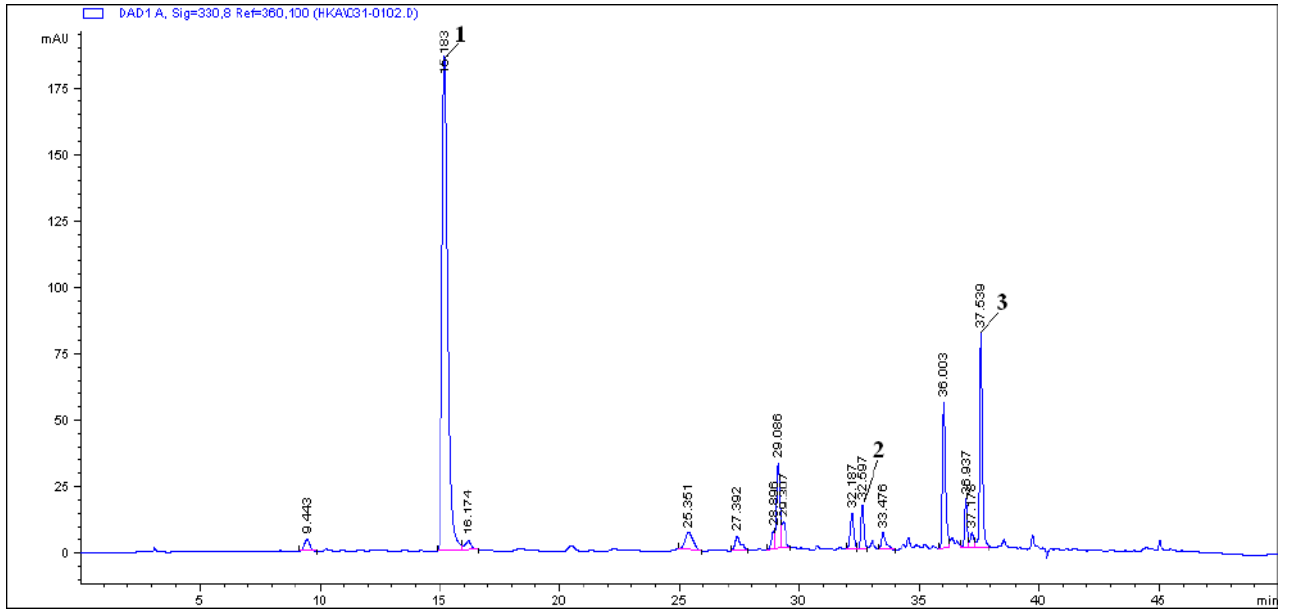


Рис. 1. Хроматограма гідроксикоричних кислот та апігеніну трави астранції великої при довжині хвилі 330 нм (1 – хлорогенова кислота, 2 – апігенін, 3 – розмаринова кислота)

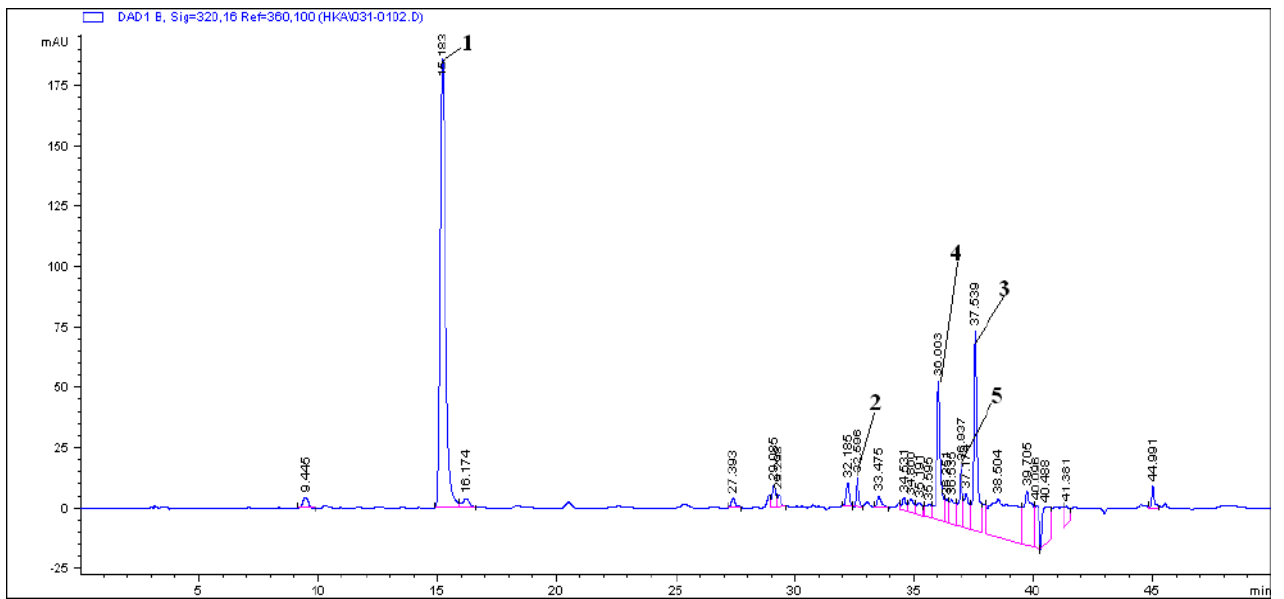


Рис. 2. Хроматограма гідроксикоричних кислот трави астранції великої при довжині хвилі 320 нм (1 – хлорогенова кислота, 2 – апігенін, 3 – розмаринова кислота, 4 – кофейна кислота, 5 – ферулова кислота)

Вміст жирних кислот досліджуваної сировини визначено методом ГХ-МС. Ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 8 сполук у траві астранції великої (табл. 2).

Жирні кислоти трави астранції великої

Насичені	Вміст, мг/кг	Ненасичені	Вміст, мг/кг
Пальмітинова	3597,20	Пальмітолеїнова	141,62
Стеаринова	27,88	Лінолева	3737,30
Бегенова	279,03	Ліноленова	229,58
Лігноцеринова	290,51	Олеїнова	Сліди

Загальний вміст жирних кислот становить 8303,12 мг/кг, серед яких домінують ліноленова (45,01 % від суми жирних кислот) та пальмітинова (43,32 % від суми жирних кислот). Вміст ненасичених кислот складає 4108,5 мг/кг, вміст насичених кислот складає 4194,6 мг/кг.

За допомогою амінокислотного аналізатора встановлено амінокислотний склад трави астранції великої. Ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 17 амінокислот, серед яких 7 незамінних: треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін і лізин; 3 умовно незамінні: тирозин, гістидин, аргінін; 7 замінних: гліцин, аланін, серин, аспарагінова та глутамінова кислоти, пролін, цистин. Домінуючими амінокислотами для трави астранції великої є аспарагінова кислота (13,08 мг/100 г), гліцин (12,75 мг/100 г), аргінін (10,25 мг/100 г), аланін (9,15 мг/100 г), серин (7,95 мг/100 г). Загальна сума амінокислот у траві астранції великої становить 102,94 мг/100 г.

З трави астранції великої одержано фракції полісахаридів: ВРПС – $2,71 \pm 0,12$ %, ПР – $1,59 \pm 0,21$ %, ГцА – $3,31 \pm 0,18$ %, ГцБ – $5,31 \pm 0,11$ %, в яких виявлено глюкозу, фруктозу, ксилозу, рамнозу, арабінозу та галактуранову кислоту.

Методом атомно-абсорбційної спектроскопії досліджено вміст макро- та мікроелементів, який становить: К (1670 мг/100 г), Са (580 мг/100 г), Mg (187 мг/100 г), Mn (4,07 мг/100 г), Fe (2,44 мг/100 г), Cu (1,93 мг/100 г), Zn (1,25 мг/100 г). Трава астранції великої характеризується серед макроелементів найвищим вмістом К (1670 мг/100 г), а серед мікроелементів – Mn (4,07 мг/100 г). Вміст Cd та Pb знаходиться в межах допустимих концентрацій згідно з вимогами Державної фармакопеї України (ДФУ 2) для препаратів рослинного походження.

Ідентифікацію та кількісне визначення стероїдних сполук проводили методом ГХ-МС. Трава астранції великої вміщує значну кількість γ -ситостеролу (437,17 мг/кг), невелику кількість кампестеролу (18,76 мг/кг) і сліди стигмаста-5,24(28)-дієн-3-олу.

Вміст летких сполук астранції великої визначено методом ГХ-МС. В траві астранції великої виявлено 50 летких сполук, з яких 19 ідентифіковано (табл. 3). Встановлено, що домінуючими є сесквітерпеноїди каларен (121,08 мг/кг) та β -фарнезен (82,24 мг/кг).

Кількісний вміст основних груп БАР у стеблах, квітках, листках та траві астранції великої, заготовленої у Івано-Франківській області, встановлено методами абсорбційної спектроскопії та титриметрії (табл. 4).

Ідентифіковані леткі сполуки трави астрації великої

Сполука	Концентрація, мг/кг	Сполука	Концентрація, мг/кг
3-Гептанон	7,74	α -Фарнезен	9,51
2-Гептанон	18,35	Біциклогермакрен	13,27
2-Гептанол	4,57	Спатуленол	32,64
Вербенол	27,70	Каріофілену оксид	30,44
Нонадекан	18,90	Гексагідрофарнезилацетон	10,71
Тимол	19,79	Каларен	121,08
Каріофілен	29,38	Ісоледен	17,87
<i>транс</i> - α - Бергамотен	9,06	Гептадекан	20,53
β -Фарнезен	82,24	1,2-Диметил-1,4- циклогексадіен	13,03
Гермакрен D	60,39		
Загальний вміст 547,19			

Кількісний вміст основних груп БАР у сировині астрації великої

Метод аналізу	Вміст, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 9			
	Трава	Листки	Стебла	Квітки
1	2	3	4	5
Сума поліфенолів				
Спектрофотометричний у перерахунку на пірогалол (760 нм)	7,65 \pm 0,20	7,25 \pm 0,14	3,47 \pm 0,11	4,88 \pm 0,14
Перманганатометричний (метод Левенталія)	6,92 \pm 0,27	6,73 \pm 0,11	4,18 \pm 0,20	5,03 \pm 0,18
Вітамін К				
Спектрофотометричний у перерахунку на вікасол (760 нм)	0,23 \pm 0,01	0,26 \pm 0,01	0,22 \pm 0,01	0,24 \pm 0,01
Флавоноїди				
Спектрофотометричний у перерахунку на гіперозид (402 нм)	5,36 \pm 0,20	5,09 \pm 0,17	3,67 \pm 0,10	4,31 \pm 0,10
Гідроксикоричні кислоти				
Спектрофотометричний у перерахунку на хлорогенову кислоту (325 нм)	5,51 \pm 0,10	6,41 \pm 0,12	1,60 \pm 0,07	4,51 \pm 0,10

1	2	3	4	5
Органічні кислоти				
Титриметричний у перерахунку на яблучну кислоту	2,84 ± 0,03	2,91 ± 0,10	1,09 ± 0,07	2,68 ± 0,08
Аскорбінова кислота				
Титриметричний	0,159 ± 0,006	0,154 ± 0,006	0,173 ± 0,0005	0,154 ± 0,006

Результати проведених досліджень (табл. 4) вказують, що вміст суми поліфенолів у сировині астранції великої становить від 3,47 % до 7,65 %, вміст суми флавоноїдів знаходиться в межах від 3,67 % до 5,36 % в залежності від виду сировини. Встановлено, що максимальний вміст суми поліфенолів і флавоноїдів накопичується у траві астранції великої (7,65 % та 5,36 % відповідно).

Вміст суми гідроксикоричних кислот у сировині астранції великої становить від 1,6 % до 6,41 %. Найвищий вміст суми гідроксикоричних кислот визначено у листках астранції великої – 6,41 %.

Вміст вітаміну К у сировині складає від 0,22 % до 0,26 %, найвищий вміст визначено у листках астранції великої – 0,26 %.

Результати досліджень окиснюваних фенолів показали, що їх вміст коливається від 4,18 % до 6,92 %. Найвищий вміст окиснюваних фенолів відмічено у траві астранції великої – 6,92 %. Вміст органічних кислот знаходиться в межах від 1,09 % до 2,91 %, аскорбінової кислоти – від 0,154 % до 0,173 % залежно від виду досліджуваної сировини. Найбільше органічних кислот нагромаджується в листках астранції великої – 2,91 %, аскорбінової кислоти – у стеблах астранції великої – 0,173 %.

Виділення комплексів біологічно активних речовин трави астранції великої та дослідження їх фармакологічної активності

Оптимальні параметри екстракції БАР із трави астранції великої встановлено шляхом визначення залежності вмісту БАР та екстрактивних речовин від ступеня подрібнення сировини, виду екстрагента, співвідношення сировина – екстрагент, тривалості та кратності екстракції. Встановлено, що при отриманні екстрактів траву астранції великої слід подрібнювати до розміру часток, що проходять крізь сито з діаметром отворів 2,5 мм та не проходять крізь сито з діаметром отворів 0,5 мм. Подрібнену сировину заливають водою очищеною або 70 % етанолом у співвідношенні 1:15 та 1:10 відповідно та тричі екстрагують на водяному нагрівнику протягом 30 хв. Отримані екстракти висушували ліофільно в сублімаційному апараті типу КС-30.

Кількісне визначення БАР в екстрактах, а саме суми поліфенолів та флавоноїдів, проводили спектрофотометричним методом (табл. 5).

Показники якості екстрактів трави астранції великої

Умовне позначення екстракту	Екстрагент	Вихід екстракту %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 3	Втрата в масі при висушуванні, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 3	Сума поліфенолів, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 3	Флавоноїди, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$, n = 3
АВС	70 % етанол	24,16 ± 0,47	2,80 ± 0,10	16,91 ± 0,09	8,02 ± 0,07
АВВ	вода очищена	22,96 ± 0,23	4,15 ± 0,08	16,42 ± 0,13	7,88 ± 0,08

Визначено, що вміст суми поліфенолів та флавоноїдів вищий у екстракті, отриманому 70 % етанолом із трави астранції великої.

Гостру токсичність та фармакологічну активність отриманих екстрактів із трави астранції великої досліджували при консультативній допомозі завідувача кафедри біологічної та медичної хімії ім. академіка Г. О. Бабенка професора Г. М. Ерстенюк та доцента кафедри анатомії людини В. М. Іваночка.

Для визначення гострої токсичності отриманих екстрактів використовували методику доклінічного вивчення нешкідливості лікарських засобів. Комплекс проведених досліджень з вивчення гострої токсичності екстрактів дозволив встановити відсутність токсичної дії при їх одноразовому внутрішньошлунковому введенні мишам у максимально можливій дозі 6000 мг/кг. Це дає можливість віднести досліджувані екстракти до V класу токсичності речовин з $LD_{50} > 5000$ мг/кг (практично нетоксичні) згідно з токсикологічною класифікацією речовин К. К. Сидорова.

Дослідження протизапальної активності сухих екстрактів проводили на моделі гострого асептичного карагенінового запалення, що дозволило оцінити вплив екстрактів на активність основного чинника запалення – циклооксигенази. Як референс-препарати використовували препарат рослинного походження кверцетин (ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», 5 мг/кг) та синтетичний нестероїдний протизапальний засіб диклофенак натрію (ТзОВ «Харківське фармацевтичне підприємство «Здоров'я народу», 8 мг/кг).

Досліджувані екстракти вводили тваринам внутрішньошлунково в дозі 100 мг/кг за 1 год до та одразу після введення розчину карагеніну. Визначено, що екстракти з трави астранції проявляють антиексудативну активність, впливають на ексудативну фазу запалення та не поступаються за своєю активністю референс-препарату рослинного походження кверцетину. Через 1, 3 та 5 год після початку експерименту найвищу антиексудативну активність проявляв сухий екстракт АВС (екстрагент – 70 % етанол) трави астранції великої.

Дослідження антибактеріальної активності екстрактів із трави астранції великої здійснено методом дифузії активної речовини в агар з використанням паперових дисків. Встановлено кращу здатність затримувати ріст паличкоподібної та кокоподібної мікрофлори у сухого екстракту астранції великої АВВ (екстрагент –

вода очищена). Досліджувані екстракти не проявляють активність щодо бактерій *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus aureus*.

Дослідження кровозупинних властивостей екстрактів визначали за часом тривалості кровотечі (за методом Дюка). Отримані результати свідчать, що при застосуванні екстрактів астранції АВС та АВВ час кровотечі суттєво зменшувався у порівнянні з контрольною групою тварин. Найбільш суттєве зниження кровотечі викликало застосування екстракту АВС (43,54 %), меншу кровозупинну активність проявляв екстракт АВВ (42,51 %) і найнижчу кровозупинну активність (23,15 %) викликав екстракт перцю водяного рідкий (ПрАТ «Фітофарм»). Результати дослідження вказують на наявність місцевої гемостатичної дії у субстанціях астранції великої.

Дослідження ранозагоювальної активності екстрактів трави астранції великої вивчали на моделі різаної асептичної рани. Оцінювали планіметрію ран, стан запальної реакції та визначали швидкість їх загоювання. Результати досліджень свідчать, що при застосуванні екстрактів астранції великої АВВ та АВС спостерігається прискорення загоєння ранового процесу (на 8 і 10 добу відповідно). Повне загоєння рани спостерігається на 14 добу (рис. 3). Екстракт АВВ з 2-ї до 8-ї доби проявляє кращу активність, ніж референс-препарат «Рекутан» (ТЗОВ «Здоров'я»).

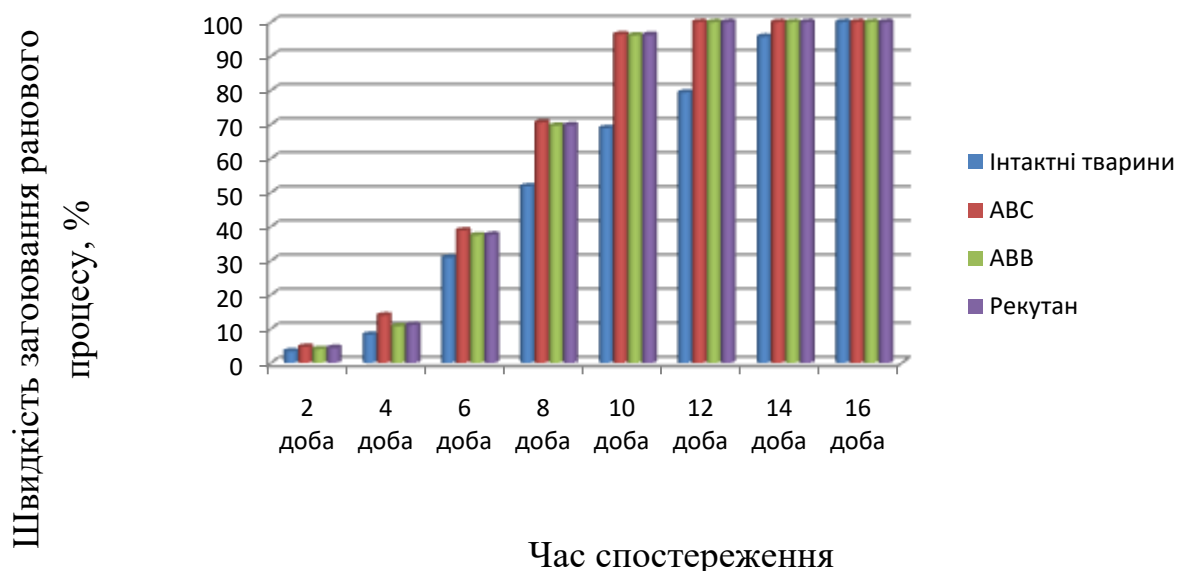


Рис. 3. Ранозагоювальна активність екстрактів астранції великої

Таким чином, встановлено, що найбільш виражену кровозупинну та ранозагоювальну активність проявляє екстракт АВС із трави астранції великої (екстрагент – 70 % етиловий спирт). Стандартизацію екстракту сухого із трави астранції великої проводили за вимогами ДФУ (табл. 6).

Показники якості екстракту АВС трави астранції великої

Показник якості	Допустимі межі	Результат				
		серія 001	серія 002	серія 003	серія 004	серія 005
Опис	гігроскопічний порошок жовто-зеленого кольору, з характерним запахом	Відповідає				
Розчинність	помірно розчинний у воді, легко розчинний в 70 % етанолі, розчинний у хлороформі, нерозчинний в етилацетаті та етері	Відповідає				
Ідентифікація	метод ТШХ	Відповідає				
Втрата в масі при висушуванні, %	не більше 5	4,15	4,15	4,16	4,17	4,12
Загальна зола, %	не більше 1	0,90	0,91	0,91	0,89	0,91
Важкі метали, %	не більше 0,002	Відповідає				
Мікробіологічна чистота	в 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г	Відповідає				
Сума поліфенолів, %	спектрофотометрично, не менше 16	16,91	16,42	16,78	16,58	16,72

Доброякісність сухого екстракту регламентується у розробленому проекті МКЯ «Астранції трави екстракт сухий».

Ресурсо-біологічні дослідження та розробка проекту методів контролю якості на траву астранції великої

Вивчення ознак морфологічної будови сировини проводили за вимогами ДФУ. Для дослідження використовували повітряно-суху та свіжозібрану і фіксовану у суміші гліцерин-спирт-вода (1:1:1) рослинну сировину.

Зовнішні ознаки. Цільна сировина. Цілі або різані, висушені, квітучі надземні частини рослини. Шматки стебел зелені, тонкі, циліндричні, до 3 мм у діаметрі. Листки глибоко-пальчасто-розділені, від 2 до 7 см завдовжки, видовжено-обернено-

яйцеподібної форми; наявні дво-, тринадрізані, пилчасті частки, які закінчуються щетиною. Верхня частина листка темно-зелена, нижня – блідо-зелена. Суцвіття – зонтики, до 5 см у діаметрі; оточені білувато-рожевою обгорткою з великих видовжено-ланцетних, іноді короткозубчастих листків, які перевищують квітки; у зонтику внутрішні квітки двостатеві, зовнішні – чоловічі. Зубці чашечки шиловидні, довші за пелюстки, ланцетні, зігнуті; стовпчики тонкі, довгі, з головчастою приймочкою. Смак гіркий. Запах специфічний.

Подрібнена сировина. Подрібнена неоднорідна маса, кусочки листків, стебел та квіток різної форми зеленого кольору. Запах специфічний. Смак гіркий.

Визначення *анатомічних ознак* органів астранції великої вивчали на поперечних зрізах, відпрепарованій епідермі та препаратах з поверхні.

Клітини верхньої епідерми листка зі слабохвилястими і рівномірно потовщеними оболонками. Клітини нижньої епідерми листка зі звивистими оболонками, між якими знаходиться багато продихів. Продиховий апарат анізоцитного типу; продихи зустрічаються на абаксіальній стороні листка, на якій розташовані друзи кальцію оксалату ланцюгом вздовж великих жилок (рис. 4).

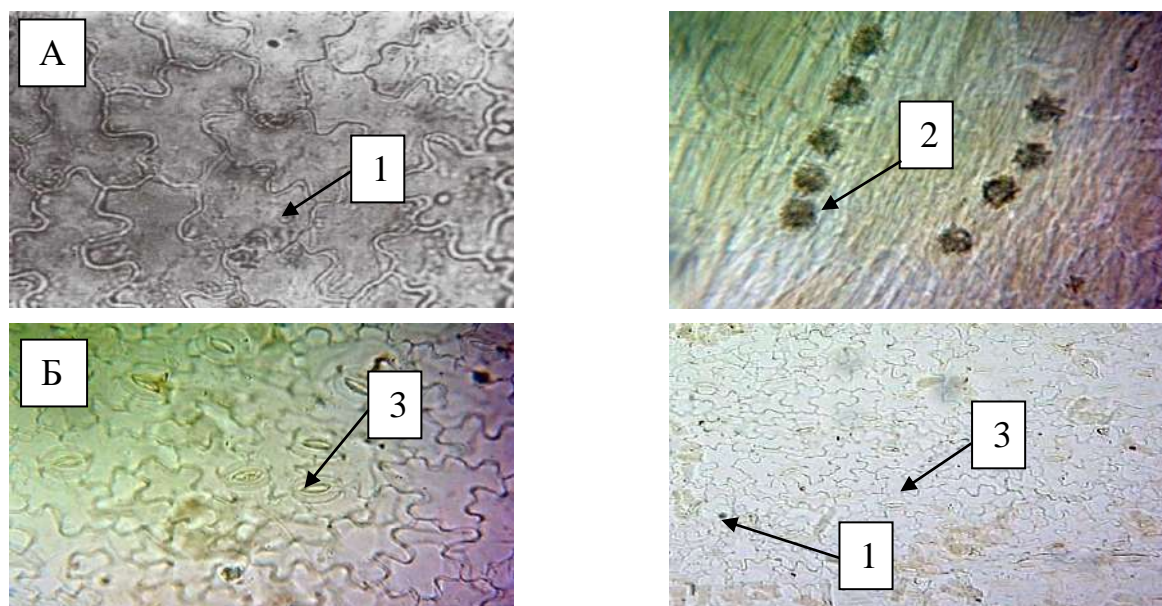


Рис. 4. Анатомічні ознаки листка астранції великої: А – верхній епідерміс; Б – нижній епідерміс; 1 – клітини епідерми, 2 – групи друз кальцію оксалату, 3 – продиховий апарат

Черешок (рис. 5) на поперечному зрізі має округлу форму з невеликими виступами, вираженість яких збільшується з віком органу, а також у напрямку від базальної до верхівкової частини черешка. Зовні черешок вкритий одним шаром прозенхімної форми епідермальних клітин. Базисні клітини епідерми з поверхні черешка прямостінні, дещо поперечно витягнуті, мозаїчно укладені з вервичкоподібно потовщеними оболонками, кутикула місцями складчаста. Продихи дрібні, оточені трьома побічними клітинами, одна з яких менша за інші (анізоцитний тип продихового апарату).

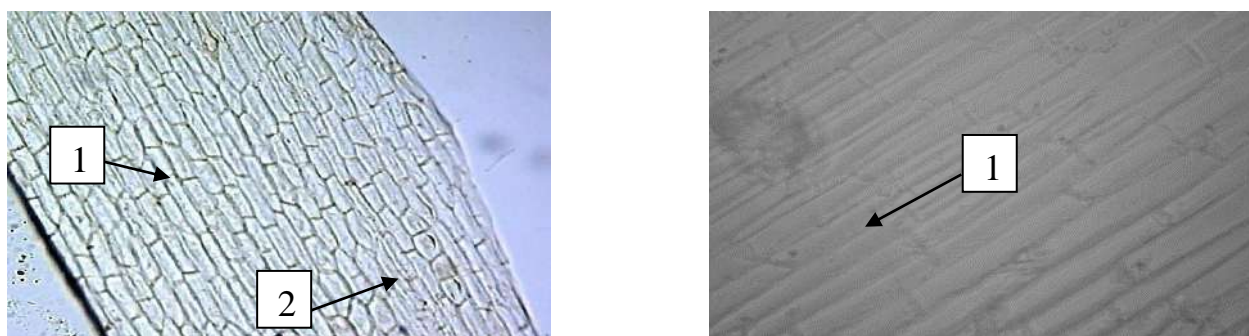


Рис. 5. Анатомічні ознаки черешка листка астранції великої: 1 – епідерма, 2 – продиховий апарат

Результати морфолого-анатомічних досліджень трави астранції великої використані для встановлення тотожності цільної та подрібненої рослинної сировини і внесені до проекту МКЯ «Астранції трава».

З метою стандартизації проведено дослідження 5 серій трави астранції великої. Встановлено, що вміст суми поліфенолів у досліджуваних серіях сировини знаходиться у межах 7,24 – 7,93 %, втрата в масі при висушуванні – 6,88 – 7,71 %, зола загальна – 5,51 – 7,78 %, сторонні домішки – 0,5 – 0,7 % та мінеральні домішки – 0,2 – 0,4 %. Числові показники доброякісності досліджуваної сировини внесено до проекту МКЯ «Астранції трава», а також проекту «Інструкції із заготівлі та сушіння трави астранції».

Досліджено зміну числових показників доброякісності трави астранції під час зберігання сировини. Встановлено, що втрата в масі при висушуванні та вміст суми поліфенолів суттєво не змінюються впродовж 3 років, що дозволяє встановити термін її придатності.

Встановлено місця зростання астранції великої на Прикарпатті та досліджено сировинні запаси рослини. Встановлено середню урожайність трави астранції великої (130 – 350 г/м² повітряно-сухої сировини) та обсяг можливих щорічних заготівель (506,68 кг), що є недостатніми для промислової заготівлі ЛРС. Оскільки заготівля дикорослої сировини може призводити до скорочення природних запасів сировини, актуальним є культивування астранції великої. В природних умовах астранція велика розмножується вегетативним способом і насінням, в культурі – вегетативно (поділом кореневища) та насіннево.

При насінневому способі вирощування використовували стратифіковане насіння, яке висівали в контейнери, що забезпечує збільшення схожості, зменшення травмування кореневої системи під час пересаджування розсади у відкритий ґрунт. Оптимальні строки висаджування у відкритий ґрунт – рано навесні. Висаджували саджанці за схемою 40 × 50 см. Під час садіння кореневу шийку заглиблювали нижче поверхні ґрунту на 5 – 6 см, кожен саджанець поливали і загортали шаром ґрунту 3 – 5 см. За сприятливих погодних умов спостерігали цвітіння, яке триває 15 днів. Насіння, яке при цьому зав'язувалося, не дозрівало. При вегетативному розмноженні через рік саджанці перетворюються на повноцінні кущі, а через три роки молоді рослини зацвітають. Проведені

дослідження свідчать, що можливе розмноження рослини як насінням, так і розсадою.

Фенологічні дослідження розвитку астранції великої на дослідних ділянках Івано-Франківського національного медичного університету вказують, що рослина має монокарпічний цикл розвитку. За характером ритмів розвитку її відносять до рослин, що розвиваються неодноразово, створюючи ілюзію довготривалого генеративного розвитку. Індивідуальні особливості онтогенезу екземплярів астранції великої залежать від агрометеорологічних показників.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та практичне вирішення наукового завдання, що полягає у фармакогностичному вивченні астранції великої, встановленні якісного складу і кількісного вмісту БАР, одержанні екстрактів, вивченні їх фармакологічної активності, визначені можливості забезпечення сировиною, проведенні та розробці проектів методів контролю якості на сировину та екстракт.

1. В траві, листках та стеблах астранції великої встановлено наявність фенольних сполук: гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, танінів; терпеноїдів: тритерпенових сапонінів; алкалоїдів; карбонових кислот: аскорбінової, щавлевої, лимонної; вільних моноцукрів, ВРПС; амінокислот.

2. За допомогою ПХ, ТШХ, ГХ-МС, ВЕРХ в траві астранції великої ідентифіковано 69 речовин, які представлені вуглеводами, амінокислотами, органічними кислотами, флавоноїдами, танінами, леткими сполуками, фітостеролами, макро- та мікроелементами. Вперше виявлено терпени та терпеноїди: вербенол, тимол, каріофілен, *транс- α -бергамотен*, *β -фарнезен*, гермакрен *D*, *α -фарнезен*, біциклогермакрен, спатуленол, каріофілену оксид, ісоледен, каларен, гексагідрофарнезилацетон; гідроксикоричні кислоти: кофейна та ферулова; флавоноїди: апігенін, лютеолін, гіперозид; метаболіти танінів: галова кислота, галокатехін, епігалокатехін, катехін, епікатехін, епікатехіну галат, катехіну галат, елагова кислота; жирні кислоти: пальмітинова, стеаринова, бегенова, лігноцерінова, пальмітолейнова, ліноленова; стероїдні сполуки: γ -ситостерол, кампестерол, стигмаста-5,24(28)-діен-3-ол.

3. У траві астранції великої методом ВЕРХ ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 17 речовин фенольної природи: домінуючою гідроксикоричною кислотою є хлорогенова (1,02 %), серед флавоноїдів – рутин (0,18 %), катехінів – епігалокатехін (1,55 %). Методом ГХ-МС встановлено жирнокислотний склад та ідентифіковано 8 сполук загальним вмістом 8303,14 мг/кг, в тому числі 4 насичені жирні кислоти і 4 ненасичені жирні кислоти. У траві астранції великої ідентифіковано 17 амінокислот: в тому числі 7 незамінних: треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін і лізин; 3 умовно незамінних: тирозин, гістидин, аргінін; 7 замісних: гліцин, аланін, серин, аспарагінова та глютамінова кислоти, пролін, цистин. Домінуючими амінокислотами є аспарагінова кислота (13,08 мг/100 г), гліцин (12,75 мг/100 г), аргінін

(10,25 мг/100 г), аланін (9,15 мг/100 г), серин (7,95 мг/100 г). Загальна сума амінокислот у траві астранції великої становить 102,94 мг/100 г. Виділено та визначено кількісний вміст ВРПС, ПР, ГцА та ГцБ; встановлено їх моносахаридний склад, який представлено глюкозою, арабінозою, ксилозою, рамнозою, фруктозою та галактураною кислотами. Встановлено макро- і мікроелементний склад досліджуваної сировини та визначено кількісний вміст К, Са, Mg, Cu, Fe, Zn, Mn.

4. Хромато-мас-спектрометричним методом ідентифіковано 19 летких сполук. Встановлено, що вони представлені в основному сесквітерпеноїдами. Домінуючими є каларен (121,08 мг/кг) та β -фарнезен (82,24 мг/кг). Ідентифіковано та кількісно визначено стероїдні сполуки: γ -ситостерол (437,17 мг/кг), кампестерол (18,76 мг/кг) і сліди стигмаста-5,24(28)-дієн-3-олу.

5. Визначено кількісний вміст суми поліфенолів (від 3,47 % до 7,65 %); суми флавоноїдів (від 3,67 % до 5,36 %); окиснюваних фенолів (від 4,18 % до 6,92 %); аскорбінової кислоти (від 0,154 % до 0,173 %); вільних органічних кислот (від 1,09 % до 2,91 %); суми гідроксикоричних кислот (від 1,60 % до 6,41 %) та вітаміну К (від 0,22 % до 0,26 %) залежно від виду сировини.

6. Встановлено оптимальні параметри отримання сухих екстрактів з трави астранції великої: ступінь подрібнення сировини – від 0,5 до 2,5 мм; екстрагент – вода очищена або 70 % етанол; співвідношення сировина-екстрагент – 1:15 (для води очищеної) та 1:10 (для 70 % етанолу); час екстракції – 30 хв, кратність екстракції – 3.

7. Одержано екстракти (екстрагенти – вода очищена та 70 % етанол) трави астранції великої, які є нетоксичними, проявляють протизапальну, антимікробну, ранозагоювальну та кровоупинну активність.

8. Визначено макро- та мікроскопічні ознаки цільної та подрібненої сировини, числові показники доброякісності, їх зміни в процесі зберігання та встановлено термін придатності (до 3 років).

9. Встановлено місця зростання астранції великої на Прикарпатті. Здійснено вивчення виявлених фітоценозів та встановлено запаси сировини. Проведено фенологічні спостереження за розвитком астранції великої на дослідних ділянках та встановлено можливості її інтродукції.

10. За результатами фітохімічного та морфолого-анатомічного досліджень розроблено проекти МКЯ «Астранції трава», «Астранції трави екстракт сухий», «Інструкції із заготівлі та сушіння трави астранції».

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Грицик А. Р., Коляджин Т. І. Виявлення заростей та ідентифікація астранції великої на Прикарпатті. *Український вісник психоневрології*. 2012. Т. 20 № 2 (додаток). С. 66 – 67. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини дослідження, узагальнення отриманих даних, оформлення статті до друку).

2. Ідентифікація видів родів *Sanicula* L. і *Astrantia* родини *Ariaceae* / Грицик Л. М., Грицик А. Р., Коляджин Т. І., Легінь Н. І. *Український*

вісник психоневрології. 2013. Т. 21, вип. 2 (75) додаток. С. 76 – 78. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення статті до друку).

3. Дослідження антибактеріальної активності екстрактів видів роду Буквиця, Сосна, Астранція та котячої м'яти справжньої / Грицик А. Р., Сас І. А., Мандзій Т. П., Коляджин Т. І., Стасів Т. Г. *Український вісник психоневрології*. 2014. Т. 22, вип. 2 (79), додаток. С. 119 – 122. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з дослідження антибактеріальної активності астранції великої, узагальнення отриманих даних, оформлення статті до друку).

4. Дослідження елементного складу видів роду Підлісник та Астранція / Легінь Н. І., Коляджин Т. І., Грицик Л. М., Грицик А. Р. *Медична та клінічна хімія*. 2018. № 2. С. 112 – 116. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, виконання експерименту з дослідження елементного складу астранції великої, оформлення статті до друку).

5. Коляджин Т. І. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту летких сполук трави астранції великої (*Astrantia major* L.). *Фармаком*. 2018. № 3. С. 42 – 45.

6. Cultivation of Apiaceae L. family plants in Precarpathion region / Grytsyk L. M., Legin N. I., Kolyadzhyn T. I., Grytsyk A. R. *Agrobiodiversity for improving nutrition, health and life quality*. – Nitra : Slovak University of agriculture, 2015. P. 216 – 218. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини дослідження, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).

7. Study of amino acid composition of *Betonica* L., *Sanicula* L., and *Astrantia* L. Genera Species / Grytsyk L. M., Grytsyk A. R., Sas I. A., Legin N. I., Kolyadzhyn T. I. *The Pharma Innovation Journal*. 2016. № 5 (7). P. 46 – 48. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з дослідження амінокислотного складу трави астранції великої, оформлення статті до друку).

8. Патент на корисну модель 130764 Україна, МПК (2018.01), А61К 36/00, А61Р 7/04 (2006.01). Спосіб одержання екстракту трави астранції великої з кровозупинною дією. А.Р. Грицик А.Р., Т.І. Коляджин. № u 2018 06485; заявл. 11.06.18; опубл. 26.12.2018, Бюл. № 24. (Особистий внесок – здійснення патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, оформлення патенту).

9. Грицик А. Р., Коляджин Т. І. Інтродукція астранції великої в умовах Прикарпаття. *Вода і здоров'я людини*: мат. міжнар. міждисциплінарної наук.-практ. конф. 19 – 20 квіт. 2013 р. Ужгород, 2013. С. 246 – 249. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини дослідження, узагальнення отриманих даних, оформлення тез до друку).

10. Коляджин Т. І. Використання астранції великої в народній медицині. *Інновації в медицині*: тези 82-ої наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених з міжнар. участю, 18 – 19 квіт. 2013 р. Івано-Франківськ, 2013. С. 224.

11. Грицик А. Р., Коляджин Т. І. Одержання сухих екстрактів з трави астранції великої. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження рослин* : мат. I Міжнар. наук.-практ. internet-конф., 20 – 21 берез. 2014 р. Харків, 2014. С. 73. (Особистий внесок – збір матеріалу, виконання експериментальної частини, оформлення тез до друку).

12. Коляджин Т. І. Морфологічне дослідження астранції великої. *Інновації в медицині* : тези 83-ої наук.-практ. конф. студентів і молодих вчених із міжнар. участю, 27 – 28 берез. 2014 р. Івано-Франківськ, 2014. С. 194.

13. Грицик А. Р., Сас І. А., Коляджин Т. І. Дослідження гострої токсичності екстрактів видів роду Буквиця та Астранція. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : мат. IV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 16 – 17 жовт. 2014 р. Харків, 2014. С. 90 – 91. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини з дослідження гострої токсичності екстрактів астранції великої, оформлення тез до друку).

14. Коляджин Т. І. Визначення вмісту дубильних речовин в траві астранції великої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : мат. I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 7 – 8 листоп. 2014 р. Харків, 2014. С. 97.

15. Біологічні особливості та агротехніка вирощування деревію звичайного, рути садової, буквиці лікарської, підлісника європейського та астранції великої / Мельник М. В., Грицик А. Р., Нейко О. В., Сас І. А., Легінь Н. І., Коляджин Т. І. *Сучасні аспекти збереження здоров'я людини* : мат. VIII Міжнар. міждисциплінарної наук.-практ. конф., 17 – 18 квіт. 2015 р. Ужгород, 2015. С. 228 – 231. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, виконання експериментальної частини з дослідження агротехніки вирощування астранції великої, оформлення тез до друку).

16. Коляджин Т. І. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот в сировині *Astrantia major* L. *Інновації в медицині* : тези 84-ої наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених із міжнар. участю, 12 – 13 берез. 2015 р. Івано-Франківськ, 2015. С. 169.

17. Перспективи використання підлісника європейського (*Sanicula europea* L.) та астранції великої (*Astrantia major* L.) в медицині та фармації : [монографія] / Грицик Л. М., Легінь Н. І., Коляджин Т. І. Івано-Франківськ, 2017. 100 с. (Особистий внесок – збір матеріалу, його аналіз, оформлення методичних рекомендацій до друку).

АНОТАЦІЯ

Коляджин Т. І. Фармакогностичне дослідження астранції великої (*Astrantia major* L.) – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

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

Дисертаційну роботу присвячено комплексному фармакогностичному дослідженню астранції великої. За допомогою сучасних методів аналізу у досліджуваній сировині встановлено якісний склад та кількісний вміст основних груп БАР: поліфенолів, танінів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, амінокислот, полісахаридів, макро- та мікроелементів, органічних та жирних кислот, летких

сполук. Розроблено оптимальні параметри екстракції БАР з трави астранції великої та отримано сухі екстракти. Досліджено гостру токсичність, кровозупинну, ранозагоювальну, антиексудативну та антибактеріальну активність одержаних екстрактів. Встановлено, що найбільш виражену кровозупинну та антиексудативну активність проявляє екстракт із трави астранції великої (екстрагент – 70 % етиловий спирт). Сухий екстракт астранції великої стандартизовано за вимогами ДФУ та розроблено проект МКЯ «Астранції трави екстракт сухий». На основі отриманих результатів фітохімічних та морфолого-анатомічних досліджень трави астранції великої розроблено проекти МКЯ «Астранції трава» та «Інструкції із заготівлі та сушіння трави астранції».

Ключові слова: астранція велика; фармакогностичне дослідження; біологічно активні речовини; сухий екстракт; антиексудативна, антибактеріальна, кровозупинна, ранозагоювальна активність.

АННОТАЦІЯ

Коляджин Т. И. Фармакогностическое исследование астранции большой (*Astrantia major* L.) – Квалификационный научный труд на правах рукописи.

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

Диссертационная работа посвящена комплексному фармакогностическому исследованию астранции большой. С помощью современных методов анализа в исследуемом сырье установлен качественный состав и количественное содержание основных групп БАВ: полифенолов, танинов, флавоноидов, гидроксикоричных кислот, аминокислот, полисахаридов, макро- и микроэлементов, органических и жирных кислот, летучих веществ. Разработаны оптимальные параметры экстракции БАВ из травы астранции большой, получены сухие экстракты. Исследованы острая токсичность, гемостатическая, ранозаживляющая, антиэкссудативная и антибактериальная активности полученных экстрактов. Установлено, что наиболее выраженную антиэкссудативную и гемостатическую активность проявляет экстракт травы астранции большой (экстрагент – 70 % этиловый спирт). Сухой экстракт астранции большой стандартизован согласно требований Государственной фармакопеи Украины, разработан проект МКК «Астранции травы экстракт сухой». На основе полученных результатов фитохимических и морфолого-анатомических исследований травы астранции большой разработаны проекты МКК «Астранции трава» и «Инструкции по заготовке и сушки травы астранции».

Ключевые слова: астранция большая; фармакогностическое исследование; биологически активные вещества; сухой экстракт; антиэкссудативная, антибактериальная, гемостатическая, ранозаживляющая активность.

ANNOTATION

Koliadzyn T. I. Pharmacognostic research of *Astrantia major* L. – Manuscript.

The thesis for obtaining the Candidate of Pharmaceutical Science degree in specialty 15.00.02 - Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy (226 – Pharmacy, industrial pharmacy). – Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020.

The dissertation is devoted to the resource and biological research of *Astrantia major* L., the extraction of BAS complexes from the herb and the study of their pharmacological activity.

The quantitative content is determined in *Astrantia major* L. herb: the sum of polyphenols (from 3.47 % to 7.65 %); the sum of flavonoids (from 3.67 % to 5.36 %); oxidized polyphenols (from 4.18 % to 6.92 %); ascorbic acid (from 0.154 % to 0.173 %); free organic acids (from 1.09 % to 2.91 %); the sum of hydroxycinnamic acids (from 1.60 % to 6.41 %), depending on the type of raw material, the place of growth and the phase of vegetation.

For the first time, hydroxycinnamic acids of *Astrantia major* L. herb are identified and quantified by the method of high performance liquid chromatography. Chlorogenic (1.02 %), rosemary (0.24 %), caffeic (0.11 %) and ferulic acids (0.055 %) are dominant hydroxycinnamic acids of *Astrantia major* L. herb.

The content of the polysaccharide fractions in *Astrantia major* L. herb is quantified. The content of water-soluble polysaccharides is 2.71 %, pectic substances – 1.59 %, hemicellulose A – 3.31 %, hemicellulose B – 5.31 %.

For the first time, the amino acid content is identified and determined. Analysis of the results shows that *Astrantia major* L. herb contains 17 amino acids, the total content of which is 31.23 mg/100 g. Seven amino acids are essential among the detected ones: threonine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine and lysine. The dominant amino acids for *Astrantia major* L. herb are aspartic acid (13.08 mg/100 g), glycine (12.75 mg/100 g), arginine (10.25 mg/100 g), alanine (9.15 mg/100 g), serine (7.95 mg/100 g). The total amount of essential and non-essential amino acids in *Astrantia major* L. herb is 102.94 mg/100 g.

For the first time, flavonoids are separated into the components and quantified by the method of high performance liquid chromatography. The quantitative content of hyperoside (0.0045 %), rutin (0.18 %), luteolin (0.006 %), quercetin (0.12 %), apigenin (0.066 %) and isoquercetin (0.026 %) is identified and determined.

The concentration of tannins is identified and determined for the first time. *Astrantia major* L. herb contains: gallic acid (0.035 %), gallo catechin (0.668 %), epigallocatechin (1.553 %), catechin (0.614 %), epicatechin (0.315 %), epicatechingallate (0.035 %), gallocatechingallate (0.077 %), and ellagic acid (0.024 %).

For the first time, the presence of 6 microelements (Fe, Zn, Mn, Cu, Pb, Cd) and 3 elements (K, Ca, Mg) are determined and quantified in the investigated object. *Astrantia major* L. herb contains the following micro- and macroelements: Ca (580 mg/100 g), Mg

(187 mg/100 g), K (1670 mg/100 g), Cu (1.93 mg/100 g), Mn (4.07 mg/100 g), Zn (1.25 mg/100 g), Fe (2.44 mg/100 g).

The qualitative composition and quantitative content of volatile compounds are determined by chromatography-mass spectrometry. Fifty components are identified among the volatile compounds of *Astrantia major* L. herb, the main terpenoids are the following: verbenol, 1,2-dimethyl-1,4-cyclohexadiene, thymol, cariofilen, trans- α -bergamotene, β -farnesene, germacrene D, α -farnesene, bicyclogermacrene, spathulenol, caryophyllene oxide, isoliden, calaren, hexahydrofarnesil acetone.

For the first time it is discovered that *Astrantia major* L. herb contains the following fatty acids: palmitoleic, palmitic, linoleic, 6,9,12-octadecatrienoic, ricinoleic, stearic, behenic, lignoceric.

For the first time, the parameters of BAS extraction from *Astrantia major* L. herb are determined. Extracts are non-toxic and show antimicrobial, anti-inflammatory, haemostatic and wound-healing activities. The MQC project «Extract Dry of *Astrantia* Herb» is developed.

The macro- and microscopic signs of whole and crushed raw materials, numerical indices of good quality raw material and the shelf life, which was 3 years old, are determined. According to the results of phytochemical and morphological and anatomical studies, the MQC project “*Astrantia* Herb” is developed.

Herbal drugs have a number of advantages over chemotherapeutic ones. The composition of medicinal plants includes the natural substances that are necessary for the body to function normally such as vitamins, carbohydrates, macro- and microelements, enzymes, hormones, etc. Due to the significant resources, availability of raw materials, the possibility of cultivation the plant material becomes a promising research object for the development of new medicinal products of plant origin.

Key words: *Astrantia major* L., pharmacognostic research, biologically active substances, dry extract, anti-exudative, antibacterial, haemostatic, wound-healing activity.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

BAS	– biologically active substances;
MQC	– methods of quality control;
SPhU	– State Pharmacopoeia of Ukraine;
AAC	– атомно-абсорбційна спектроскопія;
ABV	– екстракт астранції великої (екстрагент – вода очищена);
ABC	– екстракт астранції великої (екстрагент – спирт етиловий 70 %);
BAR	– біологічно активні речовини;
VERX	– високоефективна рідинна хроматографія;
VRPC	– водорозчинні полісахариди;
GX-MS	– газова хроматографія з мас-спектрометричним детектуванням;
ГцА	– геміцелюлоза А;
ГцБ	– геміцелюлоза Б;
ДВНЗ	– державний вищий навчальний заклад;
ДФУ	– Державна фармакопея України;
МКЯ	– методи контролю якості;
ПР	– пектинові речовини;
ПХ	– паперова хроматографія;
ТШХ	– тонкошарова хроматографія;
УФ	– ультрафіолетова спектроскопія.