

Міністерство охорони здоров'я України
Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

СІНІЧЕНКО АННА ВІКТОРІВНА

УДК: 615.322 + 582.689

ДИСЕРТАЦІЯ

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ КУЛЬТИВОВАНИХ ВИДІВ РОДУ
PRIMULA L.

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

22 – охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

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

_____ А. В. Сініченко

Науковий керівник Марчишин Світлана Михайлівна, доктор фармацевтичних наук, професор

Тернопіль – 2020

АНОТАЦІЯ

Сініченко А. В. Фармакогностичне дослідження культивованих видів роду *Primula 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). – Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2020.

Дисертаційна робота присвячена комплексному фармакогностичному вивченню надземних і підземних органів трьох культивованих видів роду *Primula L.* (примули зубчастої (дрібнозубчастої) – *Primula denticulata* Smith, примули Юлії – *Primula juliae* Kuhn., примули скельної – *Primula saxatilis* Kom.). У досліджуваних об'єктах встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст основних груп БАР: кислот органічних та аскорбінової, вуглеводів, жирних та амінокислот, речовин фенольного характеру (кислот гідроксикоричних, флавоноїдів, кумаринів, конденсованих дубильних речовин, антоціанів), тритерпенових сапонінів.

Спектрофотометричним методом встановлено кількісний вміст суми вільних органічних та аскорбінової кислот у надземних та підземних органах *Primula denticulate* Smith, *Primula juliae* Kuhn., та *Primula saxatilis* Kom. Вміст суми вільних кислот органічних у перерахунку на кислоту яблучну становив: у примули зубчастої листках – (1,97±0,01) %, квітках – (1,68±0,01) %, кореневищах з коренями – (1,33±0,01) %; у п. Юлії листках – (1,48±0,01) %, квітках – (1,33±0,01) %, кореневищах з коренями – (1,01±0,01) %; у п. скельної листках – (2,01±0,01) %, квітках – (1,75±0,01) %, кореневищах з коренями – (1,34±0,01) %; вміст кислоти аскорбінової: у п. зубчастої листках – (1,19±0,03) %, квітках – (0,72±0,03) %, у кореневищах з коренями – (0,53±0,02) %; у п. Юлії листках – (1,46±0,04) %, квітках – (1,25±0,05) %, у кореневищах з коренями – (0,44±0,02) %; у п. скельної листках – (1,55±0,06) %, квітках – (1,09±0,04) %, у кореневищах з коренями – (0,51±0,01) %.

Методом ТШХ ідентифіковано такі органічні кислоти: у примули зубчастої

листочках – яблучну, щавлеву, бурштинову, бензойну, саліцилову, винну та лимонну, у квітках – щавлеву, винну, яблучну, бензойну і бурштинову, у кореневищах з коренями – щавлеву, яблучну, лимонну, саліцилову та бензойну; у п. Юлії листках – винну, бензойну, лимонну, яблучну, бурштинову, щавлеву та саліцилову, у квітках – бензойну, бурштинову, лимонну та яблучну, у кореневищі з коренями – щавлеву, лимонну, яблучну, саліцилову та бензойну; у п. скельної листках – яблучну, бурштинову, винну, саліцилову та щавлеву, у квітках – винну, саліцилову, щавлеву, бурштинову, яблучну та бензойну, у кореневищах з коренями – яблучну, щавлеву, саліцилову та бурштинову кислоти.

Спектрофотометричним методом у трьох культивованих видах роду *Primula L.* визначено кількісний вміст сполук фенольної природи: суми фенольних сполук (у листках – $(5,20 \pm 0,03)$ %, $(5,06 \pm 0,02)$ %, $(5,47 \pm 0,03)$ %; у квітках – $(4,98 \pm 0,02)$ %, $(4,90 \pm 0,02)$ %, $(6,24 \pm 0,02)$ %; у кореневищах з коренями – $(1,11 \pm 0,02)$ %, $(1,46 \pm 0,01)$ %, $(0,87 \pm 0,01)$ %); суми гідроксикоричних кислот (у листках – $(4,20 \pm 0,02)$ %, $(3,96 \pm 0,02)$ %, $(6,24 \pm 0,03)$ %; у квітках – $(3,74 \pm 0,01)$ %, $(4,63 \pm 0,02)$ %, $(4,98 \pm 0,02)$ %; у кореневищах з коренями – $(2,01 \pm 0,01)$ %, $(1,49 \pm 0,01)$ %, $(2,40 \pm 0,01)$ %); суми флавоноїдів (у листках – $(4,64 \pm 0,02)$ %, $(3,91 \pm 0,04)$ %, $(2,19 \pm 0,01)$ %; у квітках – $(4,32 \pm 0,01)$ %, $(3,85 \pm 0,02)$ %, $(3,06 \pm 0,02)$ %; у кореневищах з коренями – $(0,08 \pm 0,01)$ %, $(1,09 \pm 0,01)$ %, $(0,29 \pm 0,01)$ %); танінів (у листках – $(2,35 \pm 0,01)$ %, $(1,61 \pm 0,01)$ %, $(2,38 \pm 0,01)$ %; у квітках – $(1,80 \pm 0,01)$ %, $(1,46 \pm 0,01)$ %, $(2,38 \pm 0,01)$ %; у кореневищах з коренями – $(1,64 \pm 0,01)$ %, $(1,11 \pm 0,02)$ %, $(1,64 \pm 0,01)$ %); поліфенолів (у листках – $(8,01 \pm 0,01)$ %, $(7,43 \pm 0,01)$ %, $(8,95 \pm 0,01)$ %; у квітках – $(7,94 \pm 0,01)$ %, $(7,21 \pm 0,01)$ %, $(8,86 \pm 0,01)$ %; у кореневищах з коренями – $(7,32 \pm 0,01)$ %, $(5,24 \pm 0,04)$ %, $(7,35 \pm 0,01)$ % відповідно). У примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної квітках визначено кількісний вміст антоціанів – $(1,08 \pm 0,03)$ %, $(1,12 \pm 0,03)$ %, $(0,95 \pm 0,02)$ % відповідно. Методом ВЕРХ у трьох досліджуваних об'єктах визначено індивідуальні фенольні сполуки: у листках та квітках – компоненти дубильних речовин (епігалокатехін, галокатехін, катехін, епікатехін, епікатехін галат, катехін галат) та вільні кислоти галову і елагову; у надземних та підземних органах індивідуальні гідроксикоричних кислоти (гідроксифенілоцтову, хлорогенову, розмаринову, кофейну, *p*-кумарову,

ферулову, сирінгову, синапову, цинамову та хінну кислоти), флавоноїдів (кверцетин, ізокверцитрин, лютеолін, апігенін, гіперозид, рутин, кемпферол) та кумарини (скополетин, умбеліферон, кумарин.). У найбільшій кількості в примули зубчастої листках містяться епігалокатехін, ізокверцитрин та р-кумарова кислота – 1,25 %, 0,44 % та 0,07 % відповідно, у квітках – епігалокатехін, ізокверцитрин та розмаринова кислота (0,35 %, 0,61 % та 0,41 % відповідно), у кореневищах з коренями – рутин (0,016 %) та хлорогенова кислота (0,005 %); у п. Юлії листках – галокатехін, апігенін та р-кумарова кислота (0,92 %, 0,32 % та 0,01 % відповідно), у квітках – епігалокатехін, апігенін та хлорогенова кислота (0,46 %, 0,37 % та 0,28 % відповідно), у кореневищах з коренями – рутин (0,05 %) та хлорогенова кислота (0,004 %); у п. скельної листках – епігалокатехін, апігенін та кофейна кислота (0,45 %, 0,17 % та 0,27 % відповідно), у квітках – епігалокатехін, апігенін та хлорогенова кислота (3,21 %, 0,25 % та 0,19 % відповідно), у кореневищах з коренями рутин (0,014 %) та ферулова кислота (0,006 %).

Методом ГХ/МС у надземних та підземних органах примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної встановлено вміст жирних кислот: п. зубчастої листки містять 9 жирних кислот, квітки – 13, кореневища з коренями – 10; п. Юлії листки – 7 жирних кислот, квітки та кореневища з коренями по 10; надземні та підземні органи п. скельної містять по 11 жирних кислот. З ненасичених жирних кислот переважає лінолева, що домінує у примули зубчастої кореневищах з коренями – 70,49 мг/г, п. Юлії та п. зубчастої листках – 51,9 мг/г, 43,96 мг/г відповідно, а також α -ліноленова, що домінує у п. зубчастої листках – 88,63 мг/г; з насичених жирних кислот переважає пальмітинова, що домінує у п. зубчастої та п. Юлії листках – 46,27 мг/г, 45,16 мг/г відповідно.

Методом ВЕРХ встановлено амінокислотний склад листків та кореневищ з коренями трьох досліджуваних видів примул, виявлено у листків та кореневищ з коренями по 16 амінокислот. Серед замінних амінокислот у примули зубчастої листках, п. Юлії та п. скельної переважає глютамінова кислота, серед незамінних – лейцин. У примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної кореневищах з коренями кількісно домінує аргінін.

Методом ГХ/МС встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст моноцукрів та сахарози. У примули зубчастої листках виявлено 6 цукрів, у квітках – 5; у п. Юлії листках ідентифіковано 7 цукрів, у квітках – 5; у п. скельної листках – 5 цукрів, у квітках – 6. Спільними для сировини трьох досліджуваних об'єктів є зв'язані D-глюкоза і D-галактоза. Домінуючою у всіх об'єктах є зв'язана D-глюкоза, найбільша кількість якої міститься у примули зубчастої листках – 1101,52 мг/кг та п. Юлії квітках – 808,91 мг/кг.

Спектрофотометричним методом, у перерахунку на есцин, встановлено кількісний вміст сапонінів у примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної листках і підземних органах – $(0,61 \pm 0,03)$ % і $(1,79 \pm 0,06)$ %; $(0,32 \pm 0,02)$ % і $(0,98 \pm 0,04)$ %; $(0,45 \pm 0,02)$ % і $(1,54 \pm 0,07)$ % відповідно.

Встановлено основні діагностичні морфологічні та анатомічні ознаки досліджуваної сировини примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної, які будуть використані з метою ідентифікації даних видів. Досліджувані параметри використано при розробці проектів методів контролю якості (МКЯ) на нову лікарську рослину сировину «Примули зубчастої кореневища з коренями», «Примули зубчастої листки», «Примули скельної кореневища з коренями», «Примули скельної листки», «Примули Юлії кореневища з коренями», «Примули Юлії листки».

Одержано густі екстракти з примули зубчастої листків та з кореневищ з коренями. Як екстрагент, що вилучає максимальну кількість БАР (суми флавоноїдів, суми гідроксикоричних кислот, суми фенольних сполук та сапонінів) з примули зубчастої листків обрано 70 % етанол, а з кореневищ з коренями – 40 % етанол. Запропоновано стандартизувати густий екстракт з примули зубчастої листків за вмістом суми гідроксикоричних кислот, що повинна становити не менше $(11,12 \pm 0,18)$ % та вмістом сапонінів (не менше $(3,81 \pm 0,09)$ %); густий екстракт з кореневищ з коренями – за вмістом сапонінів (не менше $(4,13 \pm 0,09)$ %). Розроблено проекти МКЯ на одержані субстанції «Примули зубчастої листків екстракт густий» та «Примули зубчастої кореневищ з коренями екстракт густий».

Проведено фармакологічні дослідження та визначено гостру токсичність густих екстрактів з примули зубчастої листків та з кореневищ з коренями, встановлено наявність протизапальних, відхаркувальних та антимікробних властивостей. За результатами визначення гострої токсичності досліджувані екстракти віднесено до V класу токсичності сполук за класифікацією К. К. Сидорова (практично нетоксичні речовини – $LD_{50} \geq 5000$ мг/кг).

Встановлено, що найвищу антиексудативну активність проявляв густий екстракт з примули зубчастої листків у дозі 200 мг/кг маси тіла тварини, яка становила 31,6 %, і була у 2,2 рази менше активності референс-препарату натрію диклофенаку. Відхаркувальна активність була вираженішою у густого екстракту з примули зубчастої кореневищ з коренями у дозі 200 мг/кг і була аналогічна активності референс-препарату краплям «Геделікс» (45,0 % і 44,6 % відповідно).

Досліджено антимікробну активність густих екстрактів з примули зубчастої листків та з кореневищ і коренів. Доведено, що більш виражені антимікробні властивості проявляє густий екстракт з примули зубчастої листків. По відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* та *Corynebacterium* spp. він проявляє виражену бактерицидну дію.

Ключові слова: рід *Primula L.*, фармакогностичне дослідження, густий екстракт, протизапальна, відхаркувальна, антимікробна активність.

ANNOTATION

Sinichenko A. V. Pharmacognostical research of cultivated species of the genus *Primula L.* – Qualifying research paper, manuscript copyright.

Thesis for the Candidate Degree in Pharmaceutical Sciences, specialty «Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy» (226 – Pharmacy, industrial pharmacy). – I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2020.

The thesis presents results of the comprehensive pharmacognostical study of over ground and underground organs of three cultivated species of the genus *Primula L.*

(drumstick primrose – *Primula denticulate* Smith, Julia's primrose – *Primula juliae* Kusn., rock primrose – *Primula saxatilis* Kom.). For the studied objects, we have determined qualitative and quantitative composition of the major groups of BAS: ascorbic and organic acids, carbohydrates, amino and fatty acids, phenolic substances (hydroxycinnamic acids, flavonoids, coumarins, condensed tannins, anthocyanins), triterpenoid saponins.

By the spectrophotometric method for the over ground and underground organs of *Primula denticulate* Smith, *Primula juliae* Kusn., та *Primula saxatilis* Kom. we have determined the quantitative content of ascorbic acid and free organic acids. The amount of free organic acids was: in the drumstick primrose leaves – $(1,97 \pm 0,01)$ %, in the flowers – $(1,68 \pm 0,01)$ %, in the rhizomes with roots – $(1,33 \pm 0,01)$ %; in the Julia's primrose leaves – $(1,48 \pm 0,01)$ %, in the flowers – $(1,33 \pm 0,01)$ %, in the rhizomes with roots – $(1,01 \pm 0,01)$ %; in the rock primrose leaves – $(2,01 \pm 0,01)$ %, in the flowers – $(1,75 \pm 0,01)$ %, in the rhizomes with roots – $(1,34 \pm 0,01)$ %; content of ascorbic acid: in the drumstick primrose leaves – $(1,19 \pm 0,03)$ %, in the flowers – $(0,72 \pm 0,03)$ %, in the rhizomes with roots – $(0,53 \pm 0,02)$ %; in the Julia's primrose leaves – $(1,46 \pm 0,04)$ %, in the flowers – $(1,25 \pm 0,05)$ %, in the rhizomes with roots – $(0,44 \pm 0,02)$ %; in the rock primrose leaves – $(1,55 \pm 0,06)$ %, in the flowers – $(1,09 \pm 0,04)$ %, in the rhizomes with roots – $(0,51 \pm 0,01)$ %.

By TLC method we identified the following organic acids: in the drumstick primrose leaves – oxalic, succinic, benzoic, salicylic, tartaric and citric, in the flowers – oxalic, tartaric, malic, benzoic and succinic, in the rhizomes with roots – oxalic, malic, citric, salicylic and benzoic; in the Julia's primrose leaves – tartaric, benzoic, citric, malic, succinic, oxalic and salicylic, in the flowers – benzoic, succinic, citric and malic acids, in the rhizomes with roots – oxalic, citric, malic, salicylic and benzoic; in the rock primrose leaves – malic, succinic, tartaric, salicylic and oxalic, in the flowers – tartaric, salicylic, oxalic, succinic, malic and benzoic acids, in the rhizomes with roots – malic, oxalic, salicylic and succinic acids.

Using the spectrophotometric method we defined the quantitative content of phenolic substances in the drumstick primrose, Julia's primrose, rock primrose as follows: amount of phenolic compounds (in the leaves – $(5,20 \pm 0,03)$ %, $(5,06 \pm 0,02)$ %, $(5,47 \pm 0,03)$ %; in the flowers – $(4,98 \pm 0,02)$ %, $(4,90 \pm 0,02)$ %, $(6,24 \pm 0,02)$ %; in the rhizomes with roots –

(1,11±0,02) %, (1,46±0,01) %, (0,87±0,01) %); amount of hydroxycinnamic acids (in the leaves – (4,20±0,02) %, (3,96±0,02) %, (6,24±0,03) %; in the flowers – (3,74±0,01) %, (4,63±0,02) %, (4,98±0,02) %; in the rhizomes with roots – (2,01±0,01) %, (1,49±0,01) %, (2,40±0,01) %); amount of flavonoids (in the leaves – (4,64±0,02) %, (3,91±0,04) %, (2,19±0,01) %; in the flowers – (4,32±0,01) %, (3,85±0,02) %, (3,06±0,02) %; in the rhizomes with roots – (0,08±0,01) %, (1,09±0,01) %, (0,29±0,01) %); tannins (in the leaves – (2,35±0,01) %, (1,61±0,01) %, (2,38±0,01) %; in the flowers – (1,80±0,01) %, (1,46±0,01) %, (2,38±0,01) %; in the rhizomes with roots – (1,64±0,01) %, (1,11±0,02) %, (1,64±0,01) %); polyphenols (in the leaves – (8,01±0,01) %, (7,43±0,01) %, (8,95±0,01) %; in the flowers – (7,94±0,01) %, (7,21±0,01) %, (8,86±0,01) %; in the rhizomes with roots – (7,32±0,01) %, (5,24±0,04) %, (7,35±0,01) %) respectively. In the drumstick primrose, Julia's primrose and rock primrose flowers we have determined quantitative content of anthocyanins – (1,08±0,03) %, (1,12±0,03) %, (0,95±0,02) % respectively. By the method of high performance liquid chromatography (HPLC) in the three research objects revealed the qualitative composition and quantitative content of individual phenolic compounds: in the leaves and flowers – components of tannins (epigallocatechin, galocatechin, catechin, epicatechin, epicatechin gallate, catechin gallate) and free acids – gallic and ellagic; in the over ground and underground organs individual hydroxycinnamic acids (hydroxyphenylacetic, chlorogenic, rosmarinic, caffeic, *p*-coumaric, ferulic, syringic, sinapic, cinnamic and quinin acids), flavonoids (quercetin, isoquercitrin, luteolin, apigenin, hyperoside, rutin, kaempferol) and coumarins (scopoletin, umbelliferone, coumarin). In the largest amount drumstick primrose leaves are contained epigallocatechin, isoquercitrin and *p*-coumaric acid – 1,25 %, 0,44 % and 0,07 % respectively, in the flowers – epigallocatechin, isoquercitrin and rosmarinic rosmarinic acid (0,35 %, 0,61 % and 0,41 % respectively), in the rhizomes with roots – rutin (0,016 %) and chlorogenic acid (0,005 %); in the Julia's primrose leaves – galocatechin, apigenin and *p*-coumaric acid (0,92 %, 0,32 % and 0,01 % respectively), in the flowers – epigallocatechin, apigenin and chlorogenic acid (0,46 %, 0,37 % and 0,28 % respectively), in the rhizomes with roots – rutin (0,05 %) and chlorogenic acid (0,004 %); in the rock primrose leaves – epigallocatechin, apigenin and caffeic acid (0,45 %, 0,17 % and 0,27 % respectively), in the flowers – epigallocatechin,

apigenin and chlorogenic acid (3,21 %, 0,25 % and 0,19 % respectively), in the rhizomes with roots – rutin (0,014 %) and ferulic acid (0,006 %).

By the GC/MS method for the over ground and underground organs of drumstick primrose, Julia's primrose, rock primrose was found the presence of fatty acids: drumstick primrose leaves contain 9 fatty acids, flowers – 13, rhizomes with roots – 10; Julia's primrose leaves – 7 fatty acids, flowers and rhizomes with roots each 10; over ground and underground organs of rock primrose contain each 11 fatty acids. Of unsaturated fatty acids, linoleic is predominant, which dominates in the drumstick primrose rhizomes with roots – 70,49 mg/g, Julia's and rock primroses leaves – 51,9 mg/g, 43,96 mg/g respectively, also α -linolenic, which dominates in the drumstick primrose leaves – 88,63 mg/g; of the saturated fatty acids palmitic prevails, which dominates in the drumstick and Julia's primrose leaves – 46,27 mg/g, 45,16 mg/g, respectively.

By the HPLC method studied the amino acid content of drumstick, Julia's and rock primroses leaves and rhizomes with roots, it was found each 16 amino acid. Among the essential amino-acids in the drumstick, Julia's and rock primroses leaves glutamic acid prevails, among the nonessential – leucine. In the drumstick primrose, Julia's primrose, rock primrose rhizomes with roots arginine quantitatively prevails. The GC/MS method have determined qualitative and quantitative content of mono sugars and sucrose. In the drumstick primrose leaves was found 6 sugars, in the flowers – 5; in the Julia's primrose leaves was identify 7 sugars, in the flowers – 5; in the rock primrose leaves – 5 sugars, in the flowers – 6. For the raw material of three researched objects related D-glucose and D-galactose are joint. Predominant in the all objects is related D-glucose, the largest amount of D-glucose contains the drumstick primrose leaves – 1101,52 mg/kg and Julia's primrose flowers – 808,91 mg/kg.

Using the spectrophotometric method, we have established the quantitative content of saponins in the drumstick, Julia's and rock primroses leaves and underground organs, that was $(0,61 \pm 0,03) \%$ and $(1,79 \pm 0,06) \%$; $(0,32 \pm 0,02) \%$ and $(0,98 \pm 0,04) \%$; $(0,45 \pm 0,02) \%$ and $(1,54 \pm 0,07) \%$ respectively.

The basic diagnostic morphological and anatomical characteristics of the investigated raw material of drumstick primrose, Julia's primrose, rock primrose was determined, which

allow it identifying and diversifying. Studied parameters were used to develop quality control methods (QCM) for a new medicinal raw material «Drumstick primrose rhizomes with roots», «Drumstick primrose leaves», «Rock primrose rhizomes with roots», «Rock primrose leaves», «Julia's primrose rhizomes with roots», «Julia's primrose leaves».

It was obtain dense extracts of drumstick primrose from leaves and rhizomes with roots. 70% ethanol was selected as the extractant that extracted the maximum amount of BAR (sums of flavonoids, sums of hydroxycoric acids, sums of phenolic compounds and saponins) for drumstick primrose leaves and 40% ethanol for rhizomes with roots. It was suggested to standardize an obtained drumstick primrose dense extract from the leaves by at least $11,12 \pm 0,18$ % content of hydroxycinnamic acids and saponins content – at least $3,81 \pm 0,09$ %; dense extract from the rhizomes with roots – by the content of saponins (at least $4,13 \pm 0,09$ %). The projects of QCM the obtaining of substances «Drumstick primrose dense leaves extract» and «Drumstick primrose dense rhizomes with roots extract» were elaborated.

Pharmacological studies have been conducted and the acute toxicity of drumstick primrose dense extracts from leaves and rhizomes with roots was investigated, established the presence of anti-inflammatory, expectorant and antimicrobial properties. By the result of acute toxicity investigation researched extracts were referred to the V class of the substances toxicity according to K. K. Sidorov classification (practically nontoxic substances – $LD_{50} \geq 5000$ mg/kg).

It was found that the highest activity was shown by the drumstick primrose dense extract leaves at a dose 200 mg/kg body weight of the animal, which was 31,6%, and was in 2,2 times lesser than activity of the reference drug sodium diclofenac. A distinct expectorant activity was investigated in a drumstick primrose dense extract from rhizomes with roots at a dose of 200 mg/kg, which was similar to the activity of the reference drug drops «Gedeliks» (45,0% and 44,6%, respectively).

The antimicrobial activity of the drumstick primrose dense extracts from leaves and rhizomes with roots was investigated. It is proved that the pronounced bactericidal action exhibits a drumstick primrose dense extract of leaves with respect to *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Corynebacterium* spp.

Keywords: genus *Primula L.*, pharmacognostical study, dense extract, anti-inflammatory, expectorant, antimicrobial activity.

Список публікацій здобувача

1. Марчишин С. М., Сініченко А. В., Сіра Л. М. Дослідження анатомічної будови надземних органів *Primula Juliae* Kusn. *Фармацевтичний часопис*. 2016. № 3 (39). С. 5-10. (*Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання глав монографії*).

2. Сініченко А. В., Марчишин С. М., Сіра Л. М. Макро- і мікроскопічне дослідження листків і квіток культивованого виду роду *Primula L.* – примули дрібнозубчастої. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 1 (48). С. 46-52. (*Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання глав монографії*).

3. Дослідження морфолого-анатомічної будови підземних органів культивованих видів роду *Primula L.* / А. В. Сініченко, С. М. Марчишин, Л. М. Сіра, М. І. Луканюк. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 1(54). С. 55-63. (*Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання глав монографії*).

4. Вміст сапонінів у листках і кореневищах з коренями культивованих видів роду *Primula L.* / А. В. Сініченко, С. М. Марчишин, Л. І. Стойко, Л. В. Слободянюк. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, № 4. С. 125-129. (*Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання глав монографії*).

5. Дослідження фенольних сполук у кореневищах з коренями *Primula denticulate* Smith, *Primula juliae* Kusn., *Primula saxatilis* Kom / А. В. Сініченко, С. М. Марчишин, Л. В. Слободянюк, Л. І. Будняк. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 3. С. 26-31. (*Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання глав монографії*).

6. Marchyshyn S. M., Sinichenko A. V. Investigation of phenolic compounds about ground organs of cultivated species genus *Primula L.* *The Pharma Innovation Journal*. 2016. № 5 (10). P. 38-42. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, статистичну обробку матеріалу, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання глав монографії).

7. Марчишин С. М., Сіра Л. М., Сініченко А. В. Анатомічна будова листя і квіток первоцвіту (примули) скельної (*Primula saxatilis* Komar). *Лікарські рослини: традиції і перспективи досліджень*: матеріали III Міжнар. наук. конф., 14-15 липн. 2016 р. К., 2016. С. 59-67. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання глав монографії).

8. Сініченко А. В. Дослідження гідроксикоричних кислот у сировині *Primula denticulata*, *Primula Juliae*, *Primula saxatilis*. *Хімія природніх сполук* : матеріали IV Всеукраїнської науково-практ. конф. з міжнародною участю, 21-22 квіт. 2016 р. Т., 2016. С. 53-54.

9. Determination of flavonoids in flowers of herbs from *Primula* genus by HPLC method / A. Sinichenko, L. Shostak, S. Marchyshyn, S. Kozachok. *The application of analytical methods for the development of natural products*: materials of 10th International Symposium on Chromatography of Natural Products, June 6-9, 2016. Lublin, 2016. P. 165. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання тез).

10. Марчишин С. М., Сініченко А. В. Амінокислотний склад культивованих видів роду *Primula L.* *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VI науково-практ. конф. з міжнародною участю, 10-11 листоп. 2016 р. Т., 2016. С. 62-63. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, статистичну обробку результатів, огляд літературних джерел та написання тез).

11. Сініченко А. В., Довганюк Д. З. Дослідження дубильних речовин надземних органів культивованих видів роду *Primula L.* методом ВЕРХ. *Інновації в медицині*: матер.86-ї науково-практ. конф. студентів і молодих вчених з

міжнародною участю, 23-24 берез. 2017 р. Івано-Франківськ, 2017. С. 131. (*Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, статистичну обробку результатів та написання тез*).

12. Сініченко А. В., Марчишин С. М. Дослідження органічних кислот культивованих видів роду *Primula L.* *Інновації в медицині*: матер. 87-ї науково-практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнародною участю, 22-23 берез. 2018 р. Івано-Франківськ, 2018. С. 106–107. (*Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, статистичну обробку результатів, огляд літературних джерел та написання тез*).

13. Визначення насипної густини подрібнених листків примули дрібнозубчастої (*Primula denticulata* Smith.) / В. І. Сохацький, М. М. Васенда, Л. І. Будняк, А. В. Сініченко. *Хімія природних сполук*: матеріали V Всеукраїнської науково-практ. конф. з міжнародною участю, 30-31 трав. 2019 р. Т., 2019. С. 140-141. (*Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів та написання тез*).

14. Слободянюк Л. В., Сініченко А. В., Демидяк О. Л. Вивчення гострої токсичності густого екстракту з листя примули дрібнозубчастої (*Primula denticulata* Smith.). *Актуальні питання фармакології та фармакотерапії* : матеріали Всеукраїнської науково-практ. конф., 26-27 верес. 2019 р. Т., 2019. С. 67. (*Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, статистичну обробку результатів та написання тез*).

15. Дослідження протизапальної активності примули дрібнозубчастої листків екстракту густого / С. М. Марчишин, А. В. Сініченко, Л. І. Будняк, Л. В. Слободянюк, Г. Р. Козир. *Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації* : матеріали наук.-практ. internet-конф., 22-23 жовт. 2019 р. Х. : НФаУ, 2019. С. 284. (*Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів та написання тез*).

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	18
ВСТУП.....	20
РОЗДІЛ 1 БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД, ВИКОРИСТАННЯ У НАРОДНІЙ ТА НАУКОВІЙ МЕДИЦИНІ КУЛЬТИВОВАНИХ ВИДІВ РОДУ <i>PRIMULA L.</i> (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	29
1.1 Ботанічна характеристика та розповсюдження рослин роду Примула (<i>Primula L.</i>) – примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної.....	29
1.2 Хімічний склад видів роду.....	42
1.3 Використання видів роду Примула у народній та науковій медицині.....	43
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	50
2.1 Об'єкти дослідження.....	50
2.2 Короткі відомості про прилади, методи і реактиви.....	50
2.3 Встановлення якісного та визначення кількісного вмісту БАР у примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної.....	52
2.3.1 Визначення кислоти аскорбінової.....	52
2.3.2 Визначення органічних кислот	52
2.3.3 Визначення жирних кислот	53
2.3.4 Визначення вуглеводів	54
2.3.5 Визначення амінокислот	55
2.3.6 Визначення суми фенольних сполук	56
2.3.7 Визначення кислот гідроксикоричних	56
2.3.8 Визначення флавоноїдів та кумаринів	60
2.3.9 Визначення дубильних речовин	65
2.3.10 Визначення антоціанів	68
2.3.11 Визначення сапонінів	69

2.4 Дослідження гострої токсичності та фармакологічної активності густого екстракту з примули зубчастої листків та густого екстракту з примули зубчастої кореневищ з коренями	70
2.4.1 Вивчення гострої токсичності екстрактів з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями	70
2.4.2 Вивчення протизапальної дії густих екстрактів з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями	70
2.4.3 Вивчення відхаркувальної дії густих екстрактів з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями	71
2.4.4 Вивчення антимікробної дії густих екстрактів з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями	72
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У НАДЗЕМНИХ І ПІДЗЕМНИХ ОРГАНАХ ПРИМУЛИ ЗУБЧАСТОЇ, П. ЮЛІЇ, П. СКЕЛЬНОЇ.....	75
3.1 Визначення кислоти аскорбінової	75
3.2 Визначення органічних кислот	76
3.3 Визначення жирних кислот	79
3.4 Визначення вуглеводів	86
3.5 Визначення амінокислот	93
3.6 Визначення суми фенольних сполук	101
3.6.1 Визначення гідроксикоричних кислот.....	102
3.6.2 Визначення флавоноїдів та кумаринів.....	111
3.6.3 Визначення дубильних речовин.....	120
3.6.4 Визначення антоціанів	127
3.7 Визначення сапонінів	128
ВИСНОВКИ.....	130
РОЗДІЛ 4 МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНИЙ АНАЛІЗ НАДЗЕМНИХ ТА ПІДЗЕМНИХ ОРГАНІВ ПРИМУЛІ ЗУБЧАСТОЇ, П. ЮЛІЇ ТА П. СКЕЛЬНОЇ.....	134

4.1 Морфолого-анатомічний аналіз надземних та підземних органів примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної.....	134
4.1.1 Макроскопічний аналіз надземних органів примули зубчастої (<i>Primula denticulate</i> Smith).....	134
4.1.2 Макроскопічний аналіз підземних органів примули зубчастої (<i>Primula denticulate</i> Smith).....	135
4.1.3 Мікроскопічний аналіз надземних органів примули зубчастої (<i>Primula denticulate</i> Smith).....	135
4.1.4 Мікроскопічний аналіз підземних органів примули зубчастої (<i>Primula denticulate</i> Smith).....	141
4.2 Морфолого-анатомічний аналіз надземних та підземних органів примули Юлії.....	143
4.2.1 Макроскопічний аналіз надземних органів примули Юлії (<i>Primula juliae</i> Kusn.).....	143
4.2.2 Макроскопічний аналіз підземних органів примули Юлії (<i>Primula juliae</i> Kusn.).....	144
4.2.3 Мікроскопічний аналіз надземних органів примули Юлії (<i>Primula juliae</i> Kusn.).....	144
4.2.4 Мікроскопічний аналіз підземних органів примули Юлії (<i>Primula juliae</i> Kusn.).....	148
4.3 Морфолого-анатомічний аналіз надземних та підземних органів примули скельної.....	149
4.3.1 Макроскопічний аналіз надземних органів примули скельної (<i>Primula saxatilis</i> Kom.).....	149
4.3.2 Макроскопічний аналіз підземних органів примули скельної (<i>Primula saxatilis</i> Kom.).....	151
4.3.3 Мікроскопічний аналіз надземних органів примули скельної (<i>Primula saxatilis</i> Kom.).....	151
4.3.4 Мікроскопічний аналіз підземних органів примули скельної (<i>Primula saxatilis</i> Kom.).....	156

	17
ВИСНОВКИ.....	159
РОЗДІЛ 5 ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЙ З ПРИМУЛИ ЗУБЧАСТОЇ ЛИСТКІВ І КОРЕНЕВИЩ З КОРЕНЯМИ ТА ВИВЧЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ АКТИВНОСТЕЙ.....	162
5.1 Одержання субстанції з примули зубчастої листків та дослідження її хімічного складу.....	162
5.2 Одержання субстанції з примули зубчастої кореневищ з коренями та дослідження її хімічного складу.....	165
5.3 Вивчення гострої токсичності густих екстрактів з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями	167
5.4 Вивчення протизапальної дії густих екстрактів з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями	172
5.5 Вивчення відхаркувальної дії густих екстрактів з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями	174
5.6 Вивчення антимікробної дії густих екстрактів з примули зубчастої листоків та кореневищ з коренями	178
ВИСНОВКИ.....	180
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	183
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	186
ДОДАТКИ.....	204

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЕА	– антиексудативна активність;
БАД	– біологічно активні добавки;
БАР	– біологічно активні речовини;
ВАК	– вільні амінокислоти;
ВЕРХ	– високоефективна рідинна хроматографія;
ВООЗ	– Всесвітня організація охорони здоров'я;
ГЕ	– густий екстракт;
ГЕПЗКК	– густий екстракт з примули зубчастої кореневищ з коренями;
ГЕПЗЛ	– густий екстракт з примули зубчастої листків;
ГКК	– гідроксикоричні кислоти;
ГЕП	– густий екстракт примули;
ГХ/МС	– газова хроматографія з мас-спектрометрією;
ДЕЦ МОЗ України	– Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України;
ДМСО	– диметилсульфоксид;
ДФУ	– Державна Фармакопея України;
ДФЦ МОЗ України	– Державний Фармакологічний Центр Міністерства охорони здоров'я України;
ЗАК	– зв'язані амінокислоти;
МКЯ	– методи контролю якості;
ПЗ	– примула зубчаста;
ПС	– примула скельна;
ПХ	– хроматографія на папері;
ПЮ	– примула Юлії;
США	– Сполучені Штати Америки;
ТШХ	– тонкошарова хроматографія;
ФЕК	– фотоелектроколориметр;

ФСЗ ДФУ	– фармакопейний стандартний зразок;
х.ч.	– хімічно чистий;
ЦНС	– центральна нервова система;
ч.д.а.	– чистий для аналізу.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Упродовж усієї історії людства рослини були джерелом не тільки харчових продуктів, а й цінних лікарських засобів. Сьогодні світова фармацевтична промисловість широко використовує рослинну сировину, як основу для створення лікарських засобів. Сучасна номенклатура рослинних препаратів, за даними фахівців, у різних країнах складає 30-50 % від загального об'єму ліків, що випускаються. За даними ВООЗ ринок фітопрепаратів становить 60 мільярдів доларів США. В країнах Європи та США виробництво рослинних препаратів випереджає випуск інших (Т. П. Гарник та ін., 2008).

В Україні близько 52 % усіх лікарських засобів виготовляється на основі рослинної сировини. А за рахунок випуску однойменної продукції частка вітчизняних фітопрепаратів може складати 60–70 %. В Україні є достатні сировинні ресурси дикорослих та культивованих лікарських рослин, необхідний промисловий та науковий потенціал для того, щоб забезпечити подальший розвиток створення та виробництва фітохімічних препаратів (Н. І. Паляничко та ін., 2019).

Наразі триває пошук нових видів рослин, які могли б слугувати джерелом біологічно активних сполук, таких як флавоноїди, кумарини, гідроксикоричні кислоти, алкалоїди, сапоніни, амінокислоти та ін. (Л. Шиленко, 2010).

Тому одним із основних завдань, що стоїть сьогодні перед сучасною фармацевтичною наукою та виробництвом, є пошук нових джерел біологічно активних субстанцій для створення нових високоефективних та безпечних для організму людини з різноманітною фармакологічною активністю лікарських засобів, потреба в яких в даний час висока.

Таким перспективним джерелом БАР є рослини роду Примула (*Primula L.*), які здавна застосовувались у народній медицині та за попередніми дослідженнями містять цілу низку БАР. Відвар кореневищ з коренями примул використовують у народній медицині як відхаркувальний засіб при катарах верхніх дихальних шляхів, хронічних трахеїтах і бронхітах, бронхопневмоніях, туберкульозі легень. Настій

листя застосовують як знеболювальний засіб при ревматизмі, як сечогінний – при хворобах нирок і сечового міхура. Настій квіток як потогінний і відхаркувальний засіб застосовують при гарячці, бронхітах, як протизапальний засіб – при запаленні ясен, як загальнозміцнювальний – при мігрені, неврозах, безсонні, тахікардії.

З лікувальною метою в Україні використовується первоцвіт весняний (*Primula veris* L.), решта видів є квітково-декоративні, тому рослини даного роду потребують поглибленого фітохімічного дослідження з використанням сучасних методів фармакогностичного аналізу. Інтерес представляють три культивованих види роду *Primula* L. – примула зубчаста (*Primula denticulate* Smith), примула Юлії (*Primula juliae* Kusun.) та примула скельна (*Primula saxatilis* Kom.) (Г. В. Белик та ін., 2017).

Аналіз джерел літератури показав, що фармакогностичному вивченню первоцвіту весняного присвячено роботи російських вчених Латипової Г. М., Давлетшиної Р. Я., Іванової Д. Ф. (2013 р.) та Борисової Д. О. (2012 р.). В Україні вивченням первоцвіту весняного займалася Шостак Л. Г., яка провела комплексне фармакогностичне вивчення даного дикорослого виду (2017 р.).

Враховуючи те, що сировинні запаси первоцвіту весняного з кожним роком зменшуються, дослідження культивованих видів роду *Primula* L. з метою створення на основі їх БАР лікарських засобів з відхаркувальною і протизапальною активністю є актуальним.

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

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних програм кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою фармацевтичного факультету Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України «Фармакогностичне вивчення культивованих і дикорослих лікарських рослин; фізико-хімічні дослідження продуктів перетворення 1,3-диметилксантину та стандартизація, фармакологічні і фармакотехнологічні випробування лікарських засобів» (номер Державної реєстрації 0115 U003359) та «Пошук нових видів лікарських рослин, фармакогностичне та фармакологічне обґрунтування ефективності їх біологічно активних речовин» (номер Держреєстрації 0118U004982). Особиста участь полягає у комплексному фармакогностичному дослідженні трьох

культивованих видів роду *Primula L.* – примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної, як перспективного джерела для отримання лікарських засобів, що проявляють протизапальну, відхаркувальну та антимікробну дії.

Мета і завдання дослідження

Метою дисертаційної роботи було фармакогностичне дослідження трьох культивованих видів роду *Primula L.* – примули зубчастої (дрібнозубчастої), примули Юлії та примули скельної для виявлення нових перспективних джерел біологічно активних речовин, стандартизація сировини і одержаних субстанцій, встановлення їх фармакологічної активності.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- провести фітохімічний аналіз листків, квіток та кореневищ з коренями примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної. Виявити основні групи БАР досліджуваної сировини;
- визначити кількісний вміст основних груп БАР у листках, квітках та кореневищах з коренями примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної;
- здійснити морфолого-анатомічний аналіз листків, квіток та підземних органів примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної;
- одержати субстанції з досліджуваної сировини;
- вивчити хімічний склад отриманих субстанцій та провести їх стандартизацію;
- розробити проекти методів контролю якості на нову лікарську рослинну сировину та одержані субстанції;
- дослідити токсикологічні та фармакологічні властивості отриманих субстанцій.

Об'єкт дослідження – комплексне фармакогностичне вивчення культивованих видів роду *Primula L.* (примули зубчастої (дрібнозубчастої) – *Primula denticulata* Smith, примули Юлії – *Primula juliae* Kusn., примули скельної – *Primula saxatilis* Kom.).

Предмет дослідження – порівняльне фармакогностичне і морфолого-анатомічне вивчення культивованих видів роду *Primula L.* – примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної; якісний та кількісний аналіз БАР надземних і підземних органів примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної; одержання фітосубстанції з

досліджуваної лікарської рослинної сировини; вивчення їх гострої токсичності, відхаркувальної, протизапальної та антимікробної активностей.

Методи дослідження

При виконанні дисертаційної роботи були використані фармакопейні методи виявлення якісного складу і кількісного визначення основних БАР. Використовували методи хроматографічного аналізу – ТШХ, ГХ/МС, ВЕРХ та ПХ. Кількісний вміст аскорбінової кислоти, сапонінів та БАР фенольної природи досліджували спектрофотометричним методом на спектрофотометрі *Lambda 25* Perkin Elmer (США). Для дослідження органічних кислот використовували титриметрію.

Для вивчення морфологічної будови сировини використовували лупу та біокулярний мікроскоп МБС-9 та ІТЕМ: 2610 (об'єктиви $\times 4$, $\times 10$, $\times 40$, окуляр $10\times$). Мікрофотозйомки робили цифровою камерою Samsung PL50. Також використовували фармакологічні методи дослідження (*in vivo* та *in vitro*) та методи математичної статистики. Обробку результатів експериментальних досліджень здійснювали за допомогою програми Microsoft Excel 15,0. Використовували методи математичної статистики (обробка цифрових даних методом варіаційної статистики Ньюмана-Кейлса, непараметричного критерію Манна-Уїтні) [68].

Наукова новизна отриманих результатів

Уперше проведено комплексне фармакогностичне дослідження надземних та підземних органів трьох культивованих видів роду *Primula L.* – *Primula denticulate* Smith, *Primula juliae* Kusn., *Primula saxatilis* Kom. Вивчено якісний склад і визначено кількісний вміст 9 класів сполук листків, квіток та підземних органів досліджуваних об'єктів, а саме: вуглеводів, жирних кислот та амінокислот, органічних кислот, в тому числі аскорбінової, фенольних сполук (кислот гідроксикоричних, флавоноїдів, дубильних речовин, антоціанів) та сапонінів. Серед яких уперше методом ВЕРХ у трьох досліджуваних об'єктах визначено індивідуальні фенольні сполуки: у листках та квітках – компоненти дубильних речовин (епігалокатехін, галокатехін, катехін, епікатехін, епікатехін галат, катехін галат) та вільні кислоти галову і елагову; у надземних та підземних органах індивідуальні гідроксикоричні кислоти (гідроксифенілоцтову, хлорогенову,

розмаринову, кофейну, *n*-кумарову, ферулову, сирінгову, синапову, цинамову та хінну кислоти), флавоноїди (кверцетин, ізокверцитрин, лютеолін, апігенін, гіперозид, рутин, кемпферол) та кумарини (скополетин, умбеліферон, кумарин). Домінуючими серед дубильних речовин був епігалокатехін – 3,21 % у примули скельної квітках та 1,25 % у п. зубчастої листках; серед гідроксикоричних кислот – розмаринова кислота у п. зубчастої квітках – 0,41 %; серед флавоноїдів – рутин у п. зубчастої листках і квітках (0,39 % та 0,42 %) та ізокверцитрин у п. зубчастої листках та квітках (0,44 % та 0,61 %) відповідно. Визначено амінокислотний склад листків та кореневищ з коренями, виявлено у всіх об'єктах по 16 амінокислот.

Уперше методом ГХ/МС встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст моноцукрів та сахарози. Найбільшу кількість цукрів ідентифіковано у примули Юлії листках – 7 цукрів. Домінуючою у всіх об'єктах є зв'язана D-глюкоза. Також встановлено жирокислотний склад сировини трьох видів примул, найбільша кількість яких ідентифікована у примули зубчастої квітках – 13 та сировині п. скельної – по 11 жирних кислот. Встановлено, що у всій сировині з ненасичених жирних кислот переважає лінолева та α -ліноленова, а з насичених – пальмітинова.

Уперше методом ТШХ визначили якісний склад вільних органічних кислот у надземних та підземних органах трьох видів примул, найбільшу кількість яких встановлено у примули зубчастої та п. Юлії листках – по 7 кислот; титриметричним методом визначено кількісний вміст вільних органічних кислот у перерахунку на кислоту яблучну, що домінує у примули скельної листках – 2,01 %. Вміст аскорбінової кислоти визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на абсолютно суху сировину і найбільший вміст її встановили у примули скельної листках – 1,55 %.

У листках і підземних органах у перерахунку на есцин, визначено кількісний вміст сапонінів, що домінують у примули зубчастої – 0,61 % і 1,79 % відповідно, і забезпечують відхаркувальну активність одержаних екстрактів.

Уперше досліджено морфолого-анатомічну будову стебла, квіток, листків та кореневищ з коренями примули зубчастої, п. Юлії і п. скельної та встановлено їх

основні макро- і мікродіагностичні ознаки, які використані для ідентифікації сировини.

Одержано густі екстракти з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями та визначено основні параметри контролю їх якості. Встановлено гостру токсичність досліджуваних екстрактів та доведено відхаркувальну, протизапальну і антимікробну дії. Найвищу протизапальну та антимікробну активності проявляв густий екстракт з примули зубчастої листків (екстрагент – 70 % етанол), а відхаркувальну – густий екстракт з п. зубчастої кореневищ з коренями (екстрагент – 40 % етанол). Стандартизацію екстрактів запропоновано проводити спектрофотометричним методом, з примули зубчастої листків за вмістом суми гідроксикоричних кислот (не менше 11,12 %) та вмістом сапонінів (не менше 3,81%), з кореневищ з коренями за вмістом сапонінів (не менше 4,13 %).

Одержано позитивне рішення на заявку на 2 патенти України на корисну модель «Спосіб одержання рослинної субстанції з протизапальною активністю» номер u201910344 та «Спосіб одержання рослинної субстанції з відхаркувальною активністю» номер u201910364.

Практичне значення отриманих результатів

В результаті проведених комплексних фармакогностичних досліджень встановлено перспективність використання у медицині трьох культивованих видів роду *Primula L.* – *Primula denticulate* Smith, *Primula juliae* Kusun., *Primula saxatilis* Kom.

На нову лікарську рослинну сировину розроблено проекти МКЯ «Примули зубчастої кореневища з коренями», «Примули зубчастої листки», «Примули скельної кореневища з коренями», «Примули скельної листки», «Примули Юлії кореневища з коренями», «Примули Юлії листки» (дод. А.1-А.6).

Серед трьох досліджуваних примул визначено найперспективніший об'єкт – примулу зубчасту (*Primula denticulate* Smith), на основі листків та кореневищ з коренями якої створено два густі екстракти з відхаркувальною, протизапальною та антимікробною активностями; на отримані субстанції розроблено проекти МКЯ «Примули зубчастої листків екстракт густий» та «Примули зубчастої кореневищ з коренями екстракт густий» (дод. А.7-А.8).

Результати фармакогностичних досліджень впроваджено у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедр ботаніки Національного фармацевтичного університету, кафедр фармацевтичної хімії та фармації Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (дод. Б.1-Б.4).

Особистий внесок здобувача

Дисертантом самостійно проведено інформаційно-патентний пошук та аналіз даних джерел літератури щодо ботанічної характеристики, хімічного складу, особливостей використання рослин роду *Примула* у народній та науковій медицині. Мета, завдання, методики експериментальних досліджень визначено разом з науковим керівником.

Автором виявлено якісний склад і визначено кількісний вміст БАР примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної, здійснено статистичну обробку, аналіз та узагальнення одержаних результатів; досліджено морфолого-анатомічні особливості будови сировини примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної, розроблено проекти МКЯ на нову лікарську рослинну сировину та одержані екстракти. Обґрунтовано технологію одержання примули зубчастої густих екстрактів з листків та з кореневищ з коренями, встановлено їх відхаркувальну, антимікробну та протизапальну активності.

Вивчення морфолого-анатомічних особливостей будови квіток, листків, стебла та кореневищ і коренів культивованих рослин роду *Примула* проведено за консультативної допомоги к. фарм. н., доцента кафедри ботаніки НФаУ Л. М. Сірої.

Дослідження відхаркувальної та протизапальної активностей примули зубчастої густих екстрактів з листків та кореневищ з коренями проводили на базі науково-дослідної лабораторії з доклінічного вивчення фармакологічних речовин кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України; антимікробної активності даних екстрактів – на базі лабораторії мікробіологічних та паразитологічних досліджень Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України за участю та під керівництвом к. мед. н., доцента Н. І. Ткачук.

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з Марчишин С. М., Сірою Л. М., Шостак Л. Г., Козачок С. С., Луканюк М. І., Довганюк Д. З., Стойко (Будняк) Л. І., Слободянюк Л. В., Козир Г. Р., Сохацьким В. І., Васендою М. М., Демидяк О. Л. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний доробок.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи були представлені та обговорені на II Міжнародній науково-практичній internet-конференції (Харків, 2016); IV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2016); 10th International Symposium on Chromatography of Natural Products, (Lublin, 2016); III Міжнародній науковій конференції (Березоточа, 2016); VIII Національному з'їзді фармацевтів України (Харків, 2016); VI Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2016); 86-й науково-практичній конференції студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Інновації в медицині», (Івано-Франківськ, 2017); 87-й науково-практичній конференції студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Інновації в медицині», (Івано-Франківськ, 2018); V Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2019); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання фармакології та фармакотерапії», (Тернопіль, 2019); Науково-практичній internet-конференції «Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації» (Харків, 2019).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на спільному засіданні професорсько-викладацького складу кафедр фармацевтичного профілю Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського 23 грудня 2019 року.

Публікації

За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових робіт, у тому числі 7 статей (5 статей у фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 – у фаховому закордонному виданні), 8 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 231 сторінці друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох розділів власних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та 4 додатків. Обсяг основного тексту складає 143 сторінки. Робота ілюстрована 35 таблицями і 94 рисунками. Перелік використаних джерел містить 175 найменувань, з яких кирилицею 128, латиницею – 47.

РОЗДІЛ 1
БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД І
ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РОСЛИН РОДУ
ПРИМУЛА (*PRIMULA L.*) (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Ботанічна характеристика та розповсюдження рослин роду Примула (*Primula L.*) – примули зубчастої, п. Юлії та п.скельної

Відповідно до біологічної класифікації примули (первоцвіти) належать до класу Дводольні — *Dicotyledoneae*, родини – Первоцвіті (*Primulaceae*) та роду – Первоцвіт (*Primula L.*).

Рід примула, або первоцвіт (*Primula L.*) – один з найчисленніших родів рослин світової флори. За даними різних авторів, в природі налічується від 400 до 550 видів цих рослин [10, 31, 43, 49]. Більш того, вчені до цих пір відкривають нові види примул. Більшість з них (близько 300 видів) ростуть в Азії, Гімалаях і західному Китаї [31, 47, 52, 72]. У Європі росте тільки 33 види, а в Північній Америці – 20 видів. Лише кілька видів зустрічаються в Африці, Південній Америці, в Аравії і один вид (примула імператорська – *Primula imperialis*) – на острові Ява [67, 75, 88, 103]. У флорі України зростає шість видів: *P. veris L.*, *P. vulgaris* Huds., *P. elatior (L.) Hill.*, *P. farinosa L.*, *P. halleri J. Gmel.*, *P. minima L.* [10], три з них занесено до Червоної книги України [64].

Дуже багато примул у природі ростуть у вологих місцях – по берегах гірських потоків і струмків, на вологих луках. Наприклад, примулу Флорінди можна знайти в Тибеті, біля водотоків на висоті близько 4000 м, а примулу дрібнозубчасту – на альпійських луках Гімалаїв на висоті 2300-4300 м. Популярна примула аурикула (вушкова) родом з гір південної і середньої Європи, де зростає у тріщинах скель, між камінням, піднімаючись на висоту понад 2000 м. Вологі луки, береги струмків і потоків – улюблені місця прекрасної примули Булея, що росте в Китаї на висоті близько 3000 м. У гірських долинах Курильських островів і Японії зростає примула японська [87,

93, 153]. Примули живуть і зацвітають у таких суворих умовах, де інші, великі рослини не можуть рости. Деякі з них ростуть біля сніжників, у дуже специфічних екологічних умовах. Такі види важко, а частіше неможливо вирощувати в квітниках. Взагалі любителі рослин давно помітили: найкрасивіші, гірські примули можна виростити в садах. Якщо деякі види і ростуть у культурі, то виявляються недовговічними. Однак, є чимало видів, які можна культивувати без особливих труднощів. Зараз у світі вирощують близько 200 видів примул, тобто третину всіх відомих [10, 94, 113].

Введення в декоративне садівництво прекрасних азіатських примул (японської, дрібнозубчастої, Булея, сикімської та ін.) в Європі пов'язано з іменами відомих любителів рослин Г. Форреста, Г. Шерріфа, Ф. Людлов, Ф. Ворда. Останні ввели в культуру 66 нових видів примул [75].

Примули – рослини, що зацвітають навесні, але є серед них й такі що квітнуть влітку, наприклад примули Біса, Флорінди, Булея. Розрізняються вони забарвленням квіток, формою і розмірами листя. У одних видів квітки поодинокі, у інших – зібрані в різноманітні суцвіття. Наприклад, у дивовижної примули Віалія суцвіття пірамідальне з бузковими бутонами, які перетворюються у червоні квітки. У гімалайської примули дрібнозубчастої квітки зібрані в суцвіття-кульки білого, бузкового кольору [10, 67, 97, 106].

Свій внесок у збільшення різноманітності примул вносять і селекціонери. До теперішнього часу виведені тисячі сортів, квітки яких мають різне забарвлення, іноді бувають дво- і триколірні, і навіть з махровими квітками. Особливу увагу приділено селекції примули вушкової (аурикула), різноманітність забарвлень якої перевершило всі можливі мрії квітникарів. Серед них є сорти з сірими і зеленими пелюстками. Гордість квітникарів – сорти, пелюстки яких різноколірно «заштриховані» та ще й «припудрені» [106].

Примули, в основному, багаторічні, рідко однорічні або дворічні трав'янисті рослини або напівчагарники [46, 124]. Підземні органи рослини – кореневища з коренями. У одних видів, наприклад у примули дрібнозубчастої,

кореневище вкорочене, а корені потовщені, інші, як примула Юлії – типові кореневищні рослини [67, 161].

Листки у примул завжди в прикореневій розетці, прості або розсічені, черешкові або сидячі, овальні, продовгувато-овальні, ланцетоподібні. У одних видів листки «зморшкуваті» з нерівною поверхнею через глибоко втиснуті жилки (первоцвіт весняний, високий), у інших – щільні шкірясті сірувато-зелені, немов з восковим нальотом (примула вушкова). У примул весняної, дрібнозубчастої, вушкової листя зберігаються взимку під снігом, а примули Зібольда, японської зимують без листя [68, 172].

Квітки трубчасті з плоским або лійчастим відгином. Пелюстки цільні або двороздільні. Тичинки розташовані глибоко в зіві квітки. Висота маточки у квіток багатьох видів примул неоднакова: у одних квіток маточки високі, рівні довжині трубки квітки, у інших же – досягають лише її половини. Таке явище називається гетеростилія і пов'язане воно з процесом запилення рослин. Гетеростилія примул вивчав ще Чарльз Дарвін. Чашечка квітки примул складається з вузьких ланцетних листочків, основа яких іноді буває потовщеною або з мішкоподібним придатком [49, 68, 116].

Залежно від кількості квіток на квітконосі всі види примули можна умовно розділити на дві групи: рослини з поодинокими квітками і з квітками, зібраними в зонтикоподібні, кулясті (головчасті), пірамідальні суцвіття. До першої групи належать примула Юлії, п. звичайна та її численні садові форми, п. Воронова, п. Комарова, п. Сибторпа. Їх поодинокі квітки розташовані на тонких квітконосах. Найбільш численні примули другої групи, квітки яких зібрані в зонтикоподібних суцвіттях (примули кортузовидна, п. весняна, п. крупночашечкова, п. Флорінди, п. висока, п. Зібольда та ін.). Своєрідними кулястими суцвіттями відрізняється примула дрібнозубчаста. Примула японська і п. припудрена привертають увагу багатоярусними суцвіттями, які нагадують яскраві кільця, нанизані на високі квітконоси, а примула Віаля – загостреними конічними суцвіттями. Квітконоси у примул безлисті. Залежно від виду рослини їх висота коливається від 5 до 60 і навіть до 90 см [146, 172].

Плід примул – куляста або циліндрична багатонасінна коробочка, що розкривається при дозріванні насіння 5-10 зубцями. Насіння кутасте, дрібне, кулясте або циліндричне, темно-коричневе. В 1 г від 900 до 2000 насінин [158, 159, 164].

Весняне відростання більшості культивованих у середній смузі видів і сортів примул починається в квітні, ранньоквітучих видів – іноді навіть у кінці березня. У багатьох видів, що зацвітають навесні, відростання листя і цвітіння відбуваються одночасно. Причому в перші дні суцвіття і квітки «притискаються» до поверхні ґрунту, квітконоси їх не перевищують 1-3 см, але вже через кілька днів вони виростають до характерної висоти [165, 166, 167, 174].

За термінами цвітіння примули діляться на ті, що квітнуть навесні і ті, що квітнуть влітку. В умовах середньої смуги весняні види зацвітають у квітні (примула висока, п. дрібнозубчаста, п. звичайна, п. вушкова та ін.), а літні – в червні-липні (примула японська, п. Флорінди, п. Біса, п. Булея) [74, 106, 153].

Період активного росту в квітні-травні змінюється періодом спокою. А в кінці липня-серпні в бруньках рослин активно формуються квітки майбутнього року. Насіння примул дозріває в червні-липні [97, 123].

Вегетація рослин закінчується в жовтні-листопаді, коли випадає сніг. Іноді у примули високої, п. дрібнозубчастої кілька часто підмерзлих листків зберігаються до весни під снігом. Примула вушкова і її гібриди належать до довговегетуючих рослин, які зимують з листям.

Ботаніки поділяють рід примула на 7 підродів (*Aleuritia*, *Auganthus*, *Auriculastrum*, *Carolinella*, *Craibia*, *Primula*, *Sphondylia*). Однак у декоративному садівництві використовують іншу, більш зручну для практичної роботи класифікацію, в якій усі примули в залежності від морфологічних особливостей розділені на 23 секції.

В умовах середньої смуги у відкритому ґрунті можна вирощувати лише деякі види з дев'яти секцій роду [75, 94].

Секція борошняних примул (*Farinosa, Aleuritia*). Включає близько 90 видів. Рослини з жовтим або білим борошністим нальотом. Пелюстки квіток зазвичай коротші від листочків чашечки. Квітки, в основному, бузкові, червонувато-фіолетові, жовті або білі.

Рослини недовговічні в культурі. Зазвичай їх вирощують як дворічні. Більшість видів родом з Азії. Ростуть на вологих, добре дренованих, багатих гумусом ґрунтах, на сонячних ділянках або в напівтіні. Потребують укриття взимку. Пересаджують рано навесні. Використовуються для посадки біля водойм, на тінистих кам'янистих гірках, уздовж струмків на гірках [142].

Типовими представниками секції борошняних примул є:

- *Primula subgenus: Aleuritia section: Soldanelloides:*
примула норвезька – *Primula finmarchica*;
примула сибірська – *Primula sibirica*.
- *Primula subgenus: Aleuritia section: Aleuritia:*
примула дар'яльська – *Primula darialica*;
примула мучниста – *Primula farinosa* L.;
примула густолиста – *Primula frondosa* Janka;
примула Галлера – *Primula halleri* J.F.Gmel;
примула шотландська – *Primula scotica*;
примула холодна – *Primula algida*.
- *Primula subgenus: Aleuritia section: Crystallophlomis:*
примула сніжна – *Primula nivalis*;
первоцвіт туркестанський – *Primula turcestanica*;
примула чіонанта – *Primula chionantha*.
- *Primula subgenus: Aleuritia section: Proliferae:*
примула хунгенська – *Primula chungensis* Bali. f. et Ward.
- *Primula subgenus: Aleuritia section: Sikkimensis:*
примула дрібнозубчаста альпійська – *Primula microdenta* var. *alpicola* W. W. [85,

Секція Oreophlomis. Включає дрібненькі і середнього розміру багаторічні примули, які цвітуть ранньою весною, відрізняються гладкими листям з зубчастим краєм і рожевими квітками з жовтим оком. Типовим представником є Примула рожева – *Primula rosea* Royle.

Секція аурикула або аурикуластрум (Auricula, Auriculastrum). Включає 21 вид, причому всі вони мають європейське походження. Рослини низькорослі з зубчастими дерев'янистими коренями. Листки соковиті, шкірясті. Стебла і квітки немов присипані борошністим нальотом. Квітки рожеві, бузкові, фіолетові, часто з білим вічком або жовті. Пелюстки овальні, їх ширина, як правило, перевищує довжину. Виведено безліч сортів з самим різним забарвленням квіток.

Розмножують насінням, яке висівають у жовтні-листопаді. Багато видів не повторюють повністю властивості батьків. Їх необхідно ізолювати або запилювати штучно. Насіння, висіяне під зиму, проростає наступної весни.

Типовими представниками є:

- *Primula subgenus: Auriculastrum section: Auricula subsection: Euauricula:*
 примула карніолійська – *Primula carniolica*;
 примула вушкова, чи аурикула – *Primula auricula* L.;
 примула опушена – *Primula x pubescens* Jacq.;
 примула жорстковолоса – *Primula hirsuta* All, *P. rubra* F. Gmel.;
 примула облямована – *Primula marginata*.
- *Primula subgenus: Auriculastrum section: Auricula subsection: Arthritica:*
 примула Делеклюза – *Primula clusiana* Tausch.
- *Primula subgenus: Auriculastrum section: Auricula subsection: Erythrodrosum:*
 примула волохата – *Primula villosa* Wulf.
- *Primula subgenus: Auriculastrum section: Auricula subsection: Chamaecallis:*
 примула маленька – *Primula minima* L. [87, 93, 137].

Секція кортузовидних примул (Corthusoides). Крім примули кортузовидної, яка зустрічається від Сибіру до Європи, в цій секції ще двадцять

три види азійських примул, що ростуть в Японії, Кореї, Китаї. Рослини без борошнистого нальоту. Листя черешкове. Квітки лійкоподібні.

Ці примули досить легко вирощувати, якщо вони висаджені на ґрунтах, багатих перегноєм. Однаково успішно ростуть на сонці і в півтіні. Часто утворюють самосів і натуралізуються. Зазвичай види секції висаджують в садах ландшафтного типу серед рододендронів та вічнозелених дерев. Розмножуються насінням, примула Зібольда і її сорти – діленням, відрізками кореневища.

Типовими представниками є:

- *Primula subgenus: Auganthus section: Cortusoides:*

примула полінервова – *Primula polyneura*;

примула кортузовидна – *Primula cortusoides*;

примула скельна – *Primula saxatilis*;

примула Зібольда – *Primula sieboldii*;

примула відхилена – *Primula patens Turcz.* [84]

Секція дрібнозубчастих примул (Denticulaia):

примула головчаста – *Primula capitata* ;

примула дрібнозубчаста – *Primula denticulata* Smith.

Секція Юлії (Julia). Включає тільки один вид і його гібриди:

примула Юлії – *Primula juliae* Kusp;

примула пругонницька – *Primula x pruhoniciana* hort.

Секція мускаревидних (Muscarioides). Включає 17 видів з Гімалаїв, Тибету і західного Китаю. Рослини відрізняються оригінальними загостреними циліндричними суцвіттями. Більшість видів у культурі рідко бувають багаторічними. Як правило, вони дворічні. Щоб кожен рік в саду були квітучі примули цієї секції, їх насіння потрібно висівати щорічно. Краще вирощувати їх в півтіні. Ці види вимагають досить багато вологи під час вегетації, а в осінньо-зимовий період, навпаки, надлишок вологи нищить рослини. Розмножуються насінням.

Типовими представниками є:

примула орхідна, чи віаля – *Primula vialii*;

примула мускаревидна – *Primula muscarioides* [88, 106].

Секція Первоцвітів (Primula). Включає чотири європейських види, в природі поширених в Європі, Малій Азії, на Уралі, Кавказі, в Ірані. Ці рослини не мають борошнистого нальоту. Листові пластинки зазвичай вічнозелені, сітчасті, зморшкуваті, частіше опушені, зубчасті по краю, з закрученим вниз розміщенням листка в брунці. Рослини безстебельні, квітки на квітконосах різної довжини, гетеростильні. Суцвіття – одиночна парасольку з жовтими або рідше білими, рожевими або фіолетовими квітками, з жовтим кільцем в середині. Чашечка ребриста, опушена, іноді роздута, циліндрична коробочка [86].

Майже всі види секції давно культивуються і використовуються в селекції. Відрізняються невибагливістю, їх вирощувати нескладно. Розмножуються легко, поділом кущів і насінням.

Типові представники:

примула чарівна – *Primula amoena* Vieb.;

примула висока – *Primula elatior*;

гібриди примули високої – *Primula Elatior Hybrids*;

примула поліантова, чи примула багатоквіткова – *Primula poliantha*;

примула весняна – *Primula veris*;

примула звичайна, чи безстеблова – *Primula vulgaris* = *P. acaulis*;

примула Воронова – *Primula woronowii* A. Los.;

примула Комарова – *Primula komarovii* A. Los;

примула Паласа – *Primula pallasii*;

примула крупночашечкова – *Primula macrocalyx*;

примула Рупрехта – *Primula ruprechtii* [88, 48].

Секція канделябрових примул (Proliferae, Candelabra). Включає близько 30 видів, що виростають в основному в горах на південному заході Китаю, в Бірмі, Індії, в горах Японії, Суматри, Яви. Це великі рослини з яскравими кільцями (ярусами) суцвіть на високих квітконосах. Крім того, види цієї секції цвітуть влітку.

Завдяки всім перерахованим якостям ці примули вирощують в середній смузі, хоча доводиться їх гарненько вкривати на зиму.

Листя рослин велике, у деяких видів вічнозелене. Всі види цієї секції найчастіше дворічні і тільки в дуже хороших умовах – багаторічники. Їх вирощують у вологому родючому багатому гумусом ґрунті на напівтінистих, а іноді і на тінистих ділянках. Рослини цих видів легко виростити з насіння. При вирощуванні на напівтінистих ділянках рослини часто утворюють самосів.

Типові представники:

примула Біса – *Primula beesiana* Forr;

примула Булея – *Primula bulleyana* Forr.;

примула Кокбурна – *Primula coekburniana* Hemsl;

примула припудрена – *Primula pulverulenta* Duthie;

примула японська – *Primula japonica* A. Gray [88].

Для практичного квітництва німецькими фахівцями запропонована класифікація видів, сортів і гібридів примул, в основу якої покладена форма і розташування суцвіть або квітів на рослинах. Виділено п'ять груп.

1. *Подушкоподібні* – квітки поодинокі, кожен на власному короткому квітконосі, трохи підноситься над розеткою листя. Це примула Воронова, п. маленька, п. звичайна, п. Юлії та ін.

2. *Зонтиковидні* – квітки зібрані в одnobічну чи круглу парасольку, що підноситься над розеткою листя на квітконосі висотою до 20 см. Це примула весняна, п. висока, п. відхилена, п. рожева, п. поліантова, п. вушкова, гібриди п. вушкової.

3. *Головчасті або кулясті* – квітки зібрані в щільні головчасті суцвіття на міцному квітконосі, висота якого в період цвітіння становить 15-20 см, а в період плодоношення – 30-45 см. Це примула головчаста, п. дрібнозубчаста і її різновиди.

4. *Канделяброві* – квітки зібрані в мутовчасті суцвіття, що складаються з декількох ярусів, розташованих на міцних квітконосах і дуже схожих на канделябри. Зацвітають в середині літа. Квітки широко відкриті, невеликі,

близько 1 см в діаметрі. Розетки потужні, листя подовжені, прикореневі. Вологолюбні. Недовговічні – вимагають регулярного омолодження. Більшість видів не зимостійкі. У холодні безсніжні зими необхідно сухе укриття. Найбільш витривалі види виростають на вологих гірських луках Китаю, це примула Біса, п. Булея, п. припудрена, п. японська.

5. *Дзвіночкоподібні* – суцвіття складаються з поникаючих або звисаючих квіток і розташовуються над красивою розеткою листя на квітконосах різної висоти:

примула сикімська – *P. sikkimensis*;

примула Флорінди – *P. florindae* [106].

На Далекому Сході зростають 12 видів примул, в тому числі 1 вид – занесений. Всі вони декоративні. На Сахаліні і Курилах ростуть 5 видів: *P. cuneifolia* Ledeb., *P. farinosa* L., *P. fauriei* Franch., *P. heterodonta* Franch., *P. japonica* A. Gray, перші три види – загальні для Сахаліну і Курил [94, 159].

На сьогоднішній день офіційною медициною визнані і найбільш вивчені такі представники примул, як *Primula veris* і *Primula elatior*, де офіційною сировиною є всі частини, решта видів є малодослідженими та виключно квітково-декоративними рослинами. Однак у літературі є дані відносно лікувальних властивостей й інших видів примул, зокрема таких як примула зубчаста – *Primula denticulata* Smith, примула Юлія – *Primula juliae* Kusn. та примула скельна – *Primula saxatilis* Kom [122].

Примула дрібнозубчаста *Primula denticulata* Smith (зубчаста) (рис.1.1) – батьківщина Гімалаї, Західний Китай.

Рослина має щільне кулясте суцвіття, 5-8 см в діаметрі, які з'являються в кінці квітня-початку травня, що підносяться над розеткою великих подовжених світло-зелених листків. Квітки білі, бузкові, фіолетові з відтінками. На одній рослині може бути 5-7 суцвіть. Часто зацвітає в безлистому стані. На початку цвітіння квітконоси короткі – не більше 2-3 см.

До середини цвітіння суцвіття-кульки знаходяться на висоті 20-25 см, а на час дозрівання насіння вони витягуються до 30-50 см. Приблизно те ж відбувається і з листям. Вони починають розгортатися на початку цвітіння, і в

цей час їх довжина 5-7 см, до середини цвітіння – вже 20 см, а після цвітіння в сприятливих умовах – 30-40 см.



Рис. 1.1. Примула дрібнозубчаста (*Primula denticulata* Smith)

Вся рослина, особливо квітконоси, вкрите борошнистим жовтуватим нальотом. Цвіте з квітня 30-40 днів, має прекрасну зимостійкість. В 1 г до 18000 насінин. У культурі з XIX століття [10, 67, 107].

Розмножується частіше насінням. На легких ґрунтах нерідко утворює самосів. Рясне цвітіння сіянців настає на 3-4-му році життя. Можна розмножувати відрізками коренів. Добре росте як на сонячних, так і на затінених ділянках з пухким родючою землею. Використовується для зимової вигонки і на зрізання.

Має багато садових різновидів з білими, пурпуровими, бузковими і рубіново-червоними квітками.

Відомо три підвиди примули дрібнозубчастої:

Primula denticulata subsp. *alba*

Primula denticulata subsp. *denticulata*

Primula denticulata subsp. *sinodenticulata* [68, 107, 116].

Примула Юлія (*Primula juliae* Kusn.) (рис. 1.2) – рослина зволжених скель і лісового поясу Східного Закавказзя. У культуру введена в середині ХІХ століття.



Рис. 1.2. Примула Юлії (*Primula juliae* Kusn.)

Мініатюрна, до 5 см заввишки рослина з шкірястими блискучими округлим листям і поодинокими квітками. Цей вид названий на честь Юлії Млокосевич, що знайшла його на Кавказі в 1900 році. Багаторічник з коротким косим кореневищем і пучком буруватих коренів. Висота рослини близько 10 см. Листки довгочерешкові, світло-зелені, яйцеподібно-округлі з серцеподібною основою, по краю крупногородчасті. Довжина листя з черешком близько 10 см, а листової пластинки – близько 3 см.

Квітки фіолетово-бузкові, до 3 см в діаметрі, розташовані по одній на тонких квітконіжках заввишки до 10-15 см. Квіткова трубка довжиною до 2 см. Пелюстки квіток з глибокою виїмкою. Цвітіння починається в квітні, коли ще не розгорнулися листки, і триває до середини-кінця травня. Восени іноді спостерігається повторне цвітіння, розкриваються нечисленні квітки [119].

Одна з найбільш тіньовитривалих і невибагливих у культурі примул.

Сорти об'єднані під назвою *Juliae Hybrids* (*Dark Juliae*, *Lilac Juliae* і ін.). На початку нашого століття була введена в культуру в Англії, де отримано цілий ряд сортів з квітками різного забарвлення. У культурі на даний час найчастіше гібриди з примулою звичайної і садовими формами; гібриди з примулою високою відомі під різними видовими назвами. Особливо поширені її гібриди «Wanda» (пурпурно-червона) і «Lady green» (жовта).

Зростає примула Юлії у тіні, на ґрунтах, багатих гумусом, не дуже легких і вологих. Розмножується дрібним поділом куща після цвітіння [79].

Примула скельна (*Primula saxatilis* Kom.) (рис.1.3) походить з північного Китаю. У культурі зустрічається рідко. Зазвичай під цією назвою вирощують примулу кортузовидну, з якою вони дуже подібні.



Рис. 1.3 Примула скельна (*Primula saxatilis* Kom.)

Росте до 25 см висотою, з коротким прямим кореневищем. Листкові пластини 4-10 см довжиною і 3-6 см шириною, серцеподібно-овальні, в основі глибоко серцеподібні, по краю лопатеві і нерівно зубчасті, волохатою-волосисті. Квіткові стрілки тонкі, коротко опушені. Суцвіття з (1) 3-12 квіток. Листочки гострі, волосисті. Чашечка 7 мм довжиною, келиховидна, вузько трубчаста (і після відцвітання) з вузько ланцетними гострими зубцями. Віночок червонувато-

фіолетовий, рожево-бузковий з трубкою 12-14 мм довжиною, який вдвічі довший чашечки, відгин віночка з виїмчастими частками. Квітки зібрані по 3-12 штук в суцвіття на квітконосі висотою до 20 см. Цвіте рясно протягом 30-35 днів навіть в сильно затінених місцях. Коробочка довгаста, загострена, зубці чашечки притиснуті до неї. Рясно плодоносить, утворює масовий самосів і натуралізується [108].

1.2 Хімічний склад видів роду Примула

На сьогоднішній день хімічний склад культивованих рослин роду *Primula* L. вивчений недостатньо.

У наукових джерелах літератури є інформація про дослідження дикорослого виду первоцвіту весняного. Зокрема ідентифіковано фенольні сполуки (флавоноїди, катехіни, кумарини, гідроксикоричні кислоти, антоціани), органічні та жирні кислоти, тритерпенові сапоніни, полісахариди, амінокислоти, макро- та мікроелементи, ефірні олії [25, 80, 81].

У кореневищах з коренями в свою чергу встановлено близько 14 речовин фенольного характеру, 12 органічних кислот [118], 8 вуглеводів, 19 ефірних олій, 14 жирних кислот, 14 хімічних елементів; у листках – 23 речовин фенольного характеру, 11 органічних кислот, 7 вуглеводів, 39 ефірних олій, 17 жирних кислот, 16 хімічних елементів; у квітках – 17 речовин фенольного характеру, 11 органічних кислот, 7 вуглеводів, 44 ефірних олій, 16 жирних кислот, 13 хімічних елементів [65, 71, 91, 113].

Проаналізувавши літературні дані можна зробити висновок, що компонентний склад первоцвіту весняного залежить від місця, умов його зростання, часу збирання, способів сушіння та умов зберігання лікарської рослинної сировини.

Відомо, що рослини вищезгаданого роду містять велику кількість різних мікроелементів і БАР, як у надземних, так і в підземних органах.

У кореневій системі видів роду Примула містяться полісахариди, дубильні речовини, глікозиди (примулаверин і примверозид), тритерпенові

сапоніни (5-10 %), ефірні олії (0,08 %), кремнієва та саліцилова кислоти, бета-каротин, вітаміни С і Е, мікро- і макроелементи та інші БАР. У листках рослин містяться сапоніни (до 2 %), флавоноїди, аскорбінова кислота (до 700 мг%) і бета-каротин (до 3 мг%). У квітках первоцвітів також є сапоніни, флавоноїди, ефірна олія і вітамін С [25, 82, 113, 173].

1.3 Використання видів роду Примула у народній та науковій медицині

Види первоцвітів дуже різноманітні по своїм лікарським властивостям і по вмісту БАР, які використовуються в науковій та народній медицині.

Окрім декоративних, види первоцвіту є корисними лікарськими рослинами, тому широко застосовуються у народній медицині і фармацевтиці.

Препарати з коренів і кореневищ примул мають слабку сечогінну, потогінну і відхаркувальну дію, посилюють секреторну активність слизових оболонок верхніх дихальних шляхів і бронхів, підвищують активність миготливого епітелію і прискорюють виведення мокротиння з дихальних шляхів. Препарати рослин використовують при захворюваннях дихальних шляхів: хронічних трахеїтах, бронхітах і бронхопневмоніях; хворобах нервової системи, і як заспокійливий засіб при безсонні. Зовнішньо відвар коренів рослин використовують для полоскання при запаленні горла, ротової порожнини [42, 95, 115, 122].

Свіже листя примул використовують як вітамінний засіб для виготовлення чаїв і концентратів вітаміну С, якими лікують авітамінози, а також при млявості, відсутності апетиту і захворюваннях ясен [42, 65, 77].

З квіток примул можна заварювати чай і пити його при головному болю, нервовій слабкості і безсонні, застуді, як сечогінний засіб [73].

Відвари і настої квіток примул використовують при безсонні, головному болю, невралгії, застуді, кашлі, подагрі, ревматизмі і як потогінний засіб, а спиртову настоянку квіток – як заспокійливий засіб при безсонні і нервовому збудженні [65, 83].

Настій листя примули також використовують при захворюваннях нирок і сечового міхура, а в суміші з настоєм кропиви (взятих 1:1) при висипці, фурункулах та інших шкірних захворюваннях. Відвар листя рослини застосовують зовнішньо у вигляді примочок і компресів при ударах.

З насіння примули можна отримати масло, що застосовується в косметичній і харчовій промисловості. Також у масла первоцвітів є і ряд лікувальних властивостей. Воно має протизапальну, імуностимулюючу і протимікробну дію при ряді захворювань. Наприклад, при вживанні масла з їжею покращується здоров'я нирок, воно запобігає ожирінню печінки, полегшує симптоми діабету, підсилює спалювання жирів, полегшує запальні процеси кишечника, покращує травлення і зменшує біль у животі. До складу масла входять жирні ненасичені кислоти, завдяки яким воно сприятливо впливає на серцево-судинну систему, зміцнює стінки кровоносних судин, очищає кров, попереджає інсульти і інфаркти міокарда. При лікуванні екземи масло також робить позитивний вплив. Воно рекомендується людям з підвищеним тиском і високим рівнем холестерину. Також масло впливає на гормональний фон жінок і зменшує больові симптоми при передменструальному синдромі. Масло можна використовувати при мігрені та головних болях [62, 73, 83, 111].

Найбільш широко застосовується у медицині і більш детально вивчений первоцвіт весняний. Так, встановлено, що фітопрепарати – густий екстракт трави первоцвіту весняного і гранули на його основі, є практично нетоксичними речовинами, мають антиоксидантну, антигіпоксичну, ангіопротекторну, ендотелійпротекторну та гепатопротекторну дію [65, 122, 148, 149].

Тритерпенові сапоніни первоцвіту весняного проявляють відхаркувальну та протизапальну дію. Також відомі його спазмолітичні, жарознижувальні та протикашльові ефекти [65].

З джерел етномедицини відомо, що відвар кореневищ з корінням названої рослини має седативну та легку проносну дію. Чай на основі первоцвіту проявляє потогінні і сечогінні властивості. Також його приймають при застуді, головному болі, безсонні, паралічі, захворюваннях серцево-судинної системи і

нирок, при захворюваннях органів дихання, шлунково-кишкового тракту, при обмінних та ендокринних порушеннях, при ревматичних захворюваннях, артритих, артрозах, при функціональних порушеннях під час менопаузи, лейкеміях, циститах, хронічних нефритах та при захворюваннях нервової системи і психічних розладах. Настоянка, порошок, салат з листя первоцвіту використовують як джерело вітамінів С, А, Е, каротиноїдів при гіпо- та авітамінозах [15, 95, 111, 115].

Настоянка, порошок, салат з листя первоцвіту використовують як джерело вітамінів С, А, Е, каротиноїдів при гіпо- та авітамінозах.

У багатьох країнах первоцвіт весняний використовується як харчова салатна рослина, культивується і реалізується як приправа.

При серцево-судинних захворюваннях корисно пити чай з віночків щойно розцвівших квіток *P. amoena*, *P. macrocalyx*, *P. ruprechlii*. При закрепах використовують відвар з квіток *P. meyeri*, *P. macrocalyx*, *P. pseudoeliator*. Деякі види примул, такі як *P. macrocalyx*, *P. Sibthorpii* використовуються при нервових розладах. Квіти *P. woronowi* в народній медицині використовують при безсонні, нервовій слабкості та головних болях. Рослина рахується придатною для виробництва галенових препаратів з відхаркувальною дією, що заміняє іпекакуану та сенегу.

При ревматичних болях в суглобах, ревматоїдному поліартриті корисно пити чай з віночків щойно зацвівших квіток *P. bayernii*, *P. farinifolia*, *P. Sibthorpii*, *P. woronowi* та ін.

У стоматології при запаленні ясен народна медицина застосовує настій з сухих квіток і молодих листків *P. amoena*, *P. macrocalyx*, *P. Ruprechtii* та ін.

Науковцям проведено ряд експериментальних досліджень, що встановили та довели різноманітні специфічні дії у кількох видів примул.

Зокрема, водний і етанольний екстракти листя первоцвіту весняного мають протисудомні властивості [73].

Najmus-Saqib Q. зі співав. визначили протимікробні і цитотоксичні властивості *Primula macrophylla*, протигрибкову активність щодо *T. longifusis* і

M. canis і антилейшманіозну активність. У дослідженнях використовувалися свіжовичавлений сік, бензолну, хлороформну і етилацетатну фракції надземної частини даного виду [156].

Tokalov S.V. з співав. провели дослідження з вивчення біологічних ефектів епікутикулярних флавоноїдів, виділених з квіток *Primula denticulata*. Вивчено їх вплив на лейкозні клітини людини (мієлоїдний клітини лейкемії людини (HL-60)) та встановлено, що досліджувані об'єкти проявляли антиоксидантні властивості та мали виражену цитостатичну активність [135].

Sanjay Singh зі співав. дослідили гіпоглікемічну та ранозагоювальну дії екстракту *Primula denticulata* [132, 167].

Компанія «Bionorica AG» (Німеччина) визначила механізм протизапальної, протимікробної та противірусної дії екстракту квіток *Primula veris*. Доведено, що цей екстракт пригнічує вироблення простагландинів, біосинтез циклооксигеназ (ЦОГ-1 і ЦОГ-2), біосинтез лейкотрієнів у поліморфноядерних лейкоцитах людини, а також значно знижує опосередковане Т-клітинами вивільнення прозапальних цитокінів з мононуклеарних клітин периферичної крові людини [150].

Seifert S. зі співав. виявили антимікробну активність екстракту первоцвіту весняного, вивчену *in vitro* відносно *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumonia*. У цих же дослідженнях була показана противірусна активність екстракту квіток примули щодо *human rhinovirus*, *respiratory syncytial virus* [149].

Таким чином, проведені дослідження показали, що екстракт квіток первоцвіту весняного впливає згубно на цільові віруси і бактерії, що викликають інфекції дихальних шляхів, проявляє протизапальну дію, тим самим має широкий терапевтичний потенціал.

У роботах іранських дослідників Alinezhad H. зі співав. з метою визначення захисних властивостей рослинних поліфенолів первоцвіту визначена антикоагулянтна активність різних фракцій з екстракту *Primula*

heterochroma. В експерименті використовувалися водні, етилацетатні, гексанові фракції екстракту даного виду [134].

Alinezhad H. зі співав. встановили антиоксидантну активність екстракту з *Primula heterochroma* (водну, гексанову, етилацетатну фракції) *in vitro* на моделях Fe (2+) – індукованого перокисного окислення ліпідів і окисного стресу в мозку щурів. Результати даного дослідження показали, що *Primula heterochroma* є багатим джерелом природних антиоксидантів [133].

Вищезгаданими іранськими авторами (Alinezhad H. та ін.) також визначена мембраностабілізуюча і антигемолітична активність екстрактів з *Primula heterochroma*. Результати досліджень показали, що досліджувані об'єкти мають помітний антигемолітичний ефект на моделі гемолізу еритроцитів, індукованого перекисом водню. Екстракти *Primula heterochroma* підвищують цілісність і стабільність клітинних мембран еритроцитів щурів, істотно гальмуючи ПОЛ, захищаючи їх від гемолізу і збільшуючи кількість у крові [134, 157].

Згідно з даними літератури про вивчення фармакологічних властивостей *Primula farinosa*, даний представник роду Примула знаходить застосування у народній медицині як засіб проти випадіння волосся і від лупи (настій трави), а також використовується при дерматитах [142].

Таким чином проведені дослідження свідчать, що представники роду Примула володіють досить різноманітним спектром терапевтичних дій.

Відомо, що екстракт і настоянка первоцвіту весняного (зокрема, коренів) використовуються як компоненти лікарських засобів, що застосовуються при захворюваннях верхніх дихальних шляхів: Синупрет екстракт, Синупрет форте (Таблетовані форми), Синупрет сироп, Синупрет краплі оральні («Bionogica AG», Німеччина) – містять екстракт квіток первоцвіту; Бронхікум ТП еліксир і Бронхікум сироп («Rhone-Poulenc Roger», Німеччина) – настоянку кореня первоцвіту весняного; таблетований препарат Бронхіплет ТП («Bionogica AG», Німеччина) – сухий екстракт кореня; Гербіон сироп первоцвіту («KRKA», Словенія), Пекторал («Мефа», Швейцарія) – рідкий екстракт кореня [122].

Таким чином, офіційними лікарськими препаратами первоцвіту весняного є тільки комплексні засоби, які застосовують при лікуванні захворювань дихальних шляхів.

Окрім того, рослини роду Примула застосовуються у складі БАД, наприклад: екстракт коренів первоцвіту входить до складу пастилок Гербіон Ментомед («KRKA», Словенія); Леді'С формула Передменструальний синдром («PharmaMed», США) та Леді'С формула Індивідуальна менструальна система («PharmaMed», США) – містить олію первоцвіту [122].

Аналіз та систематизація джерел літератури показали, що рід *Primula L.*, який налічує значу кількість представників, різних за фармакогностичними ознаками, умовами та місцем зростання, періодом та тривалістю цвітіння створює значний інтерес для медичної та фармацевтичної індустрії, завдяки наявності комплексу БАР, що зумовлює ряд соціально необхідних фармакологічних властивостей. На даний час досліджено хімічний склад та фармакологічну дію таких представників роду Примула, як *Primula veris* і *Primula elatior*, інші види є малодослідженими та вирощуються як квітково-декоративні рослини. В Україні з лікувальною метою використовується лише первоцвіт весняний, що має широкий спектр фармакологічної дії. З огляду на досвід народної медицини і дані експериментальних досліджень, рослини роду Примула, особливо первоцвіт весняний, знайшли широке застосування в клінічній практиці. Тому дослідження інших представників даного роду, які мають достатню сировинну базу, з метою пошуку нових джерел БАР є необхідними.

Враховуючи те, що останнім часом на території України значне розповсюдження у ландшафтному дизайні набули три культивовані види роду Примула – примула зубчаста, п. Юлія та п. скельна, але у джерелах наукової літератури даних щодо їх хімічного складу, макро- та мікроскопічних діагностичних ознак, досліджень з вивчення фармакологічної активності немає, актуальним є комплексний фармакогностичний аналіз даних видів.

Дані види примул можуть бути перспективними як з точки зору сировинної бази і можливості культивування, так і представляють науковий інтерес в

порівнянні з більш вивченими видами. Так, примула Юлії зимостійка, рідко пошкоджується шкідниками, хворобами і утворює щільні великі дернини; примула дрібнозубчаста – один із видів примул з порівняно великою зеленою масою, а примула скельна легко вирощується та може використовуватись навіть в домашній культурі як джерело вітамінів.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкти дослідження

Об'єктами для досліджень були надземні та підземні органи трьох культивованих видів роду *Primula L.* – примули зубчастої (дрібнозубчастої) (*Primula denticulata* Smith), примули Юлії (*Primula juliae* Kusn.) та примули скельної (*Primula saxatilis* Kom.). Листки та квітки заготовляли під час масового цвітіння (примули Юлії та п. зубчастої – в кінці квітня на початку травня, п. скельної – в кінці травня на початку червня 2014-2018 рр.), сушили на відкритому повітрі без потрапляння прямих сонячних променів; кореневища з коренями – восени, після завершення періоду вегетації (в кінці вересня на початку жовтня 2014-2018 рр.), в'ялили на повітрі і сушили у теплому місці або у сушарках при температурі 40-50 °С. Заготівлю проводили на науково-дослідних ділянках відділу квітниково-декоративних рослин Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України.

2.2 Короткі відомості про прилади, методи і реактиви

Під час комплексного фармакогностичного дослідження використовували наступні методи: бібліографічні, системно-логічні, морфологічні, анатомічні, органолептичні, макро- та мікроскопічні, фізичні, фізико-хімічні, хімічні, фармакологічні, мікробіологічні, статистичні, а також методи порівняльного аналізу.

Якісний склад досліджуваних об'єктів встановлювали за допомогою специфічних реакцій ідентифікації та методів хроматографічного аналізу: ПХ (висхідної), ТШХ (висхідної), ГХ/МС, ВЕРХ. Для цього використовували водні, водно-спиртові та хлороформні витяжки листків, квіток та кореневищ з коренями примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної.

При виявленні БАР методом ТШХ використовували хроматографічний

папір марки «Filtrak» FN 4, пластинки «Сорбфіл» (*Sorbfil peates* 10x15, Росія).

Дослідження кількісного вмісту суми фенольних сполук, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, танінів, поліфенолів, сапонінів, антоціанів та аскорбінової кислоти в досліджуваних об'єктах здійснювали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі *Lambda 25 UV* (Perkin Elmer, США), у кюветах з товщиною шару 10 мм.

Встановлення якісного складу та визначення кількісного вмісту індивідуальних сполук фенольної природи (флавоноїдів, ГКК, дубильних речовин) та амінокислот здійснювали методом ВЕРХ на рідинному хроматографі *Agilent 1200 3 D LC System Technologies* (США).

Хроматографічне дослідження моносахаридів та жирних кислот проводили методом ГХ/МС на системі *Agilent 6890N/5973inert* (*Agilent technologies, USA*).

Кількісний вміст суми вільних кислот органічних визначали титриметричним методом (пряма алкаліметрія).

Мікроскопічні діагностичні ознаки вивчали на мікроскопах МБС 9, МС 10 (окуляри X5, X10, 15, об'єктиви X10, X40). Мікрофотографії робили фотокамерою Samsung PL50. Мікропрепарати готували із висушеної сировини, фіксованої у суміші спирт-гліцерин-вода (1:1:1). Включаючи рідини тимчасових мікропрепаратів – розчини гліцерину та хлоралгідрату [33, 69, 119, 127, 140].

Фармакологічні дослідження фармацевтичної субстанції проводили *in vivo* на 66 білих нелінійних мишах масою 19-22 г, 50 щурах лінії Вістар, 50 нелінійних мишах-самцях масою 19-22 г і 50 щурах лінії Вістар масою 190-220 г [16, 34, 39, 110, 117].

Мікробіологічні дослідження фармацевтичної субстанції проводили *in vitro*. Як тест-культури використовували музейні штами: *Staphylococcus aureus* (ATTC 6583), *Staphylococcus epidermidis* (ATTC 14990), *Corynebacterium spp.* (ATTC 373), *Klebsiella pneumoniae* (ATTC 13883), *Candida albicans* (ATTC 885-653).

Статистичну обробку одержаних результатів проводили відповідно до вимог загальної статті ДФУ другого видання, том 1 (5.3.N.1) «Статистичний

аналіз результатів хімічного експерименту^N» за допомогою комп'ютерної програми Statistica 10,0 [90, 112, 114, 121].

2.3 Встановлення якісного складу та визначення вмісту БАР у сировині примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної

2.3.1 Кислота аскорбінова. Кількісний вміст аскорбінової кислоти визначали у надземних та підземних органах трьох досліджуваних об'єктів спектрофотометричним методом на спектрофотометрі *Lambda 25* Perkin Elmer (США) за методикою, наведеною в ДФУ 2.0 (монографія «Шипшина») [12].

Вміст аскорбінової кислоти, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{2,5 \times A_1 \times m_2}{A_2 \times m_1},$$

де A_1 – оптична густина випробовуваного розчину;

A_2 – оптична густина розчину порівняння;

m_1 – маса наважки випробовуваної сировини, г;

m_2 – маса наважки аскорбінової кислоти, г [12].

2.3.2 Органічні кислоти. Визначення вільних органічних кислот проводили методом ТШХ у надземних та підземних органах трьох культивованих видів роду Примула [28]. Для цього готували водні витяжки досліджуваних об'єктів. Дослідження проводили у наступних системах розчинників:

- 95 % спирт Р – хлороформ – концентрований розчин амоніаку – вода очищена Р (70:40:20:2);

- 95 % спирт Р – концентрований розчин амоніаку (16:4,5).

Хроматограми після хроматографування добре висушували і обробляли проявними реагентами. Як проявники використовували у першому випадку – 0,1 % розчин натрію 2,6-дихлорфеноліндофенолу у 95 % етанолі Р, спостерігаючи появу плям рожевого кольору на блакитному фоні; у другому –

розчин бромкрезолового зеленого, речовини проявлялись у вигляді жовтих плям на синьому фоні. При дії на хроматограми парів амоніаку протягом декількох секунд поліпшувалась контрастність плям.

Кількісне визначення суми органічних кислот проводили титриметричним методом [78].

Вміст органічних кислот, у перерахунку на кислоту яблучну, в абсолютно сухій сировині, у відсотках (X), обчислювали за формулою:

$$X = \frac{V \times 0,0067 \times 250 \times 100 \times 100}{m \times 10 \times (100 - W)},$$

де V – об'єм 0,1 М розчину натрію гідроксиду, витраченого на титрування, мл;
 $0,0067$ – кількість кислоти яблучної, що відповідає 1 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду, г;
 m – маса наважки випробовуваної сировини, г;
 W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

2.3.3 Жирні кислоти. Визначення якісного складу та кількісного вмісту жирних кислот проводили методом ГХ/МС у надземних та підземних органах примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної [45, 61, 144, 154].

Для ідентифікації метилових естерів жирних кислот досліджуваної суміші порівнювали їх час утримування із часом утримання стандартної суміші метилових естерів жирних кислот. Використовували бібліотеку мас-спектрів NIST 02.

Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби.

Вміст жирної кислоти (X), у відсотках, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{S_x \times M_{BH.CT} \times 1000}{S_{BH.CT} \times m},$$

де S_x – площа піку кислоти жирної;

$M_{BH.CT}$ – маса внутрішнього стандарту на пробу, мг;

$S_{вн.ст.}$ – площа піку внутрішнього стандарту;

m – наважка сировини, мг [36].

2.3.4 Визначення вуглеводів. Виявлення вуглеводів у водних витяжках досліджуваних зразків (листках та квітках примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної) проводили за допомогою реакцій ідентифікації:

– *осадження полісахаридів етанолом*: при наявності полісахаридів з'являються плаваючі пластинчасті згустки, що випадають в осад при відстоюванні.

– *реакція виявлення відновних (нейтральних) моноцукрів*: з реактивом Фелінга, при наявності моноцукрів з'являється цеглянисто-червоний осад закису міді;

– *реакція виявлення кислих моноцукрів*: з 0,5 %-им розчином карбазолу, при наявності галактуронової або глюкуронової кислот з'являється червоно-фіолетове забарвлення [58, 105].

Визначення моноцукрів у рослинній сировині (листках та квітках) здійснювали методом ГХ/МС на системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA). Ідентифікацію моноцукрів досліджуваної суміші проводили шляхом порівняння часів утримування стандартних моноцукрів та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. Як внутрішній стандарт використовували розчин сорбітолу [98, 131, 145].

Маса моноцукру на 1 кг сировини в мг розраховували за формулою:

$$X = \frac{S_x \times C_{вст} \times V_{розч} \times 1000}{S_{вст} \times m \times V_{екстр}},$$

де S_x – площа піку моноцукру;

$C_{вст}$ – концентрація внутрішнього стандарту, мг/мл;

$V_{роз}$ – об'єм розчинника для екстракції/гідролізу проби, мл;

$S_{вст}$ – площа піку внутрішнього стандарту;

m – наважка препарату, мг;

$V_{екстр}$ – об'єм екстракту для аналізу, мл.

2.3.5 Амінокислоти. Ідентифікацію амінокислот здійснювали за допомогою якісної реакції з 0,1 % свіжоприготовленим розчином нінгідрину, що додавали до водних витяжок з листків та кореневищ з коренями трьох видів роду *Primula L.*: примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної. При наявності амінокислот з'являлось червоно-фіолетове забарвлення [58].

Водні витяжки готували шляхом екстрагування у колбі зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані протягом 30 хв, попередньо заливши 30 г подрібненої сухої сировини (розміри частинок 2-5 см) 250 мл гарячої води очищеної Р. Операцію повторювали 3 рази. Водні витяжки об'єднували, фільтрували крізь паперовий фільтр і випарювали до 100 мл.

Якісний склад та кількісний вміст вільних та зв'язаних амінокислот у досліджуваних об'єктах визначали методом ВЕРХ на приладі Agilent 1200 (Agilent technologies, USA), що заснований на кислотному гідролізі з наступним аналізом гідролізатів з перердколоночною дериватизацією 9-флуоренілметоксикарбоніл хлоридом (FMOC) та о-фталевим альдегідом (OPA) з наступною детекцією флюоресцентним детектором [24, 26, 35, 151, 162, 163].

Отримання флюоресцентних похідних проводили в автоматичному програмованому режимі перед введенням проби в хроматографічну колонку.

Ідентифікацію амінокислот проводили шляхом порівняння часів утримання з сумішшю стандартів амінокислот (Agilent 5061-3334).

Кількісний вміст амінокислот (мкг/мг), обчислювали за формулою:

$$X = \frac{C \times V_{роз} \times k}{m_{преп}},$$

де C – концентрація за даними хроматографічної системи, мкг/мг;

$V_{роз.}$ – об'єм розчинника для екстракції, мл;

$m_{преп.}$ – наважка сировини, мг;

k – коефіцієнт розведення проби перед ВЕРХ аналізом (вільні або загальні).

Вміст зв'язаних амінокислот визначали шляхом віднімання вмісту вільних амінокислот від їх загального вмісту.

2.3.6 Сума фенольних сполук. Визначення кількісного вмісту суми фенольних сполук у надземних та підземних органах примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на кислоту галову [3, 125].

Вміст суми фенольних сполук (X) в перерахунку на кислоту галову та абсолютно суху сировину у відсотках обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times m_0 \times 1 \times 30 \times 50 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times 50 \times 1 \times 100 \times (100 - W)},$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину;

m – маса сировини, г;

A_0 – оптична густина СФЗ ДФУ галової кислоти;

m_0 – маса наважки СФЗ ДФУ галової кислоти, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

2.3.7 Гідроксикоричні кислоти. Ідентифікацію ГКК проводили за допомогою якісної реакції з розчином ферум (III) хлориду, що додавали до спиртово-водних витяжок з досліджуваних зразків сировини [58].

Для виявлення гідроксикоричних кислот використовували методи ПХ.

Для цього досліджувані витяжки наносили на хроматографічний папір, поряд наносили стандартні зразки (розмаринова, неофлорогена, флорогена, кофейна та ферулова кислоти) і поміщали хроматограми у дві системи розчинників: н-бутанол-ацетатна кислота-вода очищена Р (4:1:2) та 15 % розчин ацетатної кислоти. Хроматограму висушували у витяжній шафі і розглядали при денному та УФ-світлі до і після обробки парами амоніаку, 3 % розчином ферум (III) хлориду, діазорективом.

Кількісне визначення гідроксикоричних кислот ґрунтується на спектрофотометричному методі [32]. Дослідження даної групи БАР проводили

у надземних та підземних органах трьох видів примул (примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної) у перерахунку на хлорогенову та розмаринову кислоти.

Визначення ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту. Оптичну густина розчину вимірювали на спектрофотометрі Lambda 25 за довжини хвилі 327 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Для порівняння використовували 20 % етанол [32].

Вміст гідроксикоричних кислот в перерахунку на абсолютно суху сировину у відсотках (X) обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \times 250 \times 50 \times 100}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \times m \times 1 \times (100 - W)},$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину;

250 – об'єм розчину, мл;

m – маса сировини, г;

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти (531);

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Визначення ГКК у перерахунку на розмаринову кислоту. Вихідний розчин. 0,2 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини поміщали у колбу місткістю 250 мл, додавали 190 мл етанолу (50 %, об/об) Р, нагрівали зі зворотним холодильником на водяній бані протягом 30 хв, охолоджували до кімнатної температури та фільтрували у мірну колбу місткістю 200 мл. Фільтр промивали 10 мл етанолу (50 %, об/об) Р і промивну рідину фільтрували у ту саму мірну колбу. Доводили об'єм розчину етанолом (50 %, об/об) Р до позначки і перемішували.

Випробовуваний розчин. 1 мл вихідного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додавали, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину кислоти хлоридної Р, 2 мл свіжоприготованого розчину 10 г натрію нітриту Р і 10 г натрію молібдату Р у 100 мл води Р, 2 мл натрію гідроксиду розчину розведеного Р, доводили об'єм розчину водою Р до позначки та перемішували.

Компенсаційний розчин. 1 мл вихідного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додавали, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти Р і 2 мл натрію гідроксиду розчину розведеного Р, доводили об'єм розчину водою Р до позначки та перемішували.

Відразу вимірювали оптичну густину випробовуваного розчину за довжини хвилі 505 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст суми кислот гідроксикоричних, у перерахунку на кислоту розмаринову, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times 5}{m},$$

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

m – маса наважки випробуваної сировини, г [41].

Також дослідження якісного складу та кількісного вмісту ГКК у досліджуваних зразках (листочках, квітках та кореневищах з коренями примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної) проводили методом ВЕРХ.

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту ГКК методом ВЕРХ у надземних органах. Для цього використовували хроматограф Agilent Technologies 1200 з фотометричним діодно-матричним детектором UV-Vis G1315C. Метод ґрунтується на хроматографічному розділенні гідроксикоричних кислот на обернено-фазовій колонці C18 з подальшою реєстрацією хроматограм за допомогою діодно-матричного УФ-детектора.

Проводять реєстрацію УФ-спектрів гідроксикоричних кислот у всьому діапазоні довжин хвиль, що дає можливість проводити ідентифікацію не тільки за часом утримування, але й за характером спектра аналізованого компоненту.

Масову концентрацію гідроксикоричних кислот розраховують за градуовальною характеристикою (залежність площі хроматографічного піка від масової концентрації відповідних гідроксикоричних кислот в розчині

підготовленої проби). Масову частку гідроксикоричних кислот обчислюють з урахуванням маси наважки сировини та кінцевого об'єму проби.

Пробопідготовка зразка для аналізу: наважку зразка подрібненої сировини масою $(0,5 \pm 0,01)$ г переносять у плоскодонну колбу (стакан) об'ємом 100 см^3 і заливають 30 см^3 60 % розчином метилового спирту. Колбу ставлять на магнітну мішалку з підігрівом при температурі $70 \text{ }^\circ\text{C}$ та витримують 30 хв з оберненим холодильником. Після обробляють ультразвуком 10 хв з частотою 45 кГц при температурі $70 \text{ }^\circ\text{C}$. Охолоджують в термостаті до температури не вище $25 \text{ }^\circ\text{C}$ та переносять вміст у мірну колбу об'ємом 50 см^3 . Доводять об'єм до мітки 60 % розчином метилового спирту. Ретельно перемішують, дають відстоятися 5 хв. Надосадову рідину обережно зливають у приготовлену ємність. Відфільтровують крізь шприцевий мембранний фільтр на основі заміщеної целюлози діаметром пор $0,45 \text{ мкм}$ в ємність для хроматографування.

Параметри хроматографічного аналізу: градієнтне елюювання, мобільна фаза – бідистильована вода підкислена $0,005 \text{ М}$ розчином ортофосфорної кислоти (А) і ацетонітрил (В), час сканування $0,6 \text{ сек}$, діапазон детектування – $190\text{--}400 \text{ нм}$, довжини хвиль детектування УФ-спектрів – 320 та 330 нм [21, 130, 139, 147, 148].

Режим хроматографування: максимальна швидкість подачі рухомої фази – $0,7 \text{ мл/хв}$, робочий тиск елюента – $10000\text{--}12000 \text{ кПа}$; температура термостата колонки – $25 \text{ }^\circ\text{C}$; об'єм введеної проби – $5\text{--}20 \text{ мкл}$, час хроматографування – 5 хв [32]. Режим програмування складу мобільної фази при хроматографуванні гідроксикоричних кислот наведено: $0 \text{ хв} - \text{А} (95 \%) : \text{В} (5 \%)$; $8 \text{ хв} - \text{А} (92 \%) : \text{В} (8 \%)$; $15 \text{ хв} - \text{А} (90 \%) : \text{В} (10 \%)$; $30 \text{ хв} - \text{А} (80 \%) : \text{В} (20 \%)$; $40 \text{ хв} - \text{А} (60 \%) : \text{В} (40 \%)$; $41 \text{ хв} - \text{А} (25 \%) : \text{В} (75 \%)$; $42 \text{ хв} - \text{А} (25 \%) : \text{В} (75 \%)$; $43 \text{ хв} - \text{А} (95 \%) : \text{В} (5 \%)$; $50 \text{ хв} - \text{А} (95 \%) : \text{В} (5 \%)$.

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту ГКК методом ВЕРХ у підземних органах. Наважка сировини кожної проби $0,4\text{--}0,6 \text{ г}$, екстрагувалася в 5 мл 60 % розчину метанолу на ультразвуковій бані при $80 \text{ }^\circ\text{C}$ впродовж 4 годин в скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Отриманий

екстракт центрифугували при 3 тис об/хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Рідинну хроматографію проведено на хроматографі Agilent Technologies 1200. Як рухому фазу використовували метанол (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти в воді (В). Елюювання проводили в градієнтному режимі: 0 хв – А (25 %) : В (75 %); 25 хв – А (75 %) : В (25 %); 27 хв – А (100 %) : В (0 %); 35 хв – А (100 %) : В (0 %). Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-Aq (4,6 мм±150 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку 0,5 мл/хв., температура термостату 30 °С, об'єм інжекції 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 250 та 275 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [105].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів фенольних сполук (галової кислоти, гідроксифеніл ацетатної кислоти, хлорогенової кислоти, кофейної кислоти, сирінгової кислоти, *p*-кумарової кислоти, транс-ферулової кислоти, синапової кислоти, транс-цинамової кислоти, хінної кислоти).

Вміст сполук (X) (мкг/г) визначали за формулою:

$$X = \frac{C \times V}{m},$$

де *C* – концентрація сполуки, визначена хроматографічно, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини з якої проводили екстракцію, г [136].

2.3.8 Флавоноїди та кумарини. Для якісного виявлення флавоноїдів у досліджуваних об'єктах готували спиртово-водні витяжки. 3 г подрібненої сировини поміщали у колбу на 100 мл, заливали 30 мл 70 % етанолу Р, до колби приєднували зворотний холодильник та нагрівали на киплячій водяній бані 20 хв, періодично перемішуючи. Після охолодження витяг фільтрували та очищали від супутніх фенольних сполук за допомогою колонкової хроматографії: фільтрат

наносили на колонку (діаметр 1 см), заповнену поліамідним сорбентом (1 г), промивали 50 мл води очищеної Р і вимивали флавоноїди з колонки 70 % етанолом Р, відбираючи забарвлену у жовтий колір фракцію. Отриманий елюат випарювали до 1/2 об'єму та використовували для проведення якісних реакцій та хроматографічного аналізу флавоноїдів. Як зразок для порівняння використовували 0,1 % етанольний розчин рутину.

З метою ідентифікації флавоноїдів застосовували загальновідомі якісні реакції:

- ціанідина пробу;
- із 10 % розчином лугу;
- із 10 % розчином ферум (III) хлоридом;
- із 5 % спиртовим розчином алюмінію хлориду;
- із розчином плюмбум ацетату [58].

Ідентифікацію флавоноїдів у досліджуваних об'єктах проводили також методом ТШХ у системі розчинників н-бутанол-ацетатна кислота-вода очищена Р (4:1:2). Хроматограми після висушування розглядали при денному і УФ-світлі до та після обробки парами амоніаку.

Кількісний вміст суми флавоноїдів у надземних та підземних органах трьох культивованих видів роду *Primula L.* визначали спектрофотометричним методом, на спектрофотометрі *Lambda 25 UV* у перерахунку на рутин та апігенін [89].

Кількісне визначення флавоноїдів в перерахунку на апігенін. Вихідний розчин. 0,3 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщають у конічну колбу місткістю 100 мл з притертим шліфом, додають 40 мл 60 % етанолу Р і нагрівають зі зворотнім холодильником впродовж 30 хв на киплячій водяній бані. Після охолодження спиртового вилучення його фільтрують у мірну колбу місткістю 100 мл, у колбу з сировиною додають 30 мл 60 % етанолу Р і нагрівають зі зворотнім холодильником впродовж 30 хв на киплячій водяній бані, збираючи після охолодження отриманий витяг у ту ж мірну колбу. Екстракцію 60 % етанолу Р повторюють, використовуючи наступні 20 мл 60 % етанолу Р впродовж 15 хв і діючи, як у попередньому випадку. Колбу з сировиною промивають 60 % етанолу Р, доводячи об'єм вилучення у мірній колбі до 100 мл.

Випробуваний розчин. 1,0 мл вихідного розчину поміщають в мірну колбу місткістю 25 мл, додають 2,0 мл 3 % розчину алюміній хлориду і доводять об'єм розчину 70 % етанолу Р до позначки, перемішують. Компенсаційний розчин. 1,0 мл вихідного розчину поміщають в мірну колбу місткістю 25 мл та доводять об'єм розчину 70 % етанолу Р до позначки, перемішують.

Розчин стандартного зразка апігеніну. 0,01 г (точна наважка) стандартного зразка апігеніну поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 70 мл 70 % етанолу Р, розчиняють та доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки і перемішують.

Розчин порівняння. 1,0 мл розчину стандартного зразка апігеніну поміщають в мірну колбу місткістю 25 мл, додають 2,0 мл 3 % розчину алюміній хлориду і доводять об'єм розчину 70 % етанолу Р до позначки, перемішують.

Компенсаційний розчин. 1,0 мл розчину стандартного зразка апігеніну поміщають в мірну колбу місткістю 25 мл та доводять об'єм розчину 70 % етанолу Р до позначки, перемішують. Оптичну густину випробуваного розчину і розчину порівняння вимірюють через 45 хв після приготування при довжині хвилі 393 нм відносно компенсаційних розчинів для кожного відповідно.

Вміст суми флавоноїдів у сировині, у відсотках, в перерахунку на апігенін і суху сировину (X) розраховували за формулою:

$$X = \frac{A_x \times m_0 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times (100 - W)},$$

де A_x – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння;

m_0 – маса наважки стандартного зразка апігеніну, г;

m – маса наважки сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, % [59].

Кількісне визначення флавоноїдів в перерахунку на рутин. Оптичну густину вимірювали за довжини хвилі 415 нм у перерахунку на рутин, тому що

попередні дослідження показали наявність флавоноїдних сполук, переважно похідних кверцетину.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин та абсолютно суху сировину у відсотках (X) розраховували за формулою:

$$X = \frac{A \times m_0 \times 30 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times (100 - W) \times 100},$$

де A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина стандартного зразка рутину;

m – маса наважки сировини, г;

m_0 – маса наважки ФСЗДФУ рутину, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, % [8, 60].

Дослідження вмісту флавоноїдів та кумаринів також проводили методом ВЕРХ у листках, квітках та кореневищах з коренями досліджуваних об'єктів.

Дослідження вмісту флавоноїдів та кумаринів методом ВЕРХ у листках і квітках. Розділення суми флавоноїдів та кумаринів на окремі компоненти здійснювали методом ВЕРХ на хроматографі Agilent Technologies 1200 з фотометричним діодно-матричним детектором UV-Vis G1315C.

Параметри хроматографічного аналізу: елюенти (А) 0,005 Н кислота фосфорна (Fluka), (В) ацетонітрил (Sigma-Aldrich). Режим хроматографування: максимальна швидкість подачі рухомої фази 0,8 мл/хв (флавоноїди) 0,7 мл/хв (кумарини), робочий тиск елюента 156 бар; температура термостата колонки 25 °С. Загальна тривалість аналізу 60 хвилин. Режим елюювання – градієнтний: 0 хв – А (88%) : В (12 %), 30 хв – А (75%) : В (25 %), 33 хв – А (75%) : В (25 %), 38 хв – А (70%) : В (30 %), 40 хв – А (60%) : В (40 %), 41-48 хв – А (20%) : В (80 %), 49-60 хв – А (88%) : В (12 %). Час сканування 0,6 с, діапазон детектування – 190-400 нм, довжина хвилі 255 нм і 340 нм [40, 92, 99, 129].

Пробопідготовка. Зважували подрібнену сировину масою 1,00 г (точна наважка), поміщали в круглodonну колбу об'ємом 50 мл – (флавоноїди і

кумарини), екстрагували 50 мл 60 % метанолом у кип'ячій водяній бані із зворотним холодильником при перемішуванні протягом 30 хв (флавоноїди і кумарини). Після цього пробу обробляли ультразвуком протягом 10 хв, фільтрували, кількісно переносили в колбу на 100 мл і доводили до мітки розчинником 60 % метанолом. Перед хроматографуванням фільтрували через фільтр одноразового використання з діаметром пор 0,45 мкм.

Ідентифікацію фенольних сполук проводили шляхом порівняння значень часу утримування і УФ-спектра з даними стандартами.

Розрахунок концентрації проводили градувальним методом (залежність площі хроматографічного піка від масової концентрації відповідних флаваноїдів і кумаринів у розчині підготовленої проби).

Дослідження вмісту флавоноїдів методом ВЕРХ у кореневищах з коренями. Наважка сировини кожної проби 0,3-0,6 г, екстрагувалася в 5 мл 70 % етанолом на ультразвуковій бані при 80 °С впродовж 5 годин в скляних герметичних віалах із тefлоновою кришкою. Отриманий екстракт центрифугували при 3000 об/хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Рідинну хроматографію проведено на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200. Як рухому фазу використовували ацетонітрил (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти в воді (В). Елюювання проводили в градієнтному режимі: 0 хв – А (30 %) : В (70 %); 20 хв – А (70 %) : В (30 %); 22 хв – А (100 %) : В (0 %); 30 хв – А (100 %) : В (0 %). Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150 x 4,6 мм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку 0,25 мл/хв., температура термостату 30 °С, об'єм інжекції 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 280 та 365 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [105].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів флавоноїдів (рутину, кверцетин-3-*b*-глікозиду, нарінгіну, неогесперідину, кверцетину, нарінгеніну, кемпферолу, лютеоліну).

Кількість флавоноїдів (X) (мкг/г) визначали за формулою:

$$X = \frac{C \times V}{m},$$

де C – концентрація сполуки, визначена хроматографічно, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини з якої проводили екстракцію, г [152].

2.3.9 Дубильні речовини. Для дослідження вмісту дубильних речовин використовували водні витяжки з трави, квіток та підземних органів трьох культивованих видів примул (*Primula denticulate* Smith, *Primula juliae* Kusn., *Primula saxatilis* Kom.).

Приготування витягу: 1 г сировини, подрібненої до 1 мм, вміщують у колбу на 250 мл, заливають 100 мл води і нагрівають на киплячій водяній бані 20 хв, охолоджують і проціджують крізь вату. Для вилучення ліпофільних речовин водну витяжку збовтують у ділильній лійці з хлороформом (1:1). Хлороформний шар відокремлюють, а до водної витяжки додають три об'єми етанолу. Осад відфільтровують і відкидають (полісахариди).

Якісний склад встановлювали за допомогою реакцій ідентифікації:

- із розчином ферум (III) амоній сульфату;
- із 1 % розчином желатини;
- із солями алкалоїдів [58].

Кількісне визначення танінів проводили методом спектрофотометрії [13].

Проведення операцій екстрагування та розведення здійснювали у захищеному від світла місці. 0,5 г (точна наважка) досліджуваної сировини поміщали у круглодонну колбу місткістю 250 мл, додавали 150 мл *води очищеної Р*. Нагрівали протягом 30 хв на водяній бані, охолоджували під проточною водою та кількісно переносили у мірну колбу місткістю 250 мл. Круглодонну колбу обполіскували *водою очищеною Р*, промивні води переносили в мірну колбу і доводили об'єм розчину *водою очищеною Р* до 250,0 мл. Додавали осаду осісти та рідину фільтрували крізь фільтрувальний папір діаметром 125 мм. Відкидали перші 50 мл фільтрату.

Сума поліфенолів. 5,0 мл фільтрату доводили водою очищеною Р до 25,0 мл. Суміш 2,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву Р і 10,0 мл води очищеної Р доводили розчином 290 г/л натрію карбонату Р до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину за довжини хвилі 760 нм (А1), використовуючи як компенсаційний розчин *воду очищену Р*.

Поліфеноли, що не адсорбуються шкірним порошком. До 10 мл фільтрату додавали 0,10 г ФСЗ шкірного порошку і енергійно струшували протягом 60 хв. Суміш фільтрували і доводили 5,0 мл фільтрату водою очищеною Р до об'єму 25,0 мл. Суміш 2,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву Р і 10,0 мл води Р доводили розчином 290 г/л натрію карбонату Р до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину за довжини хвилі 760 нм (А2), використовуючи як компенсаційний розчин *воду очищену Р*.

Стандартний розчин. Безпосередньо перед випробуванням 50,0 мг пірогалолу Р розчиняли у воді очищеній Р і доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл. 5,0 мл одержаного розчину доводили водою очищеною Р до об'єму 100,0 мл. Суміш 2,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву Р і 10,0 мл води очищеної Р доводили розчином 290 г/л натрію карбонату Р до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину за довжини хвилі 760 нм (А3), використовуючи як компенсаційний розчин *воду очищену Р* (рис. 2.1).

Вміст танінів, у перерахунку на пірогалол, у відсотках, обчислювали за формулою:

$$X = \frac{62,5 \times (A_1 - A_2) \times m_2}{A_3 \times m_1},$$

де m_1 – маса випробовуваного зразка, г;

m_2 – маса пірогалолу, г;

A_1 – оптична густина випробовуваного розчину;

A_2 – оптична густина розчину поліфенолів, що не адсорбуються шкірним порошком;

A_3 – оптична густина стандартного розчину пірогалолу.

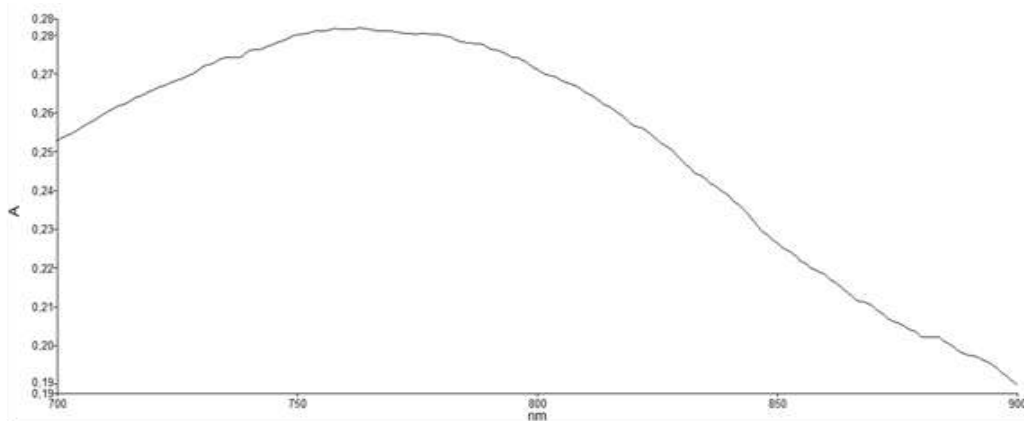


Рис. 2.1. УФ-область спектру поглинання стандартного зразку пірогалолу

Вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол у % обчислювали за формулою:

$$X = \frac{62,5 \times A_1 \times m_2}{A_3 \times m_1},$$

де: m_1 – маса випробовуваного зразка, г;

m_2 – маса пірогалолу, г;

A_1 – оптична густина випробовуваного розчину;

A_3 – оптична густина стандартного розчину пірогалолу [60].

Якісний склад і кількісний вміст компонентів дубильних речовини у надземних органах примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної визначали методом ВЕРХ, на хроматографі *Agilent 1200 3D LC System Technologies* (США) [7, 169, 175].

Методика визначення: здійснювали обернено-фазну хроматографію, використовували хроматографічну колонку *SupelcoDiscovery C18* розміром 250 × 4,6 мм із сорбентом: силікагель, модифікований октадецильними групами, яка має діаметр зерен 5 мкм. Як рухомих фаз використовували: сольвент А, який становить: 0,1 % кислота трифлуороцтова, 5 % ацетонітрил та вода рН = 2,08 та сольвенту В – 0,1 % кислота трифлуороцтова та ацетонітрил.

Режим хроматографування: максимальна швидкість подачі рухомої фази 0,5 мл/хв, максимальний робочий тиск елюента 400 bar (40 кПа); температура термостата колонки 25 °С; об'єм введеної проби 5-10 мкл, час хроматографування – 40 хв. Режим елюювання – градієнтна форма, ступінчаста: 0-1 хв – А (100 %) : В (0 %), 8 хв – А (8 %) : В (12 %), 10 хв – А (88 %) : В (12 %), 15 хв – А (75 %) : В (25 %), 20 хв – А (75 %) : В (25 %), 25 хв – А (25 %) : В (75 %), 28 хв – А (25 %) : В (75 %), 29 хв – А (100 %) : В (0 %). Час сканування 0,6 сек, діапазон детектування – 190-400 нм, довжина хвилі 280, 255 нм [169, 175].

Таніни реєстрували в усьому УФ діапазоні довжин хвиль, що дає можливість ідентифікувати їх не тільки за часом утримування, але й за характером спектра аналізованого компонента.

Масову концентрацію розраховували за градуовальною характеристикою (залежність площі хроматографічного піка за довжини хвилі 280 нм чи 255 нм від масової концентрації катехінів у розчині підготовленої проби).

Масову частку кожного виявленого катехіну та галової кислоти обчислювали з урахуванням маси наважки сировини та кінцевого об'єму проби.

Пробопідготовка. Наважку зразка масою $(0,5 \pm 0,01)$ г переносять у плоскодонну колбу (стакан) об'ємом 100 см³ і заливають 30 см³ гарячої бідистильованої води. Колбу ставлять на магнітну мішалку з підігрівом та витримують 30 хв при температурі 80 °С. Охолоджують в термостаті до температури не вище 25 °С та переносять вміст у мірну колбу об'ємом 50 см³. Доводять об'єм до мітки бідистильованою водою. Ретельно перемішують, дають відстоятися 5 хв і надосадову рідину обережно зливають у приготовлену ємність. Відфільтровують крізь шприцовий мембранний фільтр на основі заміщеної целюлози діаметром пор 0,45 мкм у приготовлену ємність. Відбирають з фільтрату 1 см³ в ємність для хроматографування.

2.3.10 Антоціани. Визначення кількісного вмісту *антоціанів* проводили спектрофотометричним методом згідно методики, наведеної в ДФУ 2.0 (монографія «Чорниці плоди свіжі») [12].

Оптичну густину розчину вимірювали за довжини хвилі 528 нм, використовуючи як компенсаційну рідину розчин 0,1% (об/об) кислоти хлористоводневої *P* у метанолі *P*.

Вміст антоціанів (*X*, %), у перерахунку на ціанідин-3-О-глюкозид хлориду, обчислювали, використовуючи питомий показник поглинання ціанідин-3-О глюкозиду хлориду, що дорівнює 718, за формулою:

$$X = \frac{A \times 5000}{718 \times m},$$

де *A* – оптична густина випробуваного розчину за довжини хвилі 528 нм;

m – маса наважки випробуваної сировини, г.

2.3.11 Сапоніни. Ідентифікацію сапонінів здійснювали за якісними реакціями, які проводили з водно-спиртовими витяжками з листків і підземних органів досліджуваних об'єктів. 3,0 г подрібненої сировини поміщали в колбу на 100 мл зі зворотнім холодильником і заливали 50 мл 50 % етанолом. Вміст колби нагрівали на водяній бані протягом 15 хвилин. Після охолодження фільтрували. 20 мл фільтрату випарювали до 10 мл (для видалення етанолу). Одержану водну витяжку використовували для проведення проби піноутворення і деяких осадкових реакцій, а також для визначення хімічної природи сапонінів; спирто-водну витяжку – для інших якісних реакцій і хроматографічного аналізу. Реакції ідентифікації:

- проба піноутворення;
- реакція осадження з 10 % розчином основного ацетату плюмбуму;
- реакція осадження з баритовою водою.
- визначення хімічної природи [58].

Кількісний вміст сапонінів визначали спектрофотометричним методом за довжини хвилі 381 нм у перерахунку на есцин [5].

Вміст сапонінів (*X*) у перерахунку на есцин в абсолютно сухій сировині у відсотках обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times 25 \times 25 \times 100}{m \times 0,5 \times (100 - W)},$$

де A – оптична густина, знайдена за калібрувальним графіком;

25 – об'єм розчину А, мл;

25 – об'єм розчину Б, мл;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, % [126].

2.4 Дослідження гострої токсичності та фармакологічної активності густого екстракту з примули зубчастої листків та густого екстракту з примули зубчастої кореневищ з коренями

2.4.1 Вивчення гострої токсичності екстрактів з примули зубчастої листків та кореневища з коренями. Дослідження гострої токсичності проводили за методом В. Б. Прозоровського на 66 білих нелінійних самцях та самках мишей масою 19-22 г, яких було розділено на групи по 6 тварин (3 самці та 3 самки) в кожній. Тваринам внутрішньошлунково вводили екстракти в діапазоні доз 2000, 3000, 4000 та 5000 м/кг. Контрольна група мишей отримувала еквіоб'ємні кількості дистильованої води. Перед внутрішньошлунковим введенням екстракту миші голодували протягом ночі. Доступ тварин до води був вільним, до їжі їх допускали лише через 3 години після введення препаратів. Для розрахунку середньої летальної дози (ЛД₅₀) через 14 днів визначали відсоток летальності в кожній групі відповідно до методу пробіт-аналізу кривих летальностей за В. Б. Прозоровським [110]. Через 14 днів тварин виводили з досліду шляхом дислокації шийних хребців та проводили оцінку зовнішнього стану тварин, а також зважування внутрішніх органів (серця, нирок, печінки, селезінки) та визначали їх масові коефіцієнти [16, 30].

2.4.2 Вивчення протизапальної дії густих екстрактів з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями. Визначення протизапальної дії густих екстрактів з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями в

порівнянні з натрію диклофенаком виконано на моделі експериментального запального процесу, викликаного субплантарним введенням 0,1 мл 1 % розчину карагеніну (λ -карагенін виробництва «Sigma» (США) в задню кінцівку щура [16]. На 3-й годині після введення (піку розвитку запального процесу) вимірювали об'єм здорової та набряклої кінцівки за допомогою плетизмометра (Ugo Basile, Italy). Екстракти та препарат порівняння вводили за 1 годину до введення карагеніну внутрішньошлунково. Досліджувані екстракти вводили в широкому діапазоні доз – 50, 100, 150 та 200. Натрію диклофенак вводили в дозі, які відповідає його ЕД₅₀ (8 мг/кг). Контрольні тварини отримували еквівалентні кількості води очищеної Р. Антиексудативну активність визначали за ступенем зменшення набряку у дослідних тварин у порівнянні з тваринами групи контролю (яким вводили еквівалентну кількість розчинника) і розраховували у %, за відповідними формулою [16]:

$$AEA = \frac{100\% - (V_{н.дос} - V_{зд.дос}) \times 100}{(V_{н.контр} - V_{зд.контр})}$$

де $V_{н-дос}$ – об'єм набряклої кінцівки в досліді;

$V_{зд дос}$ – об'єм здорової кінцівки в досліді;

$V_{н-контр}$ – об'єм набряклої кінцівки в контролі;

$V_{зд контр}$ – об'єм здорової кінцівки в контролі.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили в комп'ютерній програмі «Statistica 8.0» [76]. Для оцінки статистичної різниці у двох незалежних вибірках застосовували непараметричний U-критерій Мана-Уїтні, для порівняння незалежних вибірок в різних групах застосовували метод Крускала-Уоліса.

2.4.3 Вивчення відхаркувальної дії густих екстрактів з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями. Показником, який характеризує відхаркувальні властивості, є визначення його впливу на секреторну функцію бронхів. Використовували спосіб, описаний Engler та ін., 1984 та Baouquin Lin et., 2008, Аух Д., 2009 [34, 101, 141, 171].

Досліджувані екстракти в дозах 50-200 мг/кг, а також препарат порівняння – «Геделікс» краплі («Krewel Meuselbach GmbH», Німеччина) в дозі 200 мг/кг перорально вводили мишам-самцям масою 20-26 г і через 30 хв вводили внутрішньоочеревинно 500 мг/кг фенолового червоного (феноловий червоний розчиняли в 1-2 краплях ДМСО та доводили фізіологічним розчином до необхідного об'єму). Через 30 хв тварини виводили з експерименту шляхом дислокації хребців в шийному відділі, знекровлювали шляхом розтину брючної аорти і виконували резекцію всієї трахеї. Отриману трахею вміщували в 4 мл фізіологічного розчину і промивали протягом 30 хв, центрифугували при 8000 об/хв при кімнатній температурі протягом 10 хв, добавляли 1 М розчин натрію гідроксиду (NaOH) до супернатанту (0,1 мл 1 М NaOH на 1 мл супернатанту) і потім за допомогою фотоелектрокалориметра (ФЕК) вимірювали поглинання за довжини хвилі 546 нм для визначення відхаркувальної активності за концентрацією фенолового червоного.

Відхаркуюча дія досліджуваних екстрактів та препарату порівняння – крапель «Геделікс» вивчали за їх впливом на активність моторики в'їчастої епітелію. Цей показник характеризує евакуаторну спроможність секрету бронхів. Дослідження відхаркувального ефекту проводили на моделі ізольованої трахеї щура. Щурів-самців лінії Вістар масою 200-220 г забивали кровопусканням з черевної аорти. Трахею звільняли, відсікали між гортанню та її біфуркацією і фіксували до пластинки (9 см × 3,7 см × 0,3 см). Потім пластинку вміщували в пластиковий бокс ємністю 350 мл з 250 мл р-ну Тіроде і розміщували на 1 см нижче рівня розчину. Розчин Тіроде сатурували карбогеном з підтримкою постійної температури 37 °С. Активність в'їлок визначали шляхом підрахунку часу просування макових зернят, які були розташовані на протилежному до гортані краю слизової трахеї, на відстань 5 мм. Базову активність в'їлок визначали в 5 спостереженнях з використанням збільшення (×20) [117]. Досліджувані сполуки добавляли до розчину Тіроде, де знаходилась трахея.

2.4.4 Вивчення антимікробної дії густих екстрактів з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями. Об'єкт дослідження – 40 %

густий екстракт з примули зубчастої кореневищ з коренями у вигляді водного розчину в концентрації 1:3 (взірець № 1) та 70 % густий екстракт з примули зубчастої листків у вигляді водного розчину в концентрації 1:5 (взірець №2). В якості тест-культури використовували 5 музейних штамів: *Staphylococcus aureus* (ATTC 6583), *Staphylococcus epidermidis* (ATTC 14990), *Corynebacterium spp.* (ATTC 373), грамнегативну культуру *Klebsiella pneumoniae* (ATTC 13883). Протигрибкову дію вивчали відносно *Candida albicans* (ATTC 885-653).

Дослідження бактеріостатичної дії проводили методом серійних розведень у рідкому живильному середовищі та методом дифузії в агар.

Метод серійних розведень: готували 4 пробірки з двократними послідовними розведеннями фітозасобу. У першу пробірку додавали 1,0 мл стерильного нативного розчину ГЕ примули зубчастої. У наступні 3 пробірки попередньо додавали 1 мл м'ясо-пептонного бульйону, опісля – до 1 пробірки додавали 1 мл нативного розчину з попередньої пробірки (для отримання розведення 1:2), перемішували і продовжували розведення до передостанньої пробірки, з якої забирали 1 мл отриманої суміші. Остання 5 пробірка служить контролем росту культури. Потім до кожної пробірки з розведеннями ГЕ примули зубчастої, а також до контрольної, додають по 0,2 мл виготовленої суспензії тест-культури бактерій з розрахунку 10^5 - 10^6 мікробних тіл в 1 мл в залежності від виду мікроорганізму. Пробірки інкубували у термостаті 24 год при 37 °С. Після закінчення зазначеного терміну результати оцінювали візуально [50].

Метод дифузії в агар ґрунтується на здатності активніючих речовин дифундувати в агарове середовище, попередньо засіяне культурами мікроорганізмів.

Визначення активності антибактеріальних препаратів проводили на двох шарах щільного поживного середовища, розлитого в чашки Петрі. У нижньому шарі використовували «голодні» незасіяні середовища. Нижній шар становив підкладку висотою 10 мм, на яку горизонтально встановлювали тонкостінні циліндри з нержавіючої сталі діаметром 8 мм і висотою 10 мм. Навколо циліндрів заливали верхній шар, що складався з живильного агаризованого середовища,

розплавленого та охолодженого до 40 °С, в який вносили відповідний стандарт добової культури тест-мікроба. Попередньо верхній шар добре перемішували до утворення однорідної маси. Після застигання циліндри забирали стерильним пінцетом і в утворені лунки поміщали розчини ГЕ з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями (0,06 мл). При кімнатній температур протягом 30-40 хв підсушували чашки, які інкубували в термостаті при 37 °С 24 год [50, 96].

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ
БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У НАДЗЕМНИХ І ПІДЗЕМНИХ
ОРГАНАХ ПРИМУЛИ ЗУБЧАСТОЇ, П. ЮЛІЇ, П. СКЕЛЬНОЇ

3.1 Визначення кислоти аскорбінової

Спектрофотометричним методом на спектрофотометрі *Lambda 25* Perkin Elmer (США) за ДФУ 2.0 [12] визначено вміст кислоти аскорбінової у водних витяжках із листків, квіток та кореневищ з коренями примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної. Результати наведено у табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Вміст кислоти аскорбінової у сировині примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної (вірогідність похибки $P < 0,05$)

Сировина	Кількісний вміст, % в перерахунку на абсолютно суху сировину (n=5)
Примули зубчастої листки	1,19 ± 0,03
Примули зубчастої квітки	0,72 ± 0,03
Примули зубчастої кореневища з коренями	0,53 ± 0,02
Примули Юлії листки	1,46 ± 0,04
Примули Юлії квітки	1,25 ± 0,05
Примули Юлії кореневища з коренями	0,44 ± 0,02
Примули скельної листки	1,55 ± 0,06
Примули скельної квітки	1,09 ± 0,04
Примули скельної кореневища з коренями	0,51 ± 0,01

Результати спектрофотометричних досліджень показали, що квітки і листки культивованих видів примули містять значну кількість аскорбінової кислоти. Її найбільший вміст виявлено у примули скельної листках – 1,55 %, дещо менший у п. Юлії листках – 1,46 %. У квітках найбільший вміст аскорбінової кислоти спостерігали у примули Юлії (1,25 %). Серед кореневищ з коренями трьох досліджуваних об'єктів найбільша кількість кислоти аскорбінової міститься у примули зубчастої – 0,53 % [55].

Порівнюючи вміст аскорбінової кислоти у офіційного представника роду *Primula L.* – первоцвіту весняного та трьох досліджуваних об'єктів, можна зробити висновок про майже однаковий вміст даної сполуки в усіх досліджуваних видів. Первоцвіту весняного листки містять 1,6 % кислоти аскорбінової, примули скельної – 1,55 %, п. Юлії – 1,46 %, дещо менше міститься аскорбінової кислоти в п. зубчастої листках – 1,19 %. У первоцвіту весняного квітках вміст аскорбінової кислоти становив 1,17 %, примули Юлії – 1,25 %, п. скельної – 1,09 %. Примули зубчастої квітки містять лише 0,72 % аскорбінової кислоти. Первоцвіту весняного кореневища з коренями містять 0,53 % аскорбінової кислоти, майже аналогічно як у культивованих видів: у примули зубчастої, п. скельної та п. Юлії – 0,53 %, 0,51 % та 0,44 % відповідно. За вмістом аскорбінової кислоти у надземних органах усі досліджувані об'єкти показали приблизно однакові результати. Слід відмітити, що лише у примули Юлію та п. скельної вміст аскорбінової кислоти був високий та приблизно однаковий як у листках, так і у квітках [65].

3.2 Визначення органічних кислот

Методом ТШХ проводили виявлення у досліджуваних зразках культивованих видів роду *Primula L.* вільних органічних кислот [55, 1].

Використовували хроматографічні пластинки марки – «Сорбфіл» (Sorbfil plates 10x15, Росія). Система розчинників: 95 % етанол Р – концентрований розчин амоніаку (16:4,5). Проявники: 0,1 % розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу у 95 % етанолі Р, спостерігали появу плям рожевого кольору на блакитному

фоні; розчин бромкрезолового зеленого, речовини проявлялись у вигляді жовтих плям на зеленому фоні.

У порівнянні з достовірними зразками у примули зубчастої листках виявлено 7 органічних кислот: яблучну, щавлеву, бурштинову, бензойну, саліцилову, винну та лимонну; у квітках – 5: щавлеву, винну, яблучну, бензойну і бурштинову; у кореневищах з коренями – 5: щавлеву, яблучну, лимонну, саліцилову та бензойну.

У примули Юлії листках виявлено також 7 органічних кислот: винну, бензойну, лимонну, яблучну, бурштинову, щавлеву та саліцилову; у квітках – 4: бензойну, бурштинову, лимонну та яблучну; у кореневищі з коренями – 5: щавлеву, лимонну, яблучну, саліцилову та бензойну.

Примули скельної листки містять 5 органічних кислот: яблучну, бурштинову, винну, саліцилову та щавлеву; квітки – 6: винну, саліцилову, щавлеву, бурштинову, яблучну та бензойну; кореневище з коренями – 4: яблучну, щавлеву, саліцилову та бурштинову кислоти.

Встановлено кількісний вміст суми вільних органічних кислот титриметричним методом у перерахунку на яблучну кислоту у досліджуваних зразках примул (п. 2.3.2) (табл. 3.2) [55].

Таблиця 3.2

Вміст суми органічних кислот у сировині примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної у перерахунку на яблучну кислоту (вірогідність похибки $P < 0,05$)

Сировина	Кількісний вміст, % в перерахунку на абсолютно суху сировину (m=5)
1	2
Примули зубчастої листки	1,97 ± 0,01
Примули зубчастої квітки	1,68 ± 0,09
Примули зубчастої кореневища з коренями	1,33 ± 0,04
Примули Юлії листки	1,48 ± 0,01

1	2
Примули Юлії квітки	$1,33 \pm 0,05$
Примули Юлії кореневища з коренями	$1,01 \pm 0,01$
Примули скельної листки	$2,01 \pm 0,11$
Примули скельної квітки	$1,75 \pm 0,05$
Примули скельної кореневища з коренями	$1,34 \pm 0,06$

Найбільший вміст суми вільних органічних кислот у перерахунку на яблучну кислоту встановлено у примули скельної листках – 2,01 % та п. зубчастої – 1,97 %, найменший – у п. Юлії квітках – 1,01 %.

Проте, порівнюючи досліджувані зразки з первоцвітом весняним, кількісний вміст у всіх трьох досліджуваних зразків є дещо менший (рис. 3.1) [65].

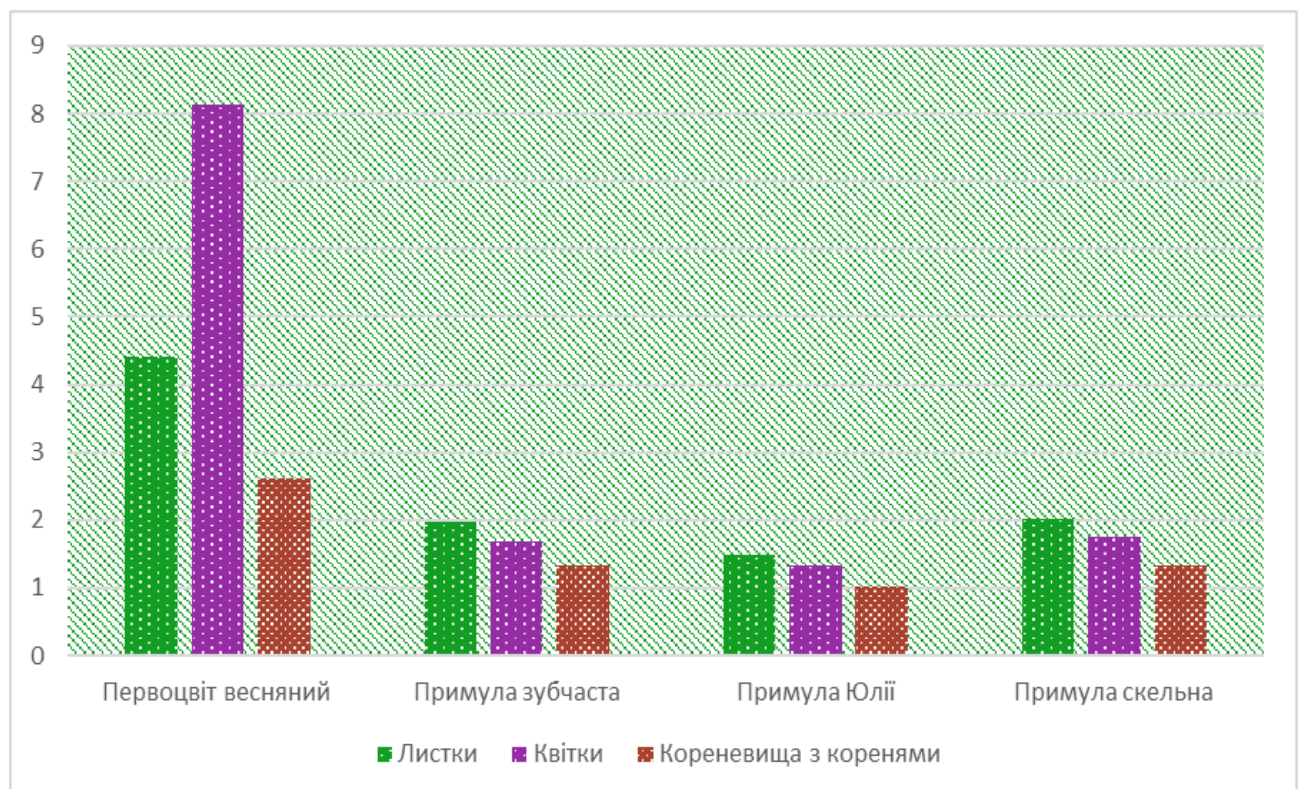


Рис. 3.1. Вміст органічних кислот у сировині видів роду Примула

3.3 Визначення жирних кислот

Методом ГХ/МС (п. 2.3.3) встановлено якісний склад та визначено кількісний вміст жирних кислот у надземних та підземних органах примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної.

Результати досліджень показали досить різноманітний жирокислотний склад у надземних та підземних органах трьох видів примул. Зокрема, примули зубчастої листки містять 9 жирних кислот, квітки – 13, кореневища з коренями – 10; примули Юлії листки містять 7 жирних кислот, квітки та кореневища з коренями по 10; надземні та підземні органи примули скельної містять по 11 жирних кислот (рис. 3.2-3.10).

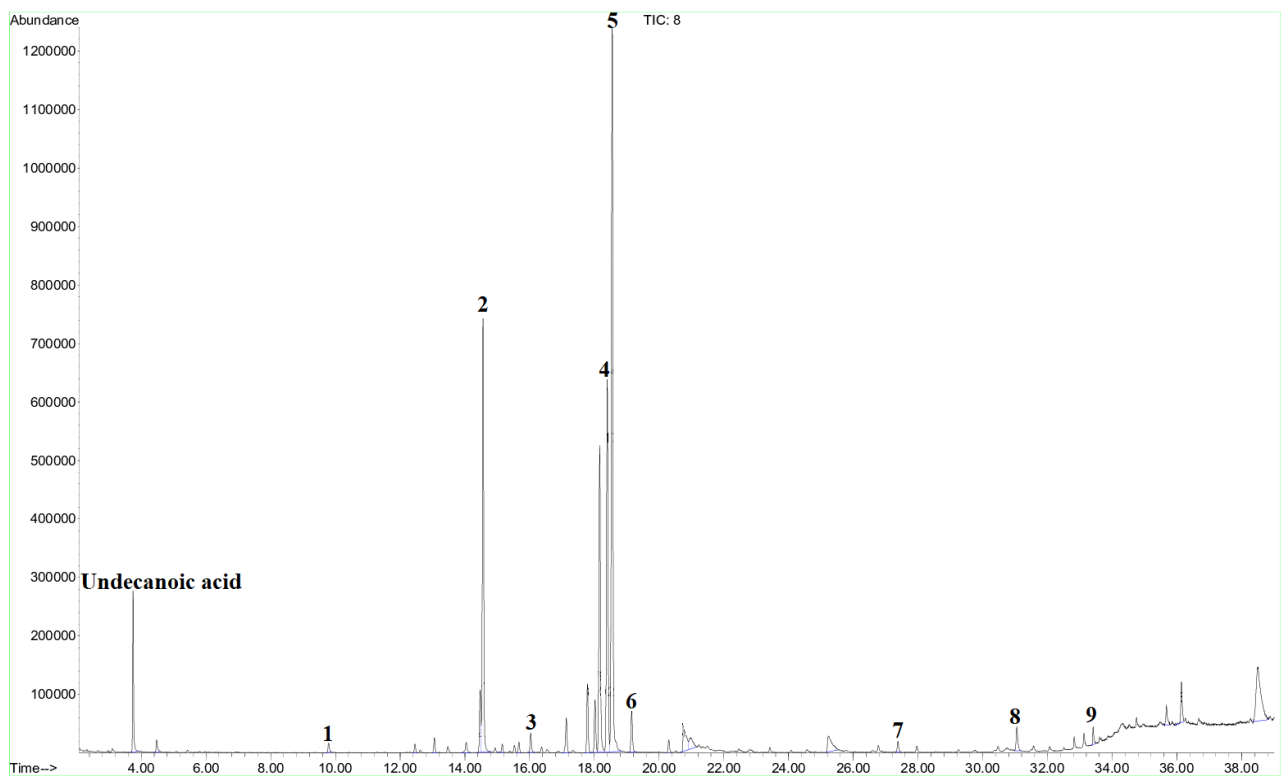


Рис. 3.2. ГХ/МС-хроматограма естерів жирних кислот у ПЗ листках: 1 – тридеканова, 2 – пальмітинова, 3 – маргарінова, 4 – лінолева, 5 – α -ліноленова, 6 – стеаринова, 7 – бегенова, 8 – лігноцеринова, 9 – церотинова

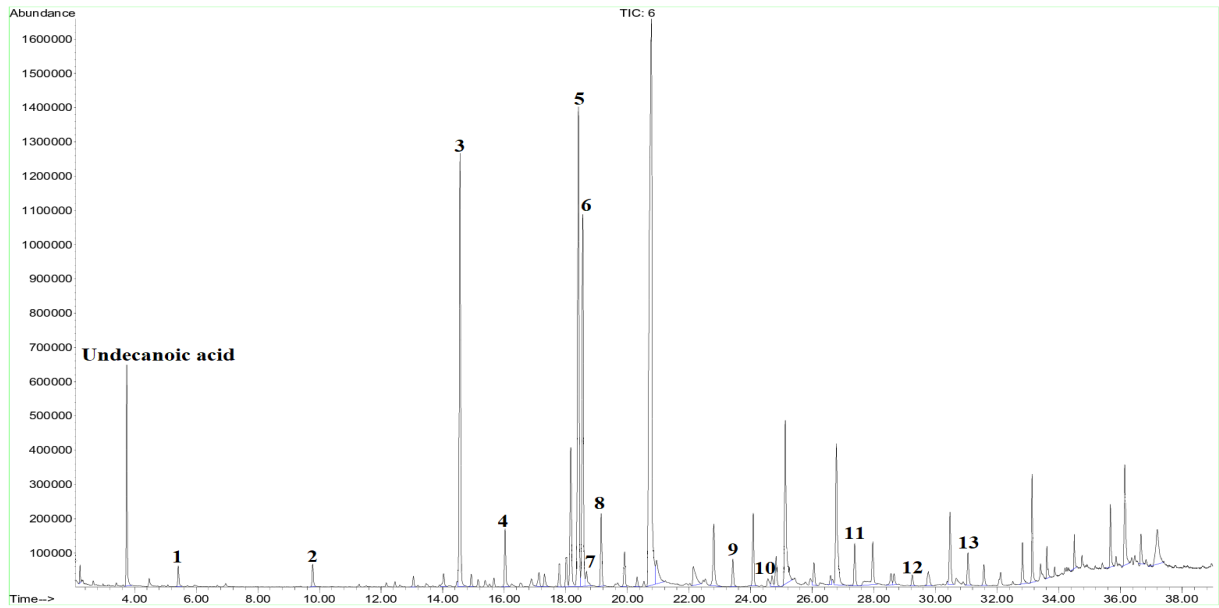


Рис. 3.3. ГХ/МС-хроматограма естерів жирних кислот у ПЗ квітках: 1 – лауринова, 2 – міристинова, 3 – пальмітинова, 4 – маргарінова, 5 – лінолева, 6 – α -ліноленова, 7 – олеїнова, 8 – стеаринова, 9 – арахінова, 10 – генейкозанова, 11 – бегенова, 12 – трикозанова, 13 – лігноцеринова

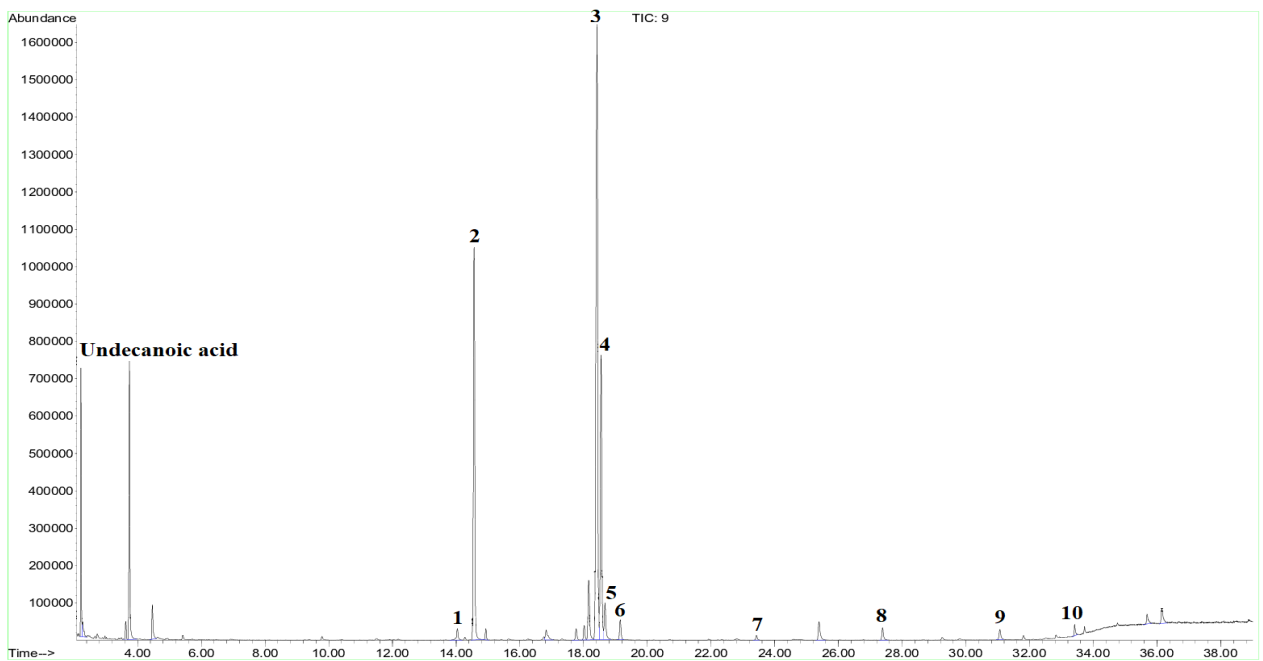


Рис. 3.4. ГХ/МС-хроматограма естерів жирних кислот у ПЗ кореневищах з коренями: 1 – пальмітолеїнова, 2 – пальмітинова, 3 – лінолева, 4 – α -ліноленова, 5 – олеїнова, 6 – стеаринова, 7 – арахінова, 8 – бегенова, 9 – лігноцеринова, 10 – церотинова

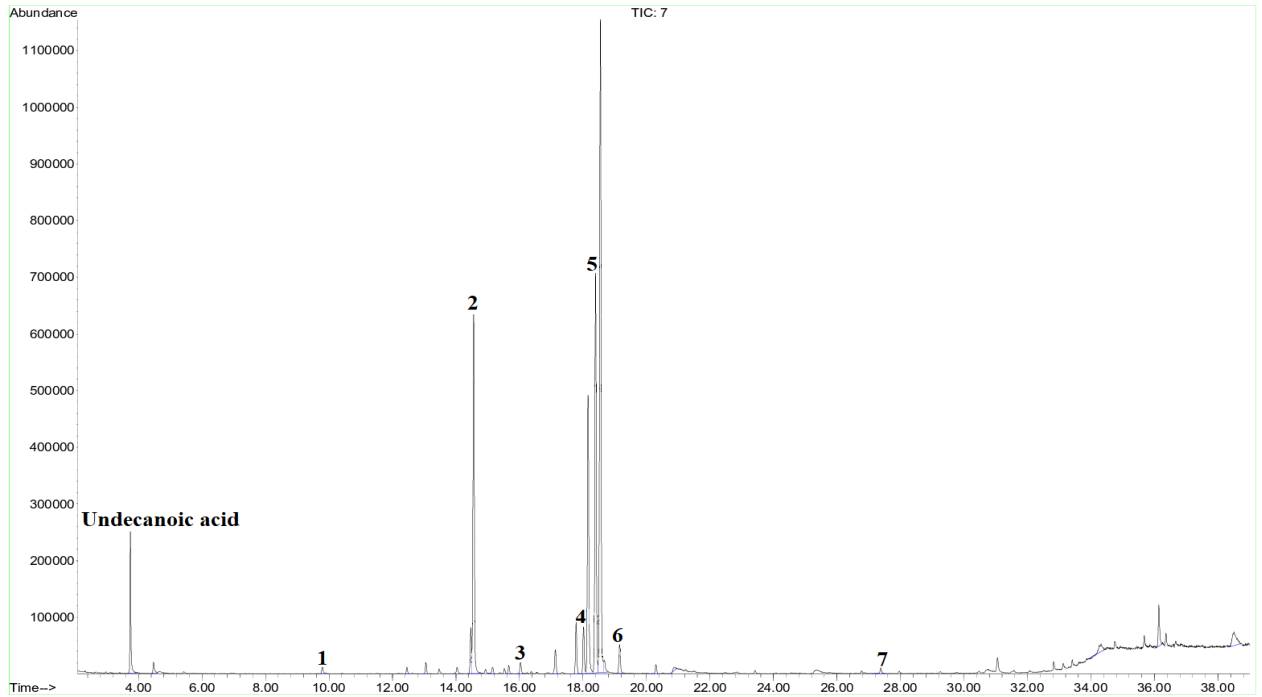


Рис. 3.5. ГХ/МС-хроматограма естерів жирних кислот у ПЮ листках: 1 – міристинова, 2 – пальмітинова, 3 – маргаринава, 4 – α -ліноленова, 5 – лінолева, 6 – стеаринова, 7 – бегенова

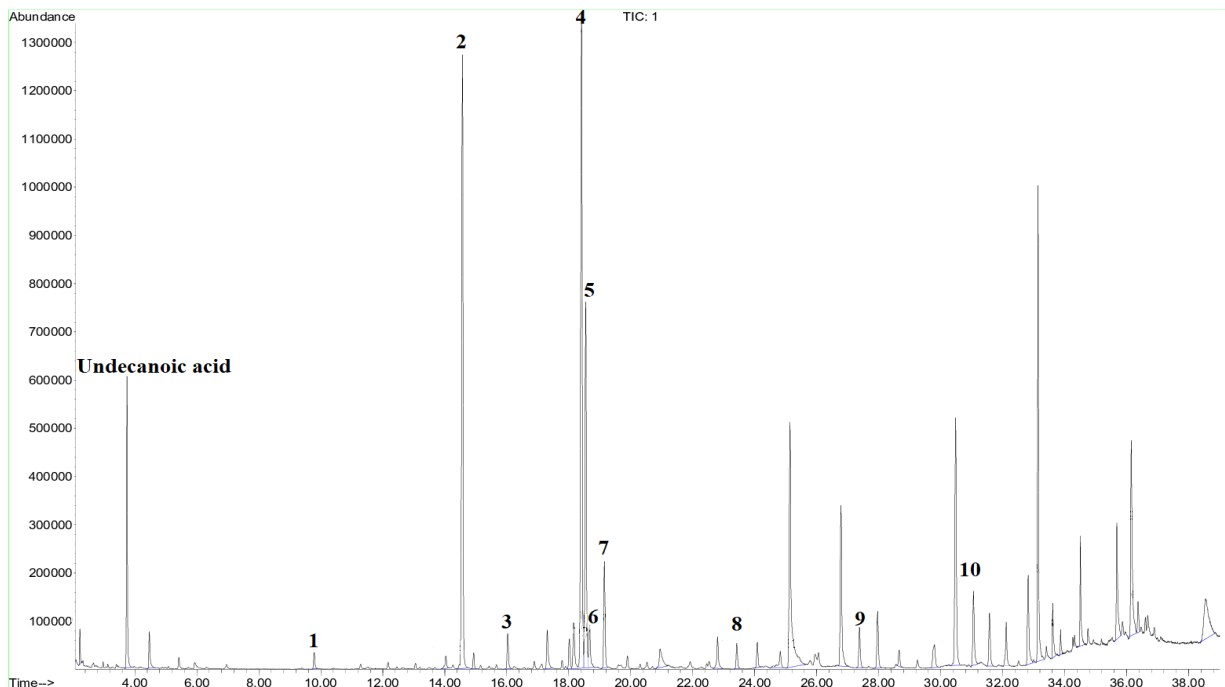


Рис. 3.6. ГХ/МС-хроматограма естерів жирних кислот у ПЮ квітках: 1 – міристинова, 2 – пальмітинова, 3 – маргаринава, 4 – лінолева, 5 – α -ліноленова, 6 – олеїнова, 7 – стеаринова, 8 – арахінова, 9 – бегенова, 10 – лігноцеринава

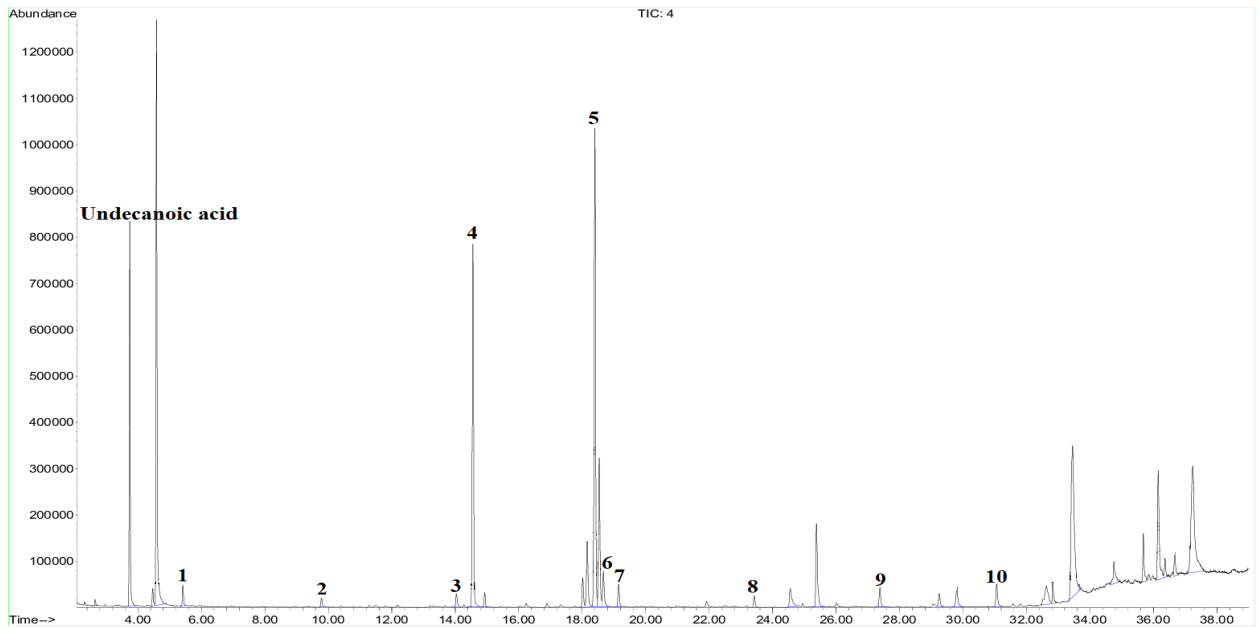


Рис. 3.7. ГХ/МС-хроматограма естерів жирних кислот у ПЮ кореневищах з коренями: 1 – лауринова, 2 – міристинова, 3 – пальмітолеїнова, 4 – пальмітинова, 5 – лінолева, 6 – олеїнова, 7 – стеаринова, 8 – арахінова, 9 – бегенова, 10 – лігноцеринова

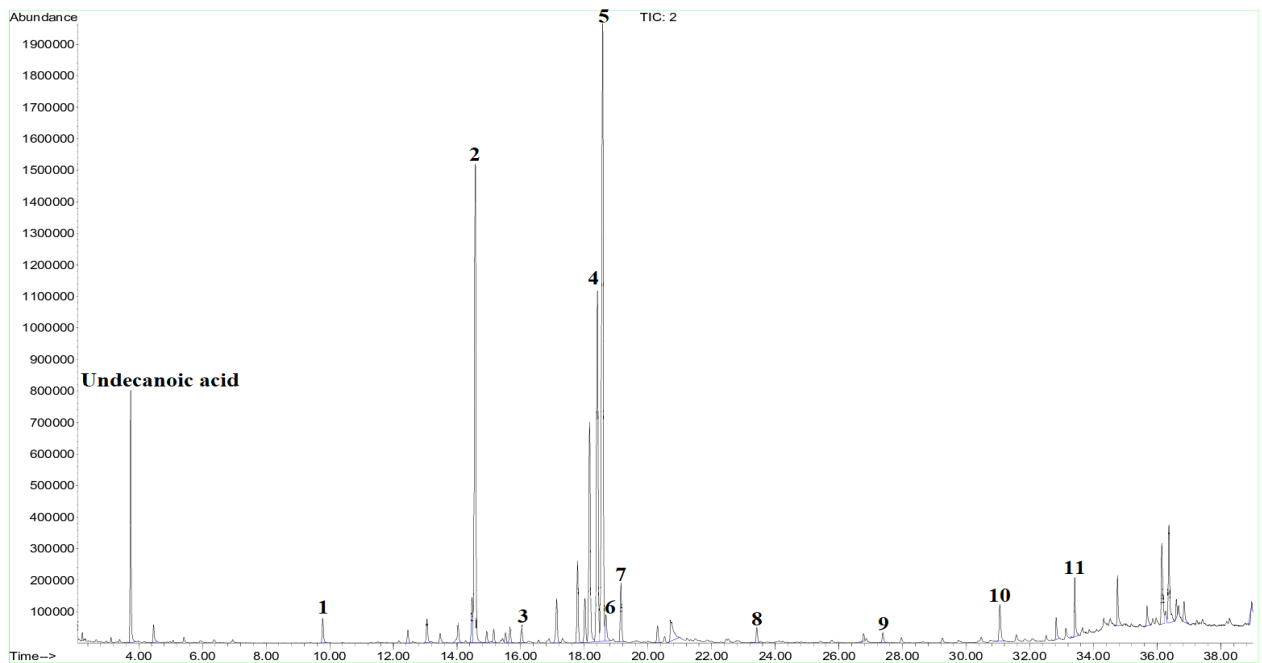


Рис. 3.8. ГХ/МС-хроматограма естерів жирних кислот у ПС листках: 1 – міристинова, 2 – пальмітинова, 3 – маргаринанова, 4 – лінолева, 5 – α -ліноленова, 6 – олеїнова, 7 – стеаринова, 8 – арахінова, 9 – бегенова, 10 – лігноцеринова, 11 – церотинова

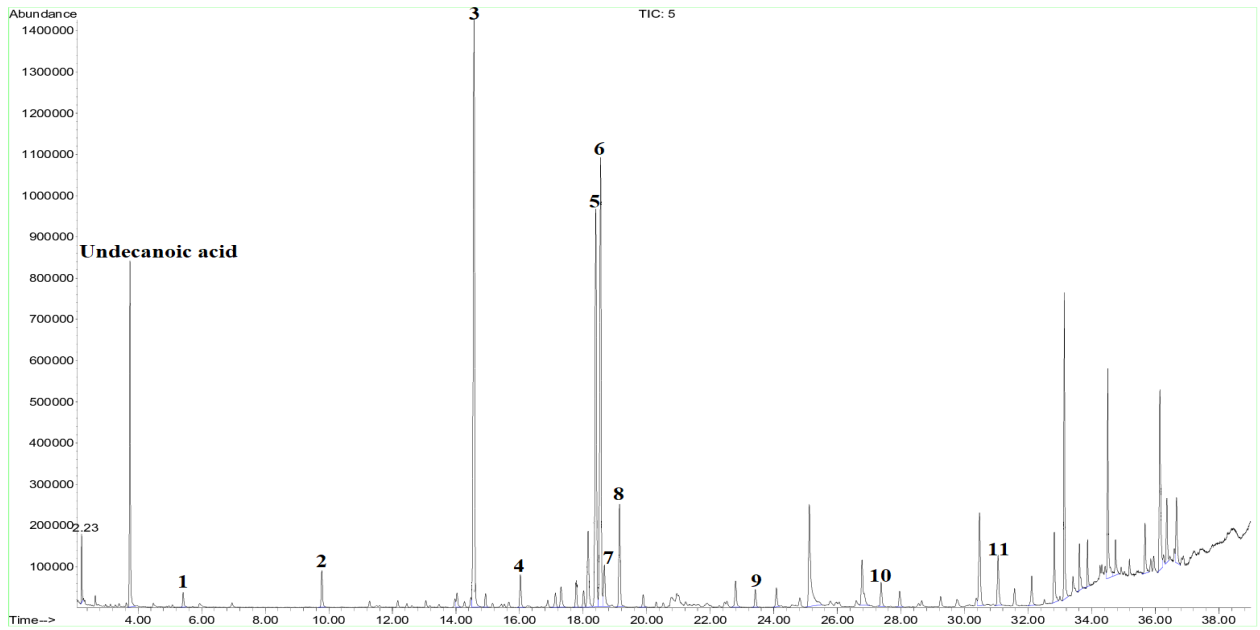


Рис. 3.9. ГХ/МС-хроматограма естерів жирних кислот у ПС квітках: 1 – лауринова, 2 – міристинова, 3 – пальмітинова, 4 – маргаринанова, 5 – лінолева, 6 – α -ліноленова, 7 – олеїнова, 8 – стеаринова, 9 – арахінова, 10 – бегенова, 11 – лігноцеринова

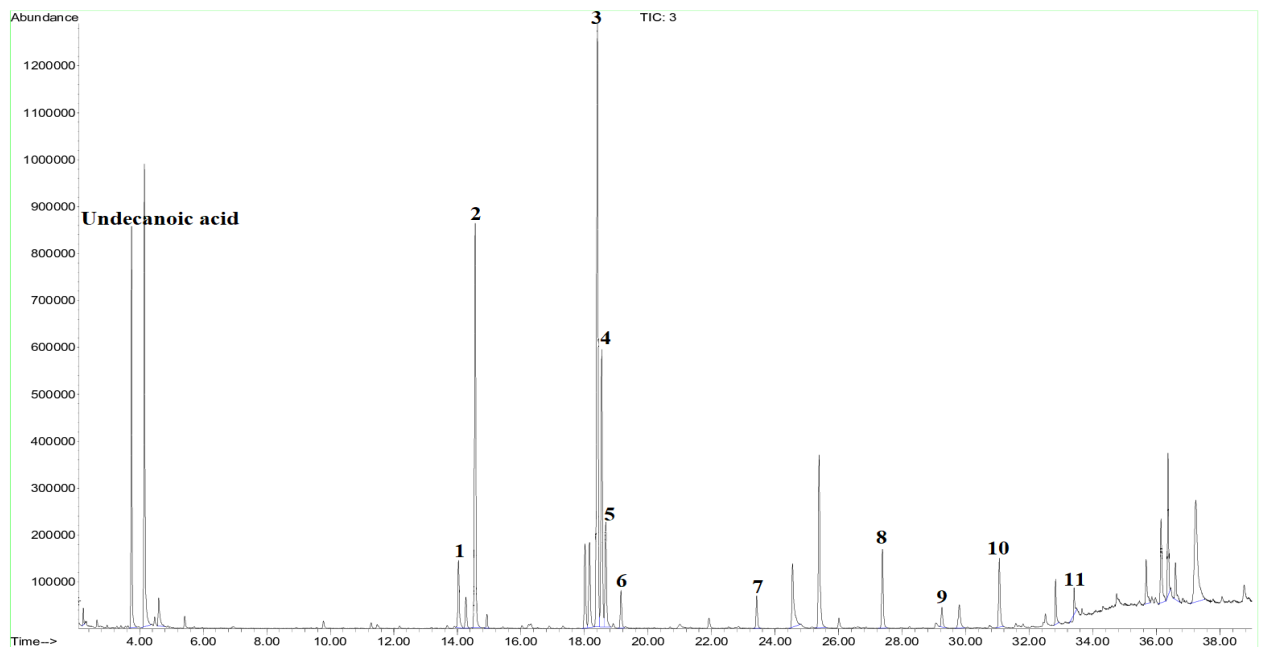


Рис. 3.10. ГХ/МС-хроматограма естерів жирних кислот у ПС кореневищах з коренями: 1 – пальмітолеїнова, 2 – пальмітинова, 3 – лінолева, 4 – α -ліноленова, 5 – олеїнова, 6 – стеаринова, 7 – арахінова, 8 – бегенова кислота, 9 – трикозанова, 10 – лігноцеринова, 11 – церотинова

**Вміст жирних кислот у листках, квітках та кореневищах з коренями
примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної (метод ГХ/МС, мг/г)**

Назва жирної кислоти тривіальна (IUPAC)	<i>Primula denticulata</i> Smith			<i>Primula juliae</i> Kusn.			<i>Primula saxatilis</i> Kom.		
	листки	квітки	кореневища з коренями	листки	квітки	кореневища з коренями	листки	квітки	кореневища з коренями
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Пальмітолеїнова (цис-9-гексадекенова) *	н/в	н/в	1,40	н/в	н/в	0,08	н/в	н/в	0,37
Пальмітинова (гексадеканова)	46,27	4,65	38,09	45,16	4,48	1,81	4,73	3,98	2,14
Лінолева (цис, цис-9,12-окта- декадієнова) *	43,96	5,9	70,49	51,90	5,22	2,63	7,07	2,76	3,50
α-ліноленова (цис, цис, цис- 9,12,15-окта- декатрієнова) *	88,63	4,32	27,28	5,83	2,67	н/в	3,67	2,99	1,51
Олеїнова (цис-9- октадеценена) *	н/в	0,23	4,18	н/в	0,36	0,22	0,29	0,31	0,61
Стеаринова (октадеканова)	4,85	0,76	2,00	3,94	0,76	0,12	0,52	0,65	0,20
Арахінова (ейкозанова)	н/в	0,3	0,49	н/в	0,18	0,06	0,13	0,11	0,17
Бегенова (докозанова)	1,32	0,47	1,38	0,85	0,31	0,11	0,10	0,17	0,44

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Лігноцеринова (тетракозанова)	3,05	0,37	1,20	н/в	0,57	0,15	0,39	0,35	0,41
Церотинова (гексакозанова)	1,52	н/в	0,79	н/в	н/в	н/в	0,39	н/в	0,07
Тридеканова	1,02	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в
Маргаринова (гептадеканова)	2,15	0,62	н/в	1,52	0,26	н/в	0,16	0,2	н/в
Міристинова (тетрадеканова)	н/в	0,23	н/в	0,89	0,11	0,04	0,21	0,22	н/в
Лауринова (додеканова)	н/в	0,19	н/в	н/в	н/в	0,09	н/в	0,08	н/в
Генейкозанова	н/в	0,14	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в
Трикозанова	н/в	0,13	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в	0,12
Всього	192,77	18,31	147,3	110,09	14,92	5,31	17,66	11,82	9,54
Сума ненасичених жирних кислот	132,59	10,45	103,35	57,73	8,25	2,93	11,03	6,06	5,99
Сума насичених жирних кислот	60,18	7,86	43,95	52,36	6,67	2,38	6,63	5,76	3,55

Примітка. * - ненасичені жирні кислоти

Встановлено, найбільший вміст жирних кислот у примули зубчастої та п. Юлії листках – 192,77 мг/г і 110,09 мг/г. З ненасичених жирних кислот переважає лінолева, що в найбільшій кількості міститься у примули зубчастої кореневицях з коренями – 70,49 мг/г, п. Юлії та п. зубчастої листках – 51,9 мг/г і 43,96 мг/г відповідно, а також α -ліноленова, що домінує у п. зубчастої листках – 88,63 мг/г. З насичених жирних кислот в найбільшій кількості представлені пальмітинова

кислота, велика кількість якої міститься у примули зубчастої та п. Юлії листках – 46,27 мг/г і 45,16 мг/г відповідно. Спільними для сировини трьох видів примул є пальмітинова, лінолева, стеаринова та бегенова кислоти (табл. 3.3).

У дикорослого представника – первоцвіту весняного ідентифіковано 17 жирних кислот у листках, 16 – у квітках та 14 – у кореневищах з коренями, що є у 1,5-2 рази більше ніж у трьох досліджуваних об'єктів. Компонентний та кількісний склад об'єктів порівняння відрізняється залежно від виду і сировини. Спільним є те, що і у первоцвіту весняного і у п. зубчастої, п. Юлії та п. скельної найбільший вміст серед ненасичених жирних кислот припадає на лінолеву та α -ліноленову кислоти, а серед насичених на пальмітинову [65].

3.4 Визначення вуглеводів

Встановлення наявності вільних та зв'язаних вуглеводів у досліджуваних об'єктах проводили за допомогою реакцій ідентифікації відповідно до методики наведеної у розділі 2.3.4. Для дослідження використовували водні витяжки з листків та квіток примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної. Усі досліджувані витяжки дали позитивний результат реакції з 96 % етанолом – з'являлись плаваючі пластинчасті згустки, що випадали в осад при відстоюванні; з реактивом Фелінга після кислотного гідролізу – спостерігали випадіння цегляно-червоного осаду, а з розчином карбазолу – червоно-фіолетове забарвлення. Тобто було підтверджено наявність вільних та зв'язаних вуглеводів у всіх аналізованих зразках сировини.

Визначення моноцукрів у досліджуваній сировині проводили методом ГХ/МС (п. 2.3.4). Результати представлено на рис. 3.11-3.22 і в табл. 3.4-3.6.

Результати досліджень показали, що у примули зубчастої листках виявлено 6 цукрів: 1 вільний дицукор сахарозу та 5 зв'язаних цукрів; у квітках – 5 цукрів, де 1 вільний цукор D-манітол та 4 зв'язані. В найбільшій кількості представлена зв'язана D-глюкоза 1101,52 мг/кг у примули зубчатої листках.

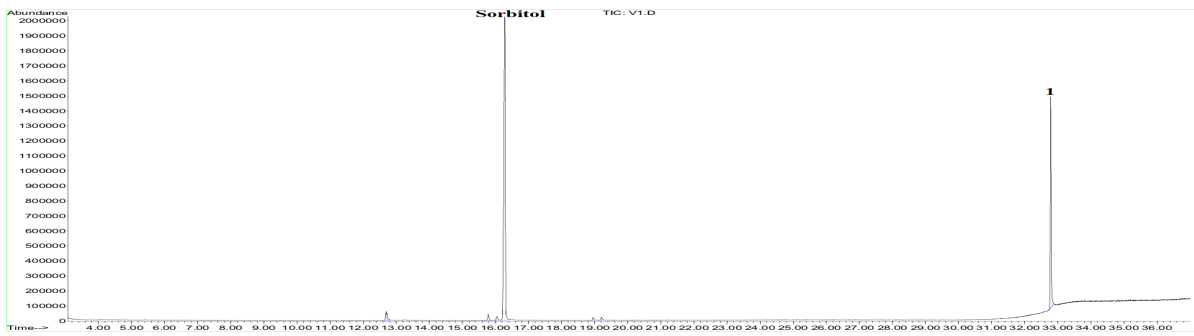


Рис. 3.11. ГХ/МС-хроматограма вільних цукрів ПЗ листків: 1 – сахароза

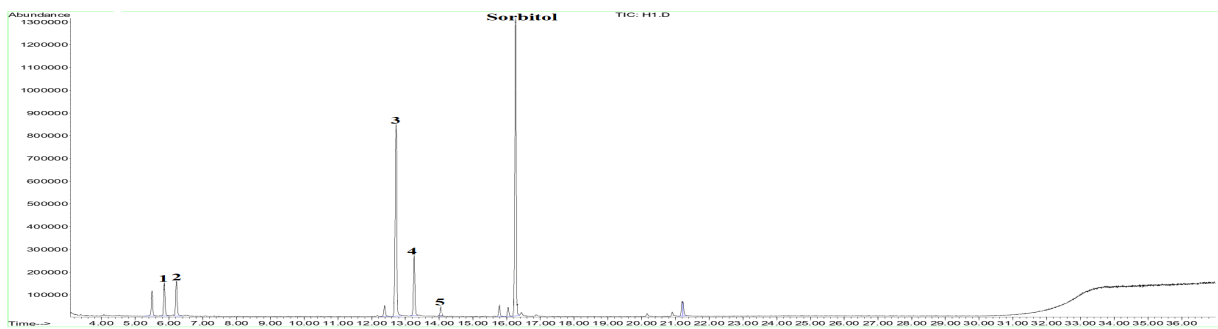


Рис. 3.12. ГХ/МС-хроматограма зв'язаних цукрів ПЗ листків: 1 – D-арабіноза; 2 – D-ксилоза; 3 – D-глюкоза; 4 – D-галактоза; 5 – (+)-пінітол пентаацетат

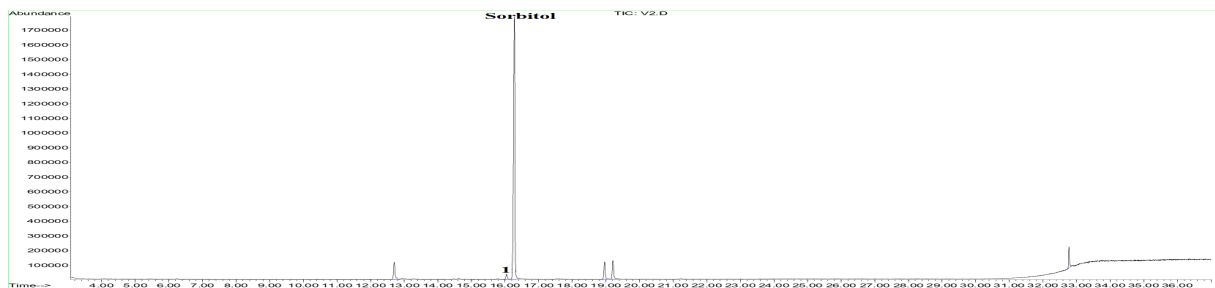


Рис. 3.13. ГХ/МС - хроматограма вільних цукрів ПЗ квіток: 1 – D-манітол

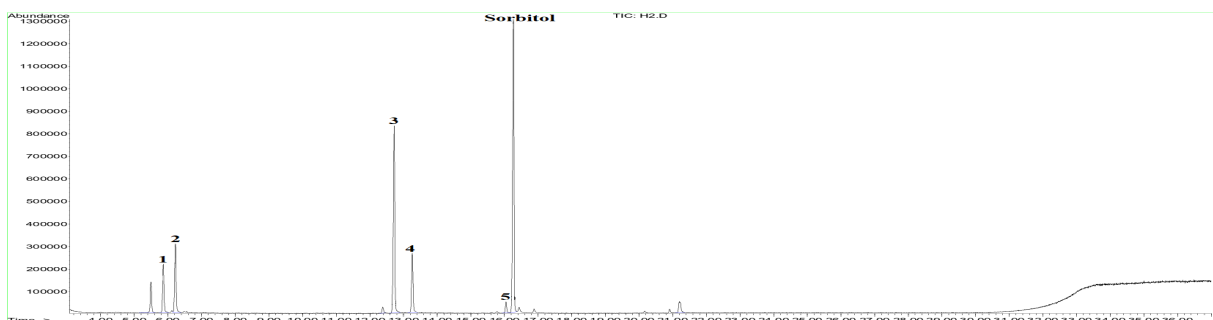


Рис. 3.14. ГХ/МС-хроматограма зв'язаних цукрів ПЗ квіток: 1 – D-арабіноза; 2 – D-ксилоза; 3 – D-глюкоза; 4 – D-галактоза; 5 – D-манітол

Вміст цукрів у надземних органах примули зубчастої (метод ГХ/МС)

Назва сполуки	Листки		Квітки	
	Вміст вільних цукрів, мг/кг	Вміст зв'язаних цукрів, мг/кг	Вміст вільних цукрів, мг/кг	Вміст зв'язаних цукрів, мг/кг
D-арабіноза (Ara)	н/в	158,25	н/в	118,72
D-ксилоза (Xyl)	н/в	67,03	н/в	178,08
D-глюкоза (Glc)	н/в	1101,52	н/в	483,66
D-галактоза (Gal)	н/в	131,87	н/в	151,52
Сахароза (Sac)	20,29	н/в	н/в	н/в
D-манітол	н/в	н/в	14,21	26,98
(+)-пінітол пентаацетат	н/в	412,97	н/в	н/в

Примітка. н/в – не виявлено

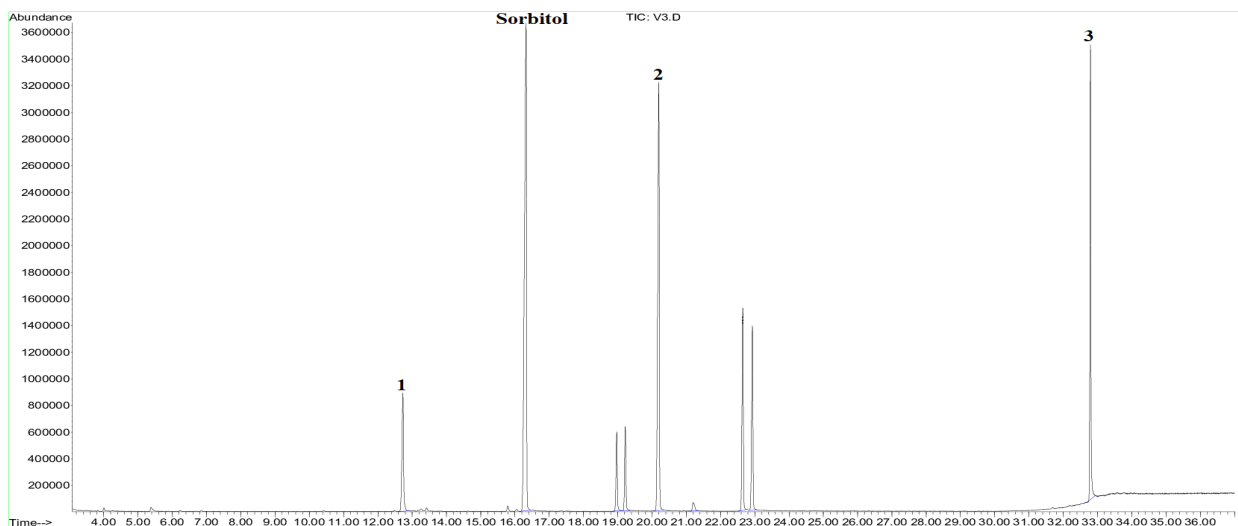


Рис. 3.15. ГХ/МС-хроматограма вільних цукрів ПЮ листків: 1 – D-глюкоза; 2 – D-манітол; 3 – сахароза

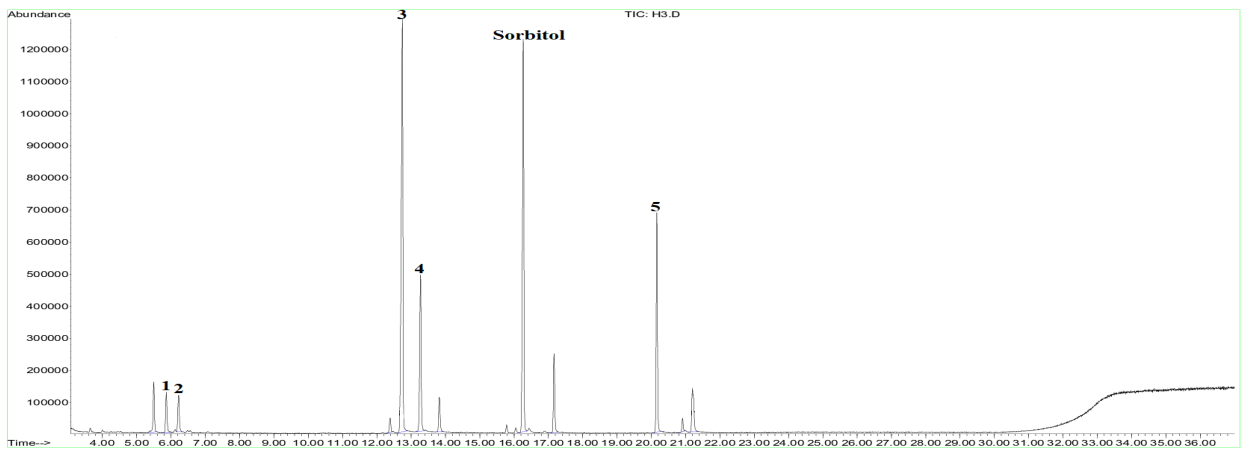


Рис. 3.16. ГХ/МС-хроматограма зв'язаних цукрів ПЮ листків: 1 – D-арабіноза; 2 – D-ксилоза; 3 – D-глюкоза; 4 – D-галактоза; 5 – персеїтол гептаацетат

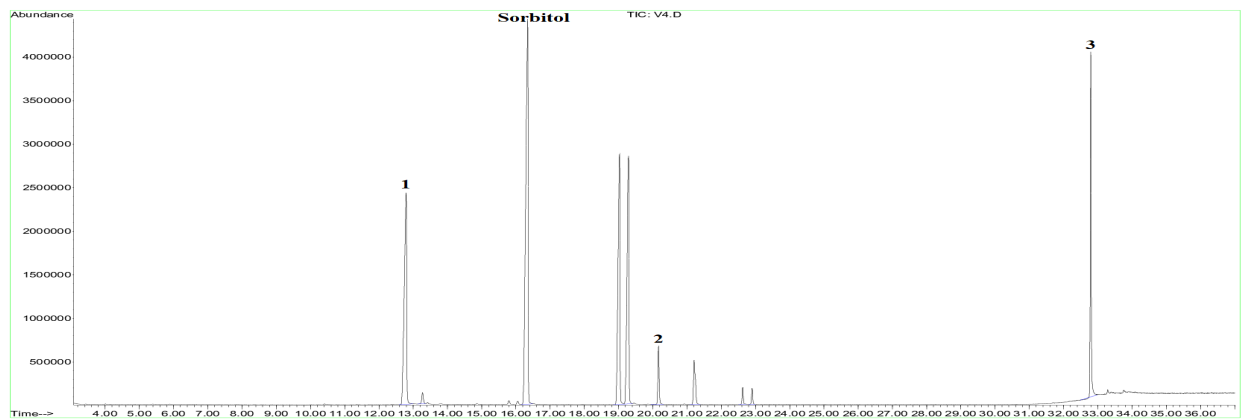


Рис. 3.17. ГХ/МС-хроматограма вільних цукрів ПЮ квіток: 1 – D-глюкоза; 2 – персеїтол гептаацетат; 3 – сахароза

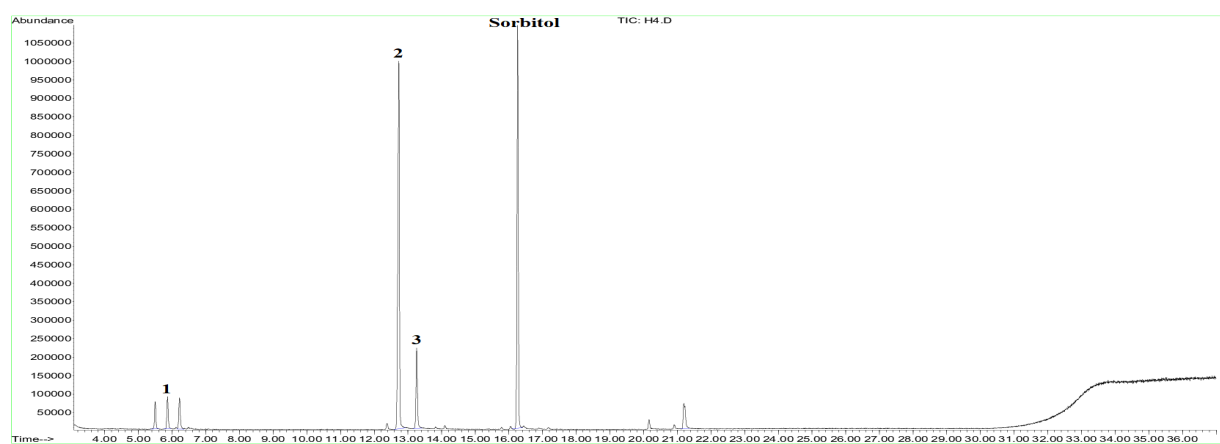


Рис. 3.18. ГХ/МС-хроматограма зв'язаних цукрів ПЮ квіток: 1 – D-арабіноза; 2 – D-глюкоза; 3 – D-галактоза

Вміст цукрів у надземних органах примули Юлії (метод ГХ/МС)

Назва сполуки	Листки		Квітки	
	вільні цукри, мг/кг	зв'язані цукри, мг/кг	вільні цукри, мг/кг	зв'язані цукри, мг/кг
D-арабіноза (Ara)	н/в	70,82	н/в	61,74
D-ксилоза (Xyl)	н/в	68,45	н/в	н/в
D-глюкоза (Glc)	9,98	866,61	30,56	808,91
D-галактоза (Gal)	н/в	290,28	н/в	155,31
Сахароза (Sac)	22,22	н/в	19,51	н/в
D-манітол	35,05	н/в	н/в	н/в
Персеїтол гептаацетат	н/в	338,99	4,44	н/в
Галактозан триацетат	н/в	н/в	н/в	н/в

Примітка. н/в – не виявлено

У примули Юлії листках ідентифіковано 7 цукрів: 3 у вільному та 5 у зв'язаному стані; у квітках – 5 цукрів: 3 вільних та 3 зв'язаних. Домінуючим цукром у сировині примули Юлії є D-глюкоза, що у кількості 866,61 мг/кг та 808,91 мг/кг міститься у зв'язаному стані в листках та квітках відповідно (табл. 3.5).

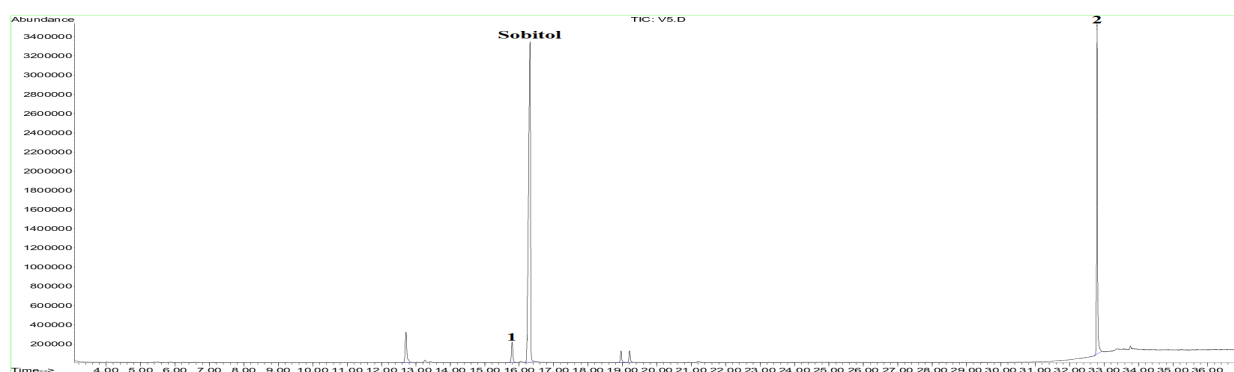


Рис. 3.19. ГХ/МС-хроматограма вільних цукрів ПС листків: 1 – муо-інозітол; 2 – сахароза

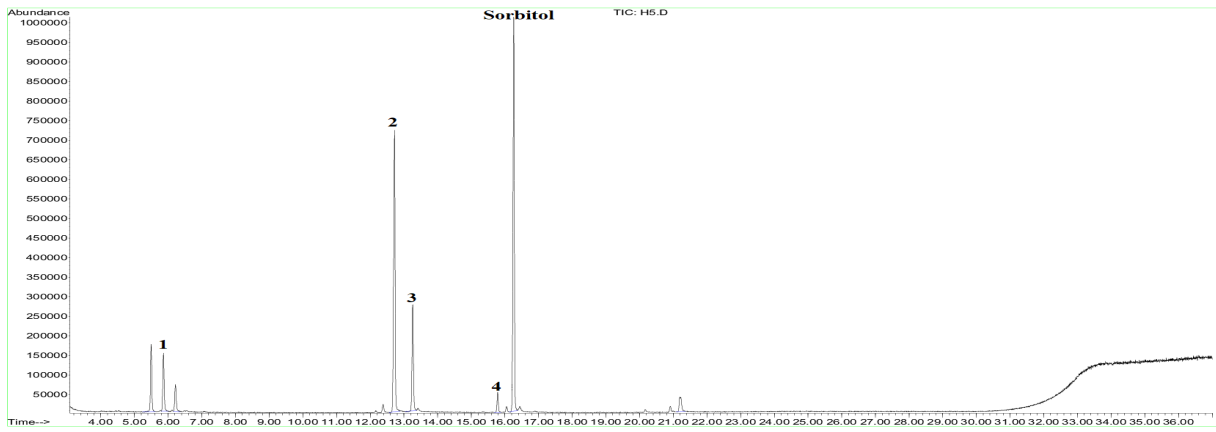


Рис. 3.20. ГХ/МС-хроматограма зв'язаних цукрів ПС листків: 1 – D-арабіноза; 2 – D-глюкоза; 3 – D-галактоза; 4 – муо-інозітол

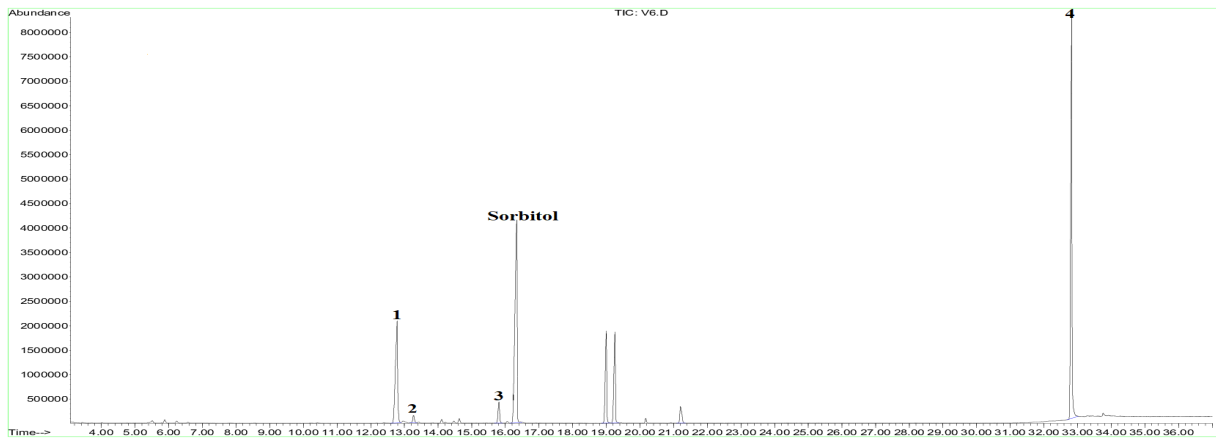


Рис. 3.21 ГХ/МС-хроматограма вільних цукрів ПС квіток: 1 – D-глюкоза; 2 – D-галактоза; 3 – муо-інозітол; 4 – сахароза.

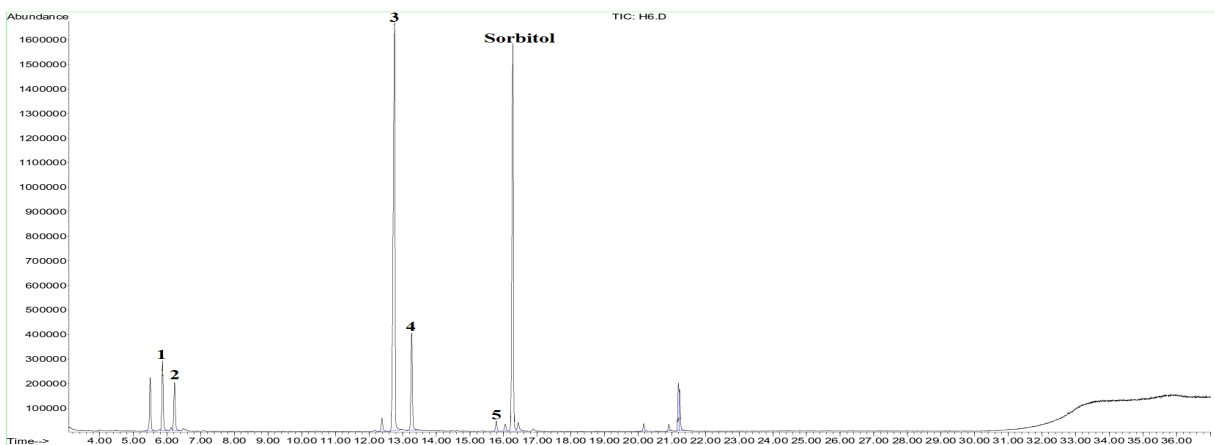


Рис. 3.22. ГХ/МС-хроматограма зв'язаних цукрів ПС квіток: 1 – D-арабіноза; 2 – D-ксилоза; 3 – D-глюкоза; 4 – D-галактоза; 5 – муо-інозітол

Вміст цукрів у надземних органах примули скельної (метод ГХ/МС)

Назва сполуки	Листки		Квітки	
	вміст вільних цукрів, мг/кг	вміст зв'язаних цукрів, мг/кг	вміст вільних цукрів, мг/кг	вміст зв'язаних цукрів, мг/кг
D-арабіноза (Ara)	н/в	103,53	н/в	95,92
D-ксилоза (Xyl)	н/в	н/в	н/в	71,59
D-глюкоза (Glc)	н/в	552,59	18,75	758,29
D-галактоза (Gal)	н/в	192,96	1,01	144,59
Сахароза (Sac)	25,05	н/в	43,82	н/в
D-манітол	н/в	н/в	н/в	н/в
Муо-інозитол	2,47	34,54	2,70	14,71

Примітка. н/в – не виявлено

Методом ГХ/МС у примули скельної листках встановлено 5 цукрів: 2 вільних та 4 зв'язаних; у квітках – 6 цукрів, 4 з яких вільні та 5 зв'язані. У найбільшій кількості ідентифіковано D-глюкозу – 758,29 мг/кг у квітках у зв'язаному стані.

Результати досліджень свідчать про високий вміст цукрів у досліджуваній сировині. За якісним складом та кількісним вмістом цукрів досліджувані об'єкти дещо відрізняються один від одного. Спільними для сировини трьох досліджуваних об'єктів є зв'язані D-глюкоза і D-галактоза. Домінуючою у всіх об'єктах є зв'язана D-глюкоза, найбільша кількість якої міститься у примули зубчастої листках – 1101,52 мг/кг та примули Юлії квітках – 808,91 мг/кг.

Що стосується порівняльного аналізу досліджуваних об'єктів із дикорослим представником – первоцвітом весняним, можна зробити висновок про різний якісний склад цукрів. Щодо порівняння кількісного вмісту цукрів, що ідентифіковані і в первоцвіту весняного і у трьох досліджуваних об'єктів, то

у примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної кількісний вміст цукрів у 2-3 рази вищий, ніж у дикорослого виду [17].

3.5 Визначення амінокислот

У вільному або зв'язаному стані рослини містять до 30 % амінокислот (у перерахунку на білок). Вони мають високу біологічну активність, зокрема незамінні амінокислоти та застосовуються для лікування епілепсії і психіатричних захворювань, захворювань печінки, на їх основі створені препарати проти атеросклерозу, порушень мозкового кровообігу, ішемічної хвороби серця, аритмії [9, 24, 63, 66].

Нами було проведено дослідження амінокислотного складу листків та кореневищ з коренями трьох культивованих видів. Для ідентифікації вільних амінокислот використовували водні витяжки з досліджуваної сировини. У результаті взаємодії з розчином нінгідрину спостерігали появу червоно-фіолетового забарвлення розчину у всіх зразках, що свідчило про наявність вільних амінокислот у сировині досліджуваних об'єктів.

Якісний склад та кількісний вміст даної групи БАР визначали методом ВЕРХ на приладі *Agilent 1200 (США)* (п. 2.3.5). У результаті проведених досліджень у сировині встановили загальний вміст та вміст вільних амінокислот. У листках і кореневищах з коренями виявлено по 16 амінокислот, з них 7 незамінних та 3 напівзамінних [37]. Результати аналізу наведено на рис. 3.23-3.34 та табл. 3.7-3.8.

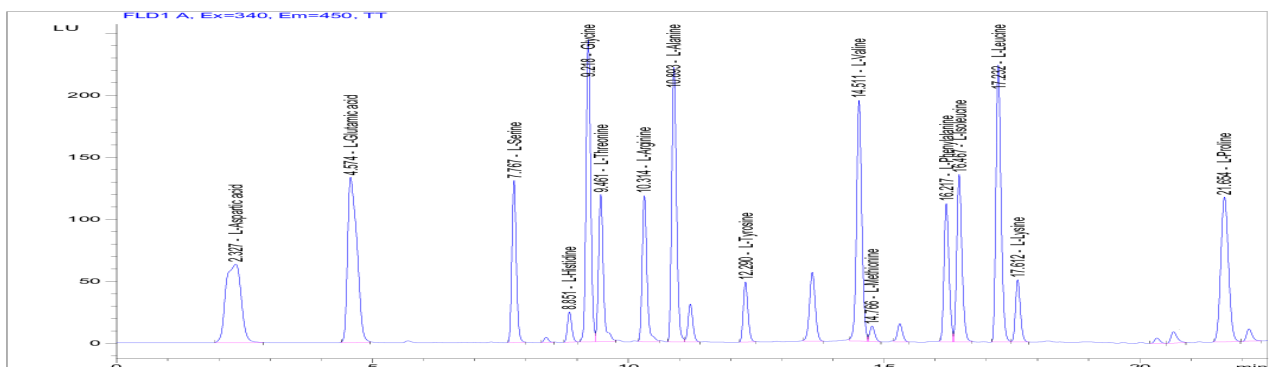


Рис. 3.23. ВЕРХ-хроматограма вмісту загальних амінокислот у ПЗ листках

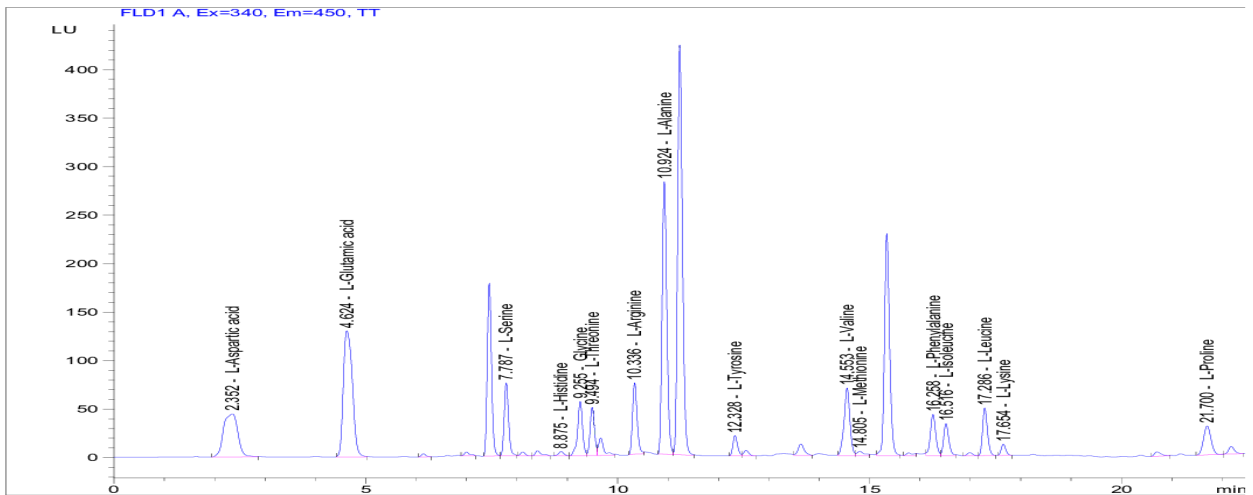


Рис. 3.24. ВЕРХ-хроматограма вмісту вільних амінокислот у ПЗ листках

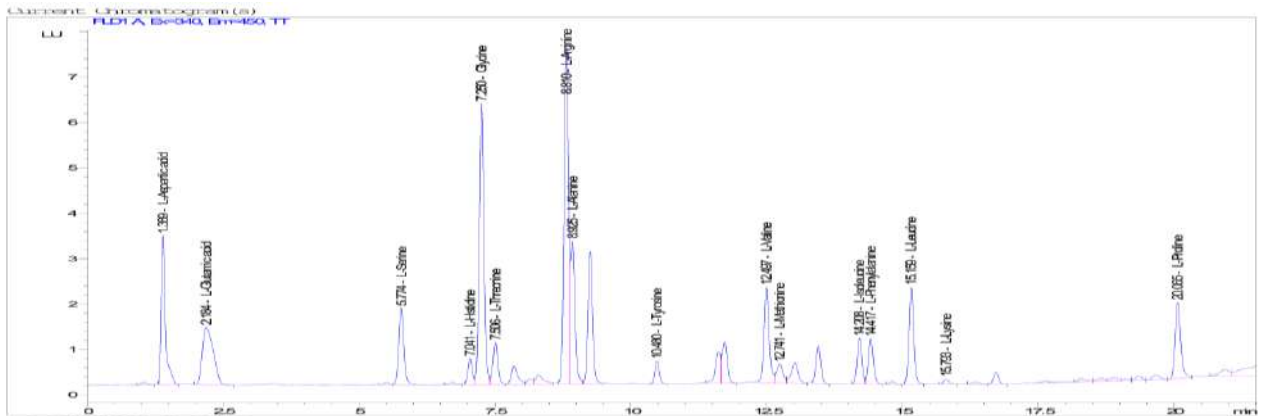


Рис. 3.25. ВЕРХ-хроматограма вмісту загальних амінокислот у ПЗ кореневищах з коренями

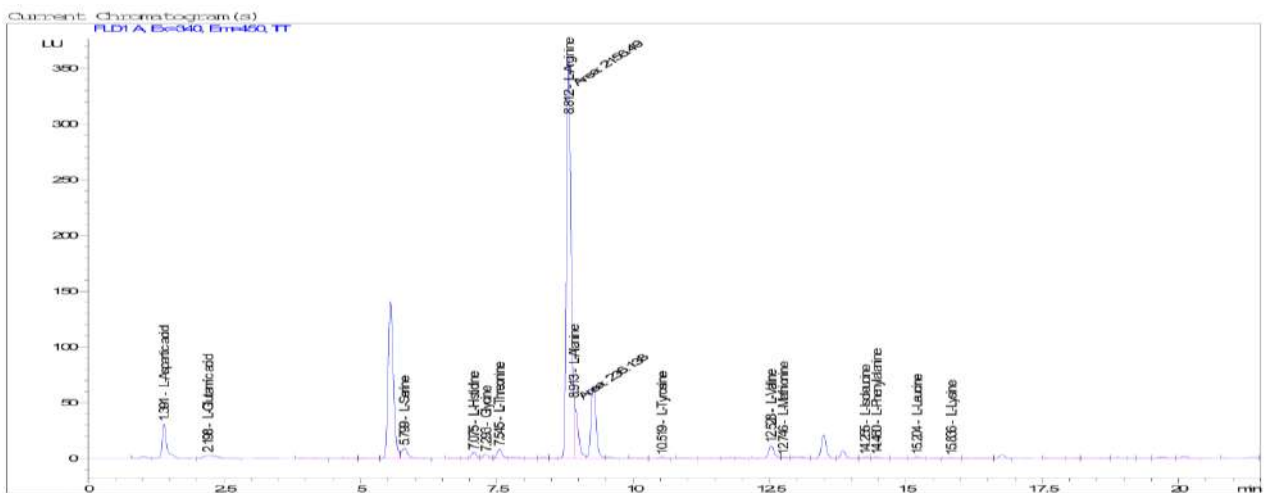


Рис. 3.26. ВЕРХ-хроматограма вмісту вільних амінокислот у ПЗ кореневищах з коренями

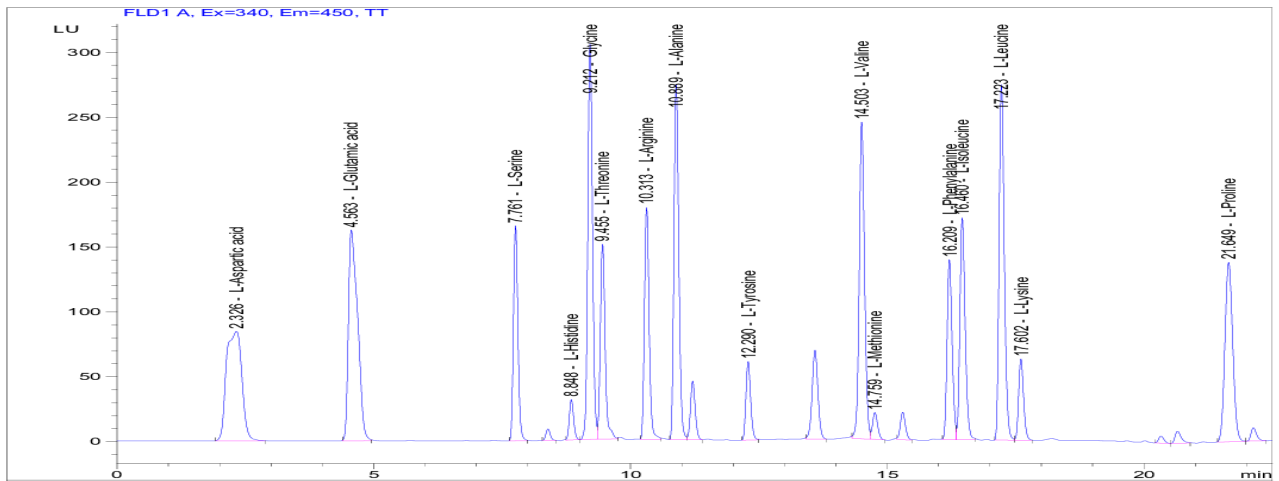


Рис. 3.27. ВЕРХ-хроматограма вмісту загальних амінокислот у ПЮ листках

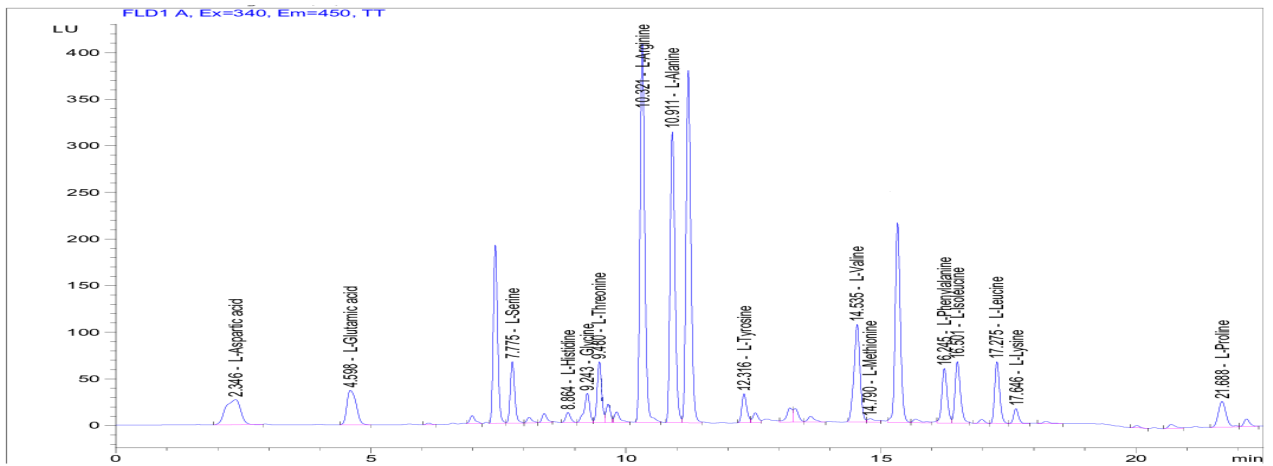


Рис. 3.28. ВЕРХ-хроматограма вмісту вільних амінокислот у ПЮ листках

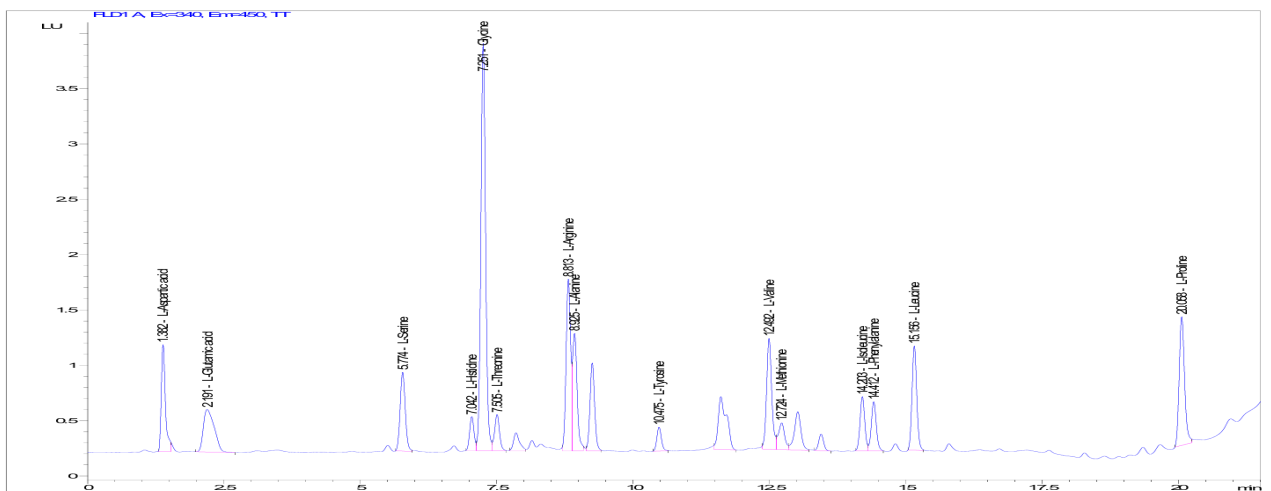


Рис. 3.29. ВЕРХ-хроматограма вмісту загальних амінокислот у ПЮ кореневищах з коренями

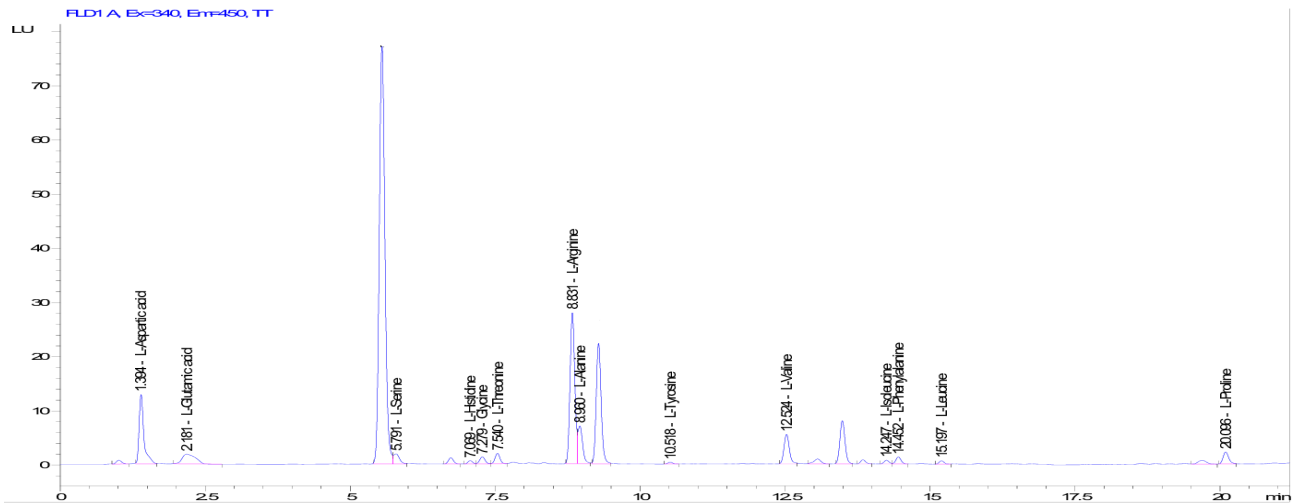


Рис. 3.30. ВЕРХ-хроматограма вмісту вільних амінокислот у ПЮ кореневищах з коренями

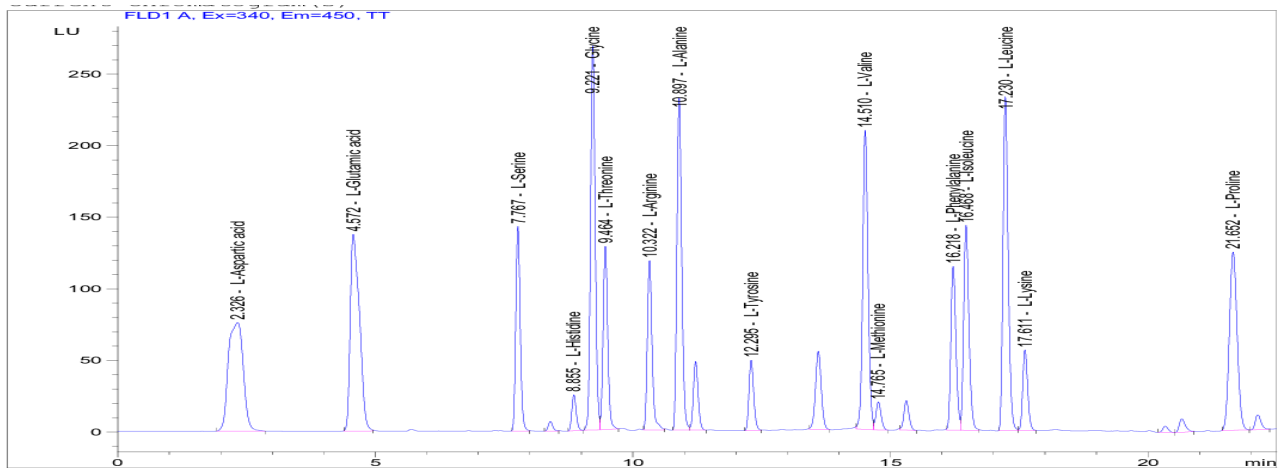


Рис. 3.31. ВЕРХ – хроматограма вмісту загальних амінокислот у ПС листках

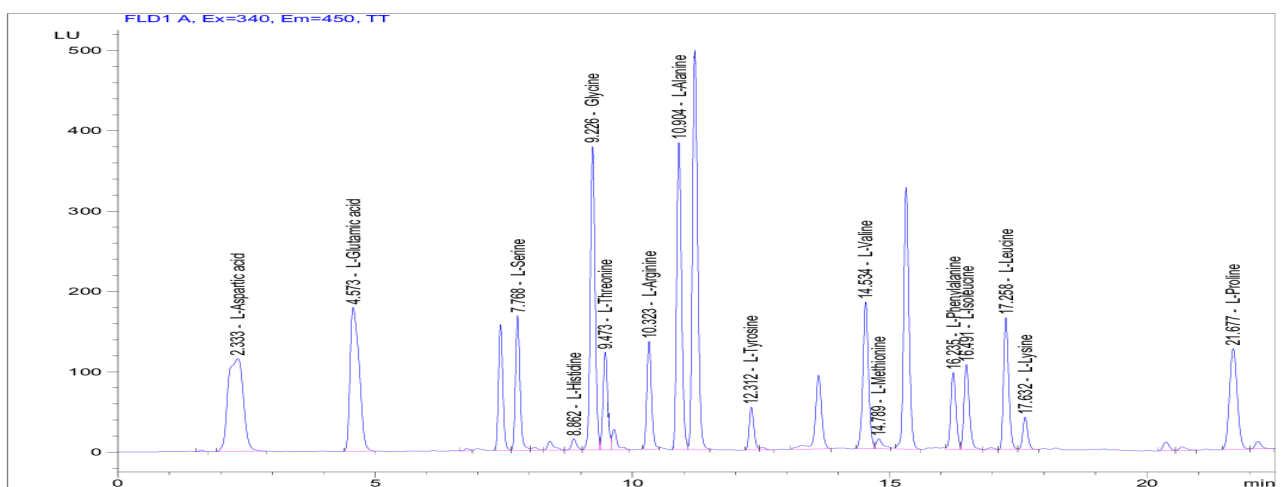


Рис. 3.32. ВЕРХ-хроматограма вмісту вільних амінокислот у ПС листках

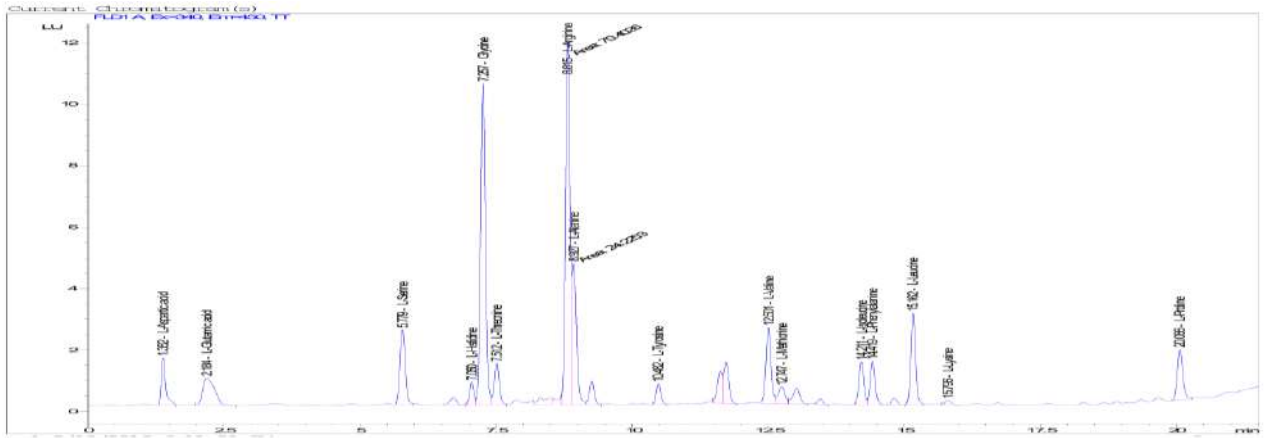


Рис. 3.33. ВЕРХ-хроматограма вмісту загальних амінокислот у ПС кореневищах з коренями

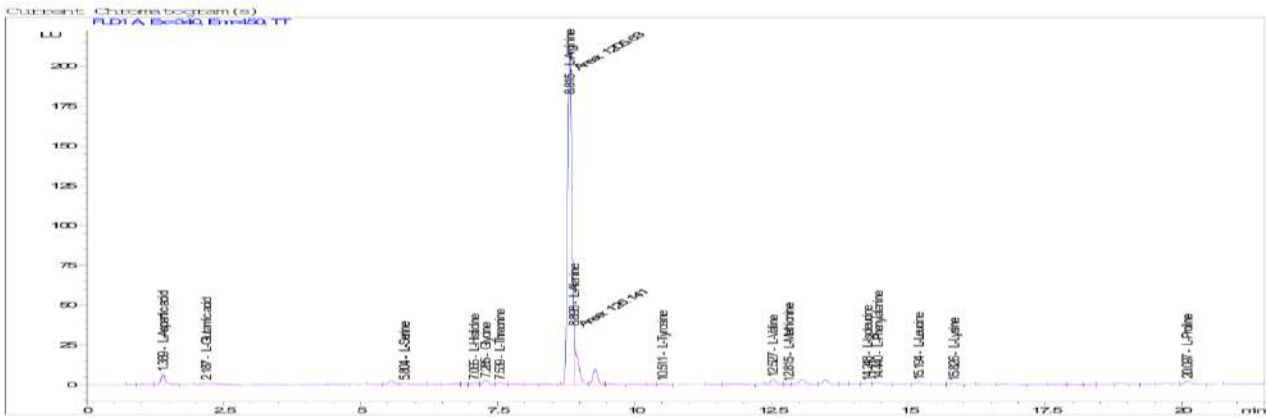


Рис. 3.34. ВЕРХ-хроматограма вмісту вільних амінокислот у ПС кореневищах з коренями

Таблиця 3.7

**Вміст амінокислот у примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної листках
(метод ВЕРХ)**

АК	ПЗ листки, мкг/мг		ПЮ листки, мкг/мг		ПС листки, мкг/мг	
	ВАК	ЗАК	ВАК	ЗАК	ВАК	ЗАК
1	2	3	4	5	6	7
Аспарагінова кислота	1,35	9,96	0,95	10,47	3,78	6,37
Глутамінова кислота	3,38	16,23	1,11	16,55	4,74	10,65
Серин	0,52	4,46	0,52	4,23	1,21	3,01

1	2	3	4	5	6	7
Гістидин**	0,14	3,32	0,36	2,98	0,43	2,34
Гліцин	0,32	6,72	0,22	6,48	2,08	3,93
Треонін*	0,38	5,08	0,58	4,61	0,99	3,38
Аргінін**	0,76	6,10	4,84	2,89	1,42	3,94
Аланін	1,70	5,76	2,18	4,81	2,42	3,66
Тирозин**	0,25	2,96	0,44	2,58	0,65	1,88
Валін*	0,43	5,51	0,75	4,89	1,08	3,86
Метіонін*	0,06	0,58	0,07	0,74	0,16	0,62
Фенілаланін*	0,50	6,16	0,75	5,52	1,10	4,24
Ізолейцин*	0,27	5,76	0,63	5,17	0,89	4,09
Лейцин*	0,39	9,86	0,61	8,91	1,38	6,93
Лізін*	0,36	8,65	0,60	7,90	1,32	6,57
Пролін	0,26	5,64	0,29	5,01	1,18	3,73
Загальний вміст заміennих АК	7,53	48,77	5,27	47,55	15,41	31,35
Загальний вміст незамінних АК	3,54	53,93	9,63	46,19	9,42	37,85

Примітка. * — незамінні амінокислоти, ** — напівзамінні амінокислоти, ВАК — вільні амінокислоти, ЗАК — зв'язані амінокислоти

Таблиця 3.8

**Вміст амінокислот у примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної
кореневищах з коренями (метод ВЕРХ)**

АК	ПЗ, мкг/мг		ПЮ, мкг/мг		ПС, мкг/мг	
	ВАК	ЗАК	ВАК	ЗАК	ВАК	ЗАК
1	2	3	4	5	6	7
Аспарагінова к-та	2,05	0,82	0,88	0,06	0,48	0,34

Продовж. табл. 3.8

1	2	3	4	5	6	7
Глутамінова к-та	0,06	0,29	0,04	0,07	0,03	0,13
Серин	0,52	0,62	0,10	0,44	0,09	0,90
Гістидин**	0,80	0,43	0,10	0,65	0,26	0,67
Гліцин	0,12	2,52	0,04	1,65	0,10	2,49
Треонін*	0,41	0,27	0,09	0,18	0,09	0,50
Аргінін**	13,42	0,97	1,88	0,39	9,94	0,48
Аланін	1,33	0,04	0,23	0,31	0,78	0,36
Тирозин**	0,09	0,44	0,03	0,25	0,08	0,40
Валін*	0,52	0,74	0,24	0,57	0,17	0,79
Метіонін*	0,06	0,38	н/в	0,32	0,04	0,33
Фенілаланін*	0,06	0,66	0,04	0,41	0,08	0,52
Ізолейцин*	0,07	0,78	0,08	0,43	0,12	0,61
Лейцин*	0,05	1,39	0,03	0,80	0,08	1,11
Лізін*	0,17	0,47	н/в	1,59	0,37	0,30
Пролін	н/в	0,81	0,08	0,78	0,11	0,57
Загальний вміст замісних АК	4,08	5,1	1,37	3,31	1,59	4,79
Загальний вміст незамінних АК	15,65	6,53	2,49	5,59	11,23	5,71

Примітка. н/в – не виявлено, * — незамінні амінокислоти, **— напівзамінні амінокислоти, ВАК – вільні амінокислоти, ЗАК – зв’язані амінокислоти

Відповідно до проведених результатів дослідження вміст незамінних амінокислот, як зв’язаних та і вільних, переважає у підземних органах усіх досліджуваних об’єктів. У листках незамінні амінокислоти домінують у зв’язаному стані у примули зубчастої та п. скельної, у вільному – у п. Юлії листках.

Домінуючими з вільних амінокислот у примули зубчастої листках є глутамінова кислота (3,38 мкг/мг) й аланін (1,7 мкг/мг); п. Юлії – аргінін (4,84

мкг/мг) й аланін (2,18 мкг/мг); п. скельної – глютамінова (4,74 мкг/мг) й аспарагінова кислоти (3,78 мкг/мг). Домінуючими серед зв'язаних амінокислот у примули зубчастої листках є глютамінова (16,23 мкг/мг), аспарагінова кислоти (9,96 мкг/мг) та лейцин (9,86 мкг/мг); у п. Юлії листках – глютамінова (16,55 мкг/мг) та аспарагінова кислоти (10,47 мкг/мг); у п. скельної листках – глютамінова кислота (10,65 мкг/мг) і лейцин (6,93). Серед вільних та зв'язаних амінокислот у всіх зразках домінує глютамінова кислота. З трьох досліджуваних зразків найбільший кількісний вміст амінокислот встановлено у примули зубчастої листках.

У примули зубчастої та п. Юлії кореневищах з коренями серед вільних амінокислот найбільший вміст становить аргінін – 13,42 мкг/мг і 1,88 мкг/мг та аспарагінова кислота – 2,05 мкг/мг та 0,88 мкг/мг відповідно, а у п. скельної аргінін (9,94 мкг/мг) та аланін (0,78 мкг/мг). Серед зв'язаних амінокислот домінуючими у примули зубчастої та п. скельної є гліцин – 2,52 мкг/мг і 2,49 мкг/мг та лейцин – 1,39 мкг/мг і 1,11 мкг/мг відповідно; у п. Юлії – гліцин (1,65 мкг/мг) та лізин (1,59 мкг/мг).

Серед замісних амінокислот у примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної листках переважає глютамінова кислота – 19,61 мкг/мг, 17,67 мкг/мг та 15,39 мкг/мг, а серед незамінних – лейцин: 10,25 мкг/мг, 9,51 мкг/мг та 8,31 мкг/мг, відповідно.

У примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної кореневищах з коренями кількісно домінує аргінін 14,40 мкг/мг, 2,27 мкг/мг та 10,41 мкг/мг відповідно, що є напівнезамінною амінокислотою [37].

Амінокислотний склад первоцвіту весняного та трьох досліджуваних зразків дещо відрізняється. У первоцвіту весняного встановлено 21 амінокислоту, в тому числі 7 незамінних та 3 напівнезамінні, тоді як у трьох досліджуваних зразках культивованих видів ідентифіковано по 16 амінокислот, з яких 7 незамінних та 3 напівнезамінні. За якісним складом амінокислот первоцвіт весняний містить 16 аналогічних амінокислот як у примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної. Окрім того, до складу дикорослого виду входять ще такі амінокислоти як 4-гідроксипролін, аспаргін, глютамін, цистин та цистеїн [17].

3.6 Визначення суми фенольних сполук

Нами було проведено дослідження з визначення вмісту суми фенольних сполук у листках, квітках та кореневищах з коренями примули зубчастої – *Primula denticulata* Smith, п. Юлії – *Primula juliae* Kusn. та п. скельної – *Primula saxatilis* Kom. спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту відповідно до методики 2.3.6 [20]. Результати дослідження представлено у табл. 3.9.

Таблиця 3.9

Вміст суми фенольних сполук у сировині примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної у перерахунку на кислоту галову (вірогідність похибки $P < 0,05$)

Сировина	Кількісний вміст, % в перерахунку на абсолютно суху сировину (m=5)
Примули зубчастої листки	5,20 ± 0,03
Примули зубчастої квітки	4,98 ± 0,02
Примули зубчастої кореневища з коренями	1,11 ± 0,02
Примули Юлії листки	5,06 ± 0,02
Примули Юлії квітки	4,90 ± 0,02
Примули Юлії кореневища з коренями	1,46 ± 0,01
Примули скельної листки	5,47 ± 0,03
Примули скельної квітки	6,24 ± 0,02
Примули скельної кореневища з коренями	0,87 ± 0,01

Результати досліджень показали, що найбільший вміст суми фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту спостерігали у примули скельної квітках – 6,24 % та листках – 5,47 %. Встановлено, що у листках усіх досліджуваних зразків вміст суми фенольних сполук був майже однаковий. У кореневищах з коренями вміст суми фенольних сполук був найменшим [20].

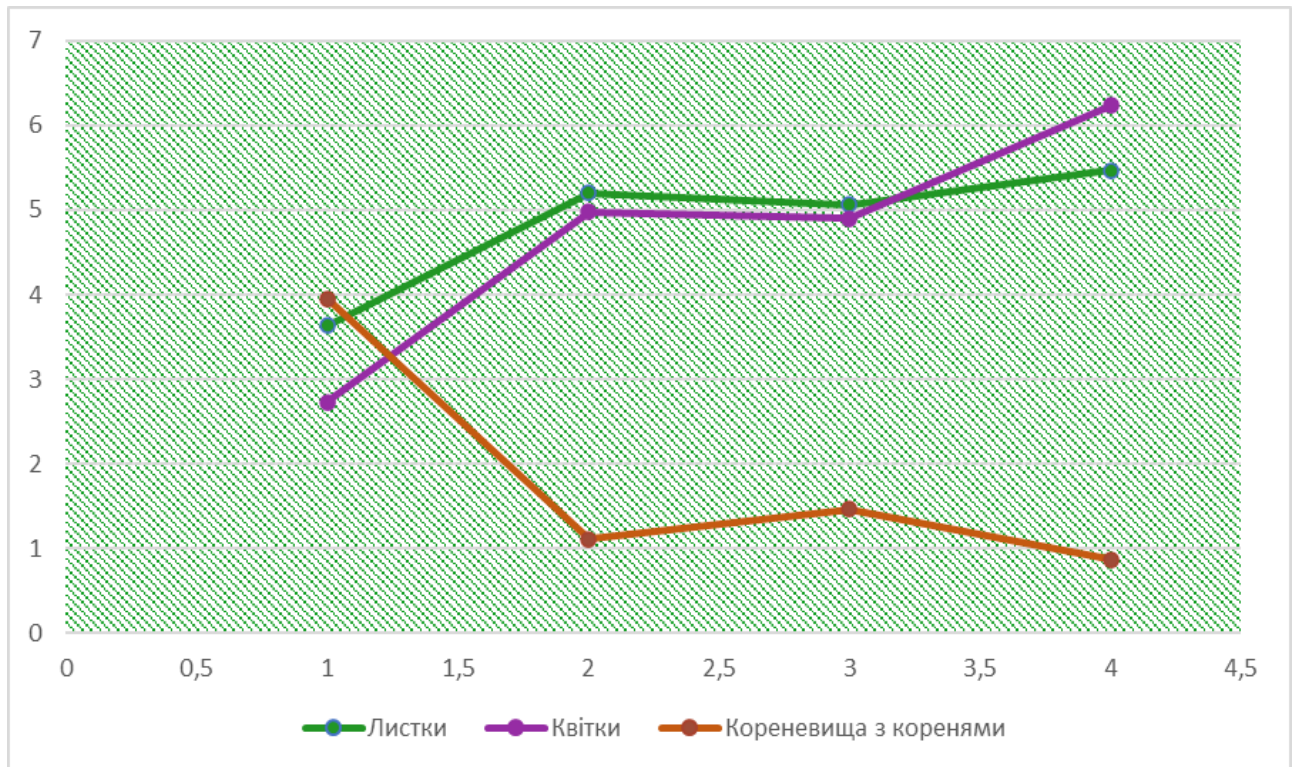


Рис. 3.35. Вміст суми фенольних сполук у сировині видів роду Примула

У первоцвіту весняного листках та квітках в порівнянні з аналогічною сировиною трьох досліджуваних культивованих видів примул вміст суми фенольних сполук є значно менший [65]. У кореневищах з коренями вміст суми фенольних сполук у первоцвіту весняного був втричі більший ніж трьох досліджуваних об'єктів (рис. 3.35).

3.6.1 Визначення гідроксикоричних кислот. З метою ідентифікації гідроксикоричних кислот використовували спиртово-водні витяжки надземних та підземних органів примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної, в яких з розчином ферум (III) хлориду з'являлось зелено-сіре забарвлення.

Виявлення ГКК здійснювали також методом ПХ (п. 2.3.7). Хроматографічний папір марки Filtrak FN №4. Система розчинників: н-бутанол – ацетатна кислота – вода очищена Р (4:1:2).

Методом ПХ у спиртово-водних витяжках примули зубчастої ідентифіковано 5 гідроксикоричних кислот: ферулову, *n*-кумарову, розмаринову та сліди хлорогенової і кофейної кислот, у квітках – 4: хлорогенову, розмаринову,

ферулову та *n*-кумарову кислоти, у кореневищах з коренями – 5: хлорогенову, розмаринову, *n*-кумарову, кофену та ферулову кислоти.

У примули Юлії листках встановлено 2 гідроксикоричні кислоти – розмаринову та *n*-кумарову, у квітках – 4: хлорогенову, розмаринову, *n*-кумарову та кофейну кислоти, у кореневищах з коренями теж 4: хлорогенову, *n*-кумарову, кофейну та ферулову.

За результатами дослідження у примули скельної листках та квітках визначено 5 ГКК – хлорогенову, розмаринову, кофейну, *n*-кумарову кислоти та сліди ферулової, у кореневищах з коренями – 4: хлорогенову, *n*-кумарову, кофейну та ферулову.

Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у листках, квітках та кореневищах з коренями примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної встановлювали спектрофотометричним методом у перерахунку на хлорогенову та розмаринову кислоти (табл. 3.10-3.11) [20].

Найбільший вміст суми ГКК встановлено у примули скельної листках та квітках – 6,24 % і 4,98 % відповідно, у п. Юлії квітках – 4,63 % та п. зубчастої листках – 4,2 %.

Таблиця 3.10

Вміст суми гідроксикоричних кислот у сировині примули зубчастої та листках п. Юлії в перерахунку на розмаринову кислоту (вірогідність похибки $P < 0,05$)

Сировина	Кількісний вміст, % в перерахунку на абсолютно суху сировину (m=5)
ПЗ листки	4,20 ± 0,02
ПЗ квітки	3,74 ± 0,01
ПЗ кореневища з коренями	2,01 ± 0,01
ПЮ листки	3,96 ± 0,02

Вміст суми гідроксикоричних кислот у квітках та кореневищах з коренями примули Юлії та сировині п. скельної в перерахунку на хлорогенову кислоту (вірогідність похибки $P < 0,05$)

Сировина	Кількісний вміст, % в перерахунку на абсолютно суху сировину (m=5)
ПЮ квітки	$4,63 \pm 0,02$
ПЮ кореневища з коренями	$1,49 \pm 0,01$
ПС листки	$6,24 \pm 0,03$
ПС квітки	$4,98 \pm 0,02$
ПС кореневища з коренями	$2,40 \pm 0,01$

У трьох досліджуваних зразках кількісний вміст суми ГКК є вищим ніж у дикорослого представника – первоцвіту весняного (рис. 3.36) [65].

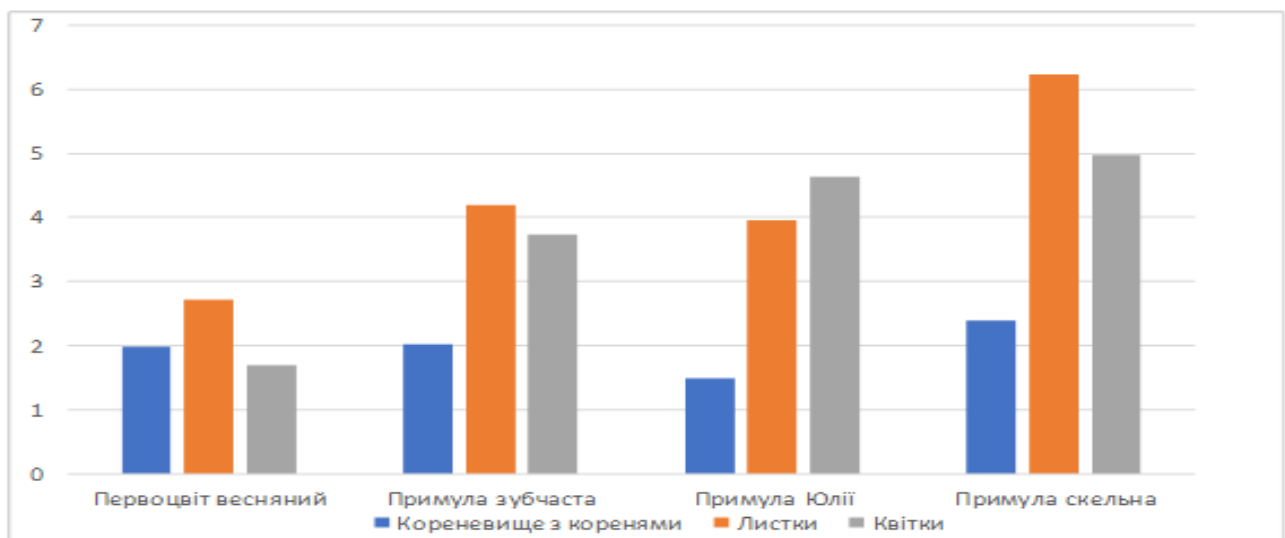


Рис. 3.36. Вміст суми гідроксикоричних кислот у сировині видів роду Примула

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту індивідуальних ГКК у досліджуваній культивованій сировині методом ВЕРХ представлено на рис. 3.37-3.45 та табл. 3.12-3.13.

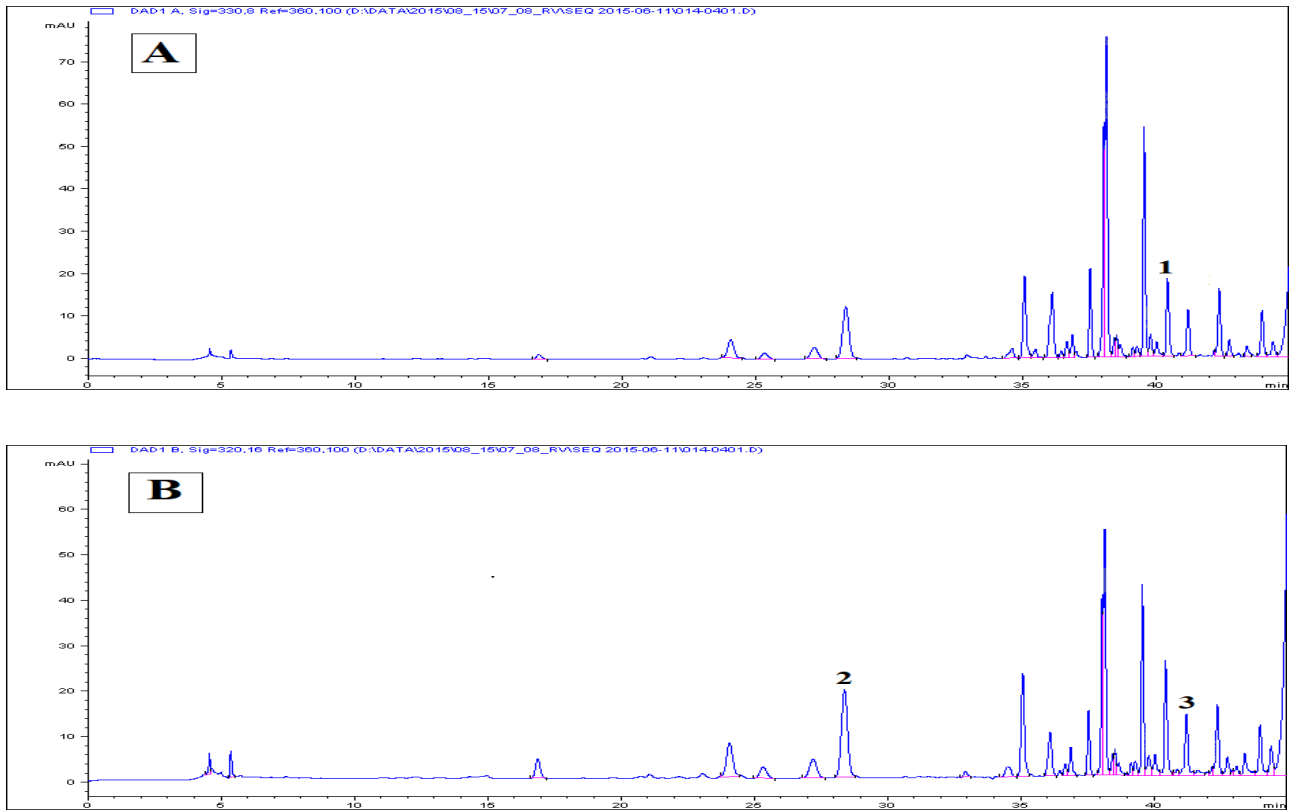


Рис. 3.37. ВЕРХ-хроматограма ГКК ПЗ листків при А) $\lambda = 330$ нм та В) $\lambda = 320$ нм: 1 – розмаринова, 2 – *n*-кумарова, 3 – ферулова

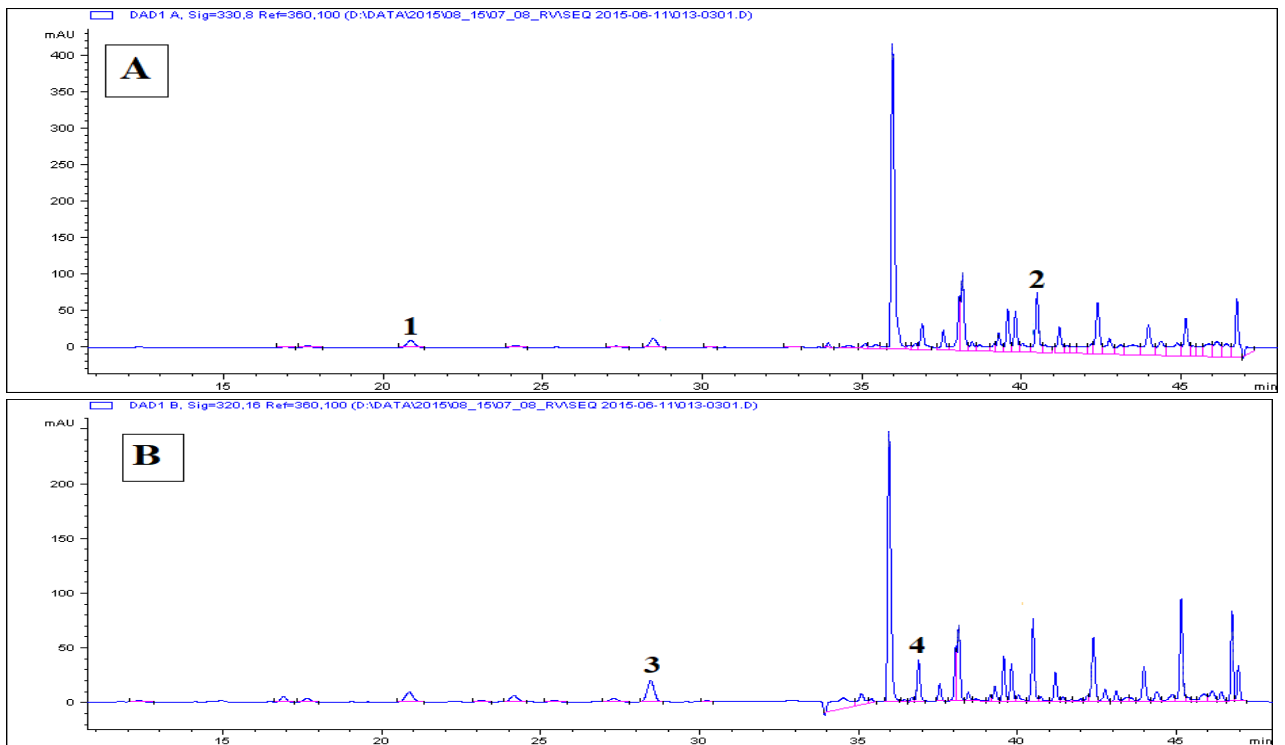


Рис. 3.38. ВЕРХ-хроматограма ГКК ПЗ квіток при А) $\lambda = 330$ нм та В) $\lambda = 320$ нм: 1 – хлорогенова, 2 – розмаринова, 3 – *n*-кумарова, 4 – ферулова

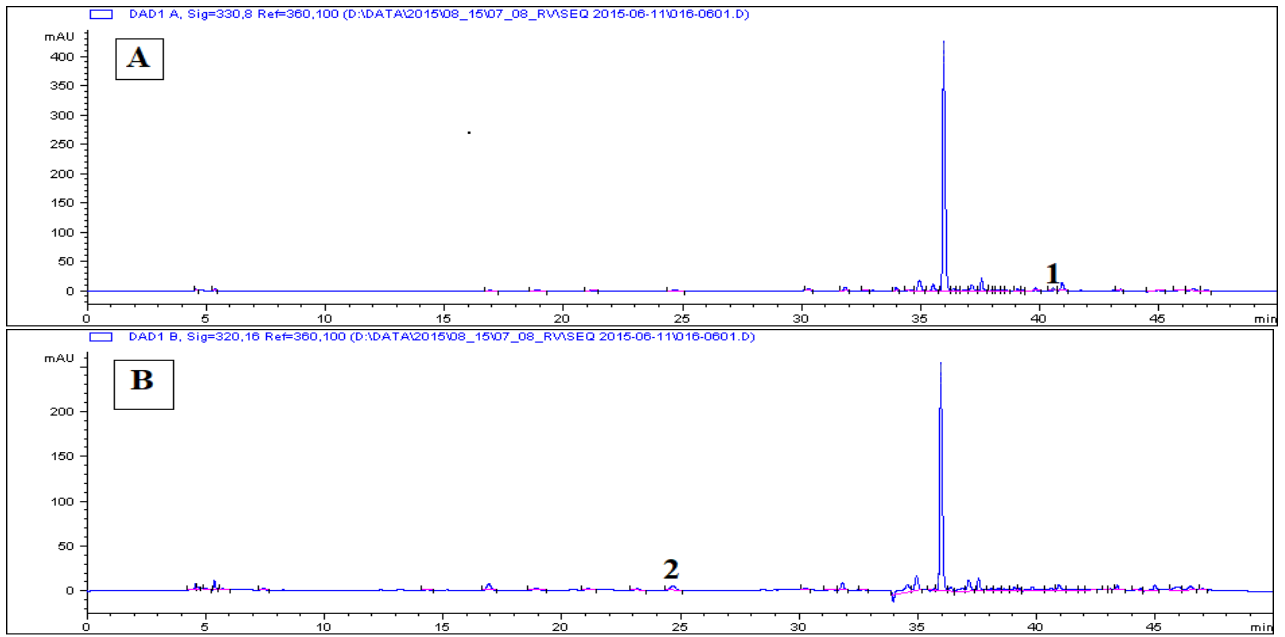


Рис. 3.39. ВЕРХ-хроматограма ГКК ПЮ листків при А) $\lambda = 330$ нм та В) $\lambda = 320$ нм: 1 – розмаринова, 2 – *p*-кумарова

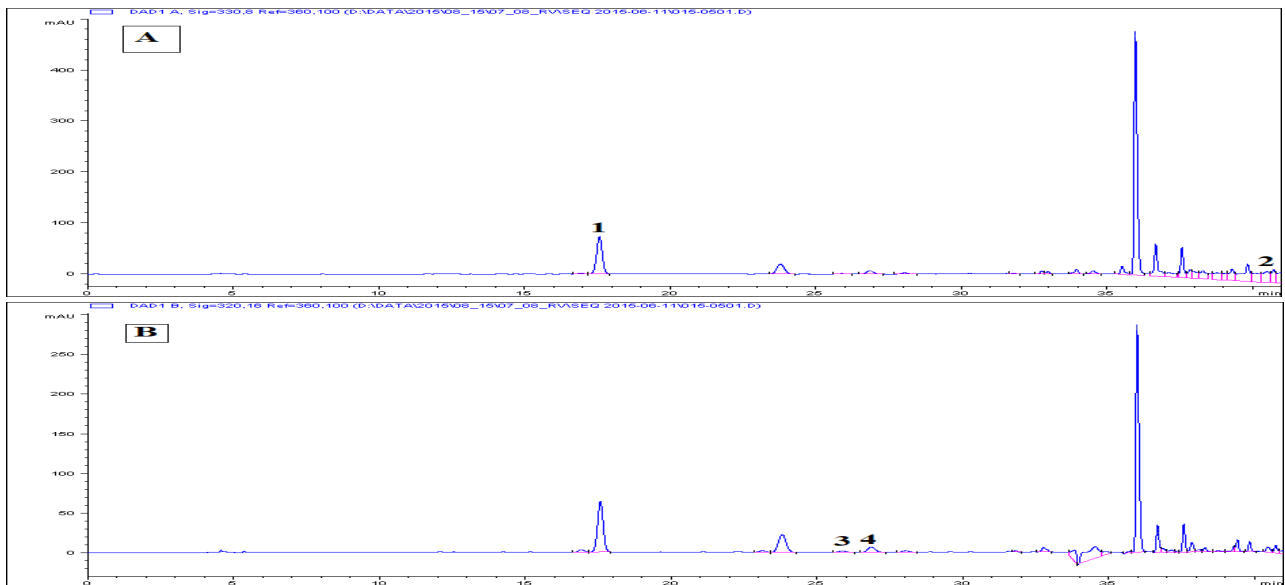
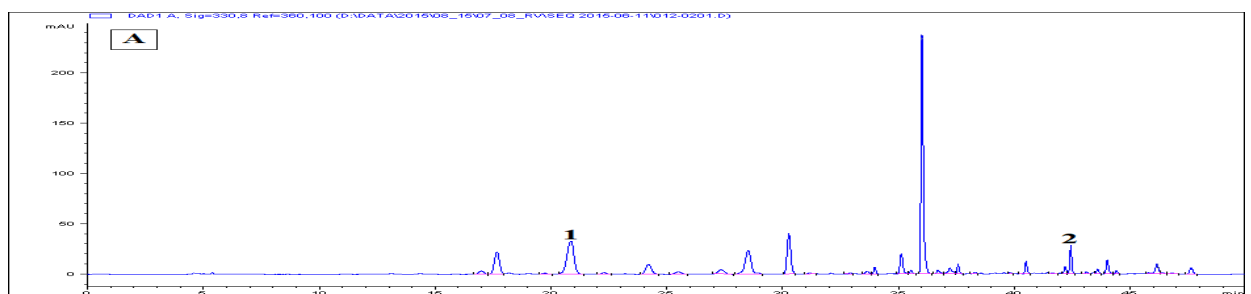


Рис. 3.40. ВЕРХ-хроматограма ГКК ПЮ квіток при А) $\lambda = 330$ нм та В) $\lambda = 320$ нм: 1 – хлорогенова, 2 – розмаринова, 3 – *p*-кумарова, 4 – кофеїна



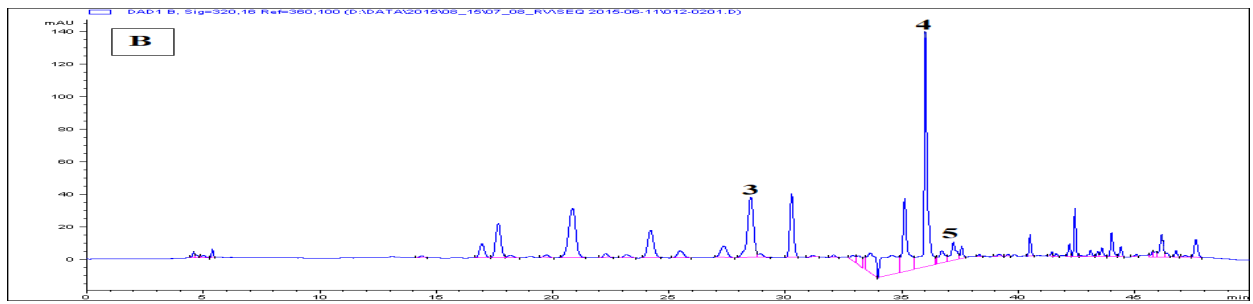


Рис. 3.41. ВЕРХ-хроматограма ГКК ПС листків при А) $\lambda = 330$ нм та В) $\lambda = 320$ нм: 1 – хлорогенова, 2 – розмаринова, 3 – *n*-кумарова, 4 – кофейна, 5 – ферулова

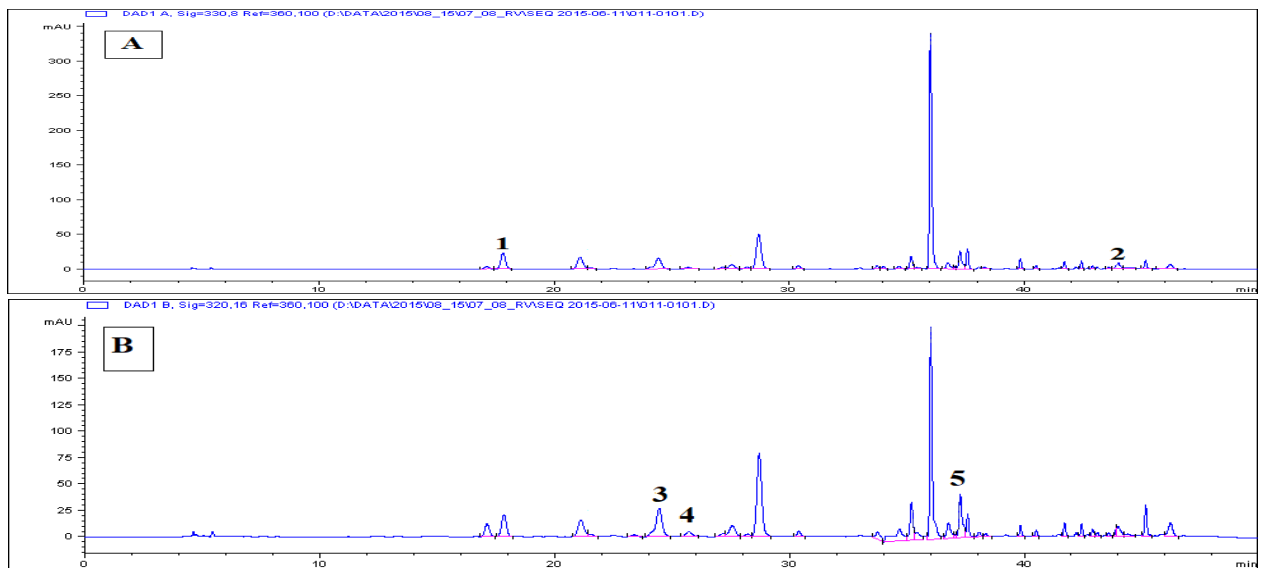


Рис. 3.42. ВЕРХ-хроматограма ГКК ПС квіток при А) $\lambda = 330$ нм та В) $\lambda = 320$ нм: 1 – хлорогенова, 2 – розмаринова, 3 – *n*-кумарова, 4 – кофейна, 5 – ферулова

Результати ВЕРХ аналізу показали, що спільною для усієї сировини є: *n*-кумарова кислота, найбільша кількість якої міститься у примули скельної листках – 0,16 %; хлорогенова кислота, що зустрічається в усіх зразках, окрім примули зубчастої листків, п. Юлії листків та п. скельної кореневищ з коренями, найбільший вміст якої спостерігається у п. скельної листках – 0,30 %; кофейна кислота, що міститься у всіх зразках, окрім примули зубчастої листків та квіток та п. Юлії листків, її найбільший вміст виявлено у п. скельної листках – 0,27 %; ферулова кислота, що міститься в усій сировині, окрім примули Юлії листків та квіток, і її максимальний вміст спостерігається у п. скельної квітках – 0,07 %.

Вміст індивідуальних компонентів гідроксикоричних кислот у листках та квітках примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної

Назва сполуки	Кількісний вміст, %					
	<i>Primula denticulata</i> Smith		<i>Primula juliae</i> Kusn.		<i>Primula saxatilis</i> Kom.	
	ЛИСТКИ	КВІТКИ	ЛИСТКИ	КВІТКИ	ЛИСТКИ	КВІТКИ
Хлорогенова кислота	н/в	0,05	н/в	0,28	0,3	0,19
Розмаринова кислота	0,04	0,41	0,002	0,12	0,08	0,07
<i>n</i> -кумарова кислота	0,07	0,06	0,01	0,003	0,16	0,07
Кофейна кислота	н/в	н/в	н/в	0,02	0,27	0,02
Ферулова кислота	0,02	0,04	н/в	н/в	0,03	0,07

Примітка. н/в – не виявлено

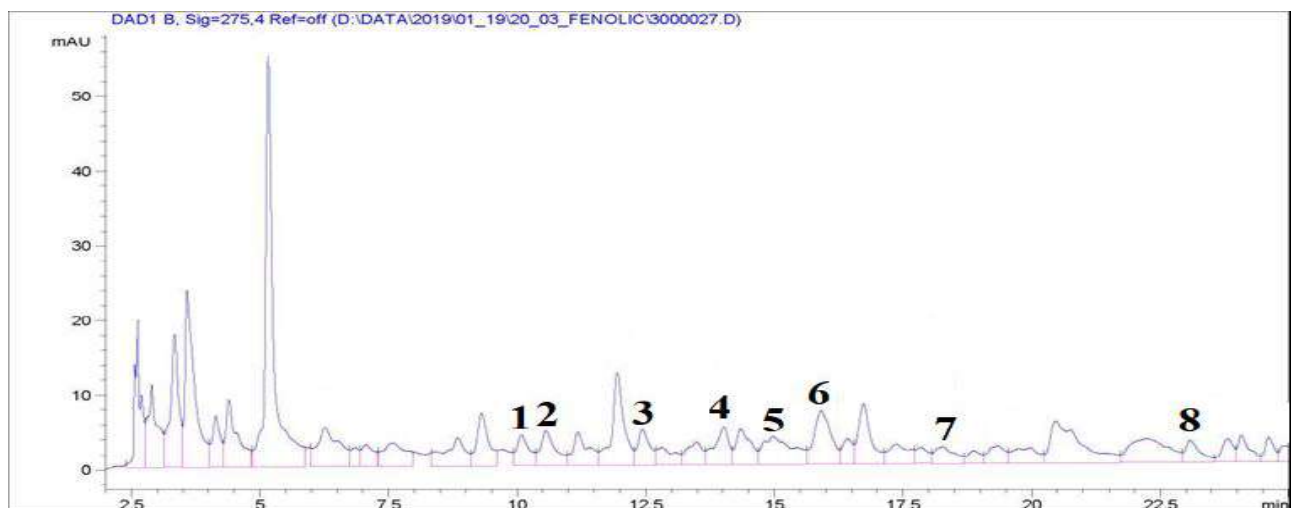


Рис. 3.43. ВЕРХ-хроматограма ГКК ПЗ кореневищ з коренями при А) $\lambda = 275$ нм: 1 – хлорогенова, 2 – кофейна, 3 – сирінгова, 4 – *n*-кумарова, 5 – ферулова, 6 – синапова, 7 – цинамова, 8 – хінна

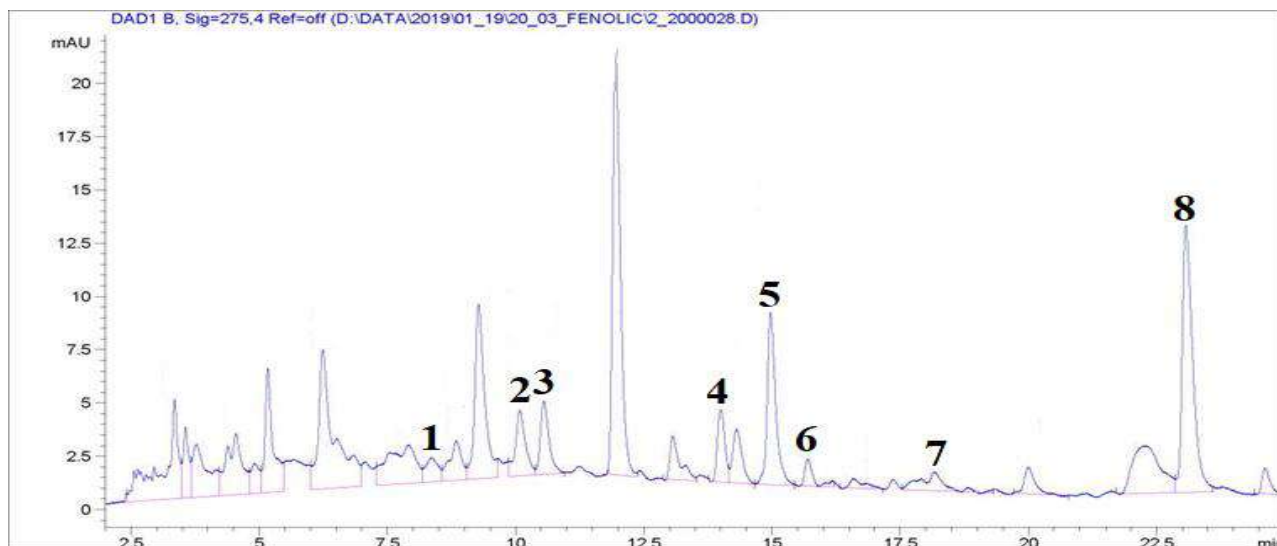


Рис. 3.44. ВЕРХ-хроматограма ГКК ПЮ кореневищ з коренями при А) $\lambda = 275$ нм: 1 – гідроксифенілоцтова, 2 – хлорогенова, 3 – кофейна, 4 – *n*-кумарова, 5 – ферулова, 6 – синапова, 7 – цинамова, 8 – хінна

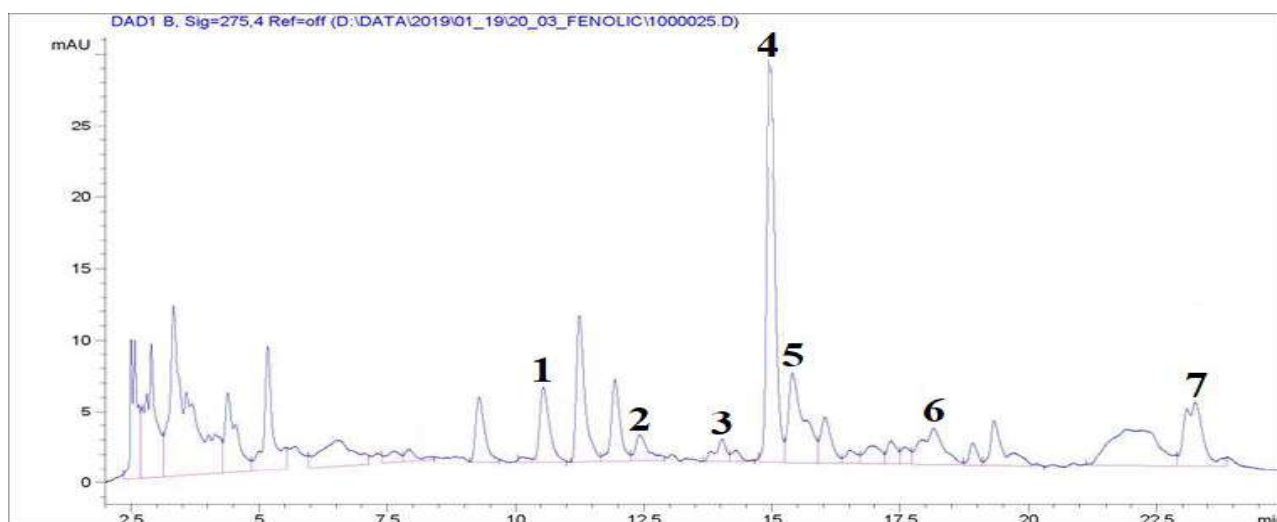


Рис. 3.45. ВЕРХ-хроматограма ГКК ПС кореневищ з коренями при А) $\lambda = 275$ нм: 1 – кофейна, 2 – сирінгова, 3 – *p*-кумарова, 4 – ферулова, 5 – синапова, 6 – цинамова, 7 – хінна

У надземних органах трьох досліджуваних об'єктів встановлювали вміст розмаринової кислоти, найбільша кількість якої – 0,41 % міститься у примули зубчастої квітках. Синапова, цинамова та хінна кислоти виявлено у підземних органах трьох досліджуваних об'єктів. Найбільший вміст синапової та цинамової кислот спостерігається у примули скельної кореневищах з коренями і становить

0,002 % та 0,001 % відповідно. Найбільший вміст хінної кислоти міститься в підземних органах примули зубчастої – 0,002 %. Сирінгова кислота міститься лише в примули зубчастої та п. скельної кореневищах з коренями. Гідроксифенілацетатна кислота виявлена тільки у підземних органах примули Юлії. Відповідно до отриманих результатів – гідроксикоричний склад трьох досліджуваних зразків дещо відрізняється [54].

Таблиця 3.13

Вміст індивідуальних компонентів гідроксикоричних кислот у кореневищах з коренями примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної

Назва сполуки	Кількісний вміст, %		
	<i>Primula denticulata</i> Smith	<i>Primula juliae</i> Kusn.	<i>Primula saxatilis</i> Kom.
Гідроксифенілацетатна кислота	н/в	0,0003	н/в
Хлорогенова кислота	0,005	0,004	н/в
<i>n</i> -кумарова кислота	0,001	0,0004	0,0004
Кофейна кислота	0,002	0,001	0,003
Ферулова кислота	0,002	0,001	0,006
Сирінгова кислота	0,001	н/в	0,001
Синапова кислота	0,002	0,0002	0,002
Цинамова кислота	0,0003	0,0001	0,001
Хінна кислота	0,002	0,002	0,002

Примітка. н/в – не виявлено

Оскільки у досліджуваних об'єктах ідентифіковано досить різноманітний склад ГКК, можна зробити висновок про широкий спектр дії даних рослин. Зокрема, ГКК мають виражені антиоксидантні властивості. Вони проявляють протизапальну, антиагрегантну, протипухлинну, гепатопротекторну, протиалергічну, антитоксичну

та протівірусну дію. Також, встановлена виражена жовчогінна дія ферулової, кофейної, хлорогенової кислот; туберкулостатична дія *n*-кумарової кислоти, сильна антибактеріальна дія кофейної кислоти. Окрім цього, хлорогенова кислота уповільнює звільнення глюкози з крові після прийому їжі і інгібує глюкозо-6-діестеразу. Ферулова кислота виявляє проапоптичний ефект у ранових клітинах та антибактеріальну активність [2, 6]. Гідроксикоричні кислоти полегшують стан у разі захворювання і пом'якшують побічні явища медикаментозних препаратів. Препарати з ГКК підвищують ефективність антибіотиків, зменшують тривалість захворювань і число ускладнень [27].

Порівнюючи вміст ГКК трьох досліджуваних об'єктів та первоцвіту весняного, можна зробити висновок, що якісний склад даної групи БАР культивованих видів роду *Primula* L. є значно різноманітнішим, оскільки у трьох досліджуваних об'єктах ідентифіковано 10 гідроксикоричних кислот, тоді як у первоцвіту весняного лише 3 – розмаринову, *n*-кумарову та ферулову. Що стосується порівняння кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у кореневищах з коренями, то спільно визначеною кислотою є *n*-кумарова – кількість якої є більшою у первоцвіту весняного (0,002 %), проте майже відповідає кількості у примули зубчастої (0,001 %). У лисках розмаринова (0,11 %) та ферулова (0,12 %) кислоти переважають у первоцвіту весняного, а *n*-кумарова у п. скельної (0,16 %). У квітках розмаринова кислота домінує у примули зубчастої (0,41 %), а ферулова та *n*-кумарова у п. скельної (по 0,07 %) [141].

Отже, якісний склад та кількісний вміст сировини досліджуваних зразків: примули зубчастої, п. Юлії, п. скельної та сировини первоцвіту весняного значно відрізняються.

3.6.2 Визначення флавоноїдів та кумаринів. Ідентифікацію флавоноїдів здійснювали за допомогою загальноприйнятих якісних реакцій з спиртово-водними витяжками з досліджуваних об'єктів. Результати показали:

- при ціанідинової пробі спостерігали появу червонуватого забарвлення;
- із 10 % розчином луку спостерігали появу жовтого забарвлення;
- із 10 % розчином ферум (III) хлоридом спостерігали зелене забарвлення;

- із 5 % спиртовим розчином алюмінію хлориду спостерігали жовто-зелене забарвлення;

- із розчином плюмбум ацетату середнім спостерігали утворення драглистого осаду жовтуватого кольору.

Також ідентифікацію проводили методом ТШХ [155].

Результати аналізу показали, що листки примули зубчастої містять 5 флавоноїдів: рутин, ізокверцитрин, лютеолін, сліди кемпферолу і апігеніну та 3 кумарини – кумарин, сліди умбеліферону і скополетину; квітки – 5 флавоноїдів: рутин, ізокверцитрин, лютеолін, апігенін, сліди кемпферолу та 2 кумарини: кумарин і сліди скополетину; кореневище з коренями 3 флавоноїди – рутин, сліди лютеоліну і кверцетину та сліди скополетину (кумарину).

Листки примули Юлії містять 4 флавоноїди – рутин, ізокверцитрин, кверцетин, апігенін та 1 кумарин; квітки 6 флавоноїдів – рутин, ізокверцитрин, лютеолін, апігенін, кверцетин, сліди кемпферолу та 2 кумарини – кумарин та сліди скополетину; кореневища з коренями 4 флавоноїди – рутин, ізокверцитрин, лютеолін, сліди кверцетину та 1 кумарин – сліди кумарину.

У листках примули скельної ідентифіковано 5 флавоноїдів – рутин, ізокверцитрин, апігенін, сліди лютеоліну та кверцетину і 3 кумарини – кумарин та сліди скополетину і умбеліферону; у квітках 6 флавоноїдів – рутин, ізокверцитрин, лютеолін, апігенін, сліди кемпферолу і кверцетину та 1 кумарини – умбеліферон; у кореневищах з коренями 4 флавоноїди – рутин, ізокверцитрин, апігенін, сліди лютеоліну.

Спектрофотометричним методом встановлено кількісний вміст суми флавоноїдів у листках, квітках та кореневищах з коренями примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної [20]. Результати дослідження наведено у табл. 3.14-3.15.

Найбільший вміст суми флавоноїдів встановлено у листках та квітках примули зубчастої – 4,64 % та 4,32 % відповідно. Найменший – у кореневищах з коренями примули зубчастої та п. скельної – 0,08 % та 0,29 % відповідно.

Таблиця 3.14

Вміст суми флавоноїдів у сировині примули зубчастої та п. Юлії у перерахунку на рутин (вірогідність похибки $P < 0,05$)

Сировина	Кількісний вміст, % в перерахунку на абсолютно суху сировину ($m=5$)
Примули зубчастої листки	$4,64 \pm 0,02$
Примули зубчастої квітки	$4,32 \pm 0,01$
Примули зубчастої кореневища з коренями	$0,08 \pm 0,01$
Примули Юлії листки	$3,91 \pm 0,04$
Примули Юлії квітки	$3,85 \pm 0,02$
Примули Юлії кореневища з коренями	$1,09 \pm 0,01$

Таблиця 3.15

Вміст суми флавоноїдів у сировині примули скельної в перерахунку на апігенін (вірогідність похибки $P < 0,05$)

Сировина	Кількісний вміст, % в перерахунку на абсолютно суху сировину ($m=5$)
Примули скельної листки	$2,19 \pm 0,01$
Примули скельної квітки	$3,06 \pm 0,02$
Примули скельної кореневища з коренями	$0,29 \pm 0,01$

Вміст індивідуальних флавоноїдних сполук та кумаринів у досліджуваній сировині трьох видів примул встановлено методом ВЕРХ (п. 2.3.8) [20, 138, 155].

Результати досліджень представлено на рис. 3.46-3.54 та табл. 3.16-3.17.

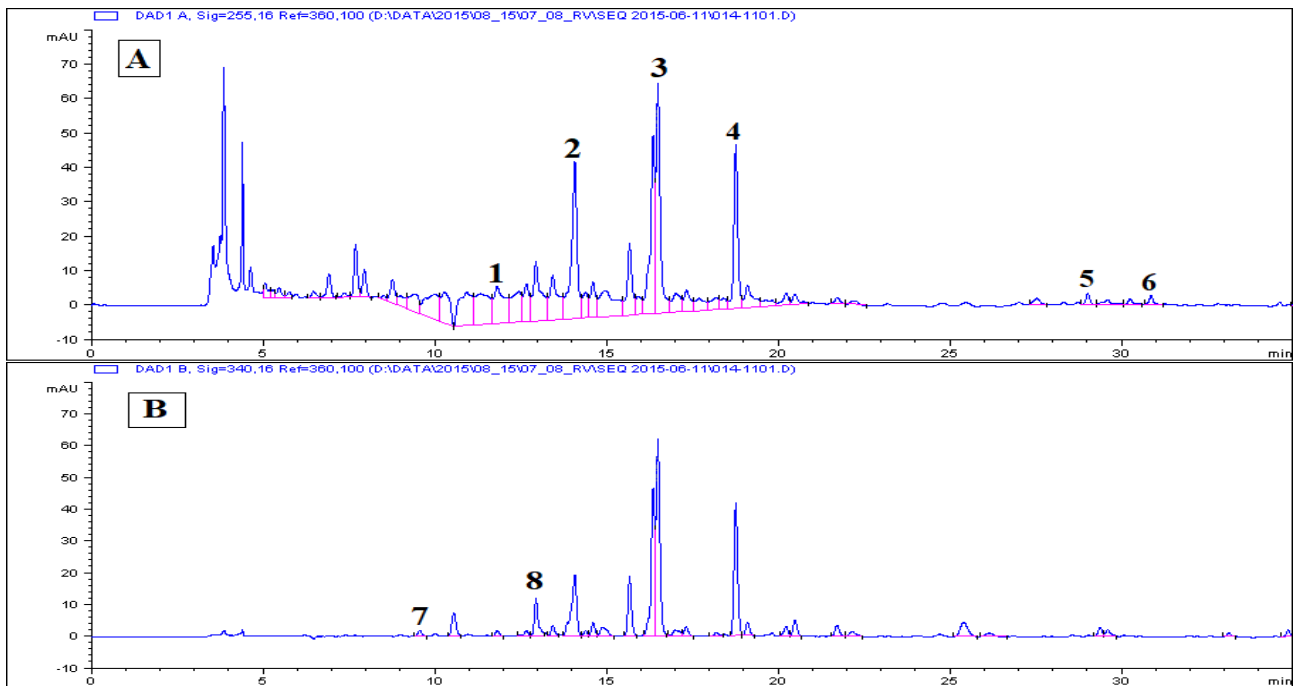


Рис. 3.46. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів та кумаринів ПЗ листків при А) $\lambda = 255$ нм та В) $\lambda = 340$ нм: 1 – гіперозид, 2 – рутин, 3 – ізокверцитрин, 4 – лютеолін, 5 – кумарин, 6 – кемпферол, 7 – скополетин, 8 – апігенін

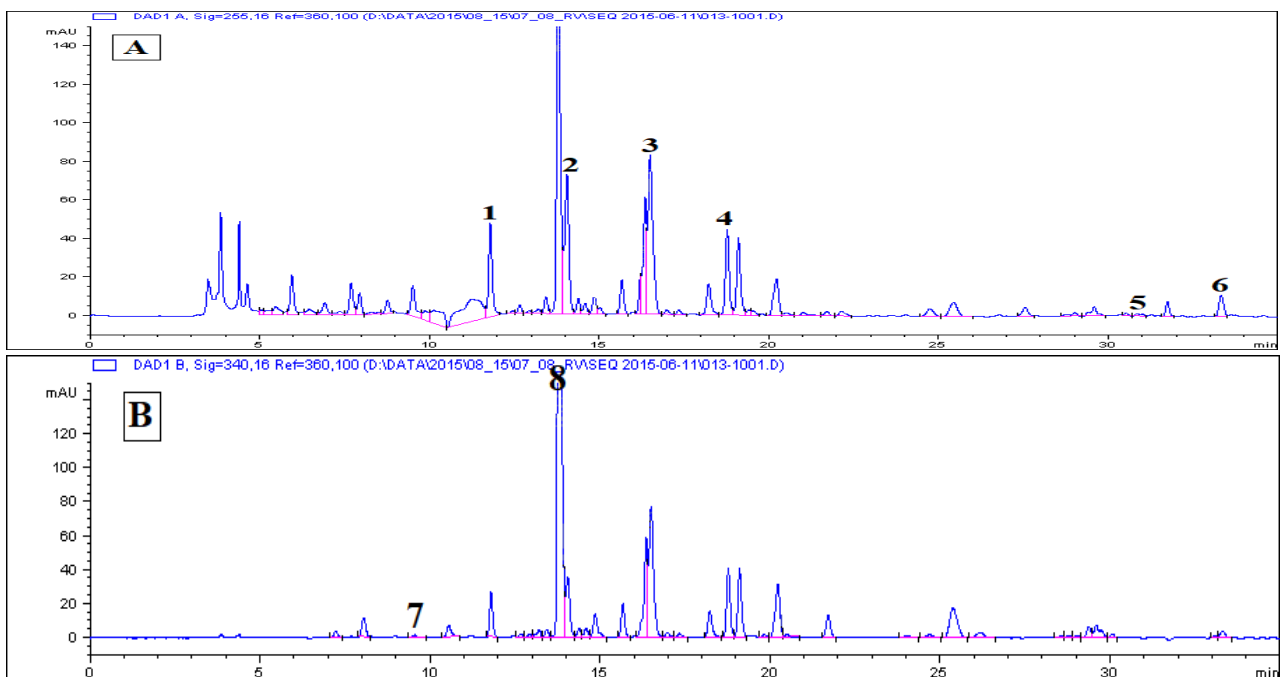


Рис. 3.47. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів та кумаринів ПЗ квіток при А) $\lambda = 255$ нм та В) $\lambda = 340$ нм: 1 – гіперозид, 2 – рутин, 3 – ізокверцитрин, 4 – лютеолін, 5 – кемпферол, 6 – кумарин, 7 – скополетин, 8 – апігенін

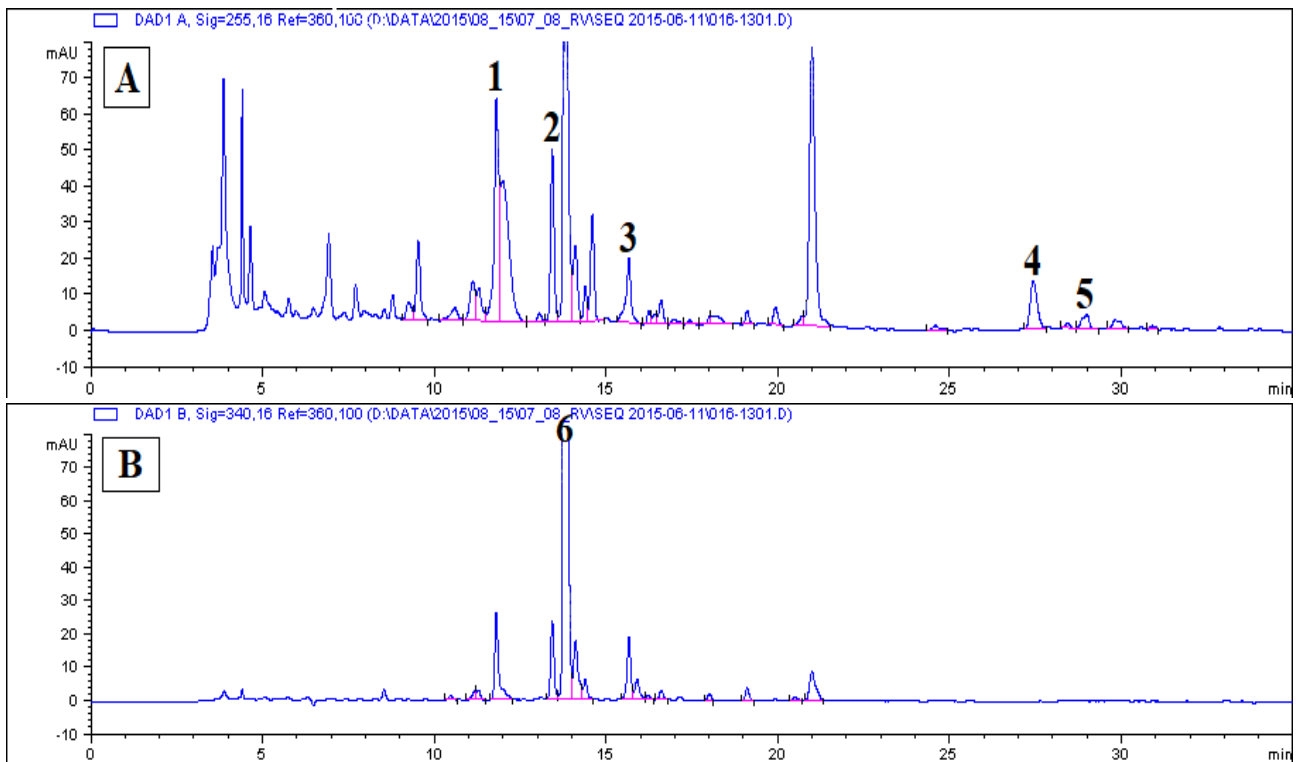


Рис. 3.48. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів та кумаринів ПЮ листків при А) $\lambda = 255$ нм та В) $\lambda = 340$ нм: 1 – гіперозид, 2 – рутин, 3 – ізокверцитрин, 4 – кверцетин, 5 – кумарин, 6 – апігенін

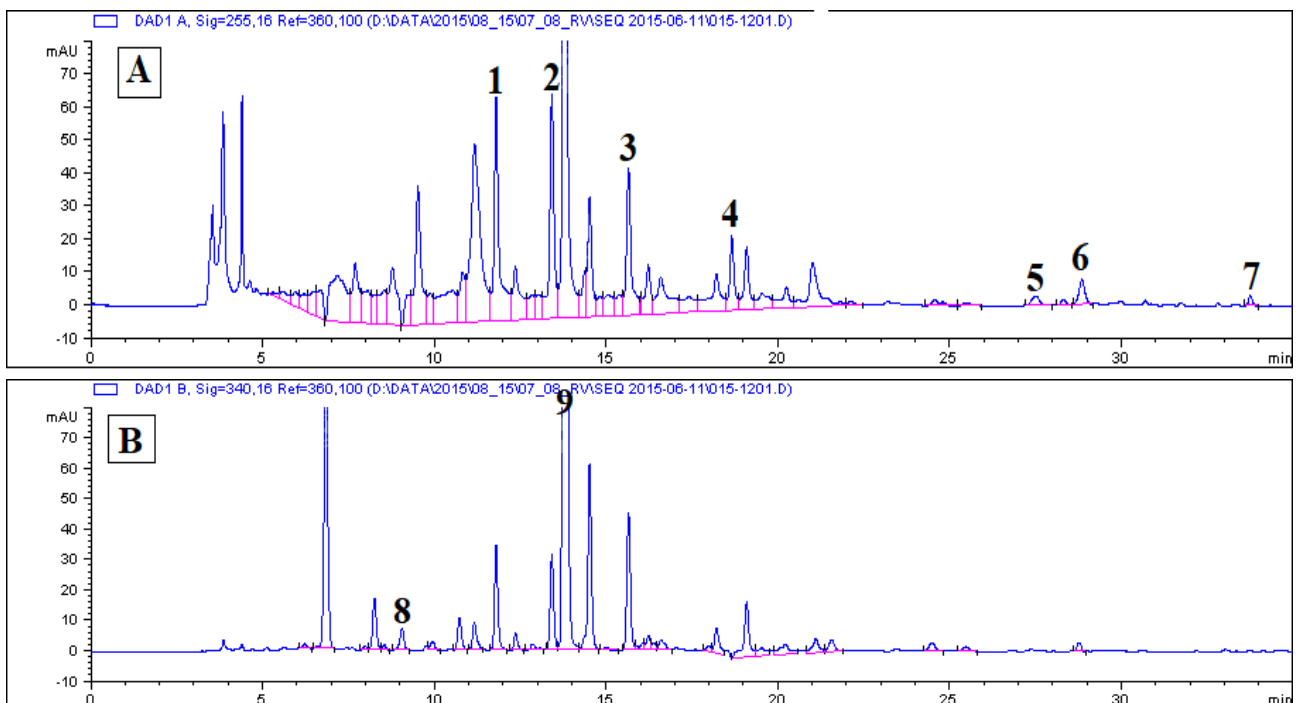


Рис. 3.49. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів та кумаринів ПЮ квіток при А) $\lambda = 255$ нм та В) $\lambda = 340$ нм: 1 – гіперозид, 2 – рутин, 3 – ізокверцитрин, 4 – лютеолін, 5 – кумарин, 6 – кверцетин, 7 – кемпферол, 8 – скополетин, 9 – апігенін

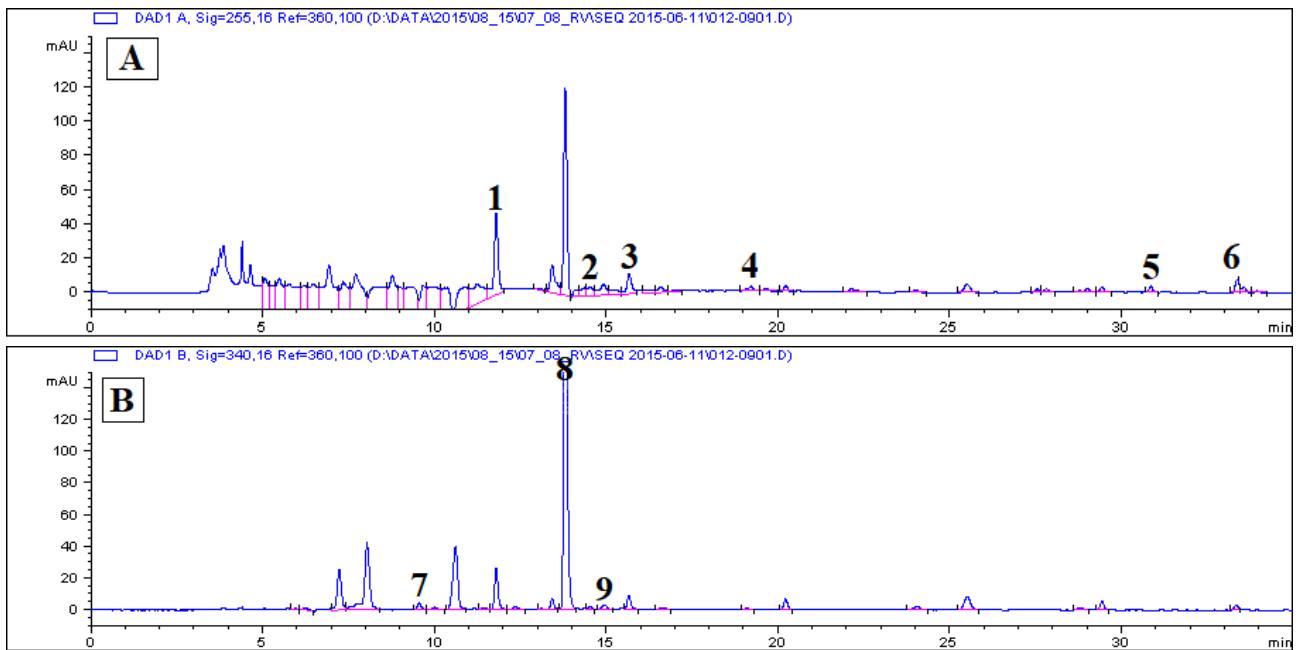


Рис. 3.50. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів та кумаринів ПС листків при А) $\lambda = 255$ нм та В) $\lambda = 340$ нм: 1 – гіперозид, 2 – рутин, 3 – ізокверцитрин, 4 – лютеолін, 5 – кемпферол, 6 – кумарин, 7 – скополетин, 8 – апігенін, 9 – умбеліферон

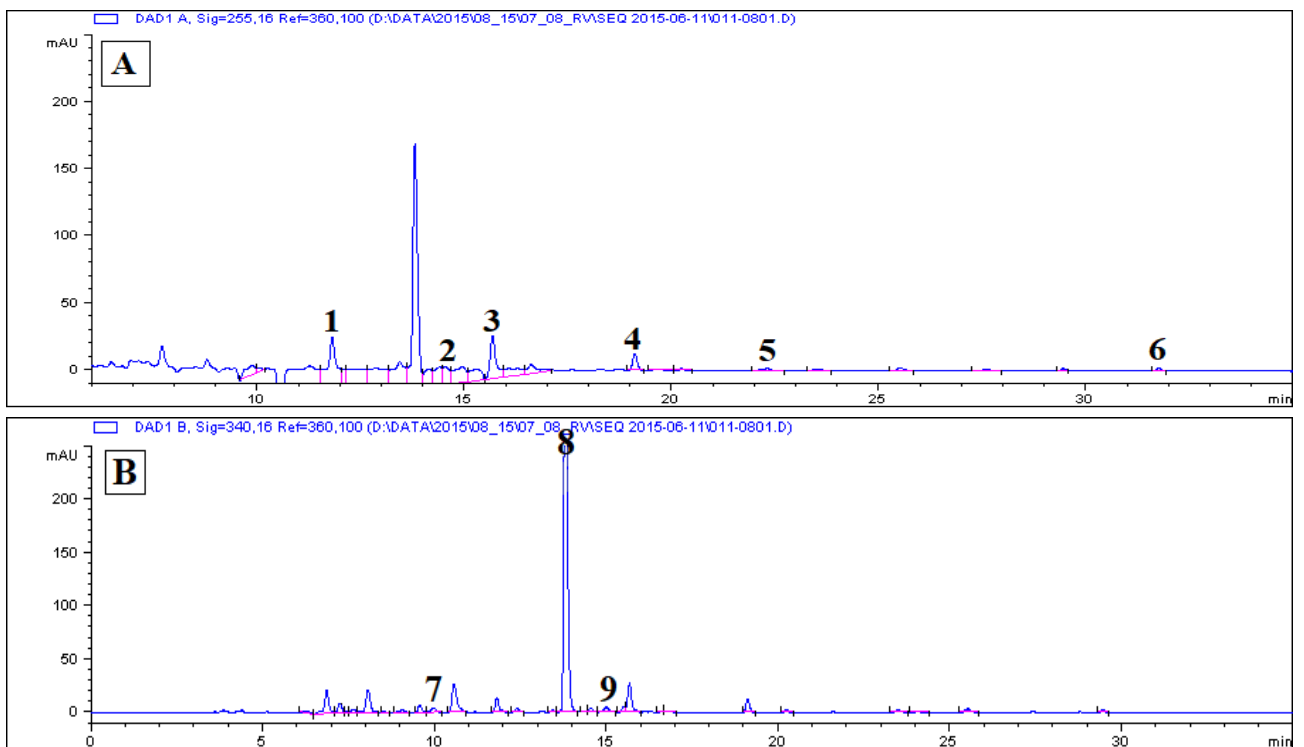


Рис. 3.51. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів та кумаринів ПС квіток при А) $\lambda = 255$ нм та В) $\lambda = 340$ нм: 1 – гіперозид, 2 – рутин, 3 – ізокверцитрин, 4 – лютеолін, 5 – кверцетин, 6 – кемпферол, 7 – скополетин, 8 – апігенін, 9 – умбеліферон

Таблиця 3.16

**Вміст індивідуальних сполук флавоноїдів у листках та квітках примул
зубчастої, п. Юлії та п. скельної**

Назва сполуки	Кількісний вміст, %					
	<i>Primula denticulata</i> Smith		<i>Primula juliae</i> Kusn.		<i>Primula saxatilis</i> Kom.	
	ЛИСТКИ	КВІТКИ	ЛИСТКИ	КВІТКИ	ЛИСТКИ	КВІТКИ
Гіперозид	0,02	0,07	0,12	0,09	0,08	0,2
Рутин	0,39	0,42	0,24	0,31	0,04	0,13
Ізокверцитрин	0,44	0,61	0,09	0,33	0,05	0,14
Лютеолін	0,11	0,25	н/в	0,15	0,01	0,03
Кверцетин	н/в	н/в	0,09	0,04	н/в	0,01
Кемпферол	0,01	0,01	н/в	0,02	0,02	0,01
Апігенін	0,01	0,32	0,32	0,37	0,17	0,25

Примітка. н/в – не виявлено

Таблиця 3.17

**Вміст кумаринів у листках та квітках примули зубчастої, п. Юлії та п.
скельної**

Назва сполуки	Кількісний вміст, %					
	<i>Primula denticulata</i> Smith		<i>Primula juliae</i> Kusn.		<i>Primula saxatilis</i> Kom.	
	ЛИСТКИ	КВІТКИ	ЛИСТКИ	КВІТКИ	ЛИСТКИ	КВІТКИ
1	2	3	4	5	6	7
Кумарин	0,01	0,04	0,02	0,03	0,03	н/в

1	2	3	4	5	6	7
Скополетин	0,01	0,01	н/в	0,01	0,01	0,01
Умбеліферон	н/в	н/в	н/в	н/в	0,01	0,02

Примітка. н/в – не виявлено

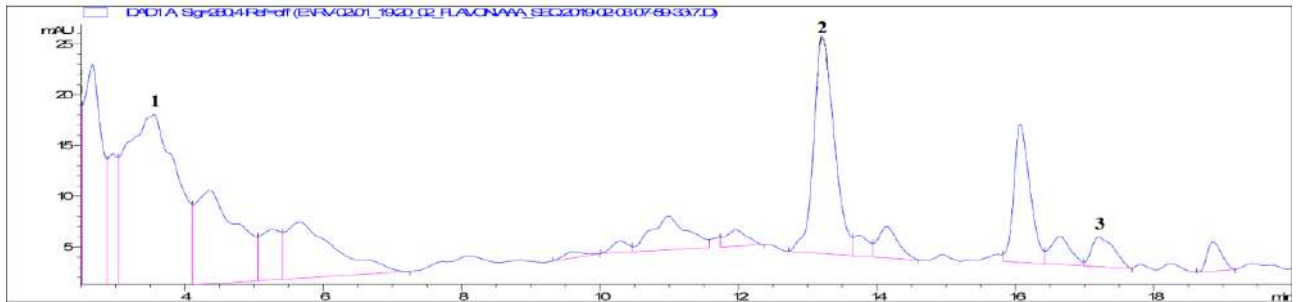


Рис. 3.52. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів ПЗ кореневищ з коренями при А) $\lambda = 280$ нм: 1 – рутин, 2 – лютеолін, 3 – кемпферол

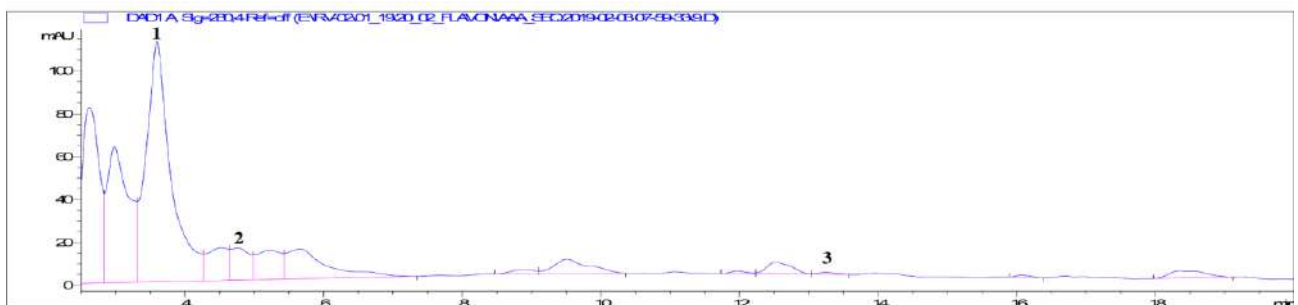


Рис. 3.53. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів ПЮ кореневищ з коренями при А) $\lambda = 280$ нм: 1 – рутин, 2 – ізокверцитрин, 3 – лютеолін

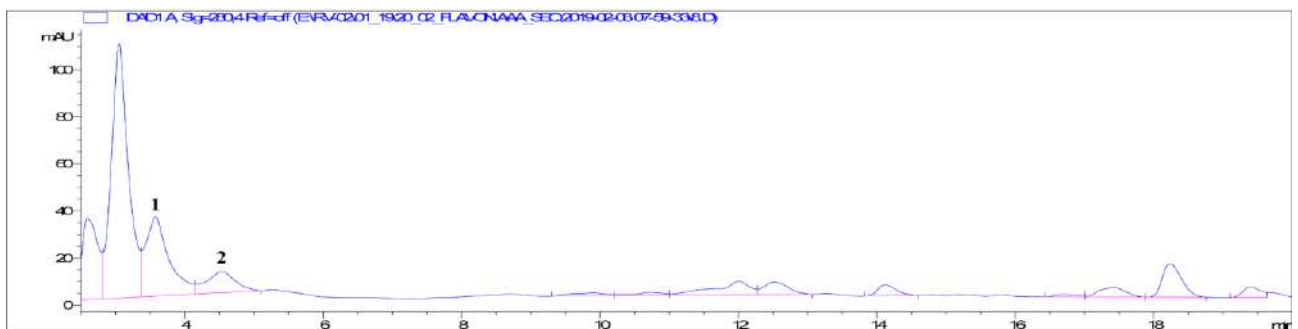


Рис. 3.54. ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів ПС кореневищ з коренями при А) $\lambda = 280$ нм: 1 – рутин, 2 – ізокверцитрин

**Вміст індивідуальних сполук флавоноїдів у кореневищах з коренями
примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної**

Назва сполуки	Кількісний вміст, %		
	<i>Primula denticulata</i> Smith	<i>Primula juliae</i> Kusn.	<i>Primula saxatilis</i> Kom.
Рутин	0,016	0,05	0,014
Ізокверцитрин	н/в	0,001	0,01
Лютеолін	0,008	0,0008	н/в
Кемпферол	0,0003	н/в	н/в

Примітка. н/в – не виявлено

ВЕРХ-аналізом у примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної квітках, листках та кореневищах з коренями ідентифіковано і встановлено кількісний вміст агліконів: флавонолів – кверцетину і кемпферолу; флавононів – лютеоліну і апігеніну; глікозидів флавонолів: рутину, гіперозиду, ізокверцитрину, а також простих кумаринів: кумарину, умбеліферону та скополетину.

Результати ВЕРХ-аналізу показали, що рутин міститься у всіх досліджуваних зразках. Ізокверцитрин міститься також у всіх зразках, окрім примули зубчастої кореневищ з коренями. Лютеолін міститься в сировині усіх досліджуваних зразків, окрім примули Юлії листків та п. скельної кореневищ з коренями. Кемпферол містять усі об'єкти, окрім примули Юлії листків та п. Юлії і п. скельної кореневищ з коренями.

У надземних органах також визначали вміст гіперозиду, апігеніну та кверцетину. Встановили, що апігенін та гіперозид міститься у листках та квітках усіх досліджуваних об'єктів. Кверцетин міститься тільки у примули Юлії та п. скельної квітках, а також у п. Юлії листках.

Також проводили визначення кумаринів у надземних органах трьох культивованих видів роду Примула. Кумарин не виявлено у примули скельної квітках. Скополетин не виявлено у п. Юлії листках. Умбеліферон наявний лише у примули скельної листках і квітках.

Встановлено, що у найбільших кількостях примули зубчастої листки містять рутину і ізокверцитрину – 0,39 % і 0,44 % відповідно; примули Юлії – апігеніну 0,32 %; примули зубчастої квітки – рутину, ізокверцитрину і апігеніну – 0,42 %, 0,61 і 0,32 % відповідно; примули Юлії – ізокверцитрину і апігеніну – 0,33 % і 0,37 % відповідно. Примули скельної листки та квітки в найбільшій кількості містять апігенін – 0,17 % та 0,25 % відповідно. У примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної кореневищах з коренями домінує рутин 0,016 %, 0,05 % та 0,014 % відповідно.

Порівнюючи з флавоноїдним та кумариновим складом первоцвіту весняного встановлено, що сума флавоноїдів первоцвіту весняного в листках та квітках є більшою ніж у культивованих видів і становить 8,26 % та 5,06 % відповідно [22].

Якісний склад флавоноїдів первоцвіту весняного і досліджуваних зразках суттєво не відрізається. Є відмінність у підземних органах первоцвіту весняного, у нього виявлено лише ізокверцитрин, тоді як у примул зубчастої і п. Юлії виявлено лютеолін, у трьох об'єктів виявлено ізокверцитрин і рутин. У надземних органах – листках і квітках, флавоноїдний склад майже однаковий, проте кількісний вміст ідентифікованих речовин більший у культивованих видів [22].

З кумаринів у первоцвіту виявлено тільки скополетин у листках та квітках, тоді як у трьох примул – п. зубчастої, п. Юлії та п. скельної виявлено кумарин, скополетин та умбеліферон. Кількість скополетину і в первоцвіту весняного, і в примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної майже однаковий [148].

3.6.3 Визначення дубильних речовин. Дубильні речовини широко використовують медичній практиці. Вони виявляють в'язучу, протизапальну й антимікробну дію. Препарати, що містять дубильні речовини, застосовують внутрішньо при гострих і хронічних колітах, ентеритах, гастритах, іноді як кровоспинний засіб. Широко використовують дубильні речовини при запальних процесах ротової порожнини, гортані, носа у вигляді полоскань, а також при

опіках, пролежнях, виразках у вигляді зрошувань і змащувань. Катехіни призначають як Р-вітамінні препарати [58, 70].

Позитивні якісні реакції з розчином ферум (III) амоній сульфату – з’являлось чорно-зелене забарвлення, свідчать про наявність конденсованих дубильних речовин; із 1 % розчином желатину – з’являється каламуть, яка зникає при додаванні надлишку желатини; та з солями алкалоїдів спостерігали утворення аморфного осаду, свідчать про наявність дубильних речовин у досліджуваній сировині [53].

Кількісний вміст танінів та поліфенолів встановлювали спектрофотометричним методом за ДФУ 2.0 [13]. Результати дослідження представлено у табл. 3.19-3.20.

Таблиця 3.19

Вміст танінів у сировині примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної у перерахунку на пірогалол (вірогідність похибки $P < 0,05$)

Сировина	Кількісний вміст, % в перерахунку на абсолютно суху сировину ($m=5$)
Примули зубчастої листки	$2,35 \pm 0,01$
Примули зубчастої квітки	$1,80 \pm 0,01$
Примули зубчастої кореневища з коренями	$1,64 \pm 0,01$
Примули Юлії листки	$1,61 \pm 0,01$
Примули Юлії квітки	$1,46 \pm 0,01$
Примули Юлії кореневища з коренями	$1,11 \pm 0,02$
Примули скельної листки	$2,38 \pm 0,01$
Примули скельної квітки	$2,38 \pm 0,01$
Примули скельної кореневища з коренями	$1,64 \pm 0,01$

Згідно результатів проведених досліджень можна відзначити, що найбільший вміст танінів містить примула скельна – листки та квітки (по 2,38

%), а також п. зубчаста – листки (2,35 %). У примули Юлії вміст танінів домінує у листках та становить 1,61 %.

Таблиця 3.20

Вміст суми поліфенолів у сировині примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної у перерахунку на пірогалол (вірогідність похибки $P < 0,05$)

Сировина	Кількісний вміст, % в перерахунку на абсолютно суху сировину (n=5)
Примули зубчастої листки	8,01 ± 0,01
Примули зубчастої квітки	7,94 ± 0,01
Примули зубчастої кореневища з коренями	7,32 ± 0,01
Примули Юлії листки	7,43 ± 0,01
Примули Юлії квітки	7,21 ± 0,01
Примули Юлії кореневища з коренями	5,24 ± 0,04
Примули скельної листки	8,95 ± 0,01
Примули скельної квітки	8,86 ± 0,01
Примули скельної кореневища з коренями	7,35 ± 0,01

Результати досліджень суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол показали, що серед трьох досліджуваних об'єктів найвищі результати у примули скельної, де у листках мітиться 8,95 %, у квітках – 8,86 % та у кореневищах з коренями – 7,35 % поліфенолів. У примули зубчастої та п. Юлії поліфеноли домінують у листках – 8,01 % та 7,43 % відповідно.

Якісний склад і кількісний вміст індивідуальних компонентів дубильних речовини у листках та квітках примул зубчастої, п. Юлії та п. скельної визначали методом ВЕРХ (п. 2.3.9), хроматограми ВЕРХ-аналізу наведено на рис. 3.55-3.60 і табл. 3.21.

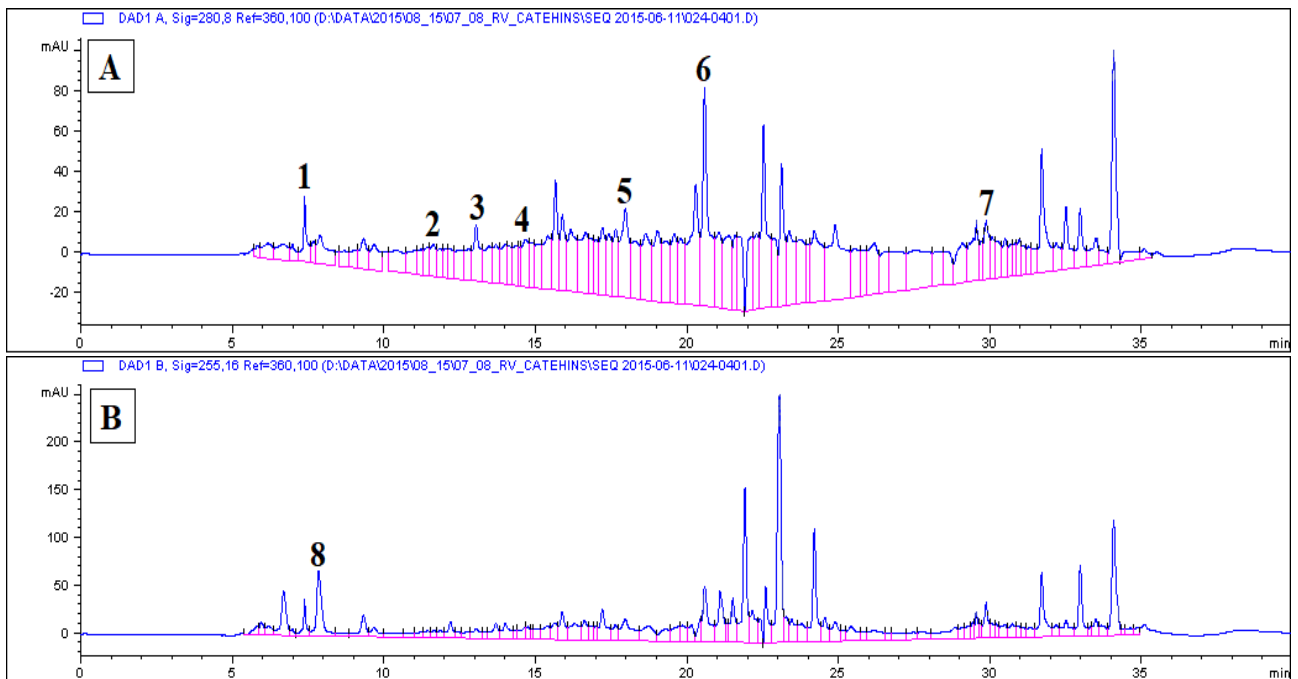


Рис. 3.55. ВЕРХ-хроматограми компонентів дубильних речовин ПЗ листків *A*) - $\lambda = 280$ нм: 1 – кислота галова, 2 – галокатехін, 3 – катехін, 4 – епігалокатехін, 5 – епікатехін, 6 – катехін галат, 7 – епікатехін галат; *B*) – $\lambda = 255$ нм: 8 – кислота елагова

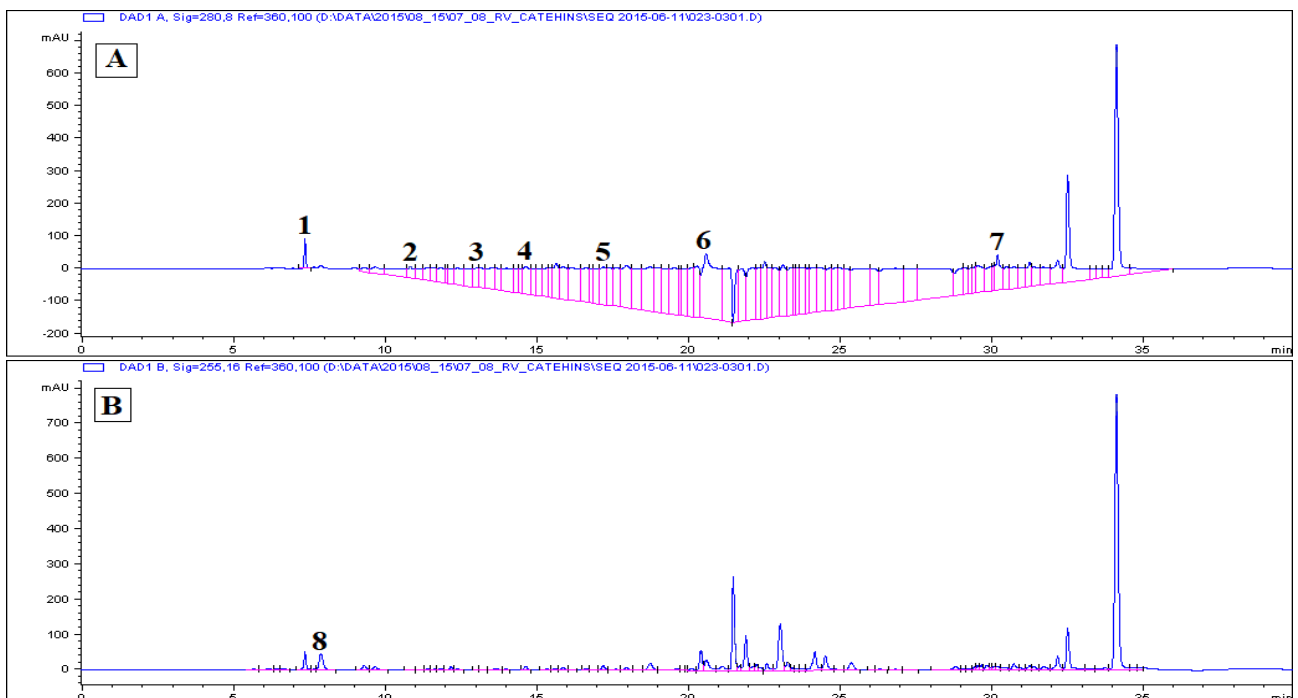


Рис. 3.56. ВЕРХ-хроматограми компонентів дубильних речовин ПЗ квіток *A*) - $\lambda = 280$ нм: 1 – кислота галова, 2 – галокатехін, 3 – катехін, 4 – епігалокатехін, 5 – епікатехін, 6 – катехін галат, 7 – епікатехін галат; *B*) – $\lambda = 255$ нм: 8 – кислота елагова

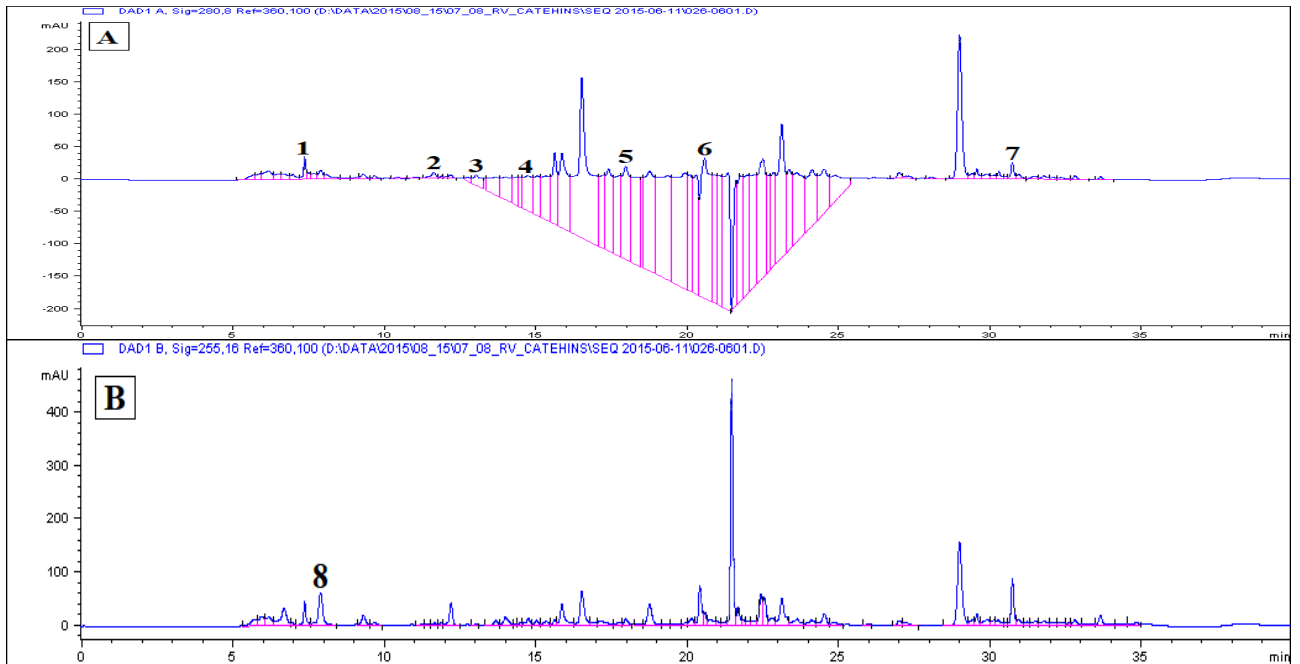


Рис. 3.57. ВЕРХ-хроматограми компонентів дубильних речовин ПЮ листків *A)* - $\lambda = 280$ нм: 1 – кислота галова, 2 – галокатехін, 3 – катехін, 4 – епігалокатехін, 5 – епікатехін, 6 – катехін галат, 7 – епікатехін галат; *B)* – $\lambda = 255$ нм: 8 – кислота елагова

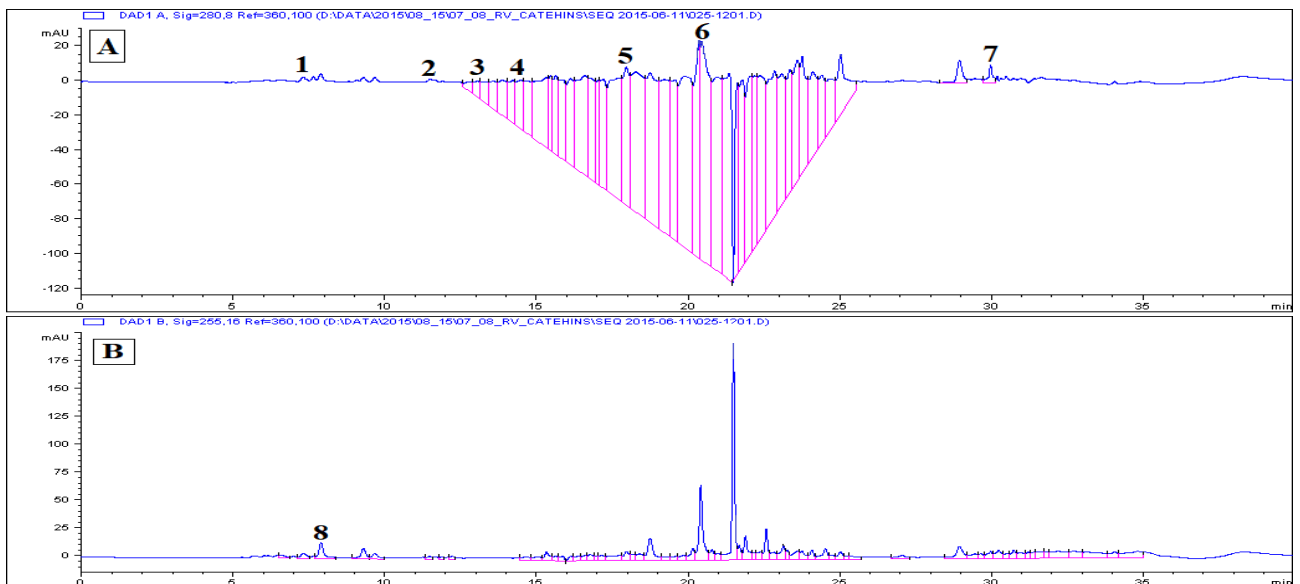


Рис. 3.58. ВЕРХ-хроматограми компонентів дубильних речовин ПЮ квіток *A)* - $\lambda = 280$ нм: 1 – кислота галова, 2 – галокатехін, 3 – катехін, 4 – епігалокатехін, 5 – епікатехін, 6 – катехін галат, 7 – епікатехін галат; *B)* – $\lambda = 255$ нм: 8 – кислота елагова

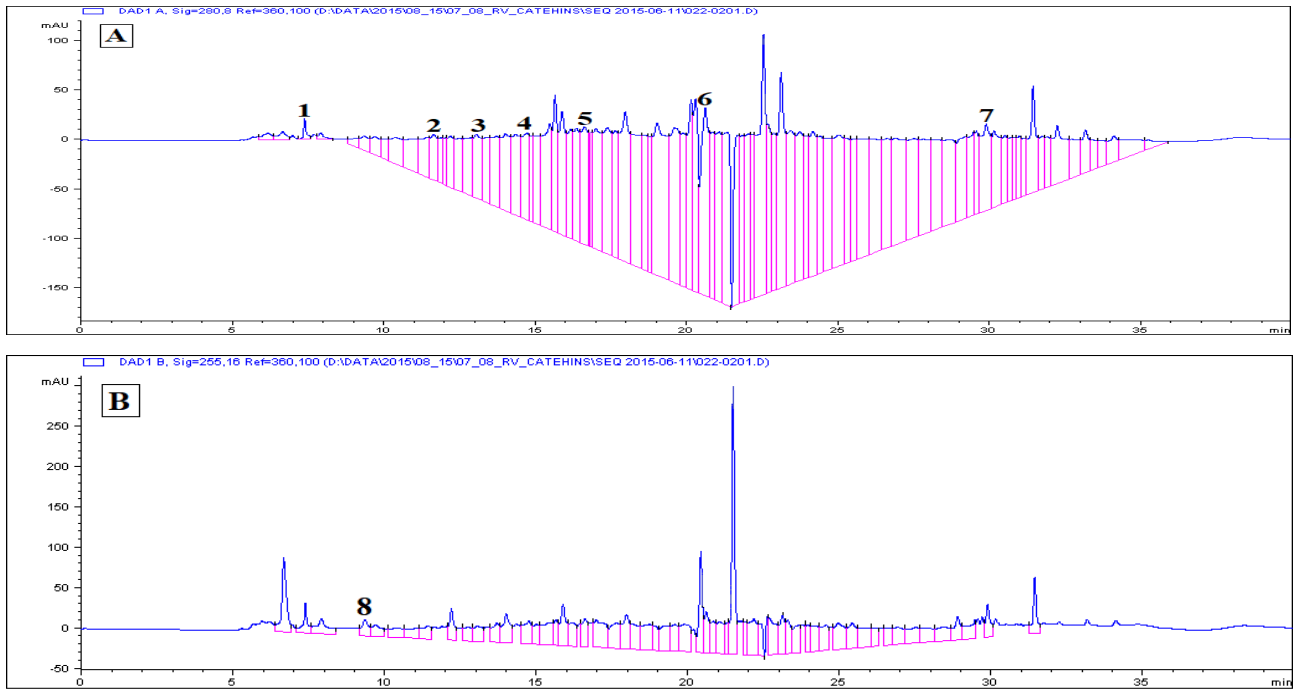


Рис. 3.59. ВЕРХ-хроматограми компонентів дубильних речовин ПС листків *A)* - $\lambda = 280$ нм: 1 – кислота галова, 2 – галокатехін, 3 – катехін, 4 – епігалокатехін, 5 – епікатехін, 6 – катехін галат, 7 – епікатехін галат; *B)* - $\lambda = 255$ нм: 8 – кислота елагова

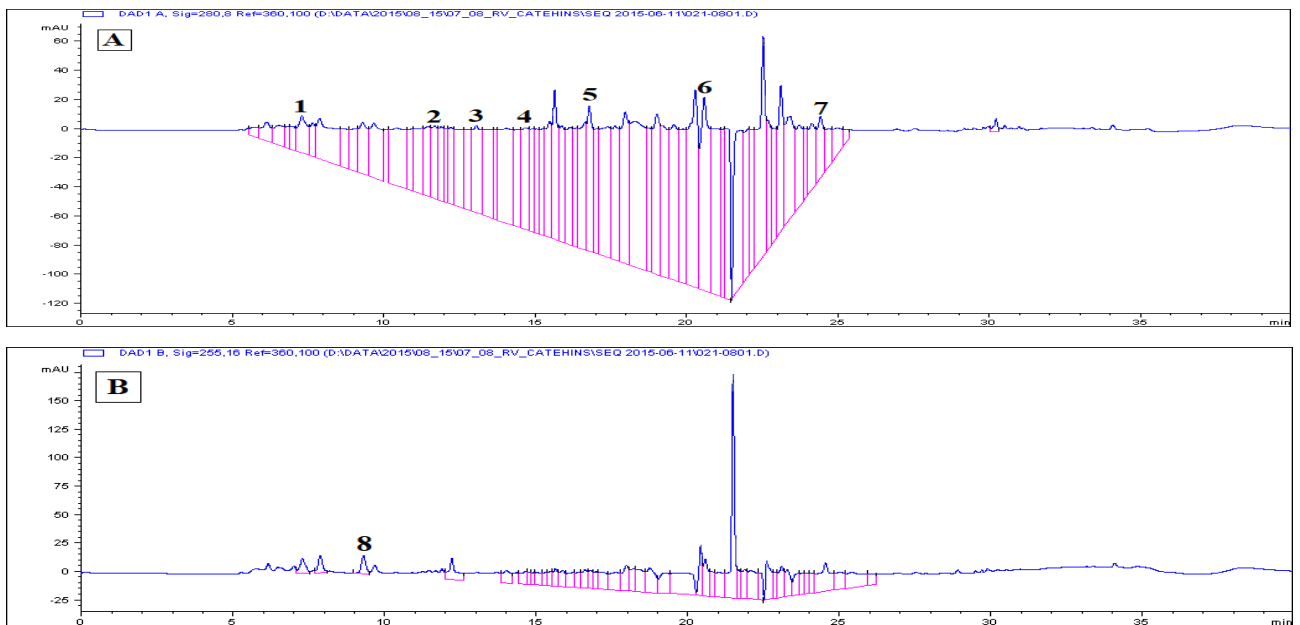


Рис. 3.60. ВЕРХ - хроматограми компонентів дубильних речовин ПС квіток *A)* - $\lambda = 280$ нм: 1 – кислота галова, 2 – галокатехін, 3 – катехін, 4 – епігалокатехін, 5 – епікатехін, 6 – катехін галат, 7 – епікатехін галат; *B)* - $\lambda = 255$ нм: 8 – кислота елагова

Вміст індивідуальних компонентів дубильних речовин у листках та квітках примул зубчастої, п. Юлії та п. скельної (вірогідність похибки $P < 0,05$)

Назва сполуки	Кількісний вміст, %					
	<i>Primula denticulata</i> Smith		<i>Primula juliae</i> Kusn.		<i>Primula saxatilis</i> Kom.	
	листки	квітки	листки	квітки	листки	квітки
Кислота галова	0,04	0,02	0,06	0,01	0,02	0,03
Епігалокатехін	1,25	0,35	0,47	0,46	0,45	3,21
Галокатехін	0,46	0,28	0,92	0,22	0,27	1,03
Катехін	0,08	0,04	0,09	0,02	0,04	0,35
Епікатехін	0,35	0,1	0,17	0,38	0,17	0,39
Епікатехін галат	0,11	0,07	0,12	0,03	0,17	0,04
Кислота елагова	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01
Катехін галат	0,08	0,04	0,03	0,1	0,03	0,02

Методом ВЕРХ встановлено якісний склад і кількісний вміст індивідуальних компонентів дубильних речовин у листках та квітках примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної. В усіх об'єктах визначили наявність 8 сполук: галової та елагової кислот, галокатехіну, епікатехіну, катехіну, епігалокатехіну, катехін галату, епікатехін галату (табл. 3.21).

Спостерігається тенденція накопичення представників конденсованої групи дубильних речовин: галокатехіну, епігалокатехіну, катехіну, епікатехіну, катехін галату, епікатехін галату. Встановлено, що у найбільших кількостях примули зубчастої листки містять епігалокатехін і галокатехін – 1,25 % і 0,46 % відповідно, квітки – епігалокатехін 0,35 %; примули Юлії листки – галокатехін 0,92 %, квітки – епігалокатехін та епікатехін 0,46 % і 0,38 % відповідно;

примули скельної листки – епігалокатехін 0,45 %, квітки – з епігалокатехін і галокатехін – 3,21 % і 1,03 % відповідно [53].

Порівнюючи якісний склад дубильних речовин трьох досліджуваних об'єктів та дослідженого представника родини *Primula L.* – первоцвіту весняного можна зробити висновок, про більш різноманітніший склад у примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної, оскільки у трьох досліджуваних об'єктів виявлено по 8 однакових компонентів дубильних речовин. Тоді як у листках первоцвіту встановлено тільки 6 компонентів (галокатехін, епігалокатехін, катехін, епікатехін, катехін галат та епікатехін галат), а у квітках – тільки 3 (катехін, епікатехін та катехін галат). Тобто в сировині первоцвіту весняного не виявлено галову та елагову кислоти, яка зустрічається в сировині усіх культивованих зразків. Окрім того, кількісний вміст усіх спільно ідентифікованих компонентів дубильних речовин у трьох культивованих видів примул є вищим [148].

3.6.4 Визначення антоціанів. Визначення кількісного вмісту антоціанів проводили методом спектрофотометричним згідно методики, наведеної в ДФУ 2.0 у монографії «Чорниці плоди свіжі» [12].

Результати дослідження наведено у таблиці 3.22.

Таблиця 3.22

Вміст антоціанів у квітках примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної у перерахунку на ціанідин-3-О-глюкозид хлориду (вірогідність похибки $P < 0,05$)

Сировина	Кількісний вміст, % в перерахунку на абсолютно суху сировину (m=5)
Примули зубчастої квітки	1,08 ±0,03
Примули Юлії квітки	1,12 ±0,03
Примули скельної квітки	0,95 ±0,02

Результати досліджень показали, що квітки трьох досліджуваних об'єктів містять досить високий вміст антоціанів. Зокрема, примули Юлії квітки містять їх найбільшу кількість – 1,12 %, п. зубчастої – 1,08 %, п. скельної – 0,95 %.

З джерел літератури відомо, що антоціани мають виражені антиоксидантні властивості, нейтралізують дію вільних радикалів, пригнічують ріст пухлин [143, 160], проявляють бактерицидну дію, мають імуностимулюючу активність, тому їх використовуються в комплексному лікуванні простудних захворювань. Відома властивість антоціанів зміцнювати стінки капілярів і проявляти протинабрякову дію [51]. Антоціани підтримують нормальний стан кров'яного тиску і судин, попереджаючи внутрішні крововиливи. Утворюючи комплекси з радіоактивними елементами, антоціани сприяють швидкому виведенню їх з організму. Крім того, ці пігменти здатні поліпшувати зір [29]. Встановлено, що антоціани накопичуються в тканинах сітківки, зміцнюють її судини, зменшують ламкість капілярів, наприклад, при діабетичної ретинопатії. Антоціани покращують будова волокон і клітин сполучної тканини, відновлюють відтік внутрішньоочної рідини і тиск в очному яблуці, що використовують при лікуванні глаукоми [51].

3.7 Визначення сапонінів

Тритерпенові сапоніни підсилюють секреторну діяльність залоз, сприяють всмоктуванню інших речовин, зумовлюють відхаркувальну активність; деякі з них мають сечогінну, проносну, антиалергічну та противірусну дії. Сапоніни тонізують діяльність ЦНС, виявляють гіпотензивний, протизапальний, антимікробний, протиалергічний і кортикостероїдний ефекти. Встановлено, що тритерпенові сапоніни із високим гемолітичним індексом виявляють виражений антиатеросклеротичний ефект [100].

У результаті проведених досліджень спостерігали появу стійкої піни у пробірках з витяжками з підземних органів і листків примули зубчастої, п. Юлії та

п. скельної. Випадання осаду при взаємодії із загальноосадовими реактивами також підтверджувало наявність сапонінів у досліджуваних об'єктах [105].

При визначенні хімічної природи сапонінів результати досліджень показали, що досліджувані об'єкти містять сапоніни тритерпенового ряду [5].

Кількісне визначення сапонінів проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на есцин, згідно методики, яка наведена в п. 2.2.11 даної роботи.

Кількісний вміст сапонінів листках та кореневищах з коренями примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної наведено у табл. 3.23.

За результатами досліджень встановлено, що найбільшу кількість сапонінів містять примули зубчастої кореневища з коренями, дещо меншу п. скельної та п. Юлії – 1,79%, 1,54% та 0,98 відповідно [5].

У порівнянні з первоцвітом весняним результати трьох досліджуваних об'єктів є меншими, оскільки у первоцвіту листках встановлено 1,28%, а у кореневищ з коренями 3,65%, що майже в 3 рази більше [65].

Таблиця 3.23

Вміст сапонінів у листках та кореневищах з коренями примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної у перерахунку на есцин (вірогідність похибки $P < 0,05$)

Сировина	Кількісний вміст, % в перерахунку на абсолютно суху сировину (m=5)
Примули зубчастої листки	0,61 ±0,03
Примули зубчастої кореневища з коренями	1,79 ±0,06
Примули Юлії листки	0,32 ±0,02
Примули Юлії кореневища з коренями	0,98 ±0,04
Примули скельної листки	0,45 ±0,02
Примули скельної кореневища з коренями	1,54 ±0,07

ВИСНОВКИ

1. Уперше проведено комплексне фітохімічне дослідження трьох культивованих видів роду *Primula* – примули зубчастої (*Primula denticulate* Smith), примули Юлії (*Primula juliae* Kusun.), примули скельної (*Primula saxatilis* Kom.).

2. У примул зубчастої, п. Юлії та п. скельної листках, квітках та кореневищах з коренями визначено кількісний речовин фенольної природи: суми фенольних сполук (ПЗ листки – $(5,20 \pm 0,03 \%)$, квітки – $(4,98 \pm 0,02 \%)$, кореневища з коренями – $(1,11 \pm 0,02 \%)$; ПЮ листки – $(5,06 \pm 0,02 \%)$, квітки – $(4,90 \pm 0,02 \%)$, кореневища з коренями – $(1,46 \pm 0,01 \%)$; ПС листки – $(5,47 \pm 0,03 \%)$, квітки – $(6,24 \pm 0,02 \%)$, кореневища з коренями – $(0,87 \pm 0,01 \%)$), суми гідроксикоричних кислот (ПЗ листки – $(4,20 \pm 0,02 \%)$, квітки – $(3,74 \pm 0,01 \%)$, кореневища з коренями – $(2,01 \pm 0,01 \%)$; ПЮ листки – $(3,96 \pm 0,02 \%)$, квітки – $(4,63 \pm 0,02 \%)$, кореневища з коренями – $(1,49 \pm 0,01 \%)$; ПС листки – $(6,24 \pm 0,03 \%)$, квітки – $(4,98 \pm 0,02 \%)$, кореневища з коренями – $(2,40 \pm 0,01 \%)$), суми флавоноїдів (ПЗ листки – $(4,64 \pm 0,02 \%)$, квітки – $(4,32 \pm 0,01 \%)$, кореневища з коренями – $(0,08 \pm 0,01 \%)$; ПЮ листки – $(3,91 \pm 0,04 \%)$, квітки – $(3,85 \pm 0,02 \%)$, кореневища з коренями – $(1,09 \pm 0,01 \%)$; ПС листки – $(2,19 \pm 0,01 \%)$, квітки – $(3,06 \pm 0,02 \%)$, кореневища з коренями – $(0,29 \pm 0,01 \%)$), суми танінів (ПЗ листки – $(2,35 \pm 0,01 \%)$, квітки – $(1,80 \pm 0,01 \%)$, кореневища з коренями – $(1,64 \pm 0,01 \%)$; ПЮ листки – $(1,61 \pm 0,01 \%)$, квітки – $(1,46 \pm 0,01 \%)$, кореневища з коренями – $(1,11 \pm 0,02 \%)$; ПС листки – $(2,38 \pm 0,01 \%)$, квітки – $(2,38 \pm 0,01 \%)$, кореневища з коренями – $(1,64 \pm 0,01 \%)$), суми поліфенолів (ПЗ листки – $(8,01 \pm 0,01 \%)$, квітки – $(7,94 \pm 0,01 \%)$, кореневища з коренями – $(7,32 \pm 0,01 \%)$; ПЮ листки – $(7,43 \pm 0,01 \%)$, квітки – $(7,21 \pm 0,01 \%)$, кореневища з коренями – $(5,24 \pm 0,04 \%)$; ПС листки – $(8,95 \pm 0,01 \%)$, квітки – $(8,86 \pm 0,01 \%)$, кореневища з коренями – $(7,35 \pm 0,01 \%)$).

3. Методом ВЕРХ у сировині трьох досліджуваних об'єктів визначено індивідуальні фенольні сполуки: у листках та квітках – компоненти дубильних речовин (епігалокатехін, галокатехін, катехін, епікатехін, епікатехін галат, катехін галат) та вільні кислоти галову і елагову; у надземних та підземних органах індивідуальні гідроксикоричні кислоти (гідроксифенілоцтову, хлорогенову,

розмаринову, кофейну, *n*-кумарову, ферулову, сирінгову, синапову, цинамову та хінну) та флавоноїди (кверцетин, ізокверцитрин, лютеолін, апігенін, гіперозид, рутин, кемпферол) і кумарини (кумарин, скополетин, умбеліферон).

Серед компонентів дубильних речовин у найбільших кількостях в примули зубчастої листках містяться епігалокатехін і галокатехін – 1,25 % і 0,46 % відповідно, у квітках – епігалокатехін (0,35 %); у п. Юлії листках – галокатехін (0,92 %), у квітках – епігалокатехін та епікатехін (0,46 % і 0,38 %) відповідно; у п. скельної листках – епігалокатехін (0,45 %), у квітках – епігалокатехін і галокатехін (3,21 % і 1,03 %) відповідно.

Встановлено, що рутин міститься у всіх досліджуваних зразках. У найбільших кількостях примули зубчастої листки містять рутину і ізокверцитрину – 0,39 % і 0,44 % відповідно; п. Юлії – апігеніну (0,32 %); п. зубчастої квітки – рутину, ізокверцитрину і апігеніну (0,42 %, 0,61 і 0,32 %) відповідно; п. Юлії – ізокверцитрину і апігеніну (0,33 % і 0,37 %) відповідно. Примули скельної листки та квітки в найбільшій кількості містять апігенін – 0,17% та 0,25% відповідно. Примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної кореневище з коренями – рутин (0,016 %, 0,05 % та 0,014 %) відповідно.

Встановлено, що з гідроксикоричних кислот у всіх зразках виявлено *n*-кумарову кислоту, найбільша кількість якої міститься у примули скельної листках – 0,16 %. Примули зубчастої листки в найбільшій кількості містять *n*-кумарову кислоту – 0,07%, квітки – розмаринову (0,41%), кореневище з коренями – хлорогенову (0,005 %); п. Юлії листки – *n*-кумарову кислоту (0,01 %), квітки та кореневище з коренями – хлорогенову (0,28 % і 0,004 %) відповідно; п. скельної листки – кофейну кислоту (0,27 %), квітки – хлорогенову (0,19 %), кореневище з коренями – ферулову (0,006 %).

4. Визначено кількісний вміст суми вільних органічних кислот (у надземних та підземних органах) та аскорбінової (у листках та квітках) примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної. Вміст суми вільних органічних кислот у перерахунку на кислоту яблучну становив: у ПЗ листках – (1,97±0,01 %), квітках – (1,68±0,01 %), кореневищах з коренями – (1,33±0,01 %); у ПЮ листках – (1,48±0,01 %), квітках –

($1,33 \pm 0,01$ %), кореневищах з коренями – ($1,01 \pm 0,01$ %); у ПС листках – ($2,01 \pm 0,01$ %), квітках – ($1,75 \pm 0,01$ %), кореневищах з коренями – ($1,34 \pm 0,01$ %)); кислоти аскорбінової – (ПЗ листки – ($1,19 \pm 0,03$ %), квітки – ($0,72 \pm 0,03$ %), кореневища з коренями – ($0,53 \pm 0,02$ %)); ПЮ листки – ($1,46 \pm 0,04$ %), квітки – ($1,25 \pm 0,05$ %), кореневища з коренями – ($0,44 \pm 0,02$ %)); ПС листки – ($1,55 \pm 0,06$ %), квітки – ($1,09 \pm 0,04$ %), кореневища з коренями – ($0,51 \pm 0,01$ %). Спільною органічною кислотою для сировини трьох досліджуваних об'єктів є яблучна кислота, та щавлева, окрім квіток примули Юлії.

5. Методом ГХ/МС встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст кислот жирних у сировині примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної. Примули зубчастої листки містять 9 жирних кислот, квітки – 13, кореневища з коренями – 10; п. Юлії листки містять 7 жирних кислот, квітки та кореневища з коренями по 10; надземні та підземні органи п. скельної містять по 11 жирних кислот. У примули зубчастої листках 68,78 % від усієї суми жирних кислот складають ненасичені жирні кислоти, 31,22 % – насичені; у квітках 57,07 % – ненасичені, 49,93 % насичені жирні кислоти; у кореневищах з коренями 70,16 % – ненасичені і 29,84 % – насичені жирні кислоти; у п. Юлії листках 54,44 % від усієї суми становлять ненасичені жирні кислоти, а 47,56 % – насичені; у квітках 55,29 % ненасичені, а 44,71 % – насичені; у кореневищах з коренями 55,18 % ненасичені та 44,82 % насичені жирні кислоти; у п. скельної листках 62,46 % ненасичені та 37,54 % насичені жирні кислоти; у квітках 51,27 % та 48,73 % відповідно; у кореневищі з коренями 62,79 % – ненасичені та 37,21 % – насичені жирні кислоти. У сировині усіх досліджуваних об'єктів домінують ненасичені жирні кислоти.

6. Методом ГХ/МС встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст моноцукрів та сахарози. У примули зубчастої листках виявлено 6 цукрів, у квітках – 5; у п. Юлії листках ідентифіковано 7 цукрів, у квітках – 5; у п. скельної листках – 5 цукрів, у квітках – 6. Спільними для сировини трьох досліджуваних об'єктів є зв'язані D-глюкоза і D-галактоза. Домінуючою у всіх об'єктах є зв'язана D-глюкоза, найбільша кількість якої міститься у примули зубчастої листках – 1101,52 мг/кг та п. Юлії квітках – 808,91 мг/кг.

7. Методом ВЕРХ встановлено амінокислотний склад трьох культивованих видів примул листків та кореневищ з коренями та виявлено по 16 амінокислот, з них 7 незамінних та 3 напівнезамінних.

Вміст незамінних амінокислот як зв'язаних та і вільних переважає у підземних органах усіх досліджуваних об'єктів. У листках незамінні амінокислоти домінують у зв'язаному стані у примули зубчастої та п. скельної, у вільному – у п. Юлії. Серед замінних амінокислот у примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної листках переважає глютамінова – 19,61 мкг/мг, 17,67 мкг/мг та 15,39 мкг/мг відповідно, а серед незамінних – лейцин: 10,25 мкг/мг, 9,51 мкг/мг та 8,31 мкг/мг. У примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної кореневищах з коренями кількісно домінує аргінін 14,40 мкг/мг, 2,27 мкг/мг та 10,41 мкг/мг відповідно, що являється напівнезамінною амінокислотою.

8. Методом спектрофотометрії встановлено наявність сапонінів тритерпенової природи та визначено їх кількісний вміст, який становив у примули зубчастої листках $(0,61 \pm 0,03)$ %, у кореневищах з коренями – $(1,79 \pm 0,06)$ %; у п. Юлії листках – $(0,32 \pm 0,02)$ %, у кореневищах з коренями – $(0,98 \pm 0,04)$ %; у п. скельної листках – $(0,45 \pm 0,02)$ %, у кореневищах з коренями – $(1,54 \pm 0,07)$ %.

9. Спектрофотометричним методом встановлено наявність та визначено кількісний вміст антоціанів у квітках *Primula denticulate* Smith, *Primula juliae* Kuhn., *Primula saxatilis* Kom. Примули Юлії квітки містять 1,12 % антоціанів, п. зубчастої – 1,08 %, п. скельної – 0,95 %.

10. Проведено порівняльний аналіз результатів фітохімічного дослідження трьох культивованих видів роду *Primula* L. – примули зубчастої, п. Юлії, п. скельної та його дикорослого виду первоцвіту весняного (*Primula veris* L.). Встановлено, що ідентифіковані групи БАР первоцвіту весняного, примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної є однаковими, проте компонентний склад груп БАР та їх кількісний вміст у сировині досліджуваних об'єктів та об'єкту порівняння суттєво відрізняються.

За матеріалами розділу опубліковано роботи [5, 20, 37, 53, 54, 55, 138, 155].

РОЗДІЛ 4

МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНИЙ АНАЛІЗ НАДЗЕМНИХ ТА ПІДЗЕМНИХ
ОРГАНІВ ПРИМУЛ ЗУБЧАСТОЇ, П. ЮЛІЇ ТА П. СКЕЛЬНОЇ4.1 Морфолого-анатомічний аналіз надземних та підземних органів
примули зубчастої

4.1.1 Макроскопічний аналіз надземних органів примули зубчастої (*Primula denticulate* Smith). Багаторічна трав'яниста рослина (рис. 4.1). Листя безчерешкове, сягають 20-40 см у довжину, зібране у густу прикореневу розетку. На початку розвитку згорнуті спіраллю. Листкова пластинка світло-зелена, соковита, м'яка від опущення, горбкувато-зморшкувата. Головна і бічні паралельні жилки товсті, соковиті.



Рис. 4.1. Зовнішній вигляд примули зубчастої (*Primula denticulate* Smith)

За формою пластинка широк-овальна, видовжена, по краю дрібно зазубрена, при основі поступово звужена, представлена широкою білою головною жилкою з хвилястими по краю крильцями. Квітконос товстий, спочатку цвітіння довжиною 10-15 см, вкритий на самій верхівці жовтуватими війками, а у фазі плодоношення до 40-50 см, трубчастий. Квітки на коротких

квітконіжках, зібрані у щільний кулястий зонтик діаметром 4-10 см. Віночок фіолетовий, блакитний, бузковий, пурпуровий, рожевий або білий. Відгин колесоподібний діаметром біля 1,5 см. Трубка вузька, довша за чашечку.

4.1.2 Макроскопічний аналіз підземних органів примули зубчастої (*Primula denticulate* Smith). Підземні органи (рис. 4.2) – укорочене сірувато-коричнєве кореневище з численними придатковими і бічними коренями різного забарвлення, довжини, діаметра і щільності в залежності від їх віку. Зовнішні корені втринної гоморизної системи більш потужні, а центральні – молоді, м'які, слабо розгалужені.



Рис. 4.2. Макроскопія підземних органів примули дрібнозубчастої

4.1.3 Мікроскопічний аналіз надземних органів примули зубчастої (*Primula denticulate* Smith). *Листок*. Листкова пластинка опушена. Базисні клітини нижньої епідерми (рис. 4.3) трохи видовжені по осі листка, бічні стінки тонкі, пористі, дрібнозвивисті, зовнішні оболонки з ніжними складочками кутикули. Серед звичайних клітин часті спеціалізовані клітини, що вирізняються наявністю оранжевого секрету. Продихи великі, чисельні, округлі, аномоцитного типу, оточених 5-6 епідермальними клітинами. Над жилками (рис. 4.3) клітини епідерми вузькі, більш видовжені, майже прямокутні. Часті трихомональні вирости епідермальних клітин двох видів. Дрібні залозисті волоски розміщені рівномірно, складаються з коротенької 1-2-клітинної ніжки і маленької одноклітинної голівки з темним вмістом. Також по всій поверхні, а найяскравіше над жилками та по краю пластинки, знаходяться крупні, довгі, живі, 3-12-клітинні однорядні волоски. Одна або декілька базальних клітин великі, куполоподібні.

Серединні клітини-членики широкі, їх оболонки тонкі, зазвичай легко спадаються, перекручуються. Верхівкові клітини утворюють маленьку кулясту безбарвну або темну голівку та більш чи менш виразну 1-2-клітинну вузьку шийку [56].

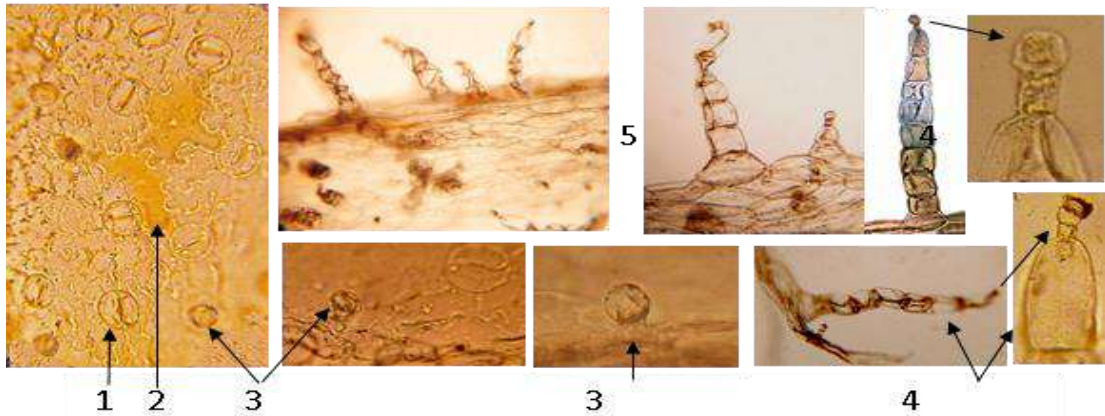


Рис. 4.3. Нижня епідерма листя: 1 – продири епідерми між жилок, 2 – клітини з секретом, 3 – залозисті дрібні волоски, 4 – багатоклітинні довгі головчасті волоски, 5 – епідерма над жилками

Верхня епідерма (рис. 4.4) без продихів, з меншою щільністю волосків. Базисні клітини крупніші, дещо видовжені, їх бічні стінки злегка звивисті або прямі, з частими порами, що чергуються з чоткоподібними стовщеннями. Зубці по краю пластинки з секретуючою епідермою, густо вкриті багатоклітинними довгими волосками з піднесеною розеткою тонкостінних клітин. Часто декілька зближених волосків утворюють пучок. Жилки супроводжуються членистими молочниками (рис. 4.4) з яскраво-оранжевим вмістом.

Листкова пластинка дорзовентральна, гіпостоматична. Головна жилка соковита, значно видається з нижньої сторони. У середній її частині проходить центральний провідний пучок, а на переході до листкової пластинки – 2 або 4 маленьких бічних пучків. Навколо пучків і серед основної паренхіми часті секреторні ідіобласти овально- чи округло-лопатевої форми з темним вмістом. Також зустрічаються молочники з більш світлим секретом. У виступі жилки субепідермальна коленхіма складає 1-3 шари. Волоски по жилці часті, типові для усіх надземних частин (рис. 4.5).

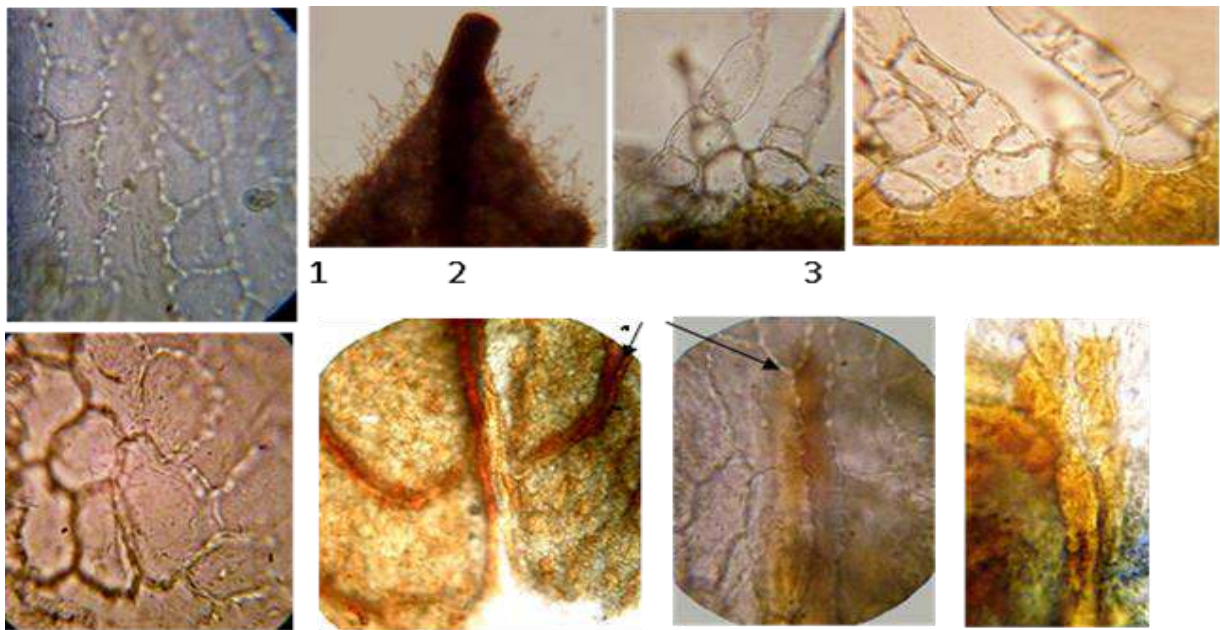


Рис. 4.4. Верхня епідерма і зубчик листа: 1 – епідермальні клітини, 2 – зубчик з опушенням, 3 – багатоклітинні волоски по краю пластинки, 4 – молочники вздовж жилок

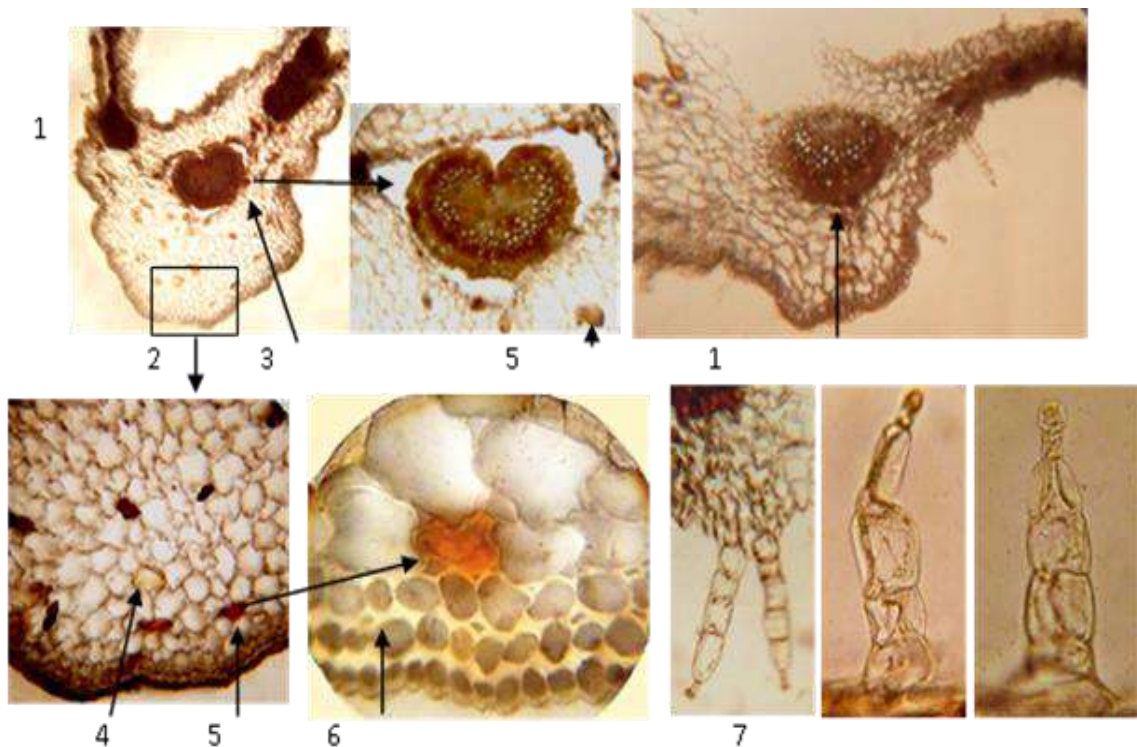


Рис. 4.5. Фрагменти поперечних зрізів листкової пластинки і головної жилки: 1 – бічні провідні пучки, 2 – основна паренхіма, 3 – центральний провідний пучок, 4 – молочники, 5 – секреторні ідіобласти, 6 – коленхіма, 7 – багатоклітинні волоски

Квітконос циліндричний, збільшується у діаметрі й втрачає серцевину у низхідному напрямку і стає трубчастим. Анатомічна будова перехідна.

Стебло у верхній частині, під суцвіттям (рис. 4.6) правильної округлої форми, виповнене серцевинною паренхімою. Вкрите епідермою з густим, майже суцільним війчастим опушенням залозистими волосками (рис. 4.6), що мають 1-2-клітинну ніжку і овальну тонкостінну голівку з жовтим вмістом. Первинна кора багат шарова, рясніє секреторними клітинами і молочниками з коричневим вмістом. Такий само секрет накопичують клітини епідерми. Кільце провідних пучків вузьке, включає щільно розміщені основні крупніші колатеральні пучки і між ними – маленькі додаткові пучки, утворені міжпучковим камбієм. В пучках флоема зливається, а ксилема утворює трикутні виступи, відділені паренхімою. Серед серцевинної паренхіми багато темних секреторних структур. Квітконіжки мають аналогічну будову. Головчасті волоски епідерми розміщені рівномірно, складаються з 1-2-клітинної тонкої ніжки і округло-овальної голівки [56].

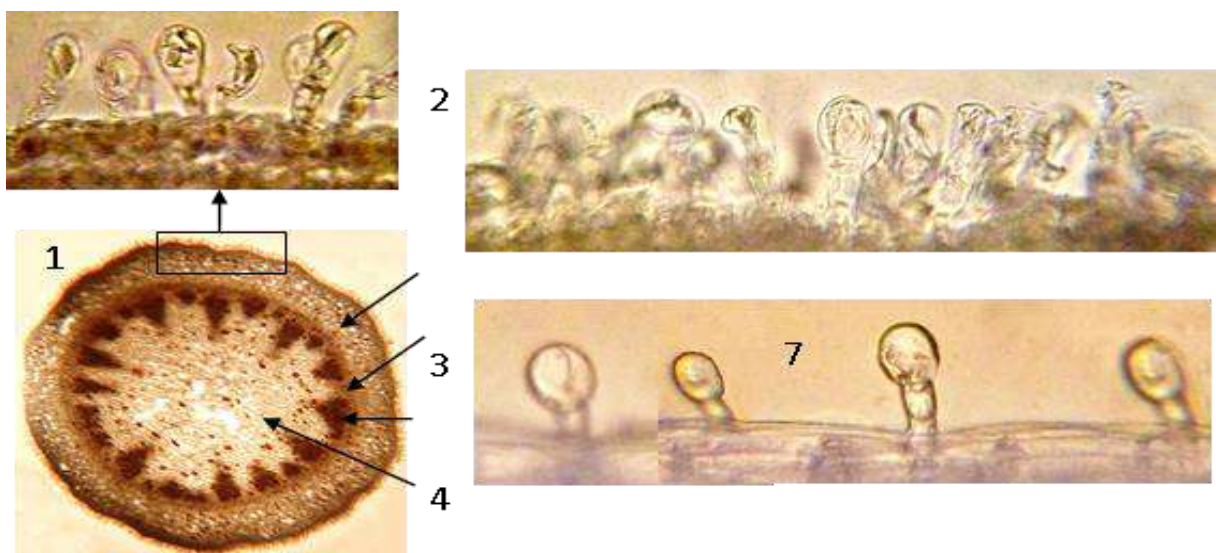


Рис. 4.6. Препарати верхівкової зони квітконоса і квітконіжки: 1 – поперечний зріз квітконоса, 2 – епідерма квітконоса з головчастими волосками, 3 – первинна кора, 4 – флоема, 5 – ксилема провідних пучків, 6 – серцевина з молочниками і секреторними ідіобластами, 7 – головчасті волоски епідерми квітконіжок

У середній і нижній зоні квітконоса стає реберчастим, епідерма (рис. 4.7) без волосків, з овальними продихами, розміщеними поздовжніми рядами.

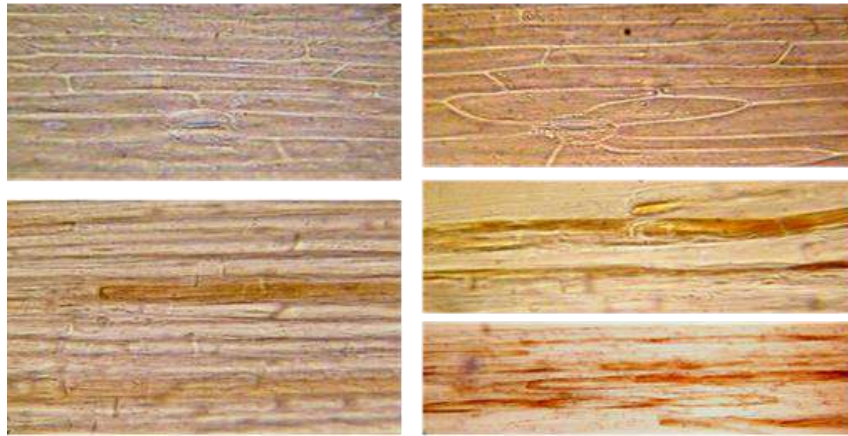


Рис. 4.7. Епідерма середньої й нижньої зони квітконоса з продихами і молочниками

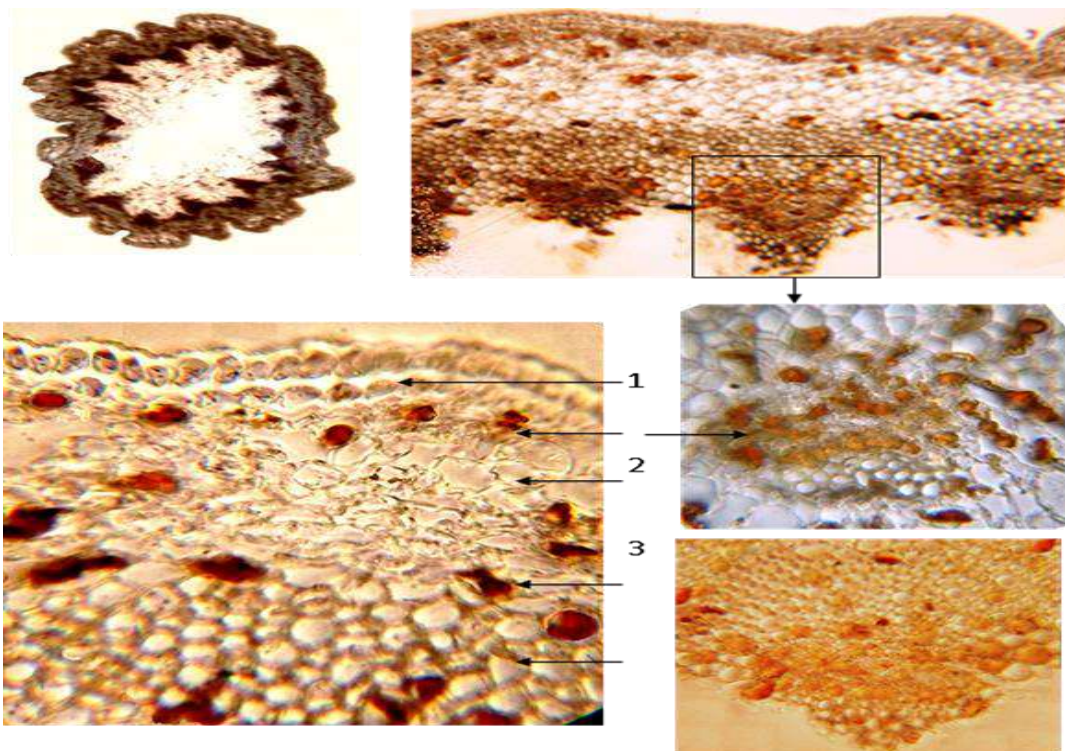


Рис. 4.8. Фрагменти поперечних зрізів середньої та низової частини квітконоса: 1 – коленхіма, 2 – молочники, 3 – кора паренхіма, 4 – склеренхіма

Клітини епідерми видовжені, вузькі, їх стики клиноподібні. Зразу ж під епідермою або одношаровою коленхімою залягають і щільно з нею з'єднані

членисті молочники з темним вмістом (рис. 4.7, 4.8). Також вони розподілені по всій первинній корі і осьовому циліндру. Зміна у будові центрального циліндра, порівняльно з верхівковою зоною, виражається у формуванні багат шарового кільця перициклічної склеренхіми, збільшенні діаметра і зменшенні ширини провідного кільця, збільшенні об'єму серцевини і її майже повної руйнації у нижній частині (рис. 4.8).

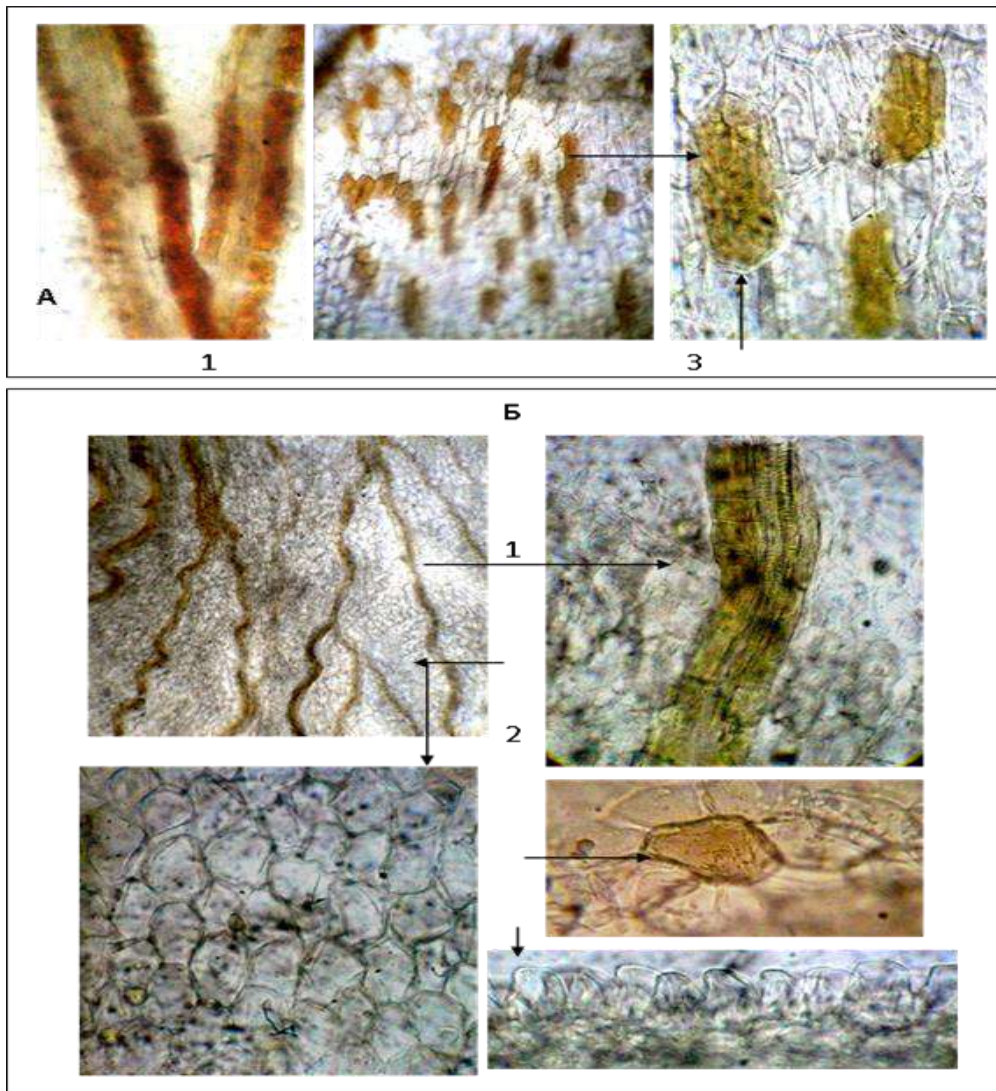


Рис. 4.9. Препарати чашечки (А) і віночка (Б): 1 – молочники, 2 – епідерма чашечки, 3 – секреторні клітини, 4 – епідерма відгину віночка

Чашечка (рис. 4.9 А) вкрита прямокутними видовженими епідермальними клітинами з дещо потовщеними оболонками. Продихи і волоски відсутні. В

мезофілі часті темні секреторні ідіобласти злегка видовжені по осі чашолистків. Жилки супроводжують членисті молочники з жовтуватим секретом.

Віночок (рис. 4.9 Б) також багатий на секреторні структури. Епідерму трубки складають прямокутно-округлі клітини з тонкою оболонкою. Епідерма відгину сосочко подібна [56].

4.1.4 Мікроскопічний аналіз підземних органів примули зубчастої (*Primula denticulate* Smith). *Кореневище* у поперечному розрізі (рис. 4.10) округло-лопатеве з великою кількістю корневих відростків. Будова кореневищ вторинна, безпучкова. У зв'язку з виходом великої кількості придаткових коренів феллоген закладається переривчастими ділянками. Місцями щільна багат шарова пробка розтріскується, відшаровується і злущується. Оболонки клітин пробки зовнішніх шарів більш стовщені, темно-коричневі або чорні.

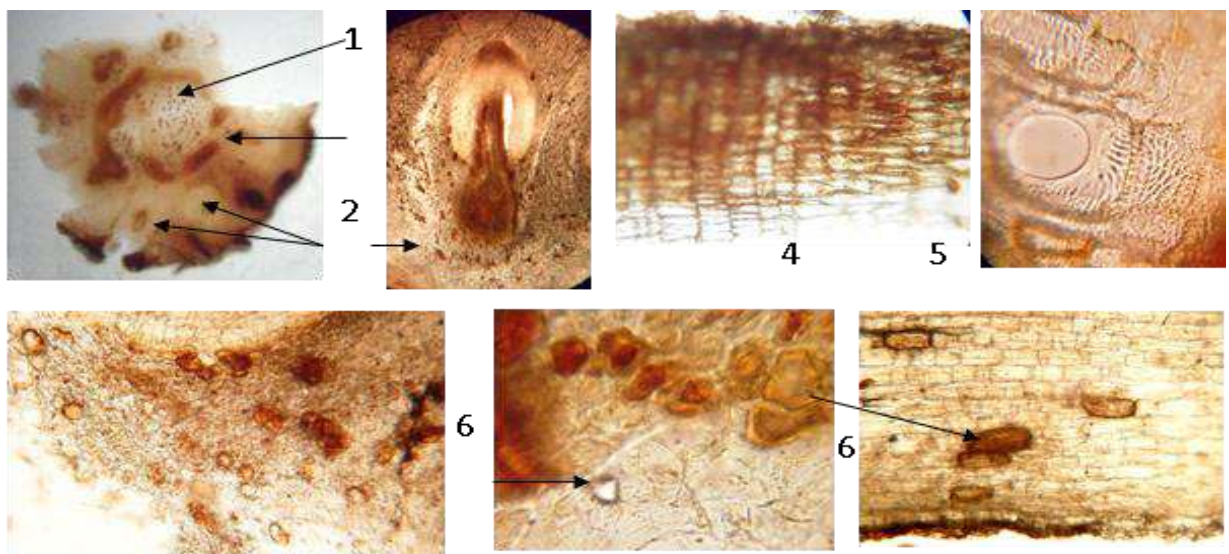


Рис. 4.10. Фрагменти зрізів кореневищ примули дрібнозубчастої: 1 – серцевина, 2 – провідна зона, 3 – відростки коренів, 4 – пробка перидерми, 5 – судини ксилеми, 6 – секреторні структури на поперечних і поздовжньому зрізах, 7 – кристали кальцій оксалату

Майже усю площу корової частини кореневища займають фрагменти коренів різної стадії розвитку, зрізані упоперек чи уздовж (рис. 4.10). Запасаюча паренхіма пригнічена, містить незначну кількість дрібних крохмальних зерен.

Провідні тканини осевого циліндру утворюють переривчасте коло зі слабо диференційованою, невеликою за обсягом флоемою. Судини ксилеми (рис. 4.10) пористі, з короткими члениками і прямими перфораціями. Серед паренхіми кори, серцевини, у провідній частині центрального циліндра, а також навколо і всередині корневих зародків рясніють округлі пігментовані клітини, їх групи або великі скупчення. Крупніші ідіобласти мають стовщену коричневу стінку і містять яскраво-рудий, світло-коричневий і майже червоний секрет. Поздовжні зрізи свідчать, що клітини більшою або меншою мірою видовжені (рис. 4.10). Вужчі за них трубчасті клітини мають менш потовщені оболонки. Зрідка зустрічаються поодинокі кристали кальцій оксалату різної форми [18].

Молоді придаткові *корені* з поверхні гладкі, з часом стають поздовжньо-зморшкуватими, що пов'язано з утворенням невеликих порожнин в корі. Це робить форму поперечних зрізів округло-хвилястою (рис. 4.11).

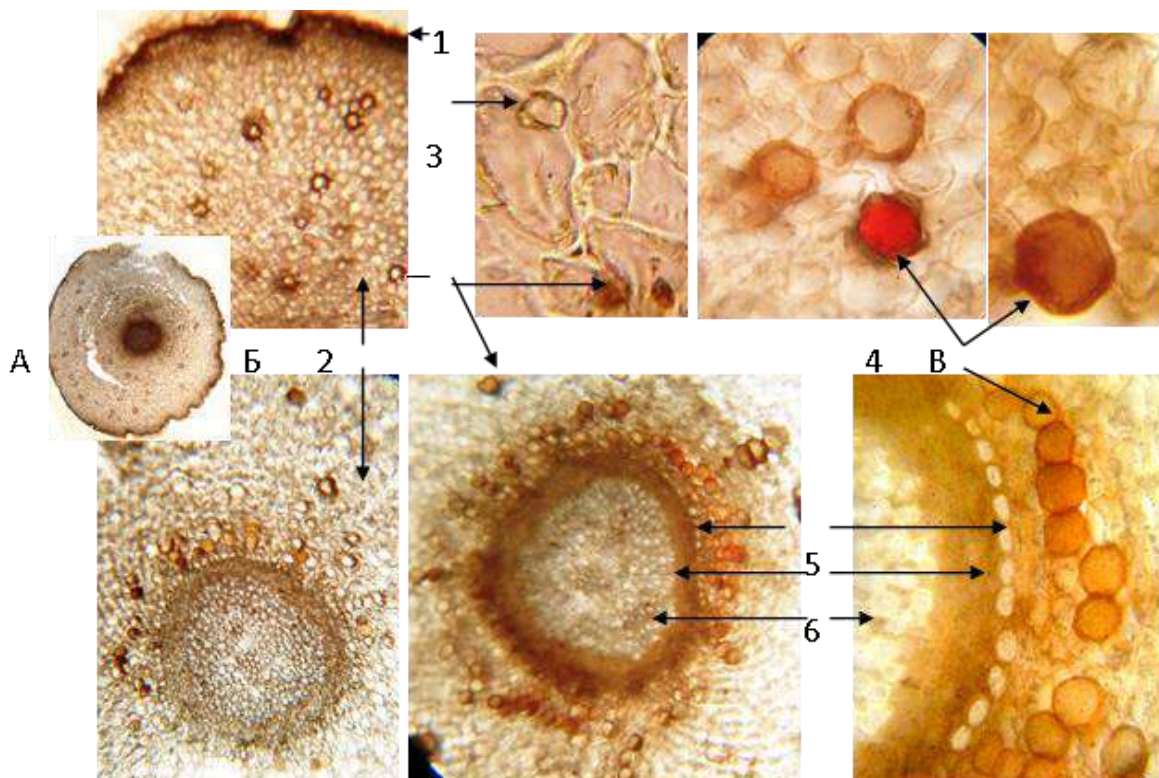


Рис. 4.11. Поперечні зрізи придаткових коренів при збільшеннях об'єктів $\times 4$ (А), $\times 10$ (Б), $\times 40$ (В): 1 – перидерма, 2 – мезодерма, 3 – кристали кальцій оксалату, 4 – секреторні ідіобласти, 5 – ендодерма, 6 – флоєма, 7 – ксилема

Слабка камбіальна активність кореневища визначає слабку активність камбію в коренях, що призводить до збереження в них первинної структури і відсутності вторинного стовщення. Покривна тканина, утворена екзодермою, вузька, темно-коричнева. Мезодерма широка, багат шарова, пухка, клітини лопатеві, з більш чи менш потовщеними целюлозними оболонками, містять незначну кількість дуже дрібних крохмальних зерен та інколи – поодинокі призматичні кристали кальцій оксалату. Серед паренхіми рясніють округлі ідіобласти. Вони більші від основної паренхіми за розмірами, мають стовщену коричневу оболонку і виповнені секретом яскравого забарвлення – оранжевого, червоного, світло- і темно-коричневого. Клітини одношарової ендодерми овальні, з дещо стовщеними оболонками. Центральний циліндр складає приблизно чверть діаметру кореня, включає прокамбіальне кільце та провідні тканини. Ксилема займає центральну частину, представлена вузькими судинами, розташованими безладно, і незначну частку паренхіми. Флоема дрібноклітинна, утворює щільне слабо диференційоване кільце, забарвлене у наслідок наявності у паренхімі пігментованих речовин [18].

4.2 Морфолого-анатомічний аналіз надземних та підземних органів примули Юлії

4.2.1 Макроскопічний аналіз надземних органів примули Юлії (*Primula juliae* Kusn.). Багаторічна трав'яниста тіньовитривала, довго вегетуюча і квітуча дернинна рослина-гігрофіт (рис. 4.12). Кореневище коротке, косе, з пучком бурих коренів. Листки черешкові, без прилистків, довжиною близько 10 см, утворюють подушку. Листкова пластинка близько 3 см, зморшкувата, яйцеподібна або округла з серцеподібною основою і крупногородчастим краєм. Генеративних пагонів 3-14. Квітки розташовані найчастіше поодиноці на тонких квітконіжках висотою до 10-15 см. Чашечка з 5 зрослих до середини загострених чашолистків, що мають виступаючі над поверхнею темні жилки. Віночок до 3 см в діаметрі, пурпуровий, карміново-червоний, фіолетово-бузковий, з жовтуватим вічком, інколи білий. Квіткова трубка

довжиною до 2 см, верхівка пелюсток відгину з виїмкою. Фертильні тичинки супротивні пелюсткам, прирослі до трубки віночка. Приймочка маточки головчаста.



Рис. 4.12. Зовнішній вигляд і сировина примули Юлії (*Primula juliae* Kusn.)

4.2.2 Макроскопічний аналіз підземних органів примули Юлії (*Primula juliae* Kusn.). Кореневище дуже коротке, несе густий пучок бурих придаткових коренів, зачатки яких займають майже усю площу первинної кори.

4.2.3 Мікроскопічний аналіз надземних органів примули Юлії (*Primula juliae* Kusn.). *Листок*. З поверхні клітини нижньої епідерми між жилками (рис. 4.13) паренхімні, бічні стінки звивисті, тонкі або з незначними дрібно-чоткоподібними стовщеннями, вкриті тонким шаром ніжно-складчастої кутикули. Серед безбарвних епідермальних клітин розміщені й секретуючі, з жовтуватим вмістом. Продихи у великій кількості, за типом аномоцитні, оточені 5-6 епідермальними клітинами. Серед основних клітин рівномірно розподілені залозисті волоски з округлою темною голівкою, короткою ніжкою і 5-6-клітинною розеткою. Над жилками (рис. 4.13) епідермальні клітини видовжені, вузькі, прямостінні, зі скошеними або клиноподібними кінцями, виразними поздовжніми складками кутикули. Добре помітні нечасті залозисті волоски.

Клітини верхньої епідерми (рис. 4.14) крупніші, їх бічні стінки менш звивисті, чисельність продихів значно менша, а залозистих волосків – більша.

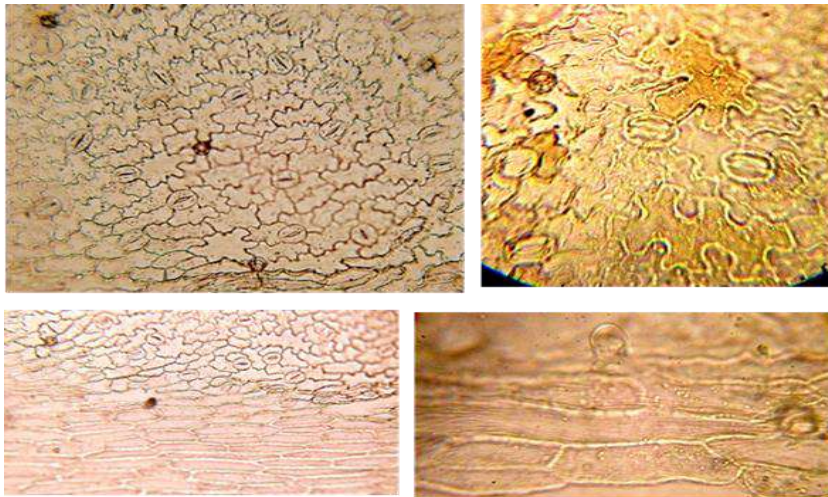


Рис. 4.13. Нижня епідерма листкової пластинки

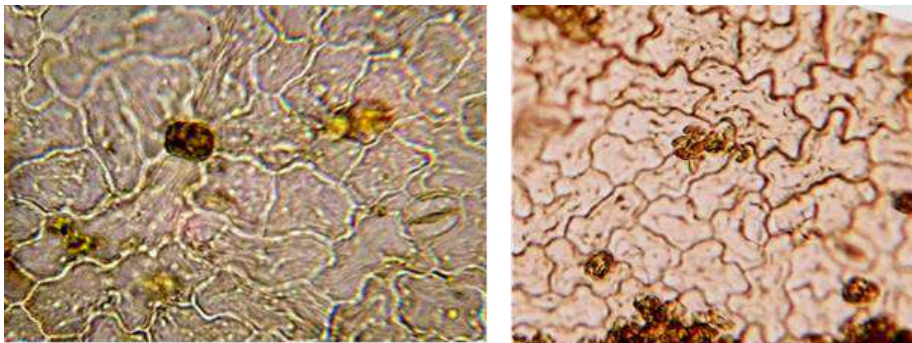


Рис. 4.14. Верхня епідерма листкової пластинки

Епідерма по краю пластинки (рис. 4.15) вкрита товстим поздовжньо-складчастим кутикулярним шаром. Епідермальні й субепідермальні клітини з яскраво-оранжевим вмістом. Спеціалізовані клітини утворюють регулярні, розміщені на відстані 7-10 клітин, горбкуваті вирости, що несуть залозисті волоски косо спрямовані до верхівки пластинки. Їх голівка одноклітинна, куляста, зморшкувата, з темним вмістом. Ніжка у ширину дорівнює діаметру голівки, складається з 1-3 тонкостінних бочкоподібних клітин. Базальна клітина з товстостінним валиком, який залишається при обламуванні волоска. Верхівка листкової пластинки увінчана гідатою [38].

Листкова пластинка за анатомічною будовою дорсовентральна, амфістоматична. Стовпчаста хлоренхіма 1-2-шарова, в губчастій паренхімі часті ідіобласти з оранжевим секретом [38].

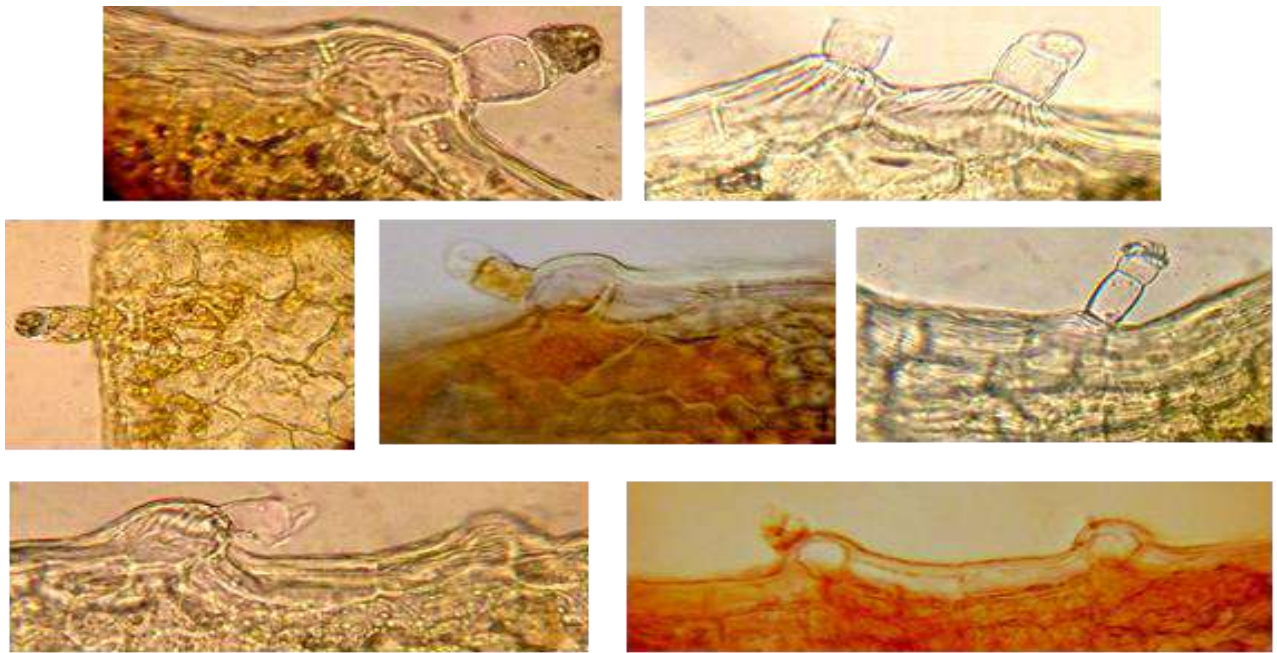


Рис. 4.15. Край листової пластинки

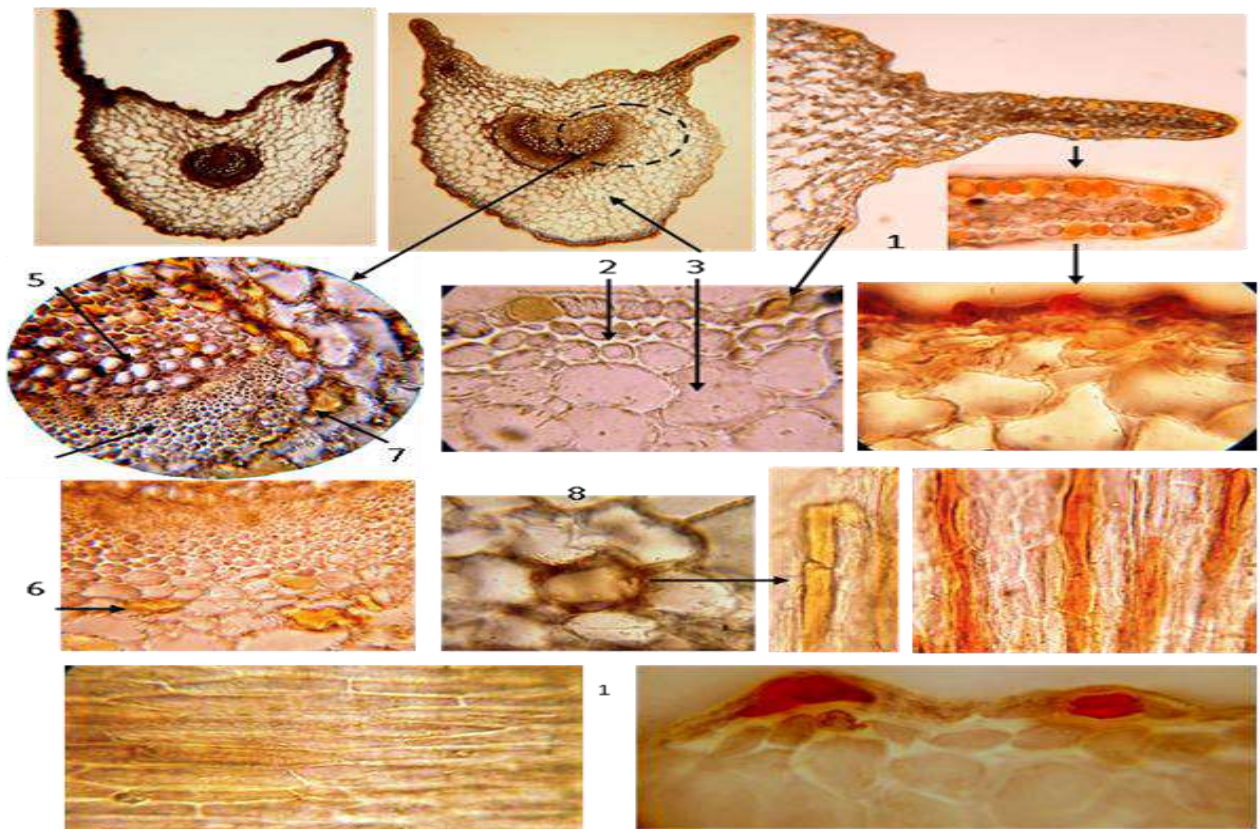


Рис. 4.16. Поперечні і поздовжні зрізи черешка: 1 – секретуюча епідерма, 2 – коленхіматозна паренхіма, 3 – основна паренхіма, 4 – ідіобласти з секретом, 5 – ксилема, 6 – флоєма, 7 – ендодерма 8 – членисті молочники (на поперечному і поздовжньому зрізах

Черешок (рис. 4.16) на поперечному зрізі овально-напівкулястий, з крильцями. Епідерма залозиста, деякі її клітини сосочкуваті, заповнені жовто-оранжевим секретом. Головчастих трихом менше ніж на пластинці.

Під епідермою – 1-2 шари коленхіматозної тканини. Провідну систему складає центральний пучок і по одному дрібному пучку ближче до крилець. Центральний пучок у верхній частині черешка округлий, замкнений концентрично. У подальшому він збільшується і стає напівкулястим. Добре розвинена секретуюча ендодерма, в паренхімі флоєми, ксилеми і поза пучками часті округло-овальні або лопатеві ідіобласти і членисті молочники з оранжевим секретом. Основна паренхіма крупноклітинна, з невеликими міжклітинниками [38].

Квітконосне стебло (рис. 4.17) на зрізах округло-лопатеве. Епідермальні клітини з поверхні продовгуваті, більш або менш вузькі, з тонкими або помірно стовщеними оболонками, вкриті шаром кутикули. Найчастіше усі або їх більшість містить оранжевий секрет. Волоски і продиhi малочисельні. Первинна кора широка, без коленхіми, утворена пухкою паренхімою з секретуючими ідіобластами. Осьовий циліндр вузький, складається з 5-7 маленьких колатеральних провідних пучків, зближених або об'єднаних між собою. Серед гістологічних елементів переважають секреторні клітини, флоєма пучків розвинена дуже слабо, суди ксилемі тонкі, їх кількість обмежена. Серцевина мізерна, чітко не виділяється, у центрі частково руйнується, паренхіма з оранжевим вмістом [38].

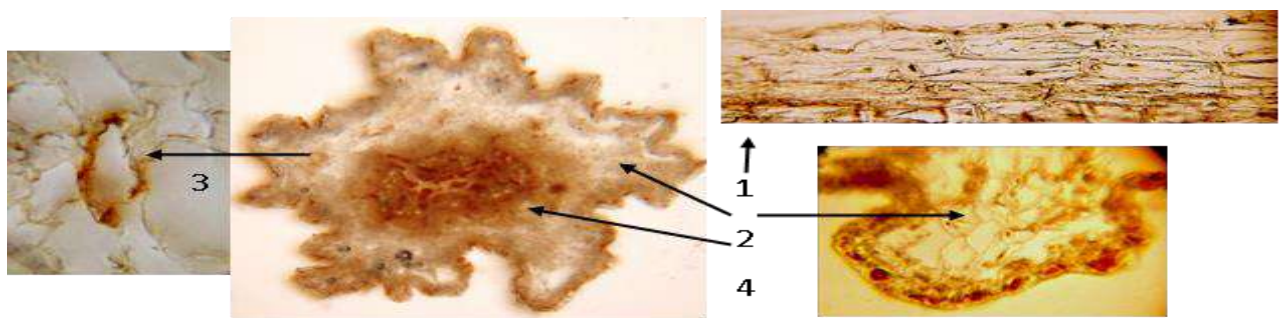


Рис. 4.17. Квітконос: 1 – епідерма з поверхні і на поперечних зрізах, 2 – кора паренхіма, 3 – секретуючі клітини, 4 – центральний циліндр

Зовнішню епідерму чашечки (рис. 4.18) складають трохи видовжені базальні клітини із хвилясто-звивистими бічними і потовщеними зовнішніми оболонками, вкритими поздовжньо-складчастою кутикулою. Продихи зустрічаються зрідка. Клітини внутрішньої епідерми видовжені, майже прямокутні.

Епідерма відгину пелюсток (рис. 4.18) сосочкоподібна, клітини епідерми трубки продовгуваті, тонкі. Жилки супроводжують членисті молочники з жовто-оранжевим вмістом.

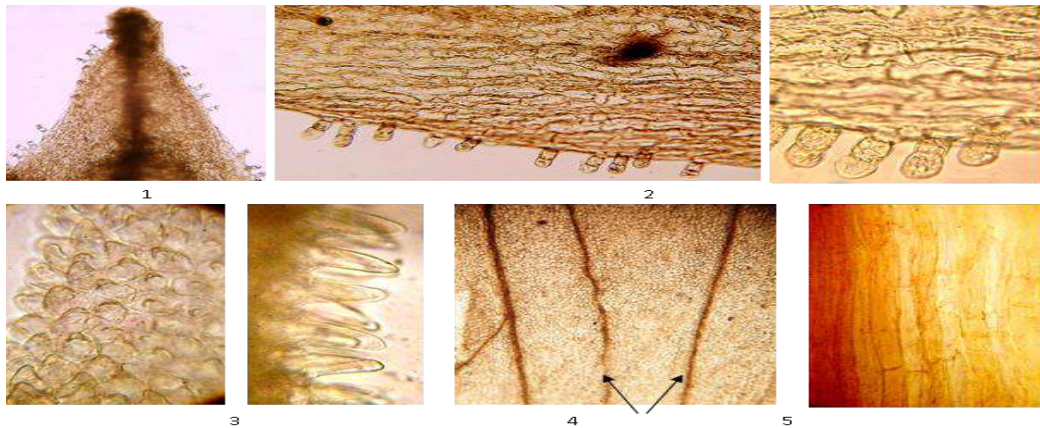


Рис. 4.18. Фрагменти частин квітки: 1 – зубець чашечки, 2 – зовнішня епідерма і край чашолистка, 3 – епідерма відгину віночка, 4 – жилки пелюстки, 5 – членисті трубки з секретом

4.2.4 Мікроскопічний аналіз підземних органів примули Юлії (*Primula juliae* Kusn.). Центральний циліндр безпучкової будови, без механічних тканин. Запасаюча тканина і провідні елементи розвинуті слабо, крохмальні зерна майже відсутні. Дуже часті секреторні клітини з блідо-брунатним або яскравим забарвленням.

Придаткові корені (рис. 4.19) зберігають первинну будову, здатні до незначного розростання, яке підтримує діюча первинна бічна меристема. Покривна тканина коренів – одношарова екзодерма, клітини якої мають стовщену, темно-коричневу зовнішню стінку, а порожнини заповнені яскраво-оранжевою речовиною (рис. 4.19). Мезодерма широка, добре розвинута. Клітини периферійних шарів дрібніші, з потовщеними целюлозними оболонками і

пігментованим вмістом. Інші клітини мезодерми майже позбавлені крохмальних зерен, або нечасті, дрібні. У первинній корі відсутні спеціалізовані секреторні структури з забарвленим вмістом і кристали кальцій оксалату. Межу між первинною корою і осьовим циліндром визначають більш чи менш прямокутні клітини ендодерми з рівномірно потовщеними целюлозними оболонками.

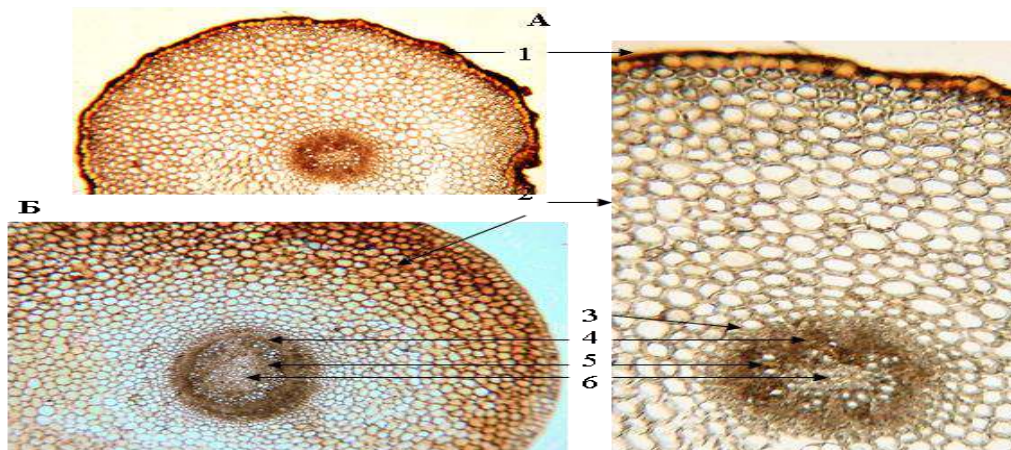


Рис. 4.19. Фрагменти зрізів коренів примули Юлії: А – молодого, Б – старішого: 1 – покривна екзодерма, 2 – паренхіма мезодерми, 3 – ендодерма, 4 – флоема, 5 – ксилема, 6 – серцевинна паренхіма

Центральний циліндр набагато менший за кору, без механічних елементів. Провідна система молодих коренів (рис. 4.19. А), зберігає певною мірою радіальне розміщення флоєми і ксилеми. Елементи флоєми дрібні, часто облітеровані, судини променів ксилеми малого діаметру. У коренях, старіших за віком (рис. 4.19. Б), флоємні й ксилемні елементи зближені, формують кола. Судини вузькі, розміщені безладно, флоєма гомогенна. Невелику за площею центральну частину займає дрібноклітинна паренхіма з потовщеними оболонками [18].

4.3 Морфолого-анатомічний аналіз надземних та підземних органів примули скельної

4.3.1 Макроскопічний аналіз надземних органів примули

скельної (*Primula saxatilis* Kom.). Багаторічна трав'яниста рослина висотою до 25 см, з коротким прямим кореневищем, прикореневою розеткою листя і тонкою, коротко опушеною квітковою стрілкою довжиною до 20 см (рис. 4.20).



Рис. 4.20. Зовнішній вигляд і сировина примули скельної (*Primula saxatilis* Kom.)

Листя черешкове довжиною 4-10 см. Листкова пластинка яскраво-зелена, шириною 3-6 см мохнато опушена, серцевидно-овальна, при основі виїмчаста, по краю глибоко і нерівномірно зубчаста. Черешок перевищує пластинці. Зонтик 3-12-ти квітковий, з ланцетними, волосистим приквітками. Іноді спостерігаються екземпляри з проліфікацією суцвіття – продовження його верхівкового росту і утворення вегетативного олистяного пагону. Квітконіжки довгі, тонкі, опушені. Чашечка біля 7 мм завдовжки, вузька, трубчасто-келихоподібна, з вузьколанцетними лінійними зубцями. Віночок рожево-бузковий або червонувато-фіолетовий. Трубка вдвічі довша за чашечку (12-14 мм), відгин лійко- або колосоподібний діаметром 1,5-3 см з п'ятьма виїмчастими частками. Тичинки приховані у віночку, розташовані супроти часток відгину. У довгостовпчикових квітках прикріплені до середньої частини трубки, а у короткостовпчикових – до верхньої. Гінецей з п'яти зрослих плодолистиків, лізикарпний. Зав'язь верхня, стовпчик короткий, з головчастою або сплющеною приймочкою. у підстави стовпчика знаходяться нектарники. Коробочка довгаста, загострена, з притислими зубцями чашечки.

4.3.2 Макроскопічний аналіз підземних органів примули скельної (*Primula saxatilis* Ком.). Підземні органи – дуже коротке кореневище з тонкими, багаточисельними придатковими торішніми і молодими коренями. В наслідок слабкої камбіальної діяльності наростання і стовщення кореневища відбувається переважно завдяки діяльності первинних меристем.

4.3.3 Мікроскопічний аналіз надземних органів примули скельної (*Primula saxatilis* Ком.). Листкова пластинка тонка, дорсовентральної будови, рясно опушена. Нижня епідерма (рис. 4.21) з невеликою кількістю продихів аномоцитного типу, оточених 5-6 епідермальними клітинами. Вони мають тонкі, звивисті бічні стінки і зовнішні оболонки з тонким шаром кутикули.

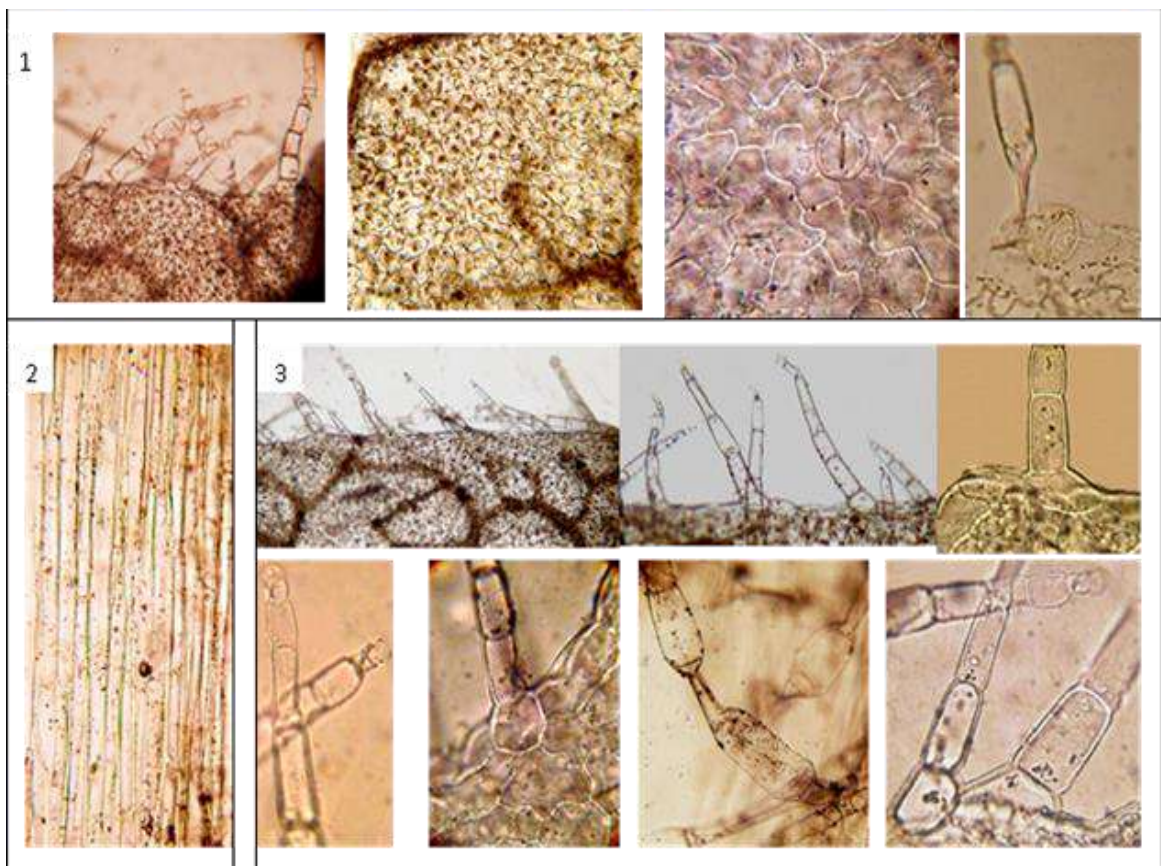


Рис. 4.21. Нижня сторона і край листової пластинки: 1 – нижня епідерма з продихами, 2 – епідерма над жилками, 3 – епідерма з волосками по краю пластинки

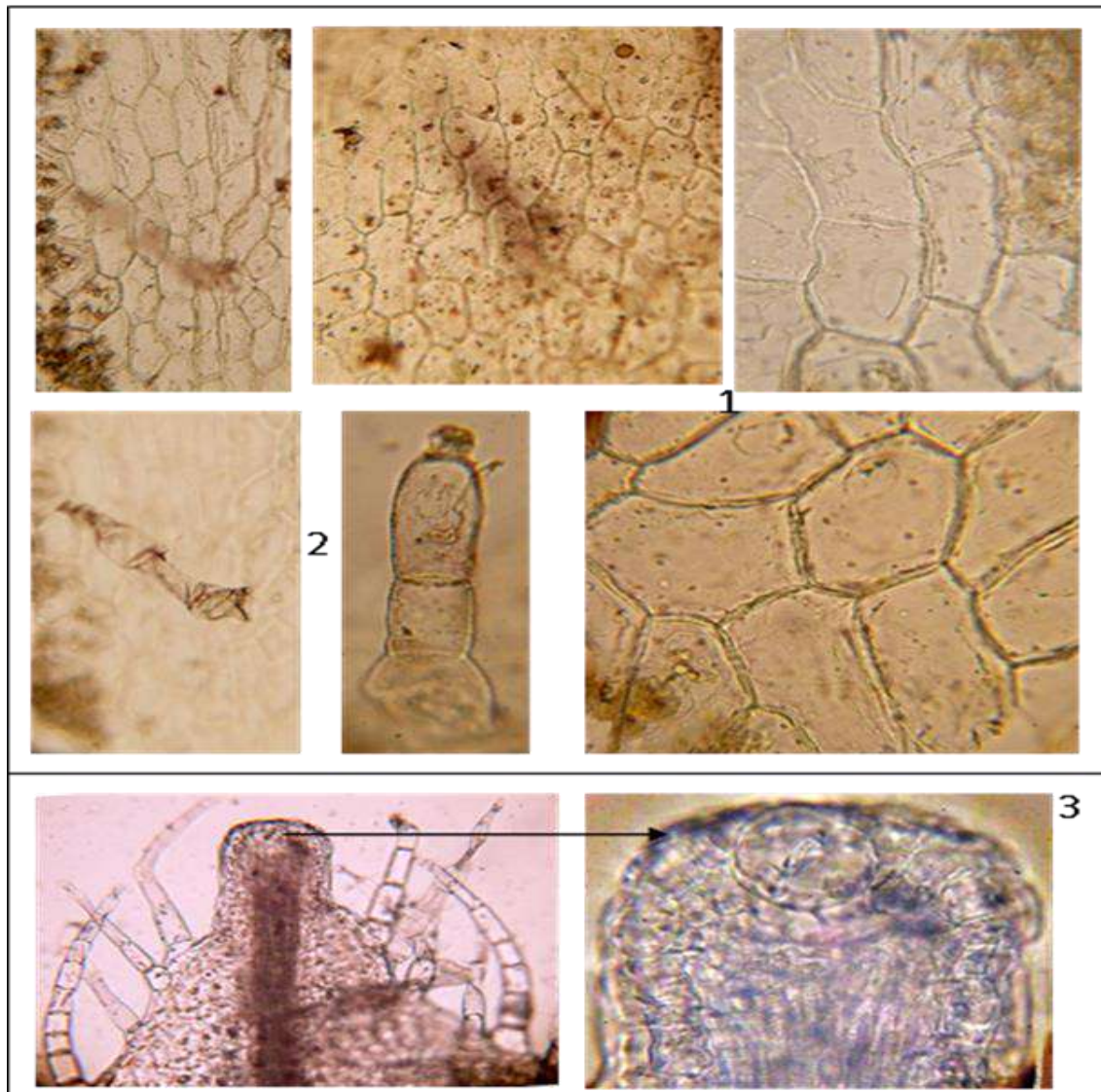


Рис. 4.22. Верхня сторона і верхівка листкової пластинки: 1 – епідермальні клітини, 2 – криючі волоски, 3 – гідатода

Над жилками (рис. 4.21) епідермальні клітини вузькі, прозенхімні, стиковані клиноподібними кінцями. Клітини верхньої епідерми (рис. 4.22) крупніші, їх бічні стінки менш звивисті або прямі. Епідерма по краю пластинки (рис. 4.21) рясніє багатоклітинними довгими однорядними волосками з розеткою тонкостінних клітин і багатоклітинною, трохи піднесеною підставкою. Клітини волоска циліндричні, довго зберігають живий вміст, мають тонкі оболонки, від чого серединні клітини легко спадаються. Верхівкова клітина у вигляді маленької зморшкуватої безбарвної голівки. У зрілих волосках голівка найчастіше

обламується. Верхівка листової пластинки увінчана волосками та витягнутою циліндричною кінцівкою з великою округлою гідатою (рис. 4.22) [39].

Черешок (рис. 4.23). На поперечному зрізі обрис хвилясто-складчастий. Клітини епідерми вузько-прозенхімні, з незначно потовщеними оболонками.

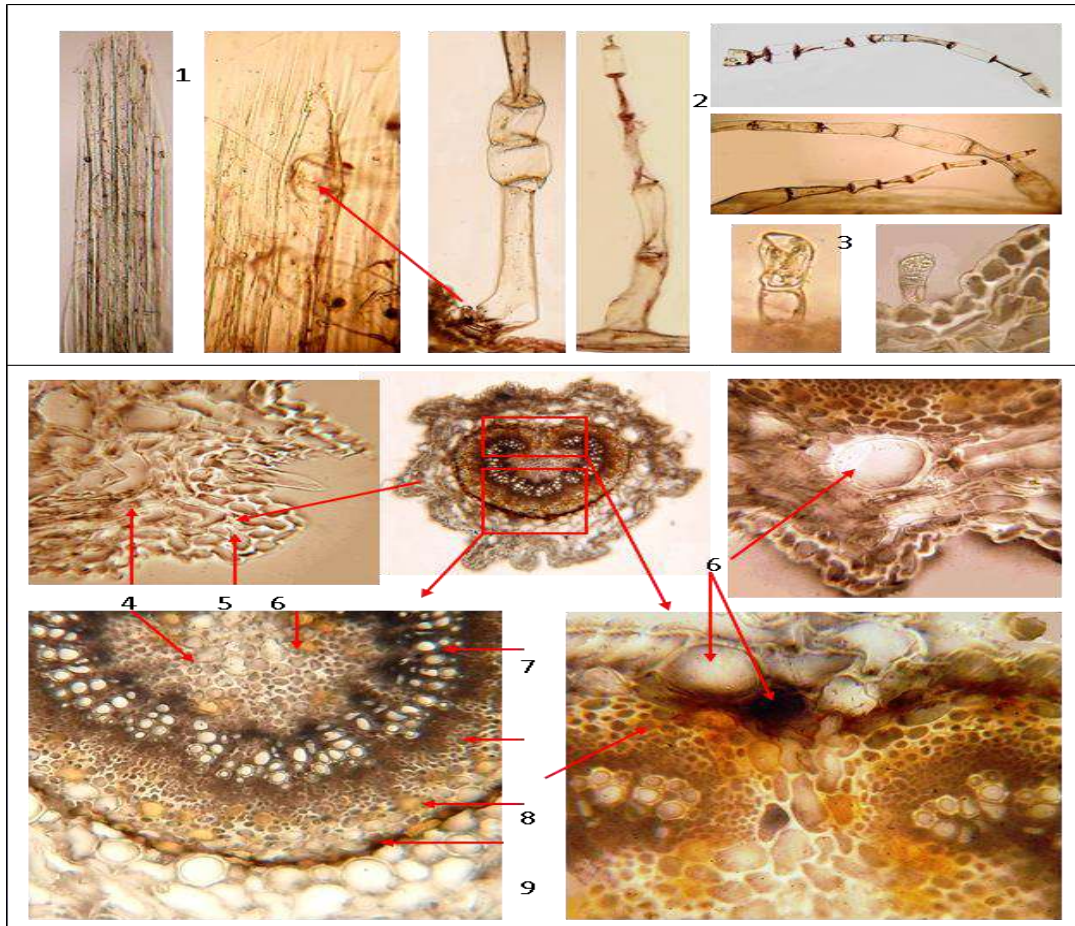


Рис. 4.23. Фрагменти черешка: 1 – епідерма з поверхні, 2 – прості волоски, 3 – залозисті волоски, 4 – коленхіматозна паренхіма, 5 – основна паренхіма, 6 – ідіобласти з секретом, 7 – ксилема, 8 – флоема, 9 – склеренхіма, 10 – ендодерма

Трихоми представлені, як і на листовій пластинці, простими багатоклітинними волосками, в яких деякі клітини спадаються, та головчастими залозистими волосками з розвинутою ніжкою і овальною двоклітинною секретуючою голівкою. Субепідермальні клітини коленхіматозні, основна паренхіма великоклітинна, пухка. Оболонки клітин з прямими порами. Серед основної паренхіми зустрічаються великі округлі ідіобласти [39].

Провідна система черешка, як і головної жилки, представлена одним великим пучком, оточеним одношаровою ендодермою, яка складається з вузько-овальних клітин, більша частина яких з жовтувато-брунатним секретом. Флоема багатшарова, окрім ситовидних трубок з клітинами-супутницями включає ідіобласти з безбарвним або жовтувато-брунатним вмістом. Ксилема променистосудинна, розміщена підковоподібно. Склеренхіма розвинута у місці роз'єднання кільця ксилеми. Серединна частина черешка репрезентована секреторними ідіобластами і паренхімою, що крупнішає до центру і має потовщені целюлозні оболонки.

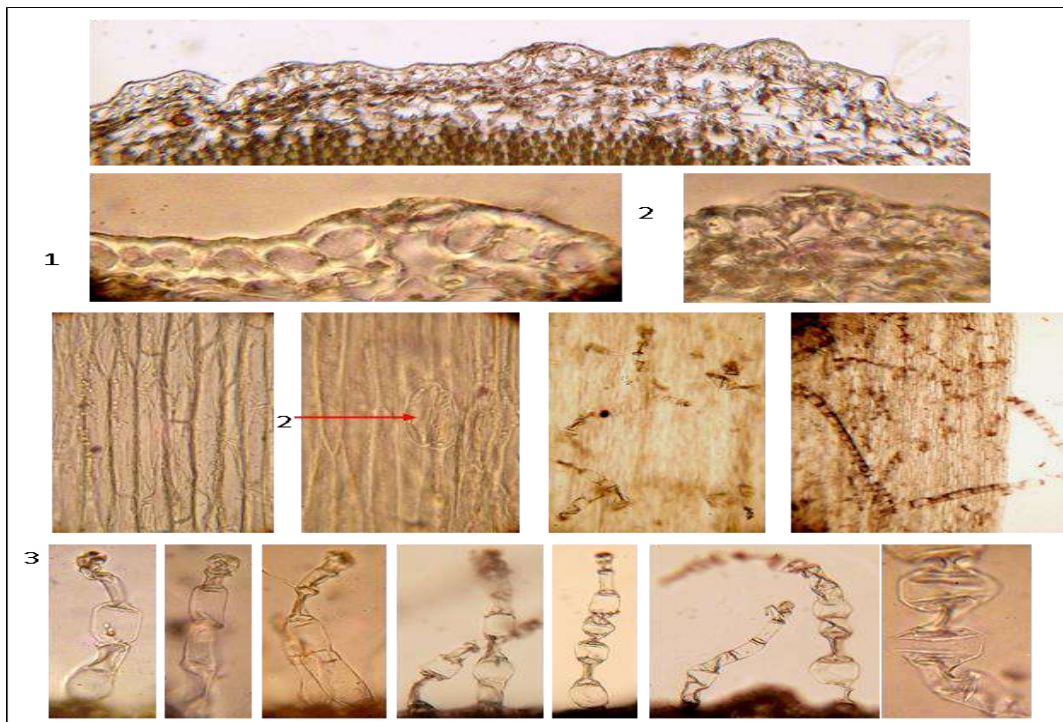


Рис. 4.24. Епідерма квітконоса: 1 – епідермальні клітини на поперечному зрізі та з поверхні, 2 – підведені продихи, 3 – криючі волоски

Квітконосне стебло (рис. 4.24, 4.25) циліндричне, на зрізах округло-овальне, з хвилястою поверхнею. Базисні клітини епідерми прозенхімні, вузькі, стикаються загостреними кінцями, вкриті шаром кутикули [39].

Волоски і продихи піднесені над поверхнею. Продихи мають тонкостінні вузькі замикаючі клітини і велику повітроносну порожнину. Криючі волоски

рясні, типові для інших частин пагону. В залежності від стадії розвитку різняться довжиною, кількістю клітин, ступенем спадання клітин, наявністю або відсутністю верхівкової кулястої клітини.

Первинна кора стебла без коленхіми, утворена 3-5 шаровою пухкою хлоренхімою і шаром крупноклітинної ендодерми. Осьовий циліндр пучкової будови, з багат шаровим кільцем перициклічної склеренхіми. Колатеральні провідні пучки (рис. 4.25.2) багаточисельні, невеликих розмірів, трикутної форми.

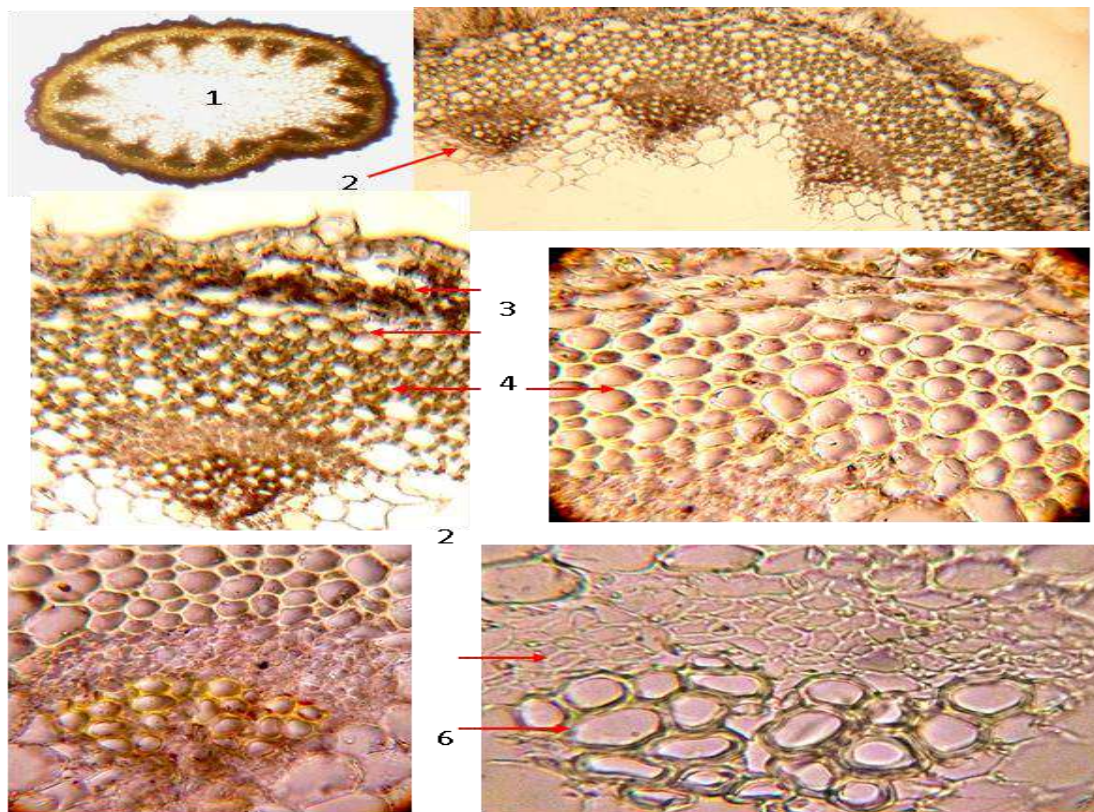


Рис. 4.25. Поперечні зрізи стебла: 1 – серцевина, 2 – коллатеральні пучки 3 – корова паренхіма, 4 – ендодерма, 5 – склеренхіма, 6 – флоема, 7 – ксилема

Флоемна частина широка, ксилема клиноподібна, з щільно розміщеними тонкими вторинними судинами. Камбій остаточно диференційований. Серцевина складає найбільшу площу, в центрі частково руйнується. Клітини крупні, круглясті, пухко розміщені.

Приквіткові листочки і чашечка зовні опушені типовими для виду криючими волосками епідерми (рис. 4.26.6). Зовнішня епідерма чашечки з

великими округлими продихами, базисні клітини з тонкими, звивистими оболонками. Внутрішня епідерма чашечки без продихів і волосків, клітини видовжені, прямостінні. Клітини епідерми трубки віночка видовжені, з тонкими, пористими оболонками. Зрідка зустрічаються продихи. Відгин віночка вкритий сосочкоподібною епідермою [39].

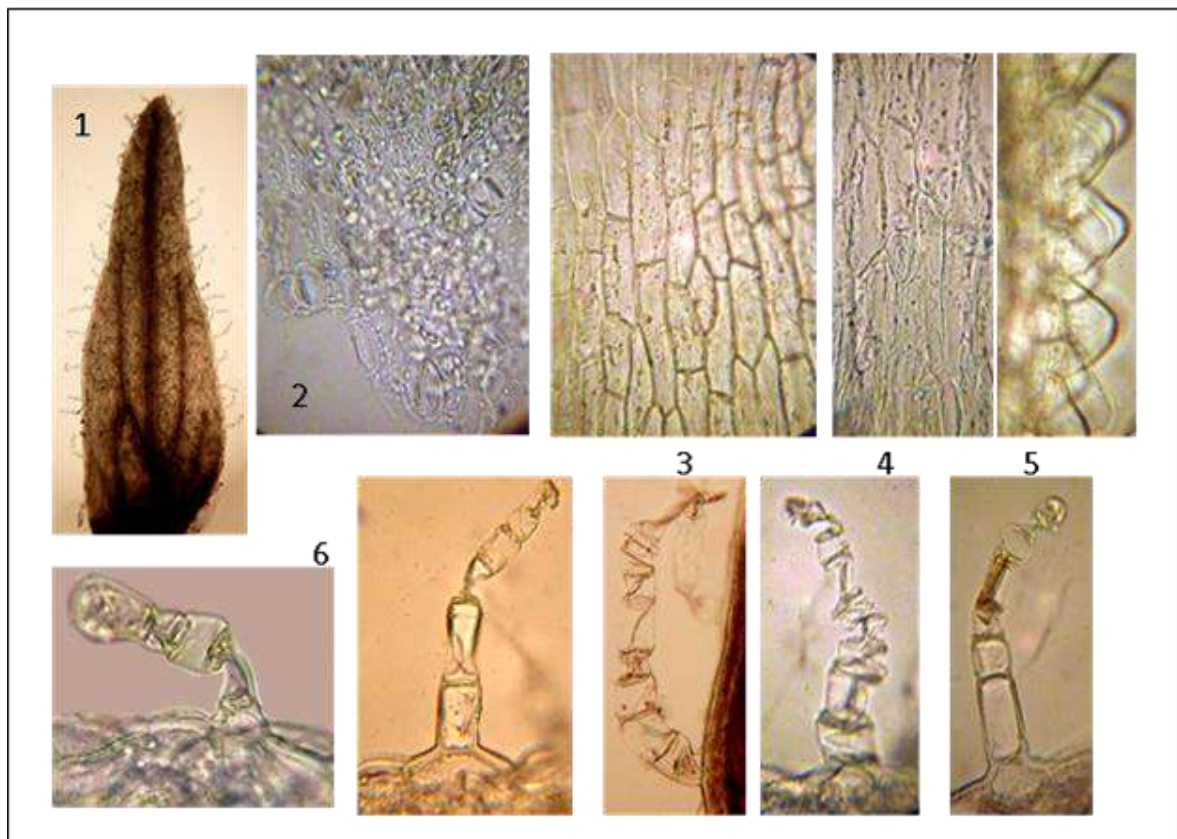


Рис. 4.26. Фрагменти частин квітки: 1 – приквітка, 2 – зовнішня епідерма чашечки, 3 – внутрішня епідерма чашечки, 4 – епідерма трубки віночка, 5 – епідерма відгину віночка, 6 – криючі волоски приквітки і чашечки

4.3.4 Мікроскопічний аналіз підземних органів примули скельної (*Primula saxatilis* Kom.). Анатомічна будова кореневища (рис. 4.27) безпучкова. Покривна тканина багатошарова, темно-коричнева, включає секреторні вмістища. Під нею багато шарів дрібноклітинної, щільної паренхіми вторинної флоєми.

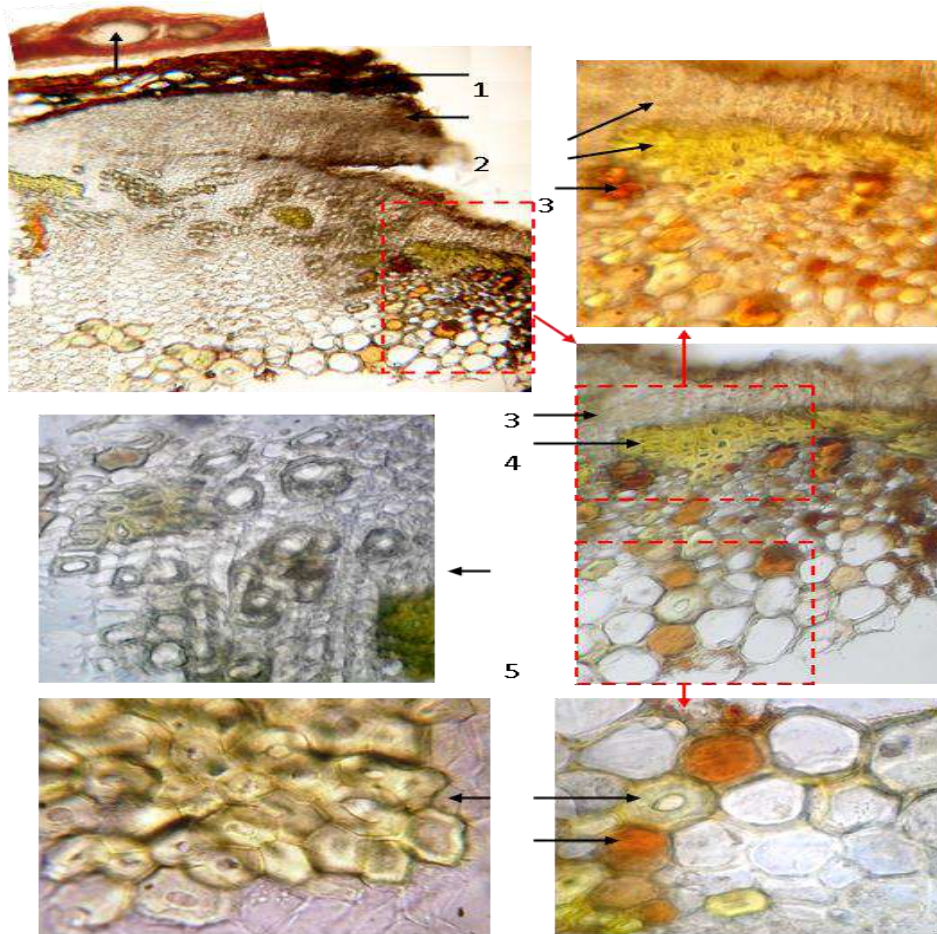


Рис. 4.27. Фрагменти поперечних зрізів кореневища: 1 – покривна тканина з секреторними вмістищами, 2 – вторинна кора, 3 – тонкостінні елементи флоєми, 4 – товстостінна склеренхіма, 5 – ксилема, 6 – луб’яні волокна, 7 – секреторні ідіобласти

Клітини основної паренхіми кори і провідної частини центрального циліндра дрібні, серед них вирізняються крупні круглясті клітини ідіобласти з яскравим оранжевим секретом. Флоємну частину від ксилемної відділяє вузьке кільце малоактивного камбію. Ксилему складають обмежені у кількості вузькі кільчасто-спіральні, драбинчасті судини, згруповані більш чи менш щільно або відокремлені паренхімою. Часті клітини з оранжевим секретом та механічні волокна. Паренхіма вторинної ксилеми багата і виконує роль запасуючої тканини. Серцевина – найоб’ємніша частина кореневища. Пухко розміщені клітини паренхіми крупні округлі та кутасті, з пористими оболонками і

дрібними простими алейроновими зернами. Також зустрічаються поодинокі чи згруповані волокна та секреторні ідіобласти.

Придаткові корені (рис. 4.28) тонкі, зберігають первинні структури, що обумовлене недостатньою камбіально-періциклічною активністю.

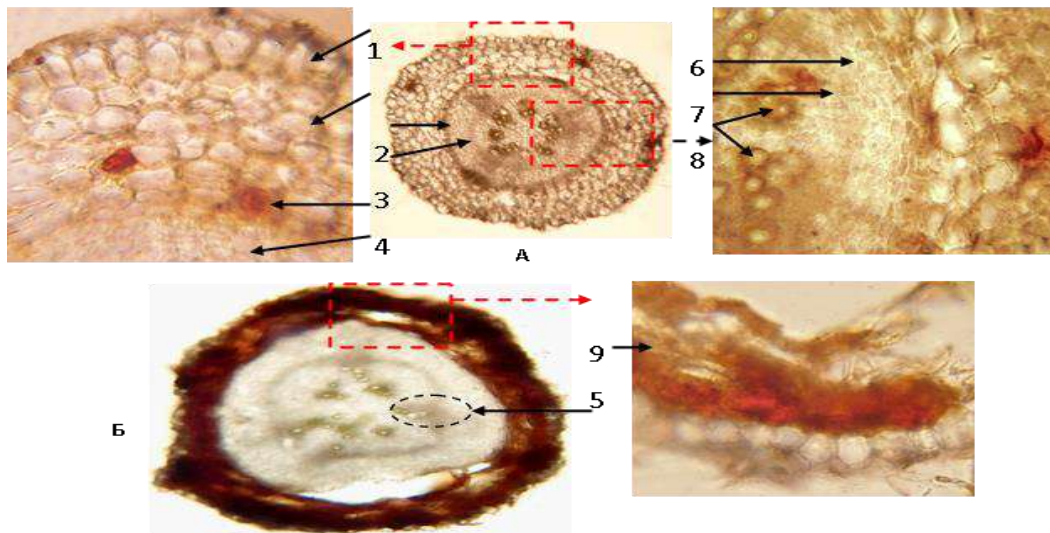


Рис. 4.28. Фрагменти поперечних зрізів коренів молодих (А) і старих (Б): 1 – ектодерма тканина, 2 – мезодерма, 3 – ендодерма, 4 – камбій, 5 – секреторні структури, 6 – первинна флоема, 7 – вторинна флоема, 8 – судини ксилеми, 9 – перидерма, 10 – колатеральні пучки

Однорічні відмираючі корені (рис. 4.28.А) мають тонкий покривний шар ектодермального походження. Мезодерма 5-8-шарова, ендодерма слабо виражена, її клітини дрібні, прямокутні, з дещо потовщеними радіальними стінками. Первинна флоема багат шарова, а ділянки вторинної флоєми майже не розпізнаються у складі слабо диференційованих колатеральних пучків. Судин ксилеми обмаль, вони первинні, вузькі, переважно зі спіральними потовщеннями. Центральну частину займає несправжня серцевина [18].

В старих коренях (рис. 4.28. Б) центральний циліндр не чітко окреслений. Покривна частина – багат шарова, товста перидерма з секреторними клітинами, порожнинами і вмістищами. Провідні комплекси не чітко окреслені,

включають 6 пучків, що складаються з обмеженої кількості первинних судин і вторинної флоєми, більш розвинутої, ніж у молодих коренях.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено основні діагностичні морфологічні та анатомічні ознаки стебла, квітки, листка та кореневища з коренями примули зубчастої (*Primula denticulate* Smith), п. Юлії (*Primula juliae* Kusn.), п. скельної (*Primula saxatilis* Kom.)

2. Основними морфологічними ознаками примули зубчастої є: укорочене сірувато-коричневе кореневище з численними придатковими і бічними коренями. Листя безчерешкове 20-40 см у довжину, зібране у прикореневу розетку. Листкова пластинка широкоовальна, видовжена, по краю дрібнозазубрена, світло-зелена, опушена, горбкувато-зморшкувата. Квітконіс товстий, вкритий на верхівці жовтуватими війками. Квітки дрібні на коротких квітконіжках, зібрані у щільний кулястий зонтик діаметром 4-10 см; віночок фіолетовий, блакитний, бузковий, пурпуровий, рожевий або білий.

Анатомічні ознаки: Листок – листкова пластинка дорзовентральна, гіпостоматична; верхня епідерма без продихів; нижня епідерма аномоцитного типу; багато спеціалізованих клітини з оранжевим секретом; по краю зубці з секретуючою епідермою; нижня епідерма густо вкрита волосками двох видів. Квітконіс – циліндричний; анатомічна будова перехідна. Первинна кора багат шарова, багато секреторних клітин і молочників з коричневим вмістом. Епідерма вкрита залозистими головчастими волосками. Квітка – чашечка; містить часті темні секреторні ідіобласти, жилки з членистими молочниками з жовтуватим секретом. Віночок з секреторними клітинами. Кореневище зі щільним багат шаровим корком; серед паренхіми кори, серцевини містяться ідіобласти з яскраво-рудим, світло-коричневим і майже червоним секрет; мезодерма містить незначну кількість дуже дрібних крохмальних зерен та поодинокі призматичні кристали кальцію оксалату; серед паренхіми кореня багато округлих ідіобластів.

2. Основними морфологічними ознаками примули Юлії є: коротке, косе кореневище з пучком бурих коренів. Листки черешкові, без прилистків, довжиною близько 10 см, утворюють подушку. Листкова пластинка близько 3 см, зморшкувата, яйцеподібна або округла з серцеподібною основою і крупногородчастим краєм. Квітки розташовані найчастіше поодиноці на тонких квітконіжках висотою до 10-15 см. Чашечка з 5 зрослих до середини загострених чашолистків, що мають виступаючі над поверхнею темні жилки. Віночок до 3 см в діаметрі, пурпуровий, карміново-червоний, фіолетово-бузковий, з жовтуватим вічком, інколи білий. Квіткова трубка довжиною до 2 см, верхівка пелюсток відгину з глибокою виїмкою.

Анатомічні ознаки: клітини нижньої епідерми містять секретуючі клітини, з жовтуватим вмістом, продихів багато, серед основних клітин рівномірно розподілені залозисті волоски; клітини верхньої епідерми більші, їх бічні стінки менш звивисті, продихів небагато, залозистих волосків багато. Епідермальні й субепідермальні клітини з яскраво-оранжевим вмістом. Листкова пластинка дорсовентральна, амфістоматична. В губчастій паренхімі багато ідіобластів з оранжевим секретом. Черешок на поперечному зрізі овально-напівкулястий, з крильцями. Епідерма залозиста, деякі її клітини сосочкуваті, заповнені жовто-оранжевим секретом. Епідермальні клітини з поверхні продовгуваті, більшість містить оранжевий секрет. Волосків і продихів небагато. Частина квітки: епідерма відгину пелюсток сосочкоподібна, клітини епідерми трубки продовгуваті, тонкі. Жилки супроводжують членисті молочники з жовто-оранжевим вмістом. У кореневищі дуже багато секреторних клітин з блідо-брунатним або яскравим забарвленням; покривна тканина коренів – одношарова екзодерма, порожнини заповнені яскраво-оранжевою речовиною; у первинній корі відсутні спеціалізовані секреторні структури з забарвленим вмістом і кристали кальцію оксалату; центральний циліндр набагато менший за кору, без механічних елементів.

3. Основними морфологічними ознаками примули скельної є: дуже коротке кореневище з тонкими, багаточисельними придатковими коренями. Листя черешкове довжиною 4-10 см. Листкова пластинка яскраво-зелена, шириною 3-6 см

мохнато-опушена, серцевидно-овальна, при основі виїмчаста, по краю глибоко і нерівномірно зубчаста. Черешок перевищує пластинці. Зонтик 3-12-ти квітковий, з ланцетними, волосистим приквітками. Квітконіжки довгі, тонкі, опушені. Чашечка біля 7 мм завдовжки, вузька, трубчасто-келихоподібна, з вузьколанцетними лінійними зубцями. Віночок рожево-бузковий або червонувато-фіолетовий. Трубка вдвічі довша за чашечку (12-14 мм). Тичинки приховані у віночку. Зав'язь верхня, у підстави стовпчика знаходяться нектарники. Коробочка довгаста, загострена.

Анатомічні ознаки: листкова пластинка тонка, дорсовентральна, рясно опушена. Нижня епідерма з невеликою кількістю продихів аномоцитного типу, оточених 5-6 епідермальними клітинами. Клітини верхньої епідерми крупніші, їх бічні стінки менш звивисті або прямі. Епідерма по краю пластинки з багатоклітинними довгими однорядними волосками. Верхівка листкової пластинки увінчана не лише волосками, а кінцівкою з великою округлою гідатою. Провідна система черешка, як і головної жилки, представлена одним великим пучком, оточеним одношаровою ендодермою, яка складається з вузько-овальних клітин, більша частина яких з жовтуватим-брунатним секретом. Стебло циліндричне, на зрізах округло-овальне, з хвилястою поверхнею. Приквіткові листочки і чашечка зовні опушені типовими для виду криючими волосками епідерми. У кореневища з коренями паренхіма вторинної ксилеми виконує роль запасуючої тканини; клітини паренхіми містять дрібні прості алейронові зерна; центральну частину займає несправжня серцевина.

Встановлені морфологічні та анатомічні діагностичні ознаки підземних органів трьох культивованих видів роду *Primula* L. дозволяють ідентифікувати та диференціювати досліджувану сировину та використані при розробці проектів методів контролю якості (МКЯ) на нову лікарську рослинну сировину «Примули зубчастої кореневища з коренями», «Примули зубчастої листки», «Примули скельної кореневища з коренями», «Примули скельної листки», «Примули Юлії кореневища з коренями», «Примули Юлії листки».

За матеріалами розділу опубліковано роботи [18, 38, 39, 56].

РОЗДІЛ 5

ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЙ З ЛИСТКІВ І КОРЕНЕВИЦЬ З КОРЕНЯМИ ПРИМУЛИ ЗУБЧАСТОЇ ТА ВИВЧЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ АКТИВНОСТЕЙ

Враховуючи якісний склад та кількісний вміст індивідуальних сполук фенольної природи (флавоноїдів, дубильних речовин та гідроксикоричних кислот), вміст сапонінів, а також сировинний потенціал, вважали за необхідне одержати субстанції з примули зубчастої листків та кореневиць з коренями та провести їх фармакологічне дослідження.

5.1 Одержання субстанції з примули зубчастої листків та дослідження її хімічного складу

Для одержання субстанції з високим вмістом основних груп БАР з примули дрібнозубчастої листків було досліджено вплив екстрагента на повноту вилучення даних сполук із сировини [5, 102, 104].

Зважаючи на те, що у примули дрібнозубчастої листках у значній кількості встановлено наявність сапонінів та речовини фенольної природи при одержанні субстанції обрали даний вид примули. Як екстрагент використовували воду очищену та етанол 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 % і 70 %. Екстрагування проводили методом бісмацерації (спочатку екстрагували етанолом, а потім – гарячою водою очищеною). Співвідношення сировина-екстрагент становило 1:10 та є оптимальним для здійснення процесу екстракції. Збереженню термолабільних екстрактивних речовин та мінімальним затратам енергоносіїв сприяло настоювання сировини при кімнатній температурі [102].

БАР з досліджуваної сировини екстрагували у першому випадку етанолом Р 70 %, у другому – 60 %, у третьому – 50 %, у четвертому – 40 %, у п'ятому – 30 %, у шостому – 20 %, у сьомому – 10 %, у восьмому – водою очищеною Р шляхом настоювання протягом 24 год. Спиртові і водні витяжки

зливали, шрот віджимали, заливали кип'яченою водою очищеною Р і двічі проводили екстрагування шротів водою очищеною Р протягом 2 год на водяній бані зі зворотним холодильником. Спиртові і водні витяжки об'єднували і упарювали до густого екстракту в роторно-вакуумному випарювачі.

В одержаних екстрактах спектрофотометричним методом визначали кількісний вміст суми фенольних сполук у перерахунку на кислоту галову, суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на кислоту розмаринову, суми флавоноїдів у перерахунку на рутин, суми сапонінів перерахунку на есцин [120]. Результати аналізу вмісту БАР у досліджуваних екстрактах представлено у табл. 5.1.

Таблиця 5.1

Вміст суми фенольних сполук, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та сапонінів від виду екстрагента у згущених витяжках з примули зубчастої листків (вірогідність похибки $P < 0,05$)

Назва речовини	Вода очищена- вода очищена	Етанол 10 % - вода очищена	Етанол 20 % - вода очищена	Етанол 30 % - вода очищена	Етанол 40 % - вода очищена	Етанол 50 % - вода очищена	Етанол 60 % - вода очищена	Етанол 70 % - вода очищена
Сума кислот гідроксикоричних, %	6,77 ± 0,21	7,12 ± 0,18	7,38 ± 0,22	9,11 ± 0,14	10,15 ± 0,17	10,97 ± 0,26	9,86 ± 0,15	11,12 ± 0,18
Сума флавоноїдів, %	5,24 ± 0,11	5,98 ± 0,17	6,17 ± 0,13	6,93 ± 0,23	7,65 ± 0,14	8,03 ± 0,11	8,19 ± 0,16	9,21 ± 0,25
Сума фенольних сполук, %	6,18 ± 0,14	6,69 ± 0,19	7,13 ± 0,26	8,91 ± 0,24	10,83 ± 0,11	10,12 ± 0,18	11,48 ± 0,14	13,14 ± 0,16
Сума сапонінів, %	1,72 ± 0,09	2,11 ± 0,13	2,48 ± 0,11	2,86 ± 0,15	2,93 ± 0,12	3,06 ± 0,14	2,94 ± 0,11	3,81 ± 0,09

Наведені у табл. 5.1 дані вказують на те, що в одержаних спиртово-водних витяжках переважає вміст БАР фенольного характеру. Для дослідження фармакологічної активності примули зубчастої листків потрібно використовувати екстракт, одержаний методом бісмацерації – спочатку етанолом 70 %, а потім гарячою водою очищеною Р, оскільки даний спиртово-водний екстракт вміщує значно більшу кількість фенольних сполук та сапонінів.

Одержання екстракту з примули дрібнозубчастої листків, обраного для проведення фармакологічних досліджень, проводили наступним чином: 100 г примули дрібнозубчастої листків подрібненої до розміру частинок, які проходять крізь сито № 11200 (з максимальним допуском для отвору 0,77 мм), заливали 1000 мл етанолу 70 % до «дзеркала» на поверхні. Шляхом бісмацерації проводили екстрагування висушеної сировини примули дрібнозубчастої етанолом 70 % при кімнатній температурі упродовж 3 діб. Отриману спиртову витяжку фільтрували крізь складчастий фільтр. Шрот віджимали та екстрагували 500 мл води очищеної упродовж 2 год на водяній бані (дія теплового чинника). Одержану водну витяжку охолоджували та фільтрували, шрот віджимали та ще один раз повторювали екстракцію. Другу водну витяжку, також, охолоджували і фільтрували. Спиртову та водні витяжки об'єднували, упарювали на роторно-вакуумному випарювачі при температурі 75-80 °С до одержання густого залишку, який не змінює свою консистенцію.

З 1856 мл рідкого екстракту примули дрібнозубчастої листків одержали 20,34 г густого екстракту, що становив 20,34 %. Загальне співвідношення «сировина : готовий продукт» становило 4,9:1 (1 г густого екстракту відповідає 4,9 г рослинної сировини).

Густий екстракт примули дрібнозубчастої листків – однорідна густа маса коричнево-зеленого кольору, гіркувато-солонувата на смак, зі своєрідним приємним запахом, розчинна у воді та нерозчинна у етанолі 96 %.

Стандартизацію одержаного екстракту запропоновано проводити за вмістом суми гідроксикоричних кислот, що повинна становити не менше (11,12 ± 0,18) % та вмістом сапонінів (не менше (3,81 ± 0,09) %).

Отже, нами визначено оптимальні умови одержання густого екстракту з примули зубчастої листків, при яких екстрагується максимальна кількість БАР фенольного характеру.

5.2 Одержання субстанції з примули зубчастої кореневищ з коренями та дослідження її хімічного складу

Субстанцію з кореневищ з коренями примули зубчастої планується застосовувати як відхаркувальний та протизапальний засіб, що обумовлено наявністю у сировині великої кількості сапонінів та сполук фенольної природи. Нами було досліджено вплив природи екстрагента на повноту вилучення відповідних БАР із досліджуваної рослинної сировини. Для цього було проаналізовано екстракти, які виготовляли використовуючи як екстрагент етанол різної концентрації 10 %, 20 %, 30 %, 40%, 50 %, 60 %, 70 % і гарячу воду очищену. Ефект екстрагування оцінювали при екстракції методом бісмацерації (спочатку екстрагування проводили етанолом, а потім – гарячою водою очищеною) [102].

Співвідношення сировина-екстрагент становило 1:10, що є необхідним і достатнім для здійснення процесу екстракції. Настоявання здійснювали при кімнатній температурі, що сприяє збереженню термолабільних екстрактивних речовин та дозволяє уникнути додаткових витрат енергоносіїв [60].

В одержаних екстрактах спектрофотометричним методом визначали кількісний вміст суми фенольних сполук у перерахунку на кислоту галову, суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на кислоту розмаринову, суми флавоноїдів у перерахунку на рутин, суми сапонінів перерахунку на есцин. Аналіз вмісту БАР у досліджуваних густих екстрактах представлено у табл. 5.2.

З аналізу даних, що наведені в таблиці 5.2, видно, що для дослідження фармакологічної активності слід використовувати густий екстракт з примули зубчастої кореневищ з коренями, одержаний методом бісмацерації – спочатку

етанолом 40 %, а потім гарячою водою очищеною Р, оскільки даний екстракт вміщує найбільшу кількість БАР.

Таблиця 5.2

Вміст вмісту суми фенольних сполук, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та сапонінів від виду екстрагента у згущених витяжках з примули зубчастої кореневищ з коренями (вірогідність похибки $P < 0,05$)

Назва речовини	Вода очищена- вода очищена	Етанол 10 % - вода очищена	Етанол 20 % - вода очищена	Етанол 30 % - вода очищена	Етанол 40 % - вода очищена	Етанол 50 % - вода очищена	Етанол 60 % - вода очищена	Етанол 70 % - вода очищена
Сума кислот гідроксикоричних, %	3,17 ± 0,18	3,57 ± 0,15	4,03 ± 0,20	3,78 ± 0,11	5,09 ± 0,23	4,98 ± 0,19	4,16 ± 0,17	3,89 ± 0,11
Сума флавоноїдів, %	0,18 ± 0,02	0,26 ± 0,05	0,74 ± 0,07	0,98 ± 0,04	1,37 ± 0,06	1,15 ± 0,07	0,94 ± 0,03	1,35 ± 0,09
Сума фенольних сполук, %	2,08 ± 0,11	2,77 ± 0,14	3,72 ± 0,19	4,11 ± 0,09	4,89 ± 0,21	3,66 ± 0,11	3,98 ± 0,16	4,04 ± 0,14
Сума сапонінів, %	2,71 ± 0,05	3,14 ± 0,15	3,28 ± 0,07	3,16 ± 0,10	4,13 ± 0,09	3,96 ± 0,06	4,04 ± 0,11	3,89 ± 0,08

Одержання екстракту з примули дрібнозубчастої кореневища з коренями, обраного для проведення фармакологічних досліджень, проводили наступним чином: 150 г примули зубчастої кореневищ з коренями з подрібнених до розміру частинок, які проходять крізь сито № 2800, заливали 1500 мл етанолу 40 % до «дзеркала» на поверхні. Екстрагування висушеної сировини примули зубчастої проводили шляхом бісмацерації етанолом 40 % при кімнатній температурі упродовж 3 діб. Одержану спиртову витяжку фільтрували крізь

складчастий фільтр. Шрот віджимали та екстрагували 750 мл води очищеної упродовж 2 годин на водяній бані. Одержану водну витяжку охолоджували та фільтрували, шрот віджимали та повторювали екстракцію. Другу водну витяжку, також, охолоджували і фільтрували. Спиртову та водні витяжки об'єднували, упарювали на роторно-вакуумному випарювачі до одержання густого залишку, який не змінює свою консистенцію.

З 2810 мл рідкого екстракту з примули зубчастої кореневищ з коренями одержали 34,74 г густого екстракту, що становило 23,16 %. Загальне співвідношення «сировина : готовий продукт» – 4,32:1 (1 г густого екстракту відповідає 4,32 г рослинної сировини).

Густий екстракт примули дрібнозубчастої кореневищ з коренями – однорідна густа маса коричневого кольору, гіркувата на смак, зі своєрідним приємним запахом, розчинна у воді та нерозчинна у етанолі 96 %.

Стандартизацію одержаного екстракту запропоновано проводити за вмістом сапонінів (не менше $(4,13 \pm 0,09)$ %).

Отже, нами визначено оптимальні умови одержання густого екстракту з примули зубчастої кореневища з коренями, при яких екстрагується максимальна кількість БАР фенольного характеру.

5.3 Вивчення гострої токсичності густих екстрактів з примули зубчастої листків та з кореневищ з коренями

Результати дослідження за тваринами, які проводили протягом двох тижнів після введення обох фітоекстрактів показали, що за даний період не було зареєстровано жодного випадку летальності тварин у експериментальних групах (табл. 5.3).

При введенні високих доз екстрактів (5000 мг/кг), на початку спостереження тварини виглядали млявими, їх рухова активність була незначно знижена, однак споживання їжі та води не змінювались. При дослідженні

низьких та середніх доз препарату видимих ознак впливу на зовнішній вигляд, апетит чи поведінку мишей зареєстровано не було.

Таблиця 5.3

Вживання мишей при внутрішньошлунковому введенні досліджуваних екстрактів

Досліджуваний екстракт	n	Доза мг/кг	Загибель тварин/тварини, що вижили
Екстракт з ПЗ листків	6	5000	0/6
Екстракт з ПЗ кореневищ з коренями	6	5000	0/6

Примітка. n – кількість тварин у групі

У експериментальних тварин контролювали масу тіла на 1 добу (до введення) та 14 днів після внутрішньошлункового введення екстрактів (табл. 5.4).

Отримані дані свідчать про те, що одноразове внутрішньошлункове введення досліджуваних екстрактів мишам обох статей у дозах від 2000 до 5000 мг/кг жодним чином не вплинуло на динаміку маси тіла у порівнянні з контролем. Дослідні та контрольні тварини набирали вагу у відповідності до фізіологічної норми.

Подальші дослідження проводили щодо групи контрольних тварин (які отримували розчинник в/шл), а також досліджувані тест-зразки у максимальній дозі (5000 мг/кг).

Також було проведено дослідження абсолютної маси серця, легень, печінки та нирок (табл. 5.5) та обчислення відносної маси внутрішніх органів тварин (в г) на 100 г маси тіла (табл. 5.6).

Динаміка маси тіла мишей (г) після одноразового внутрішньошлункового введення фітоекстрактів ($M \pm m$; $n=3$)

Доза екстракту	Маса тіла на 1 день	Маса тіла на 14 день
1	2	3
Густий екстракт примули зубчастої листків		
Самці		
Контроль	21,1±0,11	23,17±0,23
2000 мг/кг	20,0±0,26	22,57±0,61
3000 мг/кг	20,03±0,22	22,50±0,36
4000 мг/кг	20,07±0,07	22,1±0,21
5000 мг/кг	19,77±0,09	22,03±0,15
Самки		
Контроль	20,33±0,33	22,57±0,18
2000 мг/кг	20,40±0,42	22,67±0,62
3000 мг/кг	19,93±0,03	21,83±0,20
4000 мг/кг	19,63±0,13	22,10±0,21
5000 мг/кг	20,03±0,03	22,33±0,18
Густий екстракт примули зубчастої кореневиц з коренями		
Самці		
Контроль	21,1±0,11	23,17±0,23
2000 мг/кг	20,00±0,06	21,60±0,21
3000 мг/кг	20,8±0,42	22,67±0,43
4000 мг/кг	21,33±0,43	23,33±0,27
5000 мг/кг	21,43±0,21	23,37±0,64
Самки		
Контроль	20,33±0,33	22,57±0,18
2000 мг/кг	19,63±0,09	21,23±0,55

Продовж. табл. 5.4

1	2	3
3000 мг/кг	21,53±0,52	23,0±0,52
4000 мг/кг	20,83±0,12	22,70±0,40
5000 мг/кг	20,97±0,24	22,07±0,38

Таблиця 5.5

Абсолютна маса (г) внутрішніх органів білих мишей через 14 днів після одноразового внутрішньошлункового введення фітоекстрактів в дозі 5000 мг/кг (M ± m; n=3)

Органи	Самці		Самки	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Густий екстракт примули зубчастої листків				
Серце	0,110± 0,006	0,115± 0,003	0,111± 0,002	0,113± 0,001
Легені	0,203±0,002	0,208±0,001	0,200±0,002	0,205±0,003
Печінка	1,297± 0,016	1,305± 0,004	1,272± 0,057	1,337 0,047
Нирки	0,2248± 0,01	0,222± 0,006	0,217± 0,003	0,214± 0,001
Селезінка	0,181±0,026	0,180±0,014	0,208±0,003	0,184±0,041
Густий екстракт примули зубчастої кореневищ з коренями				
Серце	0,110± 0,006	0,109± 0,001	0,111± 0,002	0,112± 0,001
Легені	0,203±0,002	0,201±0,000	0,200±0,002	0,202±0,001
Печінка	1,297± 0,016	1,309± 0,002	1,272± 0,057	1,342 0,036
Нирки	0,2248± 0,01	0,216± 0,003	0,217± 0,003	0,205± 0,003
Селезінка	0,181±0,026	0,153±0,015	0,208±0,003	0,151±0,006

Відносна маса внутрішніх органів (г/100 г маси тіла) білих мишей через 14 днів після одноразового внутрішньошлункового введення фітоекстрактів в дозі 5000 мг/кг ($M \pm m$; $n=3$)

Органи	Самці		Самки	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Густий екстракт примули зубчастої листків				
Серце	0,52± 0,03	0,53± 0,01	0,49± 0,01	0,53± 0,02
Легені	0,88±0,01	0,96±0,01	0,89±0,01	0,97±0,02
Печінка	5,60± 0,04	6,04± 0,06	5,64± 0,26	6,30± 0,25
Нирки	0,98± 0,05	1,03± 0,04	0,96± 0,02	1,01± 0,03
Селезінка	0,78±0,10	0,84±0,06	0,92±0,02	0,86±0,17
Густий екстракт примули зубчастої кореневищ з коренями				
Серце	0,52± 0,03	0,47± 0,01	0,49± 0,01	0,51± 0,01
Легені	0,88±0,01	0,86±0,02	0,89±0,01	0,91±0,02
Печінка	5,60± 0,04	5,61± 0,17	5,64± 0,26	6,09± 0,21
Нирки	0,98± 0,05	0,92± 0,03	0,96± 0,02	0,93± 0,02
Селезінка	0,78±0,10	0,66±0,06	0,92±0,02	0,69±0,04

Як свідчать дані табл. 5.5 та 5.6, маса внутрішніх органів та відносна маса внутрішніх органів у мишей дослідних груп не зазнала фактичних закономірних змін по відношенню до маси внутрішніх органів у мишей контрольних груп.

Проведено макроскопічне дослідження органів і тканин білих мишей обох статей, яким одноразово внутрішньошлунково вводили досліджувані екстракти (5000 мг/кг маси тіла). Контролем слугували тварини, яким одноразово вводили воду очищену Р у дозі 0,2 мл/10 г маси тіла. Мишей піддавали евтаназії через 14 днів після введення кожного тест-зразка.

При зовнішньому огляді тварин ознак патологічних змін їх стану не

виявлено, шерсть та покрови шкіри чисті, підшкірний шар жирової тканини виражений помірно, на слизових оболонках та шкірі ушкоджень та запальних уражень не спостерігалось. Візуальна оцінка стану внутрішніх органів також не виявила ознак патологічних змін.

Відсутність летальності у тварин дозволяє вважати, що значення ЛД₅₀ при ентеральному введенні обох екстрактів перевищує максимальну дозу, яку використовували в експерименті, тобто у мишей ЛД₅₀ ≥ 5000 мг/кг. Дане значення ЛД₅₀ дозволяє віднести досліджувані екстракти за класифікацією К. К. Сидорова до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини (табл. 5.7) [16, 58].

Таблиця 5.7

Параметри гострої токсичності густих екстрактів з листків та кореневищ з коренями примули зубчастої при внутрішньошлунковому введенні мишам

Група тварин	Доза, мг/кг	Клас токсичності	Ступінь токсичності	ЛД ₅₀ , мг/кг
Екстракт з ПЗ листків	5000	V клас	відносно нешкідливі	>5000
Екстракт з ПЗ кореневища з коренями	5000	V клас	відносно нешкідливі	>5000

5.4 Вивчення протизапальної дії густих екстрактів з примули зубчастої листків та з кореневищ з коренями

Протизапальну дію ГЕ з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями та препарату порівняння натрію диклофенаком вивчали на моделі карагенінового набряку у щурів [23, 170]. Результати дослідження наведено в табл. 5.8.

Аналіз одержаних даних дозволяє зробити висновок про дозозалежну антиексудативну активність досліджуваного засобу. Найвиразнішу протизапальну дію виявив густий екстракт з примули зубчастої листків у дозі 200 мг/кг, середня

антиексудативна активність якого у цій серії склала 31,6 % і була у 2,2 рази нижча, ніж у препарату порівняння, яка становила 70,2 % [19].

Таблиця 5.8

**Вплив густих екстрактів з примули зубчастої листків і з кореневищ з коренями на об'єм лапки щурів на моделі карагенінового набряку стопи
($M \pm m$, $n=5$)**

Експериментальні групи	1 год		2 год		3 год	
	приріст об'єму стопи, мм ³	АЕА, %	приріст об'єму стопи, мм ³	АЕА, %	приріст об'єму стопи, мм ³	АЕА, %
0,1 мл 1% р-ну карагеніну (контроль)	144,3 ±51,9	—	216,9 ±28,8	—	515,6 ±52,7	—
Густий екстракт примули зубчастої листків						
50 мг/кг	141,5±12,1	1,91	207,9±18,4	4,15	465,7±118,1	9,68
100 мг/кг	137,1±44,1	4,97	202,3±2,53	6,74	434,7±99,5	15,7
150 мг/кг	125,9±12,9	12,7	186,6±31,2	13,9	389,1±63,4*	24,5
200 мг/кг	115,3±11,5	20,1	157,6±19,5*	27,4	352,8±52,9*	31,6
Густий екстракт примули зубчастої кореневищ з коренями						
50 мг/кг	143,5±19,1	0,57	215,0±34,7	0,86	508,1±21,5	1,45
100 мг/кг	139,6±21,2	3,25	192,7±22,4	5,70	483,0±32,9	6,32
150 мг/кг	139,4±52,2	3,38	210,3±32,8	3,03	477,0±46,9	7,48
200 мг/кг	154,6±26,7	9,38	184,4±11,3	15,0	432,3±98,9	16,2
Натрію диклофенак 8 мг/кг	114,7 ±26,8*	20,5	125,2 ±32,8*	42,3	153,6 ±19,8*	70,2 %

Примітки: * - достовірна різниця ($p < 0,05$) відносно контролю

- достовірна різниця ($p < 0,05$) відносно натрію диклофенаку

Результати досліджень ГЕ примули зубчастої показали, що кращу

протизапальну активність, як і у первоцвіту весняного, проявляють субстанції з листків. GE з примули зубчастої кореневищ з коренями проявляє дещо меншу антиексудативну активність, у дозі 200 мг/кг його активність становила 16,2 %, що у 4,3 рази менша від активності препарату порівняння – натрію диклофенаку та у 1,9 рази менша від активності густого екстракту з примули зубчастої листків.

Зокрема АЕА густих екстрактів первоцвіту весняного з листків та кореневищ з коренями також найвища в дозі 200 мг/кг маси тіла тварини та у 1,2 разів вища АЕА густого екстракту з примули зубастої листків та 1,8 разів вища АЕА густого екстракту з примули зубастої кореневищ з коренями [65].

5.5 Вивчення відхаркувальної дії густих екстрактів з примули зубчастої листків та з кореневищ з коренями

Для вивчення відхаркувальної дії визначали вплив густого екстракту примули зубчастої з листків та з кореневищ з коренями на секреторну функцію бронхів [101, 141, 171].

Результати дослідження наведено в табл. 5.9 і рис. 5.1.

Таблиця 5.9

Вплив густих екстрактів примули зубчастої на секреторну функцію бронхів

Групи тварин (n=5)	Доза, мг/кг	Оптична густина, од. опт. щіл.	Здатність секретувати мокроту, %
1	2	3	4
Контроль		0,173 ± 0,020#	100%
ГЕПЗЛ	50 мг/кг	0,363 ± 0,042*#	110,4%
ГЕПЗЛ	100 мг/кг	0,371 ± 0,028*#	114,7%
ГЕПЗЛ	150 мг/кг	0,395 ± 0,045*#	128,9%
ГЕПЗЛ	200 мг/кг	0,419±0,010*	150,4%

1	2	3	4
ГЕПЗКК	50 мг/кг	0,382±0,029*#	121,1%
ГЕПЗКК	100 мг/кг	0,397±0,040*#	130,0%
ГЕПЗКК	150 мг/кг	0,410±0,042*#	137,5%
ГЕПЗКК	200 мг/кг	0,481±0,045*#	178,8%
«Геделікс» краплі	200 мг/кг	0,447 ± 0,028*	159,2%

Примітки: 1. * - достовірні відмінності ($p < 0,05$) відносно контролю

2. # - достовірні відмінності ($p < 0,05$) відносно препарату порівняння («Геделікс» краплі)

За результатами досліджень отримали зростання оптичної густини, яке віддзеркалювало підвищення концентрації барвника в досліджуваному розчині і було показником збільшення кількості інтратрахеальної секретії муцину у тварин, та слугувало доказом секреторної функції досліджуваних зразків. Визначали зміни (у відсотках) оптичної густини досліджуваних тест-зразків та референс-препарату в порівнянні з таким показником інтактного контролю.

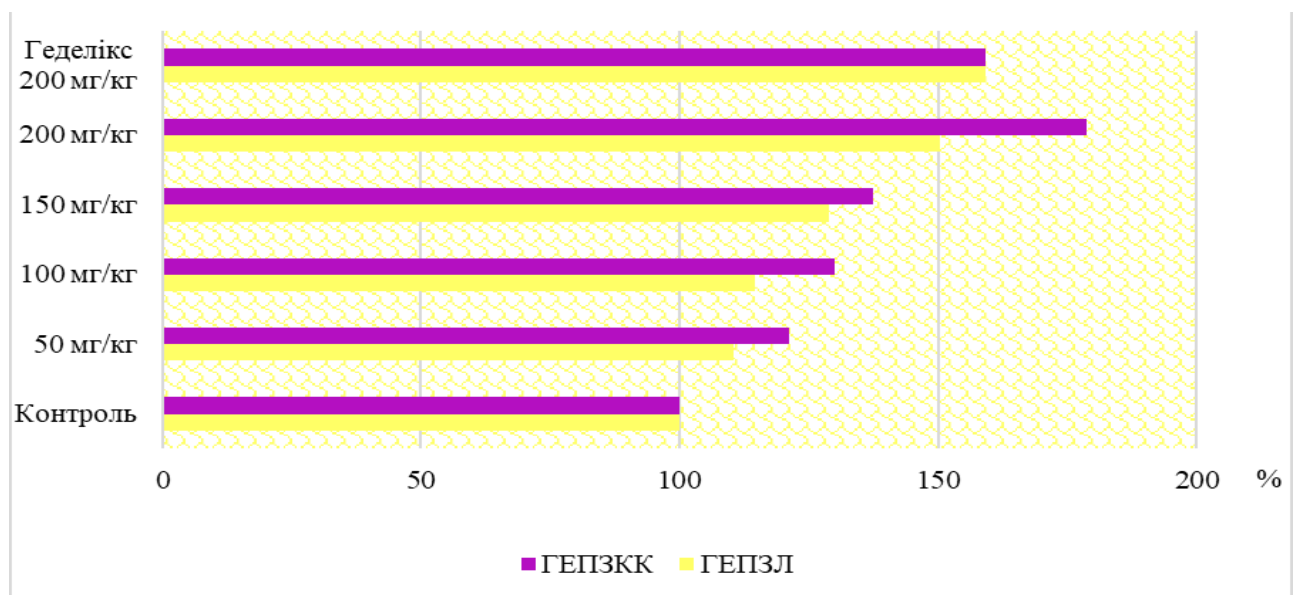


Рис. 5.1. Вплив густих екстрактів примули зубчастої на секреторну функцію бронхів

Результати досліджень показали, що ГЕ примули зубчастої мають досить високу здатність секретувати мокроту, найкращий результат показали екстракти в дозі 200 мг/кг. Зокрема, секреторна здатність ГЕ з примули зубчастої кореневищ з коренями становить 178,8 %, що у 1,1 рази вище ніж у референс-препарату «Геделікс» краплі, а густого екстракту з примули зубчастої листків – 150,4 %, що майже відповідає препарату порівняння. Також досить високу секреторну здатність показали густі екстракти з примули зубчастої кореневища з коренями у дозах 100 мг/кг та 150 мг/кг – 130,0 % та 137,5 % відповідно, а також густий екстракт з примули зубчастої листків у дозі 150 мг/кг – 128,9 %.

Відхаркуюча дія досліджуваних екстрактів та препарату порівняння – крапель «Геделікс» вивчали за їх впливом на активність моторики війчастого епітелію. Цей показник характеризує евакуаторну спроможність секрету бронхів. Дослідження відхаркувального ефекту проводили на моделі ізольованої трахеї щура.

Результати дослідження наведено в табл. 5.10.

Таблиця 5.10

Вплив густих екстрактів з примули зубчастої листків та з кореневищ з коренями на час просування макових зернят по війчастому епітелію трахеї щурів

Групи тварин (n=5)	Доза, мг на 250 мл інкубаційної суміші	Час просування макового зернятка по війчастому епітелію трахеї щура, хв
1	2	3
Контроль (розчин Тіроде)		22,6 ± 0,66
ГЕПЗЛ	50	20,8±0,42 (7,9%)
ГЕПЗЛ	100	19,7±0,49* (12,6%)
ГЕПЗЛ	150	17,5±0,60* (22,6%)

Продовж табл. 5.10

1	2	3
ГЕПЗЛ	200	15,9±0,97* (29,7%)
ГЕПЗКК	50	19,2±0,36* (14,9%)
ГЕПЗКК	100	17,8±0,50* (21,0%)
ГЕПЗКК	150	13,3±0,70* (40,9%)
ГЕПЗКК	200	12,4 ± 0,64* (45,0%)
Краплі «Геделікс»	200	12,5 ± 0,32* (44,6%)

Примітка. * - достовірні відмінності ($p < 0,05$) відносно контролю

Результати досліджень показали, що час просування макового зернятка по війчастому епітелію трахеї щура при застосуванні густого екстракту з примули зубчастої кореневищ з коренями у дозі 200 мг/кг становив 12,4 хв. (45%), що відповідав референс-препарату 12,5 хв (44,6%).

Встановлено, що обидва досліджувані екстракти примули зубчастої проявили досить високу здатність збільшувати секрецію мокротиння та моторну функцію епітелію дихальних шляхів, залежно від дози введеного екстракту. Проте відхаркувальна активність ГЕ з кореневищ з коренями дещо переважає активність екстракту з листків ПЗ. Відхаркувальна дія ГЕ з кореневищ з коренями примули зубчастої у дозі 200 мг/кг перевищує активність крапель «Геделікс».

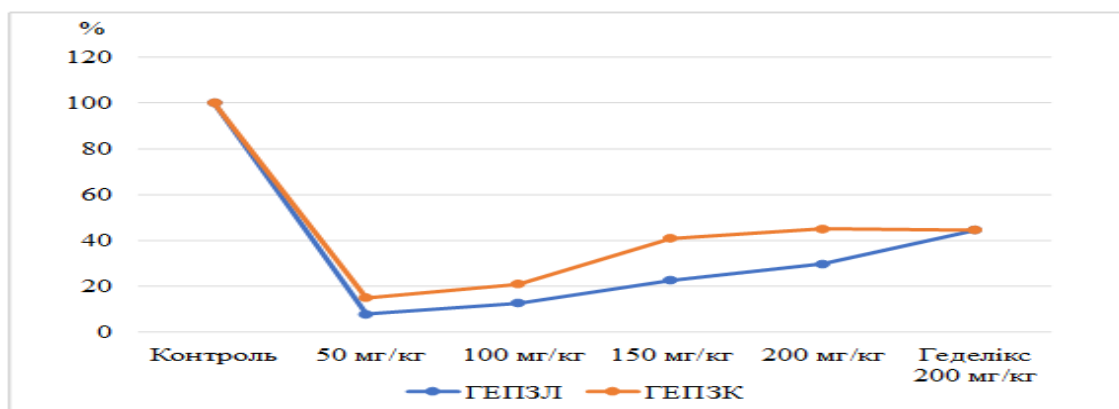


Рис. 5.2. Вплив густих екстрактів примули зубчастої на евакуаторну функцію бронхів

У первоцвіту весняного, як і у примули зубчастої, відхаркувальна активність більш виражена у ГЕ з кореневищ з коренями у дозі 200 мг/кг і становить 126,6 %, що у 1,4 менше ніж у екстракту примули зубчастої. Відхаркувальна активність екстракту з листків теж найвища у дозі 200 мг/кг і становить 74,5 %, що у 2 рази мене ніж у ГЕ з примули зубчастої листків. Час просування макового зернятка по в'ійчастому епітелію трахеї щура при застосуванні ГЕ з первоцвіту весняного кореневищ з коренями найкращий у дозі 200 мг/кг та аналогічний референс-препарату, як і у випадку досліджуваного об'єкту, проте у 1,1 рази довше ніж у екстракту примули зубчастої [65].

5.6 Вивчення антимікробної дії густих екстрактів з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями

Бактеріостатичну дію досліджуваних розчинів визначали за результатами росту еталонних штамів у нативному водному розчині взірців № 1 та № 2 та в розведеннях 1:1, 1:2, 1:4. на м'ясо-пептонному бульйоні. Бактерицидну дію – за відсутністю росту вмісту пробірок з розведенням взірців № 1 та № 2 на щільних поживних середовищах: м'ясо – пептоний агар для коків, для клебсієл і коринебактерій-кров'яно-цукровий агар. Агар Сабуро використовували для дріжджеподібних грибів роду *Candida* (*C. albicans*).

Результати дослідження наведено в табл. 5.11-5.12.

Таблиця 5.11

Антимікробна активність 40 % густого екстракту з примули зубчастої кореневищ з коренями у розведенні 1:3

Тест культура	Нативний р-н	1:1	1:2	1:4
1	2	3	4	5
<i>S. aureus</i> АТТС 6583	не проявлено дії	не проявлено дії	не проявлено дії	не проявлено дії

Продовж. табл. 5.11

1	2	3	4	5
<i>S. epidermidis</i> ATTC 14990	«те саме»	«те саме»	«те саме»	«те саме»
<i>K. pneumoniae</i> ATTC 13883	«-//-»	«-//-»	«-//-»	«-//-»
<i>C. albicans</i> ATTC 885-653	«-//-»	«-//-»	«-//-»	«-//-»
<i>Corynebacterium</i> <i>spp.</i> ATTC 373	Бактеріоста- тична дія	Бактеріоста- тична дія	«-//-»	«-//-»

Таблиця 5.12

**Антимікробна активність 70% густого екстракту примули зубчастої
листоків у розведенні 1:5**

Тест культура	Нативний р-н	1:1	1:2	1:4
<i>S. aureus</i> ATTC 6583	бактерицидна дія	бактерицид- на дія	бактерицид- на дія	не проявлено дії
<i>S. epidermidis</i> ATTC 14990	бактерицидна дія	бактерицид- на дія	бактерицид- на дія	бактеріоста- тична дія
<i>K. pneumoniae</i> ATTC 13883	не проявлено дії	не проявлено дії	не проявлено дії	не проявлено дії
<i>C. albicans</i> ATTC 885-653	«те саме»	«те саме»	«те саме»	«те саме»
<i>Corynebacteriu</i> <i>m spp.</i> ATTC 373	бактерицидна дія	бактерицид- на дія	бактеріоста- тична	бактеріоста- тична дія

За результатами досліджень виявлено, що нативний розчин екстракту з примули зубчастої кореневищ з коренями (взірець № 1) та розчин в розведенні 1:1 проявили бактеріостатичну дію тільки по відношенню до *Corynebacterium spp.*

Розчин екстракту примули зубчастої листків (взірець № 2) має більш виражені антимікробні властивості. Так нативний розчин взірця № 2 і розчин у розведенні 1:1 проявили виражену бактерицидну дію по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* та *Corynebacterium spp.* Навіть при розведенні розчину взірця № 2 до 1:2 бактерицидна дія зберігалася по відношенню до стафілококів, а по відношенню до *Corynebacterium spp* стала бактеріостатичною. При розведенні 1:4 розчин взірця № 2 зберігає бактеріостатичний ефект по відношенню до *S. epidermidis* та *Corynebacterium spp.* Але цей розчин ніяк не впливає на клібсієли і гриби роду *Candida*.

Результати досліджень свідчать, що водний розчин взірця № 2 має досить виражену антимікробну активність по відношенню до грампозитивних бактерій (коків, коринебактерій), деякі з них постійно зустрічаються на шкірі і слизових оболонках верхніх дихальних шляхів людей, відносяться до умовно-патогенних представників мікрофлори людини [44].

ВИСНОВКИ

1. Одержано густий екстракт з примули зубчастої листків; як екстрагент, що вилучає максимальну кількість БАР (суми флавоноїдів, суми гідроксикоричних кислот, суми фенольних сполук, сапонінів), обрано етанол 70 %. Стандартизацію одержаного екстракту запропоновано проводити за вмістом суми гідроксикоричних кислот, що повинна становити не менше $(11,12 \pm 0,18)$ % та вмістом сапонінів (не менше $(3,81 \pm 0,09)$ %).

2. Одержано густий екстракт з примули зубчастої густого екстракту з кореневищ з коренями; екстрагування проводили 40 % етанолом, що забезпечує максимальну кількість БАР фенольної природи та сапонінів. Стандартизацію

одержаного екстракту запропоновано проводити за вмістом сапонінів (не менше $(4,13 \pm 0,09)$ %).

3. Для проведення фармакологічних досліджень обрано густі екстракти з примули дрібнозубчастої (*Primula denticulate* Smith) листків та кореневищ з коренями, в яких вміст суми кислот гідроксикоричних у перерахунку на кислоту розмаринову, суми флавоноїдів у перерахунку на рутин, суми фенольних сполук у перерахунку на кислоту галову, сапонінів у перерахунку на есцин складав: $(11,12 \pm 0,18)$ %, $(9,21 \pm 0,25)$ %, $(13,14 \pm 0,16)$ %, $(3,81 \pm 0,09)$ % та $(3,89 \pm 0,11)$ %, $(1,37 \pm 0,09)$ %, $(4,04 \pm 0,14)$ %, $(3,89 \pm 0,08)$ % відповідно.

4. Вперше досліджено гостру токсичність нових рослинних субстанцій – густих екстрактів з примули зубчастої листків та з кореневищ з коренями. Досліджувані екстракти віднесено за класифікацією К. К. Сидорова до V класу токсичності сполук (практично нетоксичні речовини – $LD_{50} \geq 5000$ мг/кг).

5. На моделі карагенінового набряку у щурів встановлено протизапальну дію густих екстрактів з примули зубчастої листків та з кореневищ з коренями, активність якої була найвища у густого екстракту з примули зубчастої листків у дозі 200 мг/кг маси тіла тварини, яка становила 31,6 %.

6. Встановлено відхаркувальну дію густих екстрактів з примули зубчастої листків та з кореневищ з коренями та вплив досліджуваних екстрактів на секреторну функцію бронхів. Результати досліджень показали, що густі екстракти примули зубчастої мають досить високу здатність секретувати мокроту, найкращий результат спостерігали у дозі 200 мг/кг, яка склала для густого екстракту з примули зубчастої кореневищ з коренями 178,8 %, для густого екстракту з примули зубчастої листків – 150,4 %, тоді як препарат порівняння 159,2 %. Найкращу евакуаторну спроможність секрету бронхів екстракти проявляють у дозі 200 мг/кг маси тіла тварини, густий екстракт з кореневищ з примули зубчастої коренями у 1,2 рази ефективніший ніж екстракт з листків, та відповідав препарату порівняння – краплям «Геделікс».

7. Досліджено антимікробну активність густих екстрактів з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями. Доведено, що більш виражені

антимікробні властивості проявляє густий екстракт з примули зубчастої листків. По відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* та *Corynebacterium spp.* він проявляє виражену бактерицидну дію.

8. Проведено порівняльний аналіз досліджуваних фармакологічних активностей екстрактів примули зубчастої та екстракту з дикорослого виду даного роду – первоцвіту весняного.

Встановлено, що АЕА густих екстрактів первоцвіту весняного з листків та кореневищ з коренями також найвища в дозі 200 мг/кг маси тіла тварини та у 1,17 разів вища АЕА густого екстракту з примули зубастої листків та 1,79 разів вища АЕА густого екстракту з примули зубастої кореневищ з коренями. Відхаркувальна активність густого екстракту з первоцвіту весняного кореневищ з коренями у дозі 200 мг/кг становила 126,6 %, що у 1,4 менше ніж у екстракту з примули зубчастої кореневищ і коренів. Час просування макового зернятка по війчастому епітелію трахеї щура при застосуванні густих екстрактів з первоцвіту весняного кореневищ з коренями та екстракту з листків найкращий у дозі 200 мг/кг і у 1,1 рази довший у обох екстрактів ніж у екстракту примули зубчастої.

За матеріалами розділу опубліковано роботи [4, 19, 57].

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та вирішення наукових завдань, а саме комплексне фармакогностичне дослідження трьох культивованих видів роду *Primula* L. – примули зубчастої (*Primula denticulate* Smith), п. Юлії (*Primula juliae* Kusn.), п. скельної (*Primula saxatilis* Kom.) як перспективних джерел БАР, стандартизація сировини і одержаних субстанцій.

1. Проведено аналіз джерел літератури для встановлення актуальності дослідження видів роду *Primula* L. як перспективних лікарських рослин. Встановлено у примули дрібнозубчастої, п. Юлії та п. скельної листках, квітках та кореневищах з коренями наявність кислот органічних та аскорбінової, вуглеводів, жирних та амінокислот, речовин фенольного характеру (кислот гідроксикоричних, флавоноїдів, кумаринів, конденсованих дубильних речовин, антоціанів), тритерпенових сапонінів, які забезпечують їх фармакологічну активність.

2. Спектрофотометричним методом у примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної визначено кількісний вміст сполук фенольної природи: суми фенольних сполук (у листках – 5,20 %, 5,06 %, 5,47 %; у квітках – 4,98 %, 4,90 %, 6,24 %; у кореневищах з коренями – 1,11 %, 1,46 %, 0,87 %); суми гідроксикоричних кислот (у листках – 4,20 %, 3,96 %, 6,24 %; у квітках – 3,74 %, 4,63 %, 4,98 %; у кореневищах з коренями – 2,01 %, 1,49 %, 2,40 %); суми флавоноїдів (у листках – 4,64 %, 3,91 %, 2,19 %; у квітках – 4,32 %, 3,85 %, 3,06 %; у кореневищах з коренями – 0,08 %, 1,09 %, 0,29 %); танінів (у листках – 2,35 %, 1,61 %, 2,38 %; у квітках – 1,80 %, 1,46 %, 2,38 %; у кореневищах з коренями – 1,64 %, 1,11 %, 1,64 %); поліфенолів (у листках – 8,01 %, 7,43 %, 8,95 %; у квітках – 7,94 %, 7,21 %, 8,86 %; у кореневищах з коренями – 7,32 %, 5,24 %, 7,35 % відповідно). У квітках визначено кількісний вміст антоціанів – 1,08 %, 1,12 %, 0,95 % відповідно. У листках і підземних органах трьох видів примул у перерахунку на есцин, встановлено кількісний вміст сапонінів – $(0,61 \pm 0,03)$ % і $(1,79 \pm 0,06)$ %; $(0,32 \pm 0,02)$ % і $(0,98 \pm 0,04)$ %; $(0,45 \pm 0,02)$ % і $(1,54 \pm 0,07)$ % відповідно.

3. Методом ВЕРХ у трьох досліджуваних об'єктах визначено індивідуальні

фенольні сполуки: у листках та квітках – компоненти дубильних речовин (епігалокатехін, галокатехін, катехін, епікатехін, епікатехін галат, катехін галат) та вільні кислоти галову і елагову; у надземних та підземних органах індивідуальні гідроксикоричних кислоти (гідроксифенілоцтову, хлорогенову, розмаринову, кофейну, *n*-кумарову, ферулову, сирінгову, синапову, цинамову та хінну кислоти), флавоноїдів (кверцетин, ізокверцитрин, лютеолін, апігенін, гіперозид, рутин, кемпферол) та кумарини (скополетин, умбеліферон, кумарин). Встановлено амінокислотний склад примули зубчастої, п. Юлії, п. скельної листків та кореневищ з коренями, встановлено по 16 амінокислот. Серед замінних амінокислот у листках переважає глютамінова, серед незамінних – лейцин. У кореневищах з коренями кількісно домінує аргінін.

4. Визначено кількісний вміст суми вільних органічних та аскорбінової кислот у надземних та підземних органах трьох видів примул. Вміст суми вільних кислот органічних у перерахунку на кислоту яблучну становив: у ПЗ листках – 1,97 %, квітках – 1,68 %, кореневищах з коренями – 1,33 %; у ПЮ листках – 1,48 %, квітках – 1,33 %, кореневищах з коренями – 1,01 %; у ПС листках – 2,01 %, квітках – 1,75 %, кореневищах з коренями – 1,34 %; вміст кислоти аскорбінової: у ПЗ листках – 1,19 %, квітках – 0,72 %, у кореневищах з коренями – 0,53 %; у ПЮ листках – 1,46 %, квітках – 1,25 %, у кореневищах з коренями – 0,44 %; у ПС листках – 1,55 %, квітках – 1,09 %, у кореневищах з коренями – 0,51 %. Спільними органічними кислотами для сировини трьох досліджуваних об'єктів є яблучна кислота, та щавлева, окрім ПЮ квіток.

5. Методом ГХ/МС встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст моноцукрів та сахарози. У примули зубчастої листках виявлено 6 цукрів, у квітках – 5; у ПЮ листках ідентифіковано 7 цукрів, у квітках – 5; у ПС листках – 5 цукрів, у квітках – 6. У сировині примули зубчастої, п. Юлії та п. скельної встановлено вміст жирних кислот: п. зубчастої листки містять 9 жирних кислот, квітки – 13, кореневище з коренями – 10; п. Юлії листки – 7 жирних кислот, квітки та кореневище з коренями по 10; надземні та підземні органи п. скельної містять по 11 жирних кислот. Домінуючими з ненасичених

жирних кислот переважає α -ліноленова кислота – у примули зубчастої листках (88,63 мг/г), з насичених жирних кислот переважає пальмітинова, що домінує у ПЗ та ПЮ листках – 46,27 мг/г, 45,16 мг/г відповідно.

6. Досліджено морфолого-анатомічні особливості будови примул зубчастої, п. Юлії та п. скельної стебла, квітки, листків та кореневищ з коренями, визначено основні діагностичні ознаки морфологічної та анатомічної будови, що використано для ідентифікації та стандартизації даних видів рослинної сировини. Розроблено проекти МКЯ «Примули зубчастої кореневища з коренями», «Примули зубчастої листки», «Примули скельної кореневища з коренями», «Примули скельної листки», «Примули Юлії кореневища з коренями», «Примули Юлії листки».

7. Методом бісмацерації отримано модельні густі екстракти з примули зубчастої листків та кореневищ з коренями, визначено в них кількісний вміст основних груп БАР і досліджено протизапальну, відхаркувальну та антимікробну активності. Встановлено, що досліджувані екстракти належать до V класу токсичності сполук (практично нетоксичні речовини – $LD_{50} \geq 5000$ мг/кг). Найвищу антиексудативну активність проявив ГЕЛ (31,6 %). Досліджено виразну відхаркувальну активність ГЕК (45,0 %), що була аналогічна активності референс-препарату краплям «Геделікс» (44,6 %). Виражену бактерицидну дію проявляє ГЕЛ по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* та *Corynebacterium* spp. Розроблено проекти МКЯ на отримані субстанції «Примули зубчастої листків екстракт густий» та «Примули зубчастої кореневищ з коренями екстракт густий».

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бензель І. Л., Дармограй Р. Є., Бензель Л. В. Дослідження вмісту аскорбінової кислоти та вільних органічних кислот у фітосубстанціях бадану товстолистого. *Фармац. журн.* 2010. №2. С. 98–101.
2. Визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у сировині дивини звичайної / А. А. Волошина, В. С. Кисличенко, І. О. Журавель, Н. Є. Бурда // *Український медичний альманах.* 2012. Том 15, №5. С. 39–40.
3. Визначення кількісного вмісту фенольних сполук у сировині дивини звичайної / А. А. Волошина, В. С. Кисличенко, І. О. Журавель, Н. Є. Бурда // *Український журнал клінічної та лабораторної медицини.* 2012. Т. 7 №4. С. 202–203.
4. Визначення насипної густини подрібнених листків примули дрібнозубчастої (*Primula denticulata* Smith.) / В. І. Сохацький, М. М. Васенда, Л. І. Будняк, А. В. Сініченко. *Хімія природних сполук: матеріали V Всеукраїнської науково-практ. конфю з міжнародною участю.* Тернопіль, 30-31 травня 2019 р. Тернопіль, 2019. С. 140–141.
5. Вміст сапонінів у листках і кореневищах з коренями культивованих видів роду *Primula* L. / А. В. Сініченко, С. М. Марчишин, Л. І. Стойко, Л. В. Слободянюк. *Медична та клінічна хімія.* 2018. Т. 20, № 4. С. 125–129.
6. Войцехівська О. В., Ситар О. В., Таран Н. Ю. Фенольні сполуки: різноманіття, біологічна активність, перспективи застосування. *Вісник Харківського національного аграрного університету серія біологія.* 2015. № 1 (34). С. 104–119.
7. Гарник М. С. Дослідження фенольних сполук розхідника звичайного (*Glechoma hederacea* L.). *Фармацевтичний часопис.* 2015. № 3. С. 14–18.
8. Глущенко А. В. Методика визначення кількісного вмісту флавоноїдів в екстрактах кураю пагорбкового (*Ysalsola collina* L.). *Український біофармацевтичний журнал.* 2014. № 2 (31). С. 46–49.

9. Гонтова Т. М. Амінокислотний склад густих екстрактів з трави та коренів живокосту шорсткого. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2013. № 2(12). С. 4–5.

10. Грицак Л. Р. Рід *Primula L.* (*Primulaceae*) у флорі України (систематика, фітохорологія, еволюція) : автореф. дис.... на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.05. К., 2000. 20 с.

11. Гудзенко А. В., Ковальчук А. В. Пошук маркерів для стандартизації полікомпонентних фітозасобів з тонізуючою активністю. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2012. № 3 (28). С. 66–70.

12. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 2-е вид., Т. 3. Х.: Держ. п-во «Науково- експертний фармакопейний центр», 2014. 732 с.

13. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., Т. 1. Х.: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. 1128 с.

14. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., 1 допов. Х. : Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.

15. Довідник лікарських рослин. Первоцвіт весняний [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://proherbs.org.ua/view/325/>.

16. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації). За ред. чл.-кор. О. В. Стефанова. К. : Авіцена, 2001. 528 с.

17. Дослідження вмісту амінокислот і полісахаридів у надземних і підземних органах первоцвіту весняного / Л. Г. Шостак, С. М. Марчишин, М. І. Луканюк, О. Л. Демидяк // *Медична та клінічна хімія*. 2015. Т. 17, № 4 (65). С. 47–53.

18. Дослідження морфолого-анатомічної будови підземних органів культивованих видів роду *Primula L.* / А. В. Сініченко, С. М. Марчишин, Л. М.

Сіра, М. І. Луканюк. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 1(54). С. 55–63.

19. Дослідження протизапальної активності примули дрібнозубчастої листків екстракту густого / Марчишин С. М., Сініченко А. В., Будняк Л. І., Слободянюк Л. В., Козир Г. Р. // *Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації* : матеріали наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 22-23 жовтня 2019 р. / редкол. : А. А. Котвіцька та ін. Х. : НФаУ, 2019. С. 284.

20. Дослідження фенольних сполук у кореневищах з коренями *Primula denticulate* Smith, *Primula juliae* Kusn., *Primula saxatilis* Kom. / А. В. Сініченко, С. М. Марчишин, Л. В. Слободянюк, Л. І. Будняк. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 3. С. 26–31.

21. Дослідження фенольних сполук хризантеми садової багаторічної (*Chrysanthemum × hortorum* Bailey) / С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, О. В. Полонець, М. С. Гарник. *Медична та клінічна хімія*. 2016. № 2. С. 48–54.

22. Дослідження флавоноїдів первоцвіту весняного (*Primula veris* L.) / С. М. Марчишин, Л. Г. Шостак, М. І. Луканюк, І. М. Тимченко. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2015. № 2,3 (23). С. 104–106.

23. Експериментальне (доклінічне) вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби: метод. рек. / С. М. Дроговоз та ін.; за ред. О. В. Стефанова. К.: Авіцена, 2001. С. 292–306.

24. Ісюк М. В., Бензель І. Л., Бензель Л. В. Дослідження амінокислотного складу герані сибірської. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. № 3 (10). С. 4–6.

25. Кирничішин О. Р. Хімічний склад первоцвіту весняного (*Primula Veris* L.). *Науковий вісник НЛТУ України*. 2012. Вип. 22.14. С. 59–64.

26. Ковальов С. В., Ковальов В. М., Безугла О. М. Амінокислотний та мінеральний склад деяких видів *Phaseolus* L. *Вісник фармації*. 2011. № 2 (66). С. 41–44.

27. Ковальов С. В. Похідні фенолкарбонових та гідроксикоринних кислот видів ожини. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини*. 2013. №1. С. 80–83.
28. Козачок С. С., Марчишин С. М., Виноградов Б. О. Якісний склад та кількісний вміст органічних кислот у зборі антиалергічному. *Фармацевтичний часопис*. 2012. № 4. С. 67–72.
29. Левон В. Ф., Голубкова І. М. Накопичення антоціанів у надземних органах представників роду *Persica* Mill. У різні періоди вегетації. *Вісник проблем біології і медицини*. 2016. Вип. 2, Т. 3 (130). С. 79–83.
30. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика: Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008. К.: МОЗ України, 2009. 27 с.
31. Лікарські рослини: Енциклоп. довідник / Під ред. А. М. Гродзінського. – К.: Голов. ред. УРЕ, 1989. С. 326–328.
32. Марчишин С. М., Гусак Л. В., Бердей Т. С. Дослідження кислот гідроксикоричних трави чистецю Зібольда. *Медична та клінічна хімія*. 2016. № 3. С. 13–16.
33. Марчишин С. М., Гусак Л. В. Макро- та мікроскопічні ознаки і хімічний склад чистецю Зібольда трави та корневих бульб : метод. рек., Укрмедпатентінформ. Київ, 2017. 24 с.
34. Марчишин С. М., Дахим І. С., Гарник М. С. Дослідження відхаркувальної активності густого екстракту стокроток. *Фармацевтичний часопис*. 2014. №3 (31). С. 82–84.
35. Марчишин С. М., Демидяк О. Л. Амінокислотний склад арніки гірської та арніки листяної. *Фармацевтичний часопис*. 2008. № 2. С. 48–51.
36. Марчишин С. М., Козачок С. С., Зарічанська О. В. Вміст карбонових кислот у підземних і надземних органах лілійника буро-жовтого і лілійника гібридного. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 2. С. 53–58.
37. Марчишин С. М., Сініченко А. В. Амінокислотний склад культивованих видів роду *Primula* L. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних*

процесів створення лікарських препаратів : матер. VI науково-практ. конф. з міжнародною участю, Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 62–63.

38. Марчишин С. М., Сініченко А. В., Сіра Л. М. Дослідження анатомічної будови надземних органів *Primula Juliae* Kusn. *Фармацевтичний часопис*. 2016. №3 (39). С. 5–10.

39. Марчишин С. М., Сіра Л. М., Сініченко А. В. Анатомічна будова листя і квіток первоцвіту (примули) скельної (*Primula saxatilis* Komar). *Лікарські рослини: традиції і перспективи досліджень*: матеріали III Міжнар. наук. конф. (Березоточа, 14-15 липня 2016 року). ДСЛР ІАП НААН. Київ: ТОВ «ДІА», 2016. С. 59–67.

40. Марчишин С. М., Стойко Л. І. Визначення фенольних сполук у траві *Centaureum erythraea* Rafn. Методом ВЕРХ. *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 1. С. 15–17.

41. Марчишин С. М., Стойко Л. І., Дахим І. С. Визначення якісного складу та кількісного вмісту кислот гідроксикоричних у тирличу хрещатого траві (*Gentiana cruciata* L.). *Фармацевтичний журнал*. 2016. № 3-4. С. 76–81.

42. Марчишин С. М., Сушко Н. О. Лікарські рослини Тернопільщини. Тернопіль: Навчальна книга. Богдан, 2007. 312 с.

43. Марчишин С. М., Шостак Л. Г. Анатомічна будова листя і квіток первоцвіту весняного (*Primula veris* L.). *Фармацевтичний журнал*. 2014. № 6. С. 69–76.

44. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія. За ред. акад. НАН В. П. Широбокова, Вінниця, 2010. С.829, 830–831.

45. Михалюк О. Б. Дослідження ліпофільної фракції листків і плодів лимонника китайського. *Український біофармацевтичний журнал*. 2013. № 5. С. 45–49.

46. Мінарченко В. М. Ресурствознавство. Лікарські рослини: навч. пос. К. : Фітосоціоцентр. 2014. 215 с.

47. Мінарченко В. М., Тимченко І. А. Атлас лікарських рослин України. К. : Фітосоціоцентр. 2002. 172 с.

48. Морфолого-анатомічна будова підземних органів первоцвіту великочашечкового (*Primula macrocalyx bunge*) та первоцвіту весняного (*Primula veris L.*) / Г. Л. Шостак, С. М. Марчишин, Л. М. Сіра, М. І. Луканюк // *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 2 (43). С.65–70.

49. Перебойчук О. П. Перспективи використання представників роду *Primula L.* у квітникарстві лісостепу України. *Науковий вісник НЛТУ України*. 2014. Вип. 24.4. С. 112–119.

50. Практична мікробіологія. За редакцією В. П. Широбокова, С. І. Климнюка. Вінниця, Нова Книга, 2018. С. 78–81.

51. Примак Р. Яскраві та корисні, або антоціани відкривають свої таємниці. *Фармацевт Практик* 2014. № 3, С. 16–17.

52. Сафонов М. М. Повний атлас лікарських рослин. Тернопіль : Навчальна книга. Богдан, 2010. С. 176–177.

53. Сініченко А. В., Довганюк Д. З. Дослідження дубильних речовин надземних органів культивованих видів роду *Primula L.* методом ВЕРХ. *Інновації в медицині* : матер. 86-ї науково-практичної конференції студентів і молодих вчених з міжнародною участю. Івано-Франківськ, 23-24 березня 2017 р. Івано-Франківськ, 2017. С. 131.

54. Сініченко А. В. Дослідження гідроксикоричних кислот у сировині *Primula denticulata*, *Primula Juliae*, *Primula saxatilis*. *Хімія природних сполук* : матеріали IV Всеукраїнської науково-практ. конф. з міжнародною участю. Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 53-54.

55. Сініченко А. В., Марчишин С. М. Дослідження органічних кислот культивованих видів роду *Primula L.* *Інновації в медицині* : матеріали 87-ї науково-практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнародною участю, Івано-Франківськ, 22-23 березня 2018 р. Івано-Франківськ, 2018. С. 106 – 107.

56. Сініченко А. В., Марчишин С. М., Сіра Л. М. Макро- і мікроскопічне дослідження листків і квіток культивованого виду роду *Primula L.* – примули дрібнозубчастої. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 1 (48). С. 46–52.

57. Слободянюк Л. В., Сініченко А. В., Демидяк О. Л. Вивчення гострої токсичності густого екстракту з листя примули дрібнозубчастої (*Primula denticulata* Smith.) *Актуальні питання фармакології та фармакотерапії* : матер. Всеукраїнської науково-практ. конф., Тернопіль, 26-27 вересня 2019 р. / М-во охорони здоров'я України, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України». Тернопіль, 2019. С. 67.

58. Солодовниченко Н. М., Журавльов М. С., Ковальов В. Н. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: Посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікар. Рослин. Харків: Вид-во НФАУ. Золоті сторінки, 2001. 408 с.

59. Спектрофотометричне визначення флавоноїдів у плодах моркви дикої / М. Б. Чубака, Л. В. Вронська, С. В. Сур, О. Г. Смалюх, І. З. Керничина // *Медична хімія*. 2011. Т. 13, №1. С. 88–94.

60. Стойко Л. І. Фармакогностичне дослідження золототисячника звичайного (*Centaurium erythraea* Rafn.) і тирлича хрещатого (*Gentiana cruciata* L.) родини Gentianaceae : дис. ... канд. фармац. наук : 15.00.02. Х., 2018. 167 с.

61. Тернинко І. І., Бурцева О. В. Вивчення ліпофільних комплексів трави та зерна вівса посівного (*Avena sativa* L.). *Фармацевтичний журнал*. 2010. №1. С.89–95.

62. Товстуха Є. С. Золоті рецепти української народної медицини. К. : КМ Publishing. 2010. 552 с.

63. Цимбаліста Ю. А. Амінокислотний склад соняшника однорічного та топінамбура. *Фармацевтичний журнал*. 2011. № 3. С. 91–95.

64. Червона книга України. Рослинний світ / за ред. Я. П. Дідуха. – К. : Вид-во «Глобалкон-салтинг», 2009. 900 с.

65. Шостак Л. Г. Фармакогностичне вивчення первоцвіту весняного (*Primula veris* L.) та перспективи його використання у медичній практиці : дис. ... канд. фармац. наук : 15.00.02 / Шостак Любов Геннадіївна. Х., 2017. 191 с.

66. Аминокислоты в медицине / В. И. Западнюк, Л. П. Купра, М. У. Заика, И. С. Безверхая. Киев: *Здоровье*, 1982. 200 с.

67. Астамирова М. А.-М. Инвентаризация и анализ рода *Primula* L. (*Primulaceae* Vent.) Терского Кавказа и Дагестана : автореф. дисс.... соискание ученой степени канд. биол. наук: спец. 03.02.01. Астрахань, 2010. 24 с.

68. Астамирова М. А.-М. Морфологические особенности видов рода *Primula* L. использование их полезных свойств населением Северного Кавказа . *Вестник КрасГАУ*. 2011. № 2. С. 52–55.

69. Бавтутто, Г. А., Ерей Л. М. Практикум по анатомии растений : учеб. пособие. Мн: Новое издание, 2002. 464 с.

70. Биологическая активность растительных источников флавоноидов / А. В. Крикова, Р. С. Давыдов, Ю. Н. Мокин [и др.]. *Фармация*. 2006. Т. 54, № 3. С. 17–18.

71. Борисова Д. А. Аминокислоты сырья первоцвета лекарственного. *Фармация*. 2011. № 8. С. 11–13.

72. Вавилова Л. П. Примула: Научно-популярное издание. М. : Армада-пресс, 2001. 32 с.

73. Васильев А. С., Калинкина Г. И., Тихонов В. Н. Лекарственные средства растительного происхождения : справ. пособие. Томск, 2007. 124 с.

74. Веретенников А. В. Физиология растений с основами биохимии. Воронеж: Изд-во ВГУ, 1987. 256 с.

75. Волгунов Д. К. Новый вид рода *Primula* с Северного Кавказа. *Ботанические материалы Гербария БИН* (Ленинград). 1940. Т. 8. С. 111–112.

76. Гланс С. Медико-биологическая статистика / пер. с англ. Ю. А. Данилова. М. : Практика, 1998. 459 с.

77. Гонтарь Э. М. Витаминосность некоторых видов *Primula* L. Алтай. Эколого-морфологические и биологические особенности полезных растений дикорастущей флоры Сибири. Новосибирск : Медицина, 1970. С. 262–264.

78. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. 11 изд. доп. М.: Медицина, 1989. 408 с.

79. Жигунов О. Ю., Каримова О. А. К биологии редкого вида России *Primula juliae* Kusp. в условиях культуры. *ВЕСТНИК ВГУ, СЕРИЯ: ХИМИЯ. БИОЛОГИЯ. ФАРМАЦИЯ*. 2014. № 3. С. 63–67.

80. Исследование качественного и количественного состава флавоноидных соединений густого экстракта первоцвета лекарственного / Г. М. Латыпова, З. Р. Романова, В. Н. Бубенчикова, Г. В. Аюпова. *Биохимия растительного сырья*. 2009. № 4. С. 113–116.

81. Исследование состава фенольных соединений первоцвета весеннего, произрастающего во флоре Башкортостана / Г. М. Латыпова, З. Р. Романова, В. Н. Бубенчикова и др. *Башкирский химический журнал*. 2007. Т. 14, № 5. С. 34–36.

82. Касумханлы Р. А. Клиническое испытание местного *Primula macrocalyx* как отхаркивающего средства. Научные труды Азерб. пед. ин-т. Баку, 1945. Т. 1. С. 165–166.

83. Киселева Т. Л., Смирнова Ю. А., Блинков И. Л. Краткая энциклопедия современной фитотерапии с основами гомеопатии : справочник практического врача. М., 2010. 592 с.

84. Ковтонюк Н. К. К систематике секции *Cortusoides* рода *Primula* (*Primulaceae*) во флоре России. *Бот. журн.* 2011а. Т. 96. № 7. С. 953–966.

85. Ковтонюк Н. К. Секция *Crystallophlomis* рода *Primula* (*Primulaceae*) во флоре России. *Раст. мир Азиатской России*. 2011б. № 2 (8). С. 39–48.

86. Ковтонюк Н. К. Секция *Primula* рода *Primula* (*Primulaceae*) во флоре России. *Растительный мир Азиатской России*. 2013. № 2 (12). С. 61–73.

87. Ковтонюк Н. К. *Primula* L. Конспект флоры Азиатской России : Сосудистые растения. Новосибирск. 2012. С. 130–135.

88. Кузнецов Н. И. Gen. 1. *Primula* L. Материалы для флоры Кавказа. Критическое систематическо-географическое исследование (*Flora caucasica critica*). Юрьев. 1901. Ч. 4, Вып. 1. С. 52–117.

89. Куркина А. В. Методика количественного определения суммы флавоноидов в траве репешка аптечного. *Химико-фармацевтический журнал*. 2011. Т.45, № 1. С. 31–34.

90. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К. : Морион, 2000. 320 с.

91. Латыпова Г. М., Давлетшина Р. Я., Иванова Д. Ф. Оптимизация получения современной лукарственной формы первоцвета весеннего на основании фитохимических и технологических исследований. Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013. Т. 15, № 3. С. 1653–1656.

92. Медведев Ю. В. Исследование содержания фенолокислот в лекарственном и пищевом растительном сырье методом ВЭЖХ : автореф. дис. ... канд. фар мац. наук: 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Москва, 2010. 24 с.

93. Меницкий Ю. Л., Ковтонюк Н. К. *Primula L.* Конспект флоры Кавказа: в 3 томах. Т. 3, ч. 2. М. 2012. С. 324–360.

94. Меницкий Ю. Л. Конспект видов семейства *Primulaceae* Кавказа. *Бот. журн.* 2000. Т. 85, № 6. С. 152–167.

95. Меньшикова З. А., Меньшикова И. Б., Попова В. Б. Энциклопедия лекарственных растений. М. : Изд-во «Адонис», 2006. 464 с.

96. Методические рекомендации. Определение активности антибактериальных средств наружного применения для лечения гнойно-воспалительных инфекций. [Сост. Н. Ф. Калениченко и др.]. Харьков, 1991. 16 с.

97. Немирович-Данченко Е. Н. Семейство *Primulaceae*. *Сравнительная анатомия*. Т. 4. СПб. 1992. С. 65–70.

98. Оленников Д. Н., Танхаева Л. М. Методика количественного определения группового состава углеводного комплекса растительных объектов. *Химия растительного происхождения*. 2006. № 4. С. 29–33.

99. Определение флавоноидов и гидроксикоричных кислот в траве *Tagetes erecta L.*, *Tagetes patula L.* и *Tagetes tenuifolia Cav.* методом ВЭЖХ [Электронный ресурс] / С. М. Марчишин, Т. С. Бердей, С. С. Козачок, О. Л. Демьдяк. *Медицина и образование в Сибири*: сетевое научное издание. 2014. № 1. Режим доступа :

http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1205(дата звернення: 05.05.2019)

Назва з екрану.

100. Особенности выделения сапонинов из корнеплодов растения *Beta vulgaris* L. / Т. А. Брежнева, С. А. Атаманова, А. И. Сливкин [и др.]. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2004. № 1. С. 152–155.

101. Патент РФ 2461388С1 Экстракт *Coptidis rhizoma* и его новое применение в лечении респираторного заболевания. / Аух Д., Ким Чанг-Хван, Хан Чанг-Кьюн и др. 2009. [Электронный ресурс] <http://www.freepatent.ru/images/patents/21/2461388/patent-2461388.pdf>

102. Пономарев В. Д. Экстрагирование лекарственного растительного сырья. М. : Медицина, 1976. 204 с.

103. Попова Н. В., Литвиненко В. И., Куцанян А. С. Лекарственные растения мировой флоры. Х. : Діка плюс, 2016. С. 318.

104. Попова Т. П., Литвиненко В. И. Некоторые общие закономерности извлечения действующих веществ из лекарственного сырья. *Фармаком*. 1993. № 1. С. 13–15.

105. Практикум по фармакогнозии: учеб. Пособие для студ. Вузов / В. Н. Ковалев и др.; под общ. ред. В.Н. Ковалева. Харьков : Изд-во НФаУ. Золотые страницы, 2003. 512 с.

106. Примула, или Первоцвет (*Primula*) сем. Первоцветные. Энциклопедия декоративных садовых растений [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://flower.onego.ru/other/primula.html>

107. Примула мелкозубчатая — *Primula denticulata* Smith. [Электронный ресурс]. Энциклопедия декоративных садовых растений. Режим доступа к инф. : http://flower.onego.ru/other/primul_g.html

108. Примула скальная — *Primula saxatilis* Komar. Энциклопедия декоративных садовых растений [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://flower.onego.ru/other/other/primul_c.html

109. Примула Юлии — *Primula juliae* Kusun. Энциклопедия декоративных садовых растений [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://flower.onego.ru/other/primul_p.html

110. Прозоровский В. Б. Практическое пособие по ускоренному определению средних эффективных доз и концентрации биологически активных веществ. СПб, 1992. 42 с.

111. Растения рода «первоцвет» как перспективные источники профилактических и лекарственных средств / Г. М. Латыпова, В. Н. Бубенчикова, В. А. Катаев, З. Р. Романова. Уфа: «Здравоохранение Башкортостана», 2011. 108 с.

112. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М. : МедиаСфера, 2006. 312 с.

113. Романова З. Р. Фармакогностическое исследование первоцвета весеннего и первоцвета крупночашечного: автореф. дис. ...канд. фармац. наук: 14.00.02. Романова Земфира Рашитовна. Курск, 2011. 22 с.

114. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., Ремедиум, 2000. 398 с.

115. Рябоконт А. А. Справочник лекарственных растений. Х., 2005. С. 201–202.

116. Серебряная Ф. К. Сравнительное морфолого-анатомическое исследование надземных органов Северо-Кавказских видов рода *Primula L.* *Медицинский Альманах*. 2010. № 3 (12). С. 209–211.

117. Сернов Л. Н., Гацура В. В. Элементы экспериментальной фармакологии. Москва: Всерос. науч. центр по безопасности биол. актив. веществ, 2000. 351 с.

118. Состав органических кислот в растениях рода Первоцвет / Г. М. Латыпова, Д. И. Иванова, Р. Я. Ягафарова, О. И. Уразлина. *Сибирский медицинский журнал*. 2014. № 3. С. 96–98.

119. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы / Р. П. Барыкина, Т. Д. Веселова, А. Г. Девятковит и др. М. : МГУ, 2004. 312 с.

120. Стандартизация густого экстракта водяники черной / Е. В. Ермилова, Т. В. Кадырова, Е. А. Краснов, А. А. Блинникова. *Химико-фармацевтический журнал*. 2002. Т. 36, № 9. С. 40-43.
121. Стентон Г. Медико-биологическая статистика. М.: Практика. 1999. 459 с.
122. Фармакологические свойства растений - представителей рода первоцвет как перспективных источников получения новых лекарственных препаратов / Г. В. Белик, Д. В. Семенив, Т. А. Куценко, Ю. В. Столетов, В. А. Уланова. *Наукова думка інформаційного століття* : матеріали Міжнародної наук.-практ. конф. 19 червня 2017 р. м. Дніпро. Одеса: Друкарня «Друкарник», 2017. Т.6. С. 71–80.
123. Федоров Ан. А. Первоцвет – *Primula L.* Флора СССР. М.; Л. 1952. Т. 18. С. 111–202.
124. Федоров Ан. А. *Primulaceae Vent.* – Первоцветные. Флора европейской части СССР. Л. 1981. Т. 5. С. 63–83.
125. Фенольные соединения травы и клубеньков чистеца Зибольда (стахиса) (*Stachys sieboldii* Miq.) украинской интродукции / Л. Т. Мищенко, А. В. Дащенко, С. М. Марчишин, Л. В. Гусак. *Перспективні напрямки наукових досліджень лікарських та ефіролійних культур*: матер. II Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених, 4-5 червн. 2015 р. Березоточа, 2015. С. 127–131.
126. Фитохимический анализ лекарственного растительного сырья. Санкт-Петербург: Изд-во С-Пб хим.-фарм. Академии, 1998. 59 с.
127. Фурст, Г. П. Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей. М. : Наука, 1979. 154 с.
128. Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. Учебник. М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. 512 с.
129. Analysis of minor flavonoids in *Piper hostmannianum* var. *berbicense* using liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry / B. Portet, N. Fabre, R. Rozenberg [et al.]. *J. of Chromatography A*. 2008. Vol. 1210. № 1. P. 45–54.

130. Analysis of phenolic compounds from *Polymnia sonchifolia* Poepp. et Endl. leaves by HPLC-method / S. Marchyshyn, N. Hudz, I. Dakhym [et al.]. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. № 6 (7). C. 980–983.

131. Analysis of the monosaccharide composition of purified polysaccharides in *Ganoderma atrum* by capillary gas chromatography / Y. I. Chen, M. Y. Xie, Y. X. Wang [et al.]. *Phytochem Anal.* 2009, Vol. 20 (6). P. 38–40.

132. Antidiabetic potential of triterpenoid saponin isolated from *Primula denticulate* / Singh S, Farswan M, Ali S. *Pharm. Biol.* 2014. №52(6). C. 750–755.

133. Antioxidant, antihemolytic, and inhibitory activities of endemic *Primula heterochroma* against Fe(2+)-induced lipid peroxidation and oxidative stress in rat brain in vitro / H. Alinezhad, M. Zare, S.F. Nabavi [et al.]. *Pharm. Biol.* 2012. Vol. 50, № 11. P. 1391–1396.

134. Assessing the protective effect of *Primula heterochroma* stapf extracts against sodium fluoride-induced Hemolysis in rat erythrocytes / H. Alinezhad, M. Zare, S.F. Nabavi [et al.]. *Fluoride*. 2011. Vol. 44, № 4. P. 238–242.

135. Biological effects of epicuticular flavonoids from *Primula denticulata* on human leukemia cells / S. V. Tokalov, B. Kind, E. Wollenweber, H. O. Gutzeit. *J. Agric. Food Chem.* 2004. №2. – C. 239–245.

136. Combining pressurized liquids with ultrasound to improve the extraction of phenolic compounds from pomegranate peel (*Punica granatum L.*) / B. R. Sumerea, M. C. Souzaa, M. P. Santosa [et al.]. *Ultrasonics sonochemistry*. 2018. T. 48. P. 151–162.

137. Comparative phytochemical and morphological analyses of three Italian *Primula* species. / G. Fico, G. Rodondi, G. Flamini, D. Passarella, F. Tome. *Phytochemistry*. 2007. № 68 (12). P. 1683–1691.

138. Determination of flavonoids in flowers of herbs from *Primula* genus by HPLC method / A. Sinichenko, L. Shostak, S. Marchyshyn, S. Kozachok. The application of analytical methods for the development of natural products: materials of 10th International Symposium on Chromatography of Natural Products, June 6-9, 2016. Lublin, 2016. P. 165.

139. Determination of phenolic compounds from *Stachys sieboldii* MIQ. herb and tubers / L. Husak, I. Dakhym, S. Marchyshyn et al. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. Vol. 6 (9). P. 450–453.
140. Electron Microscopy. Methods and Protocols / ed. by Nasser Hajibagheri. *Methods In Molecular Biology. Humana Press*, Totowa NJ., 2003. Vol. 117. 276 p.
141. Engler H., Szelenyi I. Tracheal phenol red secretion, a new method for screening mucosecretolytic compounds. *J. Pharmacol Methods*. 1984. №11 (3). P. 151–157.
142. Farinose alpine *Primula* species: Phytochemical and morphological investigations / Paola S. Colombo, Guido Flamini, Michael S. Christodoulou, Graziella Rodondi, Sara Vitalini, Daniele Passarella, Gelsomina Fico. *Phytochemistry*. 2014. №98. C. 151–159.
143. Frémont L., Belguendouz L., Delpal S. Antioxidant activity of resveratrol and alcohol-free wine polyphenols related to LDL oxidation and polyunsaturated fatty acids. *Life Sci*. 1999. № 64 (26). P. 2511–2521.
144. GS/MS analysis of fatty acids in flowers and leaves of *Chrysanthemum × hortorum* Bailey Belgo and *Pectoral' variants* / S. Marchyshyn, O. Polonets, O. Zarichanska, and M. Garnyk. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. Vol. 6 (11). P. 463–466.
145. Guerrant G. O., Moss C. W. Determination of monosaccharides as aldononitrile, O-methyloxime, alditol, and cyclitol acetate derivatives by gas-chromatography. *Analytical Chemistry*. 1984. № 56. P. 633–638.
146. Hu C. M., Kelso S. *Primulaceae*. Flora of China. V. 15. (Myrsinaceae through Loganiaceae). *Beijing; St. Louis*. 1996. P. 39–189.
147. Investigation of phenolic compounds of *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. Herb / S. Marchyshyn, R. Basaraba, T. Berdey. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. № 6 (8). P. 09–11.
148. Investigation of phenolic compounds of *Primula veris* L. / L. G. Shostak, S. M. Marchyshyn, S. S. Kozachok, R. V. Karbovska. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016. Vol. 6, № 5. P. 424–432.

149. In vitro anti-inflammatory and anti-microbial activity of cowslip flowers (*Primula veris* L.) / S. Seifert, B. Kopeinig, R. Bauer [et al.]. *Planta Med.* 2012. Vol. 78, № 11.

150. Isolation and characterization of methoxylated flavones in the flowers of *Primula veris* by liquid chromatography and mass spectrometry / C.W. Huck, C.G. Huber, K.H. Ongania, G.K. Bonn. *J. Chromatogr. A.* 2000. Vol. 870, № 1-2. P. 453–462.

151. Jámbor A., Molnár-Perl I. Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. Literature overview and further study. *Journal of Chromatography A*, 1216. 2009. P. 3064–3077.

152. Justesen U., Knuthsen P., Leth T. Determination of plant polyphenols in Danish foodstuffs by HPLC-UV and LC-MS detection. *Cancer Letters.* 1997. T. 114. №. 1-2. C. 165–167.

153. Kovtonyuk N. K. Family *Primulaceae*. Flora of Siberia. Pyrolaceae – Lamiaceae (Labiatae). NH, USA. Enfi eld: *Science Publishers.* 2006. V. 11. P. 37–56.

154. Marchyshyn S. M., Milian I. I. The content of fatty acids in lipophilic extracts of *Veronica chamaedrys* L. and *Veronica officinalis* L. *Journal of Education, Health and Sport.* 2016. Vol. 6, № 3. P. 91–96.

155. Marchyshyn S. M., Sinichenko A. V. Investigation of phenolic compounds about ground organs of cultivated species genus *Primula* L. *The Pharma Innovation Journal.* 2016. №5 (10). P. 38–42.

156. Najmus-Saqib, Q., Alam F., Ahmad M. Antimicrobial and cytotoxicity activities of the medicinal plant *Primula Macrophylla*. *J. Enzyme Inhibit. Med. Chem.* – 2009. Vol. 24, № 3. P. 697–701.

157. Orphan flavonoids and dihydrochalcones from *Primula exudates* / T.D. Bhutia, K.M. Valant-Vetschera, L. Brecker. *Nat. Product Commun.* 2013. Vol. 8, № 8. P. 1081–1084.

158. Pax F. Monographische Übersicht über die Arten der Gattung *Primula*. *Bot. Jahrb. Syst.* 1889. Bd. 10. P. 75–241.

159. Pax F. *Primula L.* H.G.A. Engler (Ed.). Das Pfl anzenreich. Bd. IV, H. 237. Berlin. 1905. P. 16–160.
160. Perevertkina, I. V., Volkov A. D., Bolotov V. M. Vliyanie golicerina na ehkstragirovanie antocianovyh pigmentov iz rastitel'nogo syr'ya. Himiya rastitel'nogo sir'ya. 2011. №. 2. P. 187–188.
161. *Primula L.* / C. F. Ledebour, C. A. Meyer, A .A. Bunge. Flora Altaica. 1829. T. 1. P. 208–214.
162. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. *Journal of Chromatography A.* 1216. 2009. P. 6218–6223.
163. Rapid, Accurate, Sensitive, and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids Amino Acid Analysis Using Zorbax Eclipse-AAA Columns and the Agilent 1100 HPLC / John W. Henderson, Robert D. Ricker, Brian A. Bidlingmeyer, and Cliff Woodward. Agilent Technical Note. 1999. 5980–1193E
164. Richards J. *Primula*. Illustrated by B. Edwards. Portland. 1993. 300 p.
165. Richards J. *Primula*. Illustrations by B. Edwards. New edition. Portland. 2003. 348 p.
166. Ruprecht F. J. Bemerkungen über die Caucasischen *Primeln*. *Bull. Acad. Sci. Petersb.* 1863. T. 6. P. 218–238.
167. Sanjay Singh Biological Screening of Plants Extract Showing Hypoglycaemic and Wound Healing Properties: *Capparis zeylanica* and *Primula denticulata* / Sanjay Singh, Sadath Ali and Mamta Singh. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics.* 2014. №2 (12). C.1338–1345.
168. Schott H. Die Sippen der österreichischen Primeln. Wien. 1851. P 14.
169. Sensitive Determination of Catechins in Tea by HPL. Thermo scientific. DIONEX corporation. 2011. AN 275. 9 p.
170. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine / Di Rosa M., Giround J. P., Willoughby D. A. *J. Pathol.* 1971. Vol. 104, № 1. P. 15–29.

171. The expectorant activity of naringenin / Lin BQ, Li PB, Wang YG, Peng W, Wu Z, Su WW, Ji H. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*. 2008. Vol. 21, N2. P.259–263.

172. The genus *Primula* in cultivation and in the wild / J. J. Halda. Denver. 1992. 364 p.

173. Triterpene Saponins from *Primula veris* subsp. *macrocalyx* and *Primula elatior* subsp. *meyeri*. / I. Calis, A. Yuruker, H. Ruegger, A. Wright, O. Sticher. *J. Nat. Prod.* 1992. № 55 (9). P. 1299–1306.

174. Valentine D.H., Kress A. *Primula*. *Flora Europaea*. 1972. V. 3. *Cambridge Univ. Press*. P. 15–20.

175. Weerasak S., Vorarat S. Simultaneous determination of gallic acid, catechin, rutin, ellagic acid and quercetin in flower extracts of *Michelia alba*, *Caesalpinia pulcherrima* and *Nelumbo nucifera* by HPLC. *Thai pharmaceutical and health science journal*. 2007. Vol. 2, № 2. P. 131–137.

Продовж. дод. А.1

Примітка. Реактиви наведені у цьому документі, описані у відповідних розділах ДФУ*.

УПАКОВКА

По 50 г у пакет із плівки поліпропіленової пакувальної. Пакет разом з інструкцією для медичного застосування вкладають у картонну пачку, допускається текст інструкції для медичного застосування друкувати на пачці.

МАРКУВАННЯ

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла та вологи місці, при температурі не вище 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробники:
Професор,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Здобувач кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



А. В. Сініченко

Додаток А.2

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор Тернопільського
національного медичного університету

Ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор

М. М. Корда

2020 р.



**ПРОЄКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

**Примули зубчастої кореневища з коренями
Primula denticulata rhizomata cum radicibus**

кореневища з коренями по 50 г у пакетах

Термін введення встановлено з

«___» _____ 20__ р.

«___» _____ 20__ р.

Продовж. дод. А.2

Примітка. Реактиви наведені у цьому документі, описані у відповідних розділах ДФУ*.

УПАКОВКА

По 50 г у пакет із плівки поліпропіленової пакувальної. Пакет разом з інструкцією для медичного застосування вкладають у картонну пачку, допускається текст інструкції для медичного застосування друкувати на пачці.

МАРКУВАННЯ

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла та вологи місці, при температурі не вище 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробники:

Професор,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Здобувач кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



А. В. Сініченко

Продовж. дод. А.3

Примітка. Реактиви наведені у цьому документі, описані у відповідних розділах ДФУ*.

УПАКОВКА

По 50 г у пакет із плівки поліпропіленової пакувальної. Пакет разом з інструкцією для медичного застосування вкладають у картонну пачку, допускається текст інструкції для медичного застосування друкувати на пачці.

МАРКУВАННЯ

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла та вологи місці, при температурі не вище 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробники:
Професор,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Здобувач кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



А. В. Сініченко

Додаток А.4

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор Тернопільського
національного медичного університету
ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор
М. М. Корда
2020 р.



ПРОЄКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Примули Юлії кореневища з коренями
Primula juliae rhizomata cum radicibus

кореневища з коренями по 50 г у пакетах

Термін введення встановлено з
« ___ » _____ 20__ р.
« ___ » _____ 20__ р.

Продовж. дод. А.4

Примітка. Реактиви наведені у цьому документі, описані у відповідних розділах ДФУ*.

УПАКОВКА

По 50 г у пакет із плівки поліпропіленової пакувальної. Пакет разом з інструкцією для медичного застосування вкладають у картонну пачку, допускається текст інструкції для медичного застосування друкувати на пачці.

МАРКУВАННЯ

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла та вологи місці, при температурі не вище 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробники:
Професор,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Здобувач кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



А. В. Сініченко

Додаток А.5

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор Тернопільського
національного медичного університету
І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор
М. М. Корда
«03» «01» 2020 р.



**ПРОЄКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

**Примули скельної листки
Primula saxatilis folia**

дистки по 50 г у пакетах

Термін введення встановлено з
«__» _____ 20__ р.
«__» _____ 20__ р.

Продовж. дод. А.5

Примітка. Реактиви наведені у цьому документі, описані у відповідних розділах ДФУ*.

УПАКОВКА

По 50 г у пакет із плівки поліпропіленової пакувальної. Пакет разом з інструкцією для медичного застосування вкладають у картонну пачку, допускається текст інструкції для медичного застосування друкувати на пачці.

МАРКУВАННЯ

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла та вологи місці, при температурі не вище 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробники:

Професор,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Здобувач кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



А. В. Сініченко

Додаток А.6

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Ректор Тернопільського
національного медичного університету
ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор
М. М. Корда
2020 р.

**ПРОЄКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

**Примули скельної кореневища з коренями
*Primula saxatilis rhizomata cum radicibus***

кореневища з коренями по 50 г у пакетах

Термін введення встановлено з
«__» _____ 20__ р.
«__» _____ 20__ р.

Продовж. дод. А.6

Примітка. Реактиви наведені у цьому документі, описані у відповідних розділах ДФУ*.

УПАКОВКА

По 50 г у пакет із плівки поліпропіленової пакувальної. Пакет разом з інструкцією для медичного застосування вкладають у картонну пачку, допускається текст інструкції для медичного застосування друкувати на пачці.

МАРКУВАННЯ

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла та вологи місці, при температурі не вище 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробники:

Професор,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Здобувач кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



А. В. Сініченко

Додаток А.7

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор Тернопільського
національного медичного університету
ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор
М. М. Корда
« 03 » _____ 2020 р.



**ПРОЄКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

**Примули зубчастої листків екстракт густий
Primula denticulata folia extractum densum**

Термін введення встановлено з
« ____ » _____ 20 ____ р.
« ____ » _____ 20 ____ р.

Продовж. дод. А.7

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор Тернопільського
національного медичного університетуІ. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор

М. М. Корда

2020 р.

Заявник, країна: Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Україна

Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ**Примули зубчастої листків екстракт густий****Primula denticulata folia extractum densum**

Продовж. дод. А.7

МАРКУВАННЯ

На етикетці мішка або тюка вказують країну, підприємство-виготовлювач і його товарний знак, «Розробка ТНМУ ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль», назву екстракту на латинській та українській мовах, масу екстракту в кілограмах, умови зберігання, номер серії, термін придатності, штриховий код.

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

ЗБЕРІГАННЯ

У прохолодному, сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Протизапальний, відхаркувальний, антимікробний засіб.

Розробники:
Професор,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Здобувач кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



А. В. Сініченко

Додаток А.8

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор Тернопільського
національного медичного університету
ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор медичних наук, професор
М. М. Корда
2020 р.



ПРОЄКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Примули зубчастої кореневищ з коренями екстракт густий
Primula denticulata rhizomata cum radicibus extractum densum

Термін введення встановлено з
«___» _____ 20__ р.
«___» _____ 20__ р.

Продовж. дод. А.8

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор Тернопільського
національного медичного університету

імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

доктор медичних наук, професор

М. М. Корда

2020 р.



Заявник, країна: Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Україна
Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Примули зубчастої кореневищ з коренями екстракт густий
Primula denticulata rhizomata cum radicibus extractum densum

Продовж. дод. А.8

МАРКУВАННЯ

На етикетці мішка або тюка вказують країну, підприємство-виготовлювач і його товарний знак, «Розробка ТНМУ ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль», назву екстракту на латинській та українській мовах, масу екстракту в кілограмах, умови зберігання, номер серії, термін придатності, штриховий код.

У відповідності з макетом графічного оформлення упаковки.

ЗБЕРІГАННЯ

У прохолодному, сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Протизапальний, відхаркувальний засіб.

Розробники:
Професор,
доктор фармацевтичних наук,
завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



С. М. Марчишин

Здобувач кафедри
фармакогнозії з медичною
ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



А. В. Сініченко

Додаток Б.1



«Затверджую»

Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного
фармацевтичного університету,
проф. Загайко А. П.

« 2 » « 03 » 20 18 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** морфолого-анатомічна будова надземних і підземних органів культивованих видів роду Примула.
2. **Установа, автор:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою, здобувач Сініченко А. В.
 1. Марчишин С.М., Сініченко А. В., Сіра Л. М. Дослідження анатомічної будови надземних органів *Primula juliae* Kusun. *Фармацевтичний часопис*. 2016. № 3 (39). С. 5-10.
 2. Дослідження морфолого-анатомічної будови підземних органів культивованих видів роду *Primula L.* / А. В. Сініченко, С. М. Марчишин, Л. М. Сіра, М. І. Луканюк. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 1 (54). С. 55-63.
 3. Марчишин С.М. Анатомічна будова листя і квіток первоцвіту (примули) скельної (*Primula saxatilis* Komar) / С.М. Марчишин, Л.М. Сіра, А.В. Сініченко // Лікарські рослини: традиції і перспективи досліджень: матеріали III Міжнар. наук. конф. (Березоточа, 14-15 липня 2016 року) / ДСЛР ІАП НААН. – Київ: ТОВ «ДІА», 2016. – С. 59-67.
Вивчено морфолого-анатомічну будову надземних і підземних органів органів примули скельної, примули Юлії, примули зубчастої та визначено основні макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки кореневищ з коренями, квіток та листків.
4. **Де впроваджено:** кафедра ботаніки Національного фармацевтичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови рослин родини первоцвіті.
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Завідувач кафедри ботаніки,
д. фарм. н., професор

Т.М. Гонтова

Додаток Б.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
проф., д.мед.н Власенко О.В.

« 04 » « 04 » 2018 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** морфолого-анатомічна будова та хімічний склад надземних і підземних органів культивованих видів роду Примула.
2. **Установа, автор:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою, здобувач Сініченко А. В.
3. **Джерела інформації:**
 1. Marchyshyn S. M., Sinichenko A. V. Investigation of phenolic compounds about ground organs of cultivated species genus *Primula* L. *The Pharma Innovation Journal*. 2016. № 5(10). P. 38-42.
 2. Марчишин С.М., Сініченко А. В., Сіра Л. М. Дослідження анатомічної будови надземних органів *Primula Juliae* Kusp. *Фармацевтичний часопис*. 2016. № 3 (39). С. 5-10.
 3. Дослідження морфолого-анатомічної будови підземних органів культивованих видів роду *Primula* L. / А. В. Сініченко, С. М. Марчишин, Л. М. Сіра, М. І. Луканюк. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 1 (54). С. 55-63.
 4. Марчишин С.М. Анатомічна будова листя і квіток первоцвіту (примули) скельної (*Primula saxatilis* Komar) / С.М. Марчишин, Л.М. Сіра, А.В. Сініченко // Лікарські рослини: традиції і перспективи досліджень: матеріали III Міжнар. наук. конф. (Березоточа, 14-15 липня 2016 року) / ДСЛР ІАП НААН. – Київ: ТОВ «ДІА», 2016. – С. 59-67.
- Вивчено морфолого-анатомічну будову надземних і підземних органів культивованих видів роду Примула, визначено їх основні макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки; встановлено хімічний склад досліджуваної сировини.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармацевтичної хімії ВНМУ ім. М.І. Пирогова.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови та хімічного складу лікарських рослин родини айстрові.
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармацевтичної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, протокол № 7 від 3 квітня 2018 р.

Відповідальний за впровадження,
зав. кафедри фармацевтичної хімії

доц. Ющенко Т.І.

Додаток Б.3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з наукової роботи
 Вінницького національного медичного
 університету ім. М.І. Пирогова
 проф., д.мед.н Власенко О.В. 
 « 08 » « 08 » 2018 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** морфолого-анатомічна будова та хімічний склад надземних і підземних органів культивованих видів роду Примула.
2. **Установа, автор:** ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою, здобувач Сініченко А. В.
3. **Джерела інформації:**
 1. Marchyshyn S. M., Sinichenko A. V. Investigation of phenolic compounds about ground organs of cultivated species genus *Primula* L. *The Pharma Innovation Journal*. 2016. № 5(10). P. 38-42.
 2. Марчишин С.М., Сініченко А. В., Сіра Л. М. Дослідження анатомічної будови надземних органів *Primula juliae* Kusp. *Фармацевтичний часопис*. 2016. № 3 (39). С. 5-10.
 3. Дослідження морфолого-анатомічної будови підземних органів культивованих видів роду *Primula* L. / А. В. Сініченко, С. М. Марчишин, Л. М. Сіра, М. І. Луканюк. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 1 (54). С. 55-63.
 4. Марчишин С.М. Анатомічна будова листя і квіток первоцвіту (примули) скельної (*Primula saxatilis* Komar) / С.М. Марчишин, Л.М. Сіра, А.В. Сініченко // Лікарські рослини: традиції і перспективи досліджень: матеріали III Міжнар. наук. конф. (Березоточа, 14-15 липня 2016 року) / ДСЛР ІАП НААН. – Київ: ТОВ «ДІА», 2016. – С. 59-67.
- Вивчено морфолого-анатомічну будову надземних і підземних органів культивованих видів роду Примула, визначено їх основні макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки; встановлено хімічний склад досліджуваної сировини.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармації ВНМУ ім. М.І. Пирогова.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови та хімічного складу лікарських рослин родини айстрові.
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармації Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, протокол № 12 від 07.05.2018 р.

Відповідальний за впровадження,
 зав. кафедри фармації



доц. Кривов'яз О.В.

Додаток Б.4

“ЗАТВЕРДЖУЮ”
Перший проректор з науково-педагогічної роботи
Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
член-кор. НАПН України, д. пед. наук, професор
Я.В. Цехмістер



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: морфолого-анатомічна будова та хімічний склад надземних і підземних органів культивованих видів роду *Примула*.

2. Установа, автор: ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою, здобувач Сініченко А. В.

3. Джерела інформації:

1. Marchyshyn S. M., Sinichenko A. V. Investigation of phenolic compounds about ground organs of cultivated species genus *Primula* L. *The Pharma Innovation Journal*. 2016. № 5(10). P. 38-42.

2. Марчишин С.М., Сініченко А. В., Сіра Л. М. Дослідження анатомічної будови надземних органів *Primula Juliae* Kusun. *Фармацевтичний часопис*. 2016. № 3 (39). С. 5-10.

3. Дослідження морфолого-анатомічної будови підземних органів культивованих видів роду *Primula* L. / А. В. Сініченко, С. М. Марчишин, Л. М. Сіра, М. І. Луканюк. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 1 (54). С. 55-63.

4. Марчишин С.М. Анатомічна будова листя і квіток первоцвіту (примули) скельної (*Primula saxatilis* Komar) / С.М. Марчишин, Л.М. Сіра, А.В. Сініченко // Лікарські рослини: традиції і перспективи досліджень: матеріали III Міжнар. наук. конф. (Березоточа, 14-15 липня 2016 року) / ДСЛР ІАП НААН. – Київ: ТОВ «ДІА», 2016. – С. 59-67.

Вивчено морфолого-анатомічну будову надземних і підземних органів культивованих видів роду *Примула* – примули скельної, примули Юлії, примули зубчастої, визначено їх основні макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки; встановлено хімічний склад досліджуваної сировини.

4. Де впроваджено: в науково-педагогічний процес кафедри фармакогнозії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

5. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови та хімічного складу лікарських рослин родини первоцвітні.

7. Строки впровадження: 2017-2018 навчальний рік.

Зав. кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця
д. біол. н., професор

В. М. Мінарченко

Додаток В

АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. II Міжнародна науково-практична internet-конференція (Харків, 21-23 березня 2016 р., форма участі – публікація тез).
2. IV Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р., форма участі – публікація тез).
3. 10th International Symposium on Chromatography of Natural Products, (Lublin, June 6-9, 2016, форма участі – стендова доповідь).
4. III Міжнародна наукова конференція (Березоточа, 14-15 липня 2016 р., форма участі – публікація статті).
5. VIII Національний з'їзд фармацевтів України (Харків, 13-16 вересня 2016 р., форма участі – стендова доповідь).
6. VI Науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р., форма участі – публікація тез).
7. 86-а науково-практична конференція студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 23-24 березня 2017 р., форма участі – публікація тез).
8. 87-а науково-практична конференція студентів і молодих вчених з міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 22-23 березня 2018 р., форма участі – публікація тез).
9. V Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 30-31 травня 2019 р., форма участі – публікація тез).
10. Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання фармакології та фармакотерапії», (Тернопіль, 26-27 вересня 2019 р., форма участі – публікація тез).

Продовж. дод. В

11. Науково-практична internet-конференція «Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації» (Харків, 22-23 жовтня 2019 року, форма участі – публікація).

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Марчишин С. М., Сініченко А. В., Сіра Л. М. Дослідження анатомічної будови надземних органів *Primula Juliae* Kusn. *Фармацевтичний часопис*. 2016. №3 (39). С. 5-10. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання глав монографії).

2. Сініченко А. В., Марчишин С. М., Сіра Л. М. Макро- і мікроскопічне дослідження листків і квіток культивованого виду роду *Primula L.* – примули дрібнозубчастої. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 1 (48). С. 46-52. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання глав монографії).

3. Дослідження морфолого-анатомічної будови підземних органів культивованих видів роду *Primula L.* / А. В. Сініченко, С. М. Марчишин, Л. М. Сіра, М. І. Луканюк. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 1(54). С. 55-63. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання глав монографії).

4. Вміст сапонінів у листках і кореневищах з коренями культивованих видів роду *Primula L.* / А. В. Сініченко, С. М. Марчишин, Л. І. Стойко, Л. В. Слободянюк. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, № 4. С. 125-129. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання глав монографії).

5. Дослідження фенольних сполук у кореневищах з коренями *Primula denticulate* Smith, *Primula juliae* Kusn., *Primula saxatilis* Kom / А. В. Сініченко, С. М. Марчишин, Л. В. Слободянюк, Л. І. Будняк. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 3. С. 26-31. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання глав монографії).

6. Marchyshyn S. M., Sinichenko A. V. Investigation of phenolic compounds about ground organs of cultivated species genus *Primula L.* *The Pharma Innovation Journal*. 2016. №5 (10). P. 38-42. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, статистичну обробку матеріалу, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання глав монографії).

7. Марчишин С. М., Сіра Л. М., Сініченко А. В. Анатомічна будова листя і квіток первоцвіту (примули) скельної (*Primula saxatilis* Komar). *Лікарські рослини: традиції і перспективи досліджень*: матеріали III Міжнар. наук. конф., 14-15 липн. 2016 р. К., 2016. С. 59-67. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання глав монографії).

8. Сініченко А. В. Дослідження гідроксикоричних кислот у сировині *Primula denticulata*, *Primula Juliae*, *Primula saxatilis*. *Хімія природніх сполук* : матеріали IV Всеукраїнської науково-практ. конф. з міжнародною участю, 21-22 квіт. 2016 р. Т., 2016. С. 53-54.

9. Determination of flavonoids in flowers of herbs from *Primula* genus by HPLC method / A. Sinichenko, L. Shostak, S. Marchyshyn, S. Kozachok. *The application of analytical methods for the development of natural products*: materials of 10th International Symposium on Chromatography of Natural Products, June 6-9, 2016. Lublin, 2016. P. 165. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, огляд літературних джерел та написання тез).

10. Марчишин С. М., Сініченко А. В. Амінокислотний склад культивованих видів роду *Primula L.* *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VI науково-практ. конф. з міжнародною участю, 10-11 листоп. 2016 р. Т., 2016. С. 62-63. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, статистичну обробку результатів, огляд літературних джерел та написання тез).

Продовж. дод. Д

11. Сініченко А. В., Довганюк Д. З. Дослідження дубильних речовин надземних органів культивованих видів роду *Primula L.* методом ВЕРХ. *Інновації в медицині*: матер.86-ї науково-практ. конф. студентів і молодих вчених з міжнародною участю, 23-24 берез. 2017 р. Івано-Франківськ, 2017. С. 131. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, статистичну обробку результатів та написання тез).

12. Сініченко А. В., Марчишин С. М. Дослідження органічних кислот культивованих видів роду *Primula L.* *Інновації в медицині*: матер. 87-ї науково-практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнародною участю, 22-23 берез. 2018 р. Івано-Франківськ, 2018. С. 106–107. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, статистичну обробку результатів, огляд літературних джерел та написання тез).

13. Визначення насипної густини подрібнених листків примули дрібнозубчастої (*Primula denticulata* Smith.) / В. І. Сохацький, М. М. Васенда, Л. І. Будняк, А. В. Сініченко. *Хімія природних сполук*: матеріали V Всеукраїнської науково-практ. конф. з міжнародною участю, 30-31 трав. 2019 р. Т., 2019. С. 140-141. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів та написання тез).

14. Слободянюк Л. В., Сініченко А. В., Демидяк О. Л. Вивчення гострої токсичності густого екстракту з листя примули дрібнозубчастої (*Primula denticulata* Smith.). *Актуальні питання фармакології та фармакотерапії* : матеріали Всеукраїнської науково-практ. конф., 26-27 верес. 2019 р. Т., 2019. С. 67. (Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів, статистичну обробку результатів та написання тез).

15. Дослідження протизапальної активності примули дріднозубчастої листків екстракту густого / С. М. Марчишин, А. В. Сініченко, Л. І. Будняк, Л. В. Слободянюк, Г. Р. Козир. *Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації* : матеріали наук.-практ. internet-конф., 22-23 жовт. 2019 р. Х. : НФаУ, 2019. С. 284. (*Особистий внесок: проводила експериментальні дослідження, аналіз результатів та написання тез*).