

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**БАЄВ ОЛЕКСІЙ ОЛЕКСАНДРОВИЧ**

**УДК 615.322:582.542.11**

**ФАРМАКОГНОСТИЧНИЙ АНАЛІЗ ТРАВИ НАСТУРЦІЇ ВЕЛИКОЇ  
(*TROPAEOLUM MAJUS L.*)**

**15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія**

**Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата фармацевтичних наук**

**Харків – 2016**

Дисертацією є рукопис. Робота виконана на кафедрі фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського» Міністерства охорони здоров'я України

**Науковий керівник:** доктор фармацевтичних наук, професор  
**МАРЧИШИН СВІТЛАНА МИХАЙЛІВНА**  
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»,  
завідувач кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою

**Офіційні опоненти:** доктор фармацевтичних наук, професор  
**КИСЛИЧЕНКО ВІКТОРІЯ СЕРГІЇВНА**  
Національний фармацевтичний університет,  
завідувач кафедри хімії природних сполук

доктор фармацевтичних наук, професор  
**МАРТИНОВ АРТУР ВІКТОРОВИЧ**  
ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова  
НАМН України», завідувач лабораторії та клінічного відділу  
молекулярної імунофармакології».

Захист відбудеться "13" жовтня 2016 року о 10<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий "12" вересня 2016 року.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради, професор

В.А. Георгіянци

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Ще з доісторичних часів для лікування багатьох захворювань людина використовувала рослини. Не дивлячись на значний прогрес сучасної органічної хімії, яка забезпечила виробництво високоякісних синтетичних фармакологічно активних препаратів, що знайшли використання в фармації та медицині, популярність рослинних засобів у всьому світі невпинно збільшується. Тому сьогодні разом з синтетичними медичними препаратами, антибіотиками сучасна медицина все частіше використовує лікувальні засоби рослинного походження. Це обумовлено більш м'якою дією фітопрепаратів, меншою резистентністю і практичною відсутністю побічних ефектів.

Сьогодні більше 200 видів рослин використовуються офіційною медициною України і понад тисячу видів, які рекомендовані народною медициною, є перспективними для фітотерапії та фарміндустрії. Це види природної флори та культивовані, які вирощують у спеціалізованих господарствах, ботанічних садах, на присадибних ділянках як лікарські рослини. Багато серед них декоративних. Переважна більшість цих рослин виявляє лікувальні властивості і має важливе значення для профілактики і лікування багатьох захворювань.

До таких рослин належить настурція велика (красоля велика) *Tropaeolum majus* L. з родини *Tropaeolaceae* – однорічна трав'яниста рослина, що походить з Південної Америки. В Україні її здавна вирощують як декоративну. Рослина має цілющі властивості, її використовують як протицинготний, загальнозміцнювальний, кровоочистний, антимікробний, вітамінний, протипростудний і протисклеротичний засіб.

Аналіз доступних джерел літератури свідчить про недостатнє фармакогностичне вивчення настурції великої, тому дане дослідження є актуальним.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної теми кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою фармацевтичного факультету Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського «Фармакоекономічне обґрунтування створення, отримання, розробки субстанцій лікарських речовин і лікарських засобів на основі продуктів хімічного синтезу й біологічно активних речовин рослинного походження і їх стандартизація та фармакологічне вивчення» (номер Державної реєстрації 0111U003756).

**Мета та завдання дослідження.** Метою роботи було фармакогностичне дослідження настурції великої трави, вивчення та ідентифікація основних груп біологічно активних речовин, розробка технології одержання настойки, дослідження її фармакологічної активності.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити наступні задачі:

- проаналізувати дані літератури щодо хімічного складу, біологічних особливостей та фармакологічної дії настурції великої;
- провести фітохімічне та хроматографічне вивчення настурції великої трави;

- дослідити основні групи біологічно активних речовин з досліджуваної сировини та провести їх якісне і кількісне вивчення;
- встановити основні морфолого-анатомічні ознаки настурції великої трави, визначити числові показники та розробити методики контролю якості (МКЯ) на нову лікарську рослину сировину;
- розробити технологію одержання настойки з настурції великої трави, вивчити її хімічний склад та розробити методики контролю якості (МКЯ) на одержану настурції настойку;
- дослідити фармакологічні властивості настурції настойки.

*Об'єкт дослідження* – комплексне фармакогностичне дослідження настурції великої трави.

*Предмет дослідження.* Виявлення та ідентифікація біологічно активних речовин настурції великої; встановлення морфолого-анатомічних ознак настурції великої трави; розробка технології одержання настойки з настурції великої трави та вивчення її фармакологічної активності.

**Методи дослідження.** Визначення біологічно активних речовин настурції великої проводили, використовуючи якісні реакції, ТШХ, ПХ, ГРХ, ВЕРХ. Кількісний вміст біологічно активних речовин визначали титриметричним, гравіметричним, спектрофотометричним методами. Компонентний склад ефірної олії визначали на газовому хроматографі Agilent Technology 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N; вміст макро- і мікроелементів – методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії. Тривимірні спектри флюоресценції ліпофільних сполук записували на спектрофлуориметрі Hitachi F4010. Анатомічна будова настурції великої трави досліджена за допомогою мікроскопа MC10, макро- і мікрофотознімки зроблені DIGITAL CAMERA OLIMPUS NO. FE-140 з їх подальшою комп'ютерною обробкою. Фармакологічні дослідження проводили *in vivo* та *in vitro*. Для обробки результатів експериментів використовували статистичні методи.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше проведено комплексне фармакогностичне дослідження цінної лікарської та декоративної рослини – настурції великої (красолі великої – *Tropaeolum majus* L.). Вивчено основні біологічно активні речовини трави досліджуваної рослини. Виявлено наявність у настурції великої трави полісахаридів, вільних моносахаридів, фенольних сполук (флавоноїдів, кислот гідроксикоричних, дубильних речовин), ефірної олії, кислот органічних, в тому числі аскорбінової, макро- і мікроелементів, ліпофільних речовин (кислот жирних, хлорофілів і каротиноїдів). З настурції великої трави одержана ефірна олія, досліджено її компонентний склад.

Вперше методом ВЕРХ у настурції великої трави ідентифіковано та визначено кількісний вміст 7 речовин фенольної природи: 4 кислоти гідроксикоричних – хлорогенової, розмаринової, кофейної і *n*-кумарової; 3 флавоноїдів – рутину, лютеоліну й ізокверцитрину.

Проведено морфолого-анатомічне вивчення настурції великої трави та встановлено її основні макро- і мікроскопічні діагностичні ознаки, які використані для розробки проекту МКЯ «Настурції трава».

Розроблено технологію одержання настурції настойки, проведено вивчення її хімічного складу. Розроблено проект МКЯ «Настурції настойка».

Наукова новизна досліджень підтверджена патентом України за № 89067 від 10.04.2014 року „Спосіб отримання рослинної субстанції з протизапальною, репаративною дією”.

Вперше проведено фармакологічне вивчення настурції настойки, визначено її антиексудативну, антиальтеративну, репаративну, антипроліферативну, жарознижувальну активності. Досліджено антимікробну активність біологічно активних речовин настурції великої.

**Практичне значення одержаних результатів.** За результатами морфолого-анатомічного вивчення трави видано інформаційний лист „Макро- і мікроскопічні ознаки трави красолі великої (*Tropeolium majus* L.)”, який введено у практику лабораторій з контролю якості лікарських засобів територіальних Державних служб з лікарських засобів областей України.

Розроблено проекти МКЯ на настурції великої траву – «Настурції трава» та настурції настойку «Настурції настойка».

Результати фармакогностичних досліджень впроваджено у науково-практичну діяльність та навчальний процес кафедри хімії природних сполук, фармакогнозії та медичної ботаніки Національного фармацевтичного університету, кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», кафедри фармакогнозії, фармакології і ботаніки Запорізького державного медичного університету, кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії ДЗ «Луганський державний медичний університет» та практичну діяльність Державної служби з лікарських засобів у Тернопільській області.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом самостійно проведено інформаційно-патентний пошук та здійснено аналіз джерел літератури стосовно розповсюдження, хімічного складу та використання настурції великої у народній і науковій медицині, косметології, інших галузях. Проведено вивчення хімічного складу настурції великої трави і встановлено наявність у досліджуваній сировині полісахаридів, вільних моносахаридів, кислоти аскорбінової, кислот органічних, каротиноїдів, хлорофілів, кислот жирних, флавоноїдів, кислот гідроксикоричних, дубильних речовин, ефірних олій, визначено елементний склад та числові показники досліджуваної сировини. Обґрунтовано і розроблено технологію одержання з настурції трави настойки, досліджено її фармакологічну дію. Встановлено антимікробну активність настурції великої. Вивчено морфолого-анатомічні особливості будови трави досліджуваної рослини, визначено діагностичні макро- і мікроскопічні характеристики. Автором розроблено проекти МКЯ на настурції великої траву та настурції настойку. Виконання фармакологічних досліджень здійснювалось за консультативної допомоги доктора

фармацевтичних наук, професора кафедри фармакології з лікарською токсикологією НФаУ Щокіної К.Г.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на XIV і XV Міжнародному медичному конгресі студентів і молодих вчених (Тернопіль, 2010, 2011), VII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація України. Погляд у майбутнє» (Харків, 2010), Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених, присвяченій пам'яті доктора фармацевтичних та хімічних наук, професора М.О. Валяшко (до 140-річчя від дня народження) (Харків, 2011), 4-й науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2011), науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 2012), первой научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых ГНУ ВИЛАР Россельхозакадемии (Москва, 2013).

**Публікації.** Матеріали дисертаційної роботи опубліковано у 17 наукових працях: 8 статей у фахових виданнях, в тому числі 1 стаття у фаховому закордонному виданні (Росія), 1 інформаційний лист, 1 патент України на корисну модель та 7 тез доповідей.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох розділів власних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел літератури. Загальний обсяг дисертації складає 153 сторінки друкованого тексту. Робота ілюстрована 29 таблицями і 29 рисунками. Перелік використаних джерел містить 166 найменувань, з яких кирилицею 124, латиною – 42.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Ботанічна характеристика, хімічний склад, використання у народній і науковій медицині настурції (красолі) великої.** Дані літературного пошуку свідчать, що настурцію (красолю) велику широко вирощують як декоративну і лікарську як в Україні, так і в багатьох країнах світу. Вона має багатовіковий досвід використання у народній медицині, проте, практично не вивчена офіційною фармацією.

Комплекс біологічно активних речовин, основними з яких є флавоноїди, органічні кислоти, аскорбінова кислота, ефірні олії, що вміщують сульфуровмісні сполуки; специфічні особливості та використання настурції великої у народній медицині як діуретичного, протизапального, спазмолітичного, знеболювального, антимікробного, заспокійливого, судинорозширювального, кровоочисного та відхаркувального засобу вказують на доцільність дослідження даної рослини з метою створення на її основі нових вітчизняних лікарських препаратів. Враховуючи те, що настурція велика включена до Фармакопей Франції, Парагваю, Венесуели, і є в тих країнах офіційною сировиною, вважаємо, що вона є перспективним фармакогностичним об'єктом для проведення поглиблених наукових досліджень.

**Дослідження біологічно активних речовин настурції великої трави.**  
Настурції великої трави (красолі великої – *Tropaeolum majus* L.) заготовляли під час цвітіння рослини (серпень-вересень) у 2010-2014 роках.

Проведені якісні реакції та методи хроматографічного аналізу показали наявність у настурції великої трави речовин первинного синтезу: вільних кислот органічних, в тому числі аскорбінової, ліпофільних сполук (хлорофілів, каротиноїдів, кислот жирних), вуглеводів (водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, моноцукрів); вторинного – речовин фенольної природи (кислот гідроксикоричних, флавоноїдів, конденсованих дубильних речовин), ефірних олій. У досліджуваній сировині визначено вміст макро- і мікроелементів.

У настурції великої трави виявлено кислоти лимонну, яблучну і бурштинову; у гідролізатах водорозчинних полісахаридів – глюкозу, арабінозу, ксилозу та сліди рамнози, у гідролізатах пектинових речовин – галактозу, глюкозу, арабінозу, ксилозу та сліди рамнози.

Наявність флавоноїдів і кислот гідроксикоричних у настурції великої трави визначали методом ТШХ та ВЕРХ.

У водно-спиртовому екстракті настурції великої трави методом ТШХ виявлено 4 кислоти гідроксикоричних: неохлорогенову, хлорогенову, кофейну і розмаринову та флавоноїди: рутин, лютеолін та ізокверцитрин, сліди кверцетину. Методом ВЕРХ у досліджуваному об'єкті ідентифіковано 4 кислоти гідроксикоричних – хлорогенову, розмаринову, кофейну і *n*-кумарову; 1 аглікон флавоноїдів (лютеолін) і 2 глікозиди флавоноїдів – рутин та ізокверцитрин. Серед кислот гідроксикоричних найбільший вміст складає кислота хлорогенова – 0,34 %, серед флавоноїдів – ізокверцитрин – 0,60 % (рис. 1 і 2; табл. 1 ).

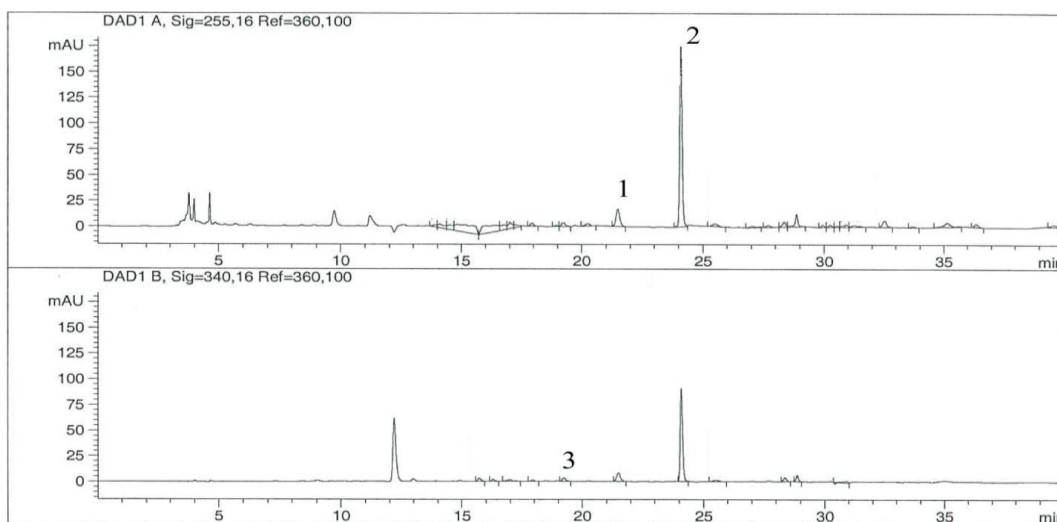


Рис. 1. ВЕРХ-хроматограма фенольних сполук трави *Tropaeolum majus* при  $\lambda = 255$  нм: 1 – рутин, 2 – ізокверцитрин; при  $\lambda = 340$  нм: 3 – лютеолін

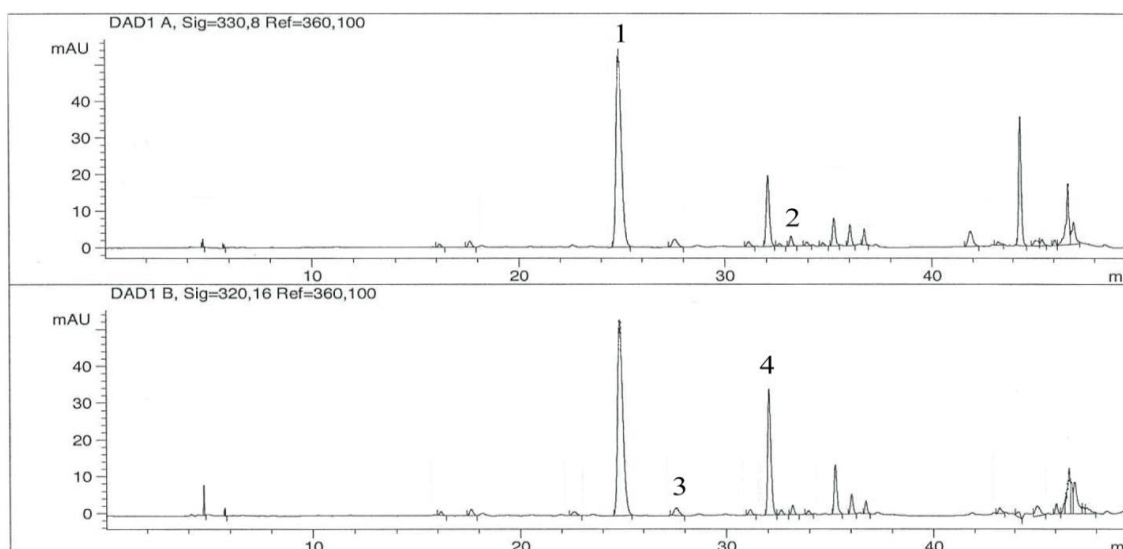


Рис. 2. ВЕРХ-хроматограма фенольних сполук трави *Tropaeolum majus* при  $\lambda = 330$  нм: 1 — кислота хлорогенова, 2 — кислота розмаринова; при  $\lambda = 320$  нм: 3 — кислота кофейна, 4 — кислота *n*-кумарова

Таблиця 1

**Кількісний вміст ідентифікованих фенольних сполук настурції великої трави (метод ВЕРХ)**

Фенольні сполуки	Вміст, %
Кислота хлорогенова	0,34
Кислота розмаринова	0,005
Кислота <i>n</i> -кумарова	0,05
Кислота кофейна	0,009
Рутин	0,16
Ізокверцитрин	0,61
Лютеолін	0,014

Визначення суми кислот гідроксикоричних у настурції великої трави проводили спектрофотометричним методом, вимірюючи оптичну густину при довжині хвилі 327 нм на спектрофотометрі Cary 50 та Lambda 25 UV, перерахунок вели на кислоту хлорогенову. Суму флавоноїдів визначали методом диференційної спектрофотометрії при довжині хвилі 410 нм у перерахунку на рутин.

Кількісне визначення суми окиснюваних фенолів проводили методом перманганатометрії, дубильних речовин — комплексонометричним методом. Визначення кількісного вмісту кислоти аскорбінової та вільних кислот органічних у перерахунку на кислоту яблучну проводили за методиками ДФ СРСР XI. Також визначали загальний кількісний вміст кислоти аскорбінової після відновлення її цистеїном та спектрофотометричним методом при довжині хвилі 730 нм. Кількісний вміст полісахаридів визначали гравіметричним методом. Результати



визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин у настурції великої трави наведено у таблиці 2.

Таблиця 2

**Вміст основних груп біологічно активних речовин у настурції великої трави**

Група БАР	Вміст, %
Кислоти гідроксикоричні	2,28±0,01
Флавоноїди	3,88±0,01
Окиснювані феноли	4,80±0,32
Дубильні речовини	1,96±0,18
Кислота аскорбінова (титр.)	1,66 ± 0,15
Кислота аскорбінова (спектр.)	1,72±0,01
Вільні кислоти органічні	4,80±0,32
Водорозчинні полісахариди	7,95±0,01
Пектинові речовини	12,89±0,11

З метою комплексного вивчення досліджуваної сировини було отримано і вивчено ліпофільні фракції настурції великої трави. Аналіз одержаних двовимірних спектрів свідчив про наявність в екстракті з досліджуваної трави речовин, здатних до флуоресценції (рис. 3).

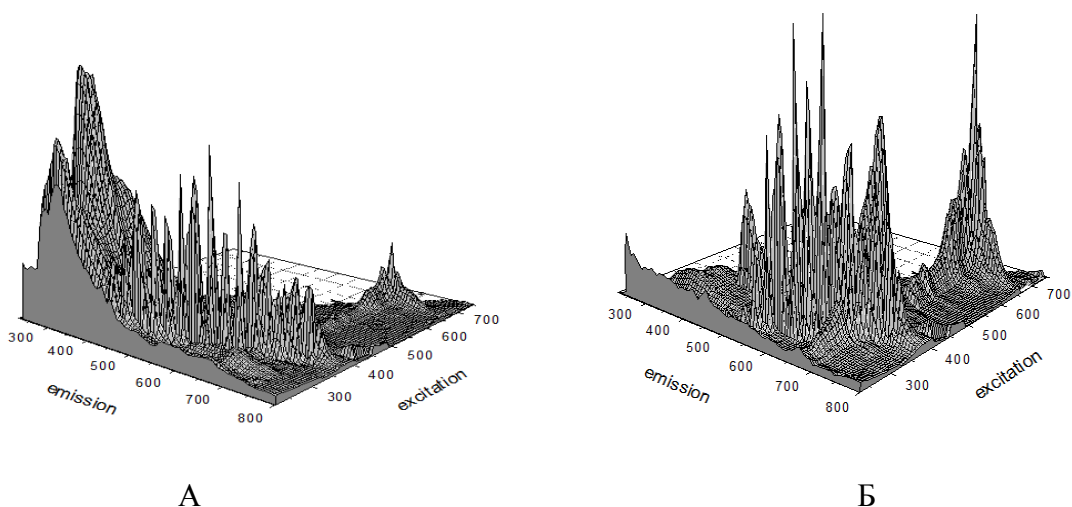


Рис. 3. Тривимірний спектр флуоресценції ліпофільного екстракту настурції великої трави (А – метанольна фракція; Б – хлороформна фракція)

Аналіз одержаних спектрів показав, що для ліпофільної фракції настурції великої трави (метанольна фракція) (рис. 3А) серія піків у ділянках збудження флуоресценції  $\lambda_{\text{exc}}$  від 230 до 250, 255 до 320 нм та випромінення  $\lambda_{\text{em}}$  від 310 до 400 нм характерна для поліфенолів; серія піків від  $\lambda_{\text{exc}}$  370 до 420, 640-660 нм (ділянка збудження) та від  $\lambda_{\text{em}}$  660 до 680 нм (ділянка випромінення) характерна для хлорофілів (сліди).

У хлороформній фракції наявні прості феноли або поліфеноли, для яких характерні піки у ділянках збудження флуоресценції  $\lambda_{\text{exc}}$  270-350 нм та випромінення  $\lambda_{\text{em}}$  350-400 нм. Серія піків у ділянках збудження флуоресценції  $\lambda_{\text{exc}}$  350-430, 450-520, 590-690 нм та випромінення  $\lambda_{\text{em}}$  650-750 нм властива для хлорофілів; серія піків від  $\lambda_{\text{exc}}$  330-350, 390-510 нм (ділянка збудження) та від  $\lambda_{\text{em}}$  540 до 600 нм (ділянка випромінення) характерна для невідомого ліпофільного оранжево-червоного пігменту (рис. 3Б).

Кількісний вміст суми каротиноїдів у настурції великої трави (метанольна фракція) становив 1,20 мг/г. Вміст хлорофілів у ліпофільному екстракті досліджуваної трави становив 1,07 мг/г.

Кількісний вміст суми каротиноїдів у настурції великої трави (хлороформна фракція) становив 4,31 мг/г. Вміст хлорофілів у ліпофільному екстракті досліджуваної трави становив 3,35 мг/г у перерахунку на масу повітряно-сухої сировини.

Порівняльна характеристика кількісного вмісту пігментів у метанольній та хлороформній фракції зображена на рисунку 4.

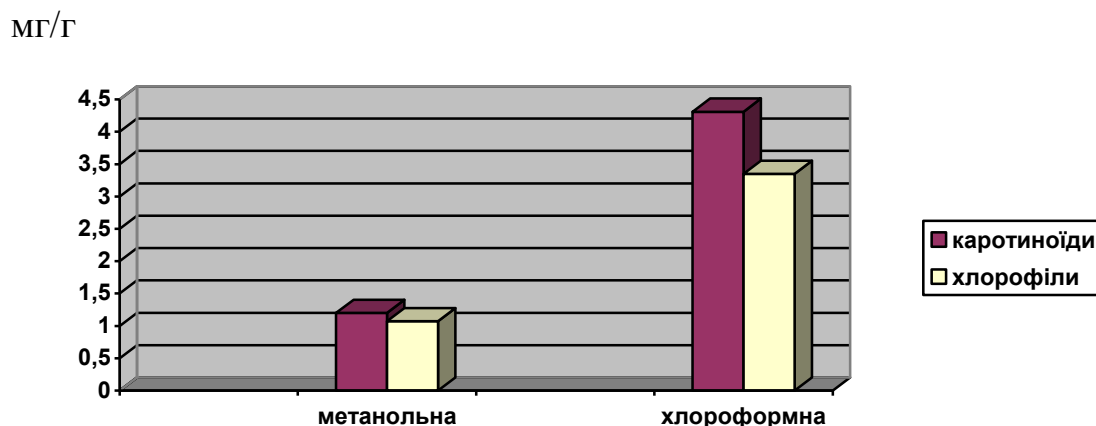


Рис. 4. Кількісний вміст пігментів у метанольній та хлороформній фракції ліпофільного екстракту настурції великої трави

Вперше методом газорідинної хроматографії у ліпофільних екстрактах з трави досліджуваної сировини настурції великої визначали компонентний склад та вміст кислот жирних.

Встановлено, що у досліджуваній сировині настурції великої вміст поліненасичених кислот жирних переважає над насиченими. Більше 50 % суми кислот жирних складають такі поліненасичені кислоти як олеїнова, лінолева та ерукова, які відіграють важливу роль в організмі людини. Найбільший вміст (39,40 %) припадає на кислоту ерукову. Крім ерукової, високий вміст має кислота олеїнова (15,7 %). Наявність поліненасичених кислот жирних (вітаміну F) вказує на перспективність вивчення фармакологічних властивостей ліпофільної фракції сполук настурції великої. З насичених кислот жирних переважає пальмітинова (8,80 %).

Методом перегонки з водяною парою отримана ефірна олія з настурції великої трави, вміст якої становив 0,08-0,1 %. Органолептичні властивості і фізико-хімічні показники ефірної олії визначали за методиками ДФУ. Ефірна олія настурції трави – це прозора рідина світло-зеленого кольору, пекуча на смак, з сильним, своєрідним запахом.

Компонентний склад ефірної олії досліджували на газовому хроматографі *Agilent Technology 6890N* з мас-спектрометричним детектором 5973N.

При хроматографічному аналізі у ефірній олії настурції великої (заготовленої у 2009 році) виявлено 30 компонентів, ідентифіковано 20, що становить 66,67 %. Основними компонентами серед ідентифікованих є фітол (9,49%), сквален (7,58 %), нонакозан (5,48 %), пентакозан (4,05 %), гептакозан (4,04 %). У настурції великої трави, яку заготовляли у 2010 році ідентифіковано 35 речовин з 53 виявлених, що становить 66,04 %. Домінуючими серед них є  $\gamma$ -ситостерол (7,84 %) та нонакозан (7,45 %). Ефірна олія настурції, яку заготовляли у 2010 році на присадибних ділянках, містила 46 компонентів, з яких ідентифіковано 30, що становить 65,22 %. Домінуючими серед них є: бензонітрил (59,55 %), бензилізоціанат (13,78 %). У сировині, яку заготовляли у 2011 році було ідентифіковано 21 речовину з 47 визначених, що складає 46,31 %. Домінуючими є бензилізоціанат (15,90 %), нонакозан (12,46 %), ейкозен-1 (6,50 %), гептакозан (4,99 %).

Результати досліджень показали, що ефірні олії настурції великої, заготовленої у різні роки, відрізняються як за якісним складом, так і за кількісним вмістом компонентів. Спільними компонентами для усіх досліджуваних зразків є бензилізоціанат, пентакозан, гептакозан, нонакозан.

У настурції великої трави виявлено 22 елементи: 4 макро- (К, Са, Na, Mg) та 18 мікроелементів (Fe, Zn, Pb, Mn, Cu, Ni, Cd, As, Hg, Ba, Br, Sr, Ti, Rb, V, Se, La, Se). Слід відмітити високий вміст у настурції великої трави кальцію, калію, магнію (рис. 5). Значний вміст мають такі мікроелементи, як ферум, барій, стронцій, купрум, титан. Вміст молібдену, хрому не виявлено, тому що його концентрація була нижча межі чутливості приладу.

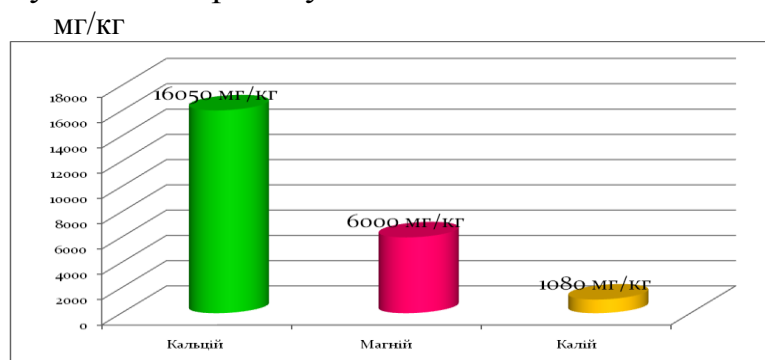


Рис. 5. Вміст кальцію, магнію, калію у настурції великої трави

**Морфолого-анатомічне дослідження настурції великої трави.** З метою стандартизації нового виду лікарської рослинної сировини – настурції трави – вивчено морфолого-анатомічні особливості її будови.

Характерними морфологічними ознаками трави є: просте листя, без прилистків, з довгими гнучкими черешками. Листкова пластинка соковита, округла, пельтатна. Квітки пазушні, великі, на довгих квітконіжках, двостатеві, зигоморфні. Чашолистків 5, вільних, забарвлених як і віночок у оранжевий або червоний колір. Квітколоже з екстрастамінальним диском у вигляді відростка, разом з яким задній і 2 латеральних чашолистки утворюють великий шпорець. Пелюсток 5, розміщені черепицеподібно, вільні, 3 передніх мають нігтик. Тичинок 8, вільних, у 2 колах. Гінецей ценокарпний, зав'язь 3-гнізда, верхня, на ніжці. Плід розпадається на 3 однонасінних плодики.

Встановлено, що діагностичними мікроскопічними ознаками *листкової пластинки* є середнього розміру клітини епідерми, з дуже тонкими, ледь помітними бічними стінками; зовнішні оболонки, що вкриті багат шаровою, гладенькою кутикулою; нижня епідерма зі звивистими клітинами і високим продиховим індексом. Продихи дрібні, рівномірно розподілені на поверхні, розміщені на одному рівні з епідермальними клітинами, аномоцитного типу. Серед базисних клітин розміщені блискучі слизові клітини; по краю листкової пластинки зустрічаються гідатоци (рис. 6).

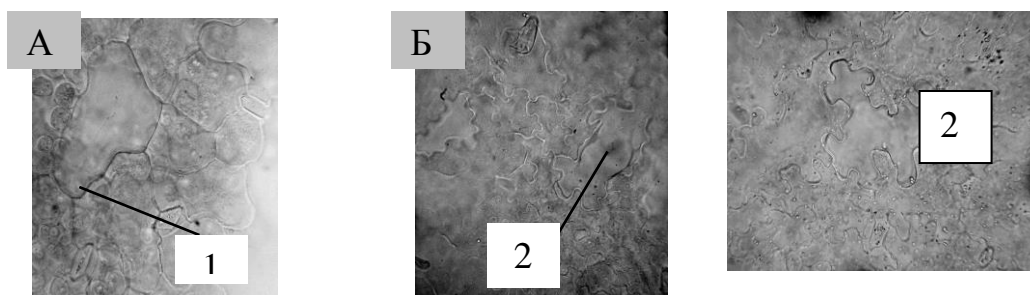


Рис. 6. Препарати листка з поверхні: А – епідерма верхньої сторони листка; Б – епідерма нижньої сторони листка; 1 – продихи; 2 – слизові клітини

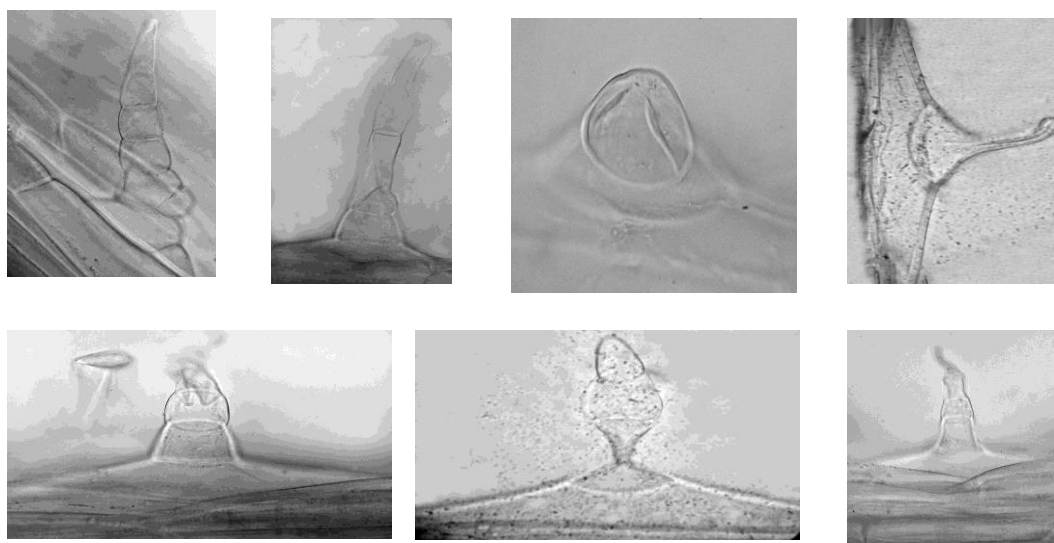


Рис. 7. Епідермальні волоски

Важливими діагностичними ознаками настурції великої є волоски, які розміщені, здебільшого, вздовж жилок з обох сторін листової пластинки та зрідка на черешку. Волоски від сосочкоподібних до 2-7-клітинних. Базисна клітина значно збільшена, розширена, видовжена, куполоподібно підведена, з потовщеними стінками, містить слиз. Апікальна клітина опукло-еліптична або конічна. Серединні клітини волоска циліндрично-конічні, з дуже тонкими оболонками, здатні спадатися, перекручуватися, внаслідок чого волоски обламуються і в сухій сировині найчастіше залишаються лише клітини основи, деформовані або напівзруйновані волоски (рис. 7).

*Стебло.* Анатомічна будова пучково-перехідна. Епідерма великоклітинна, з товстим шаром кутикули. У первинній корі 2- чи 3-шарова кутово-пластинчаста коленхіма; 6-9-шарова асиміляційна паренхіма; шар ендодерми з крохмальними зернами. Серед клітин корової паренхіми і в ендодермі зустрічаються великі овальні ідіобласти. В осьовому циліндрі по колу розташовані відкриті колатеральні провідні пучки. Їх кількість, форма і розміри змінюються від верхньої до нижньої зон.

**Отримання настойки з натурції великої трави та визначення її фармакологічної активності.** Визначено оптимальні умови отримання настойки з настурції великої трави. Для цього було відібрано екстрагенти різної концентрації (спирт етиловий 20 %, 40 %, 50 %, 70 %), сировину подрібнювали до різних розмірів та досліджували; методи одержання настойки були згруповані в три групи. Кожен фактор вивчався на чотирьох рівнях. Експеримент складався із 16-ти серій. Поєднання різних рівнів у кожній серії підбирали за допомогою одного із планів дисперсійного аналізу, а саме 4\*4 греко-латинського квадрата.

З метою вибору оптимальних факторів для одержання настойки з настурції великої трави було вирішено використати функцію бажаності. Для цього отримані результати переводили у безрозмірні величини та проводили дисперсійний аналіз. Встановлено, що оптимальним методом отримання настурції настойки, який забезпечує найбільше вилучення екстрактивних речовин і флавоноїдів, є перколяція 40 % спиртом етиловим, ступінь подрібнення сировини 1-2 мм. Було розроблено технологічну схему виробництва настойки з настурції великої трави.

На моделі карагенінового набряку встановлено антиексудативні властивості настурції настойки. Відмічалось, що найбільшу протизапальну дію досліджуваний об'єкт виявляє у дозі 50 мг/кг, яка була обрана умовно-ефективною для досліджуваної настойки. За ефективністю настурції настойка у дозі 50 мг/кг поступалася натрію диклофенаку, але переважала кверцетин. За середньою антиексудативною активністю досліджувані зразки можна розташувати у наступний ряд: натрію диклофенак (50,0 %) > настурції настойка в дозі 50 мг/кг (40,1 %) ≥ кверцетин (31,5 %).

Антиальтеративну та репаративну активності настурції настойки вивчали на моделі некротичних виразок шкіри у щурів. Встановлено, що настойка має слабку антиальтеративну та виражену репаративну активність.

На моделі експериментальної еритеми, викликаній ультрафіолетовим випромінюванням (УФ еритема), яка дозволяє оцінити вплив препарату на

судинну резистентність, вивчено антипроліферативну дію настурції настойки. Препаратами порівняння обрано натрію диклофенак та кверцетин. Результати досліджень показали, що настурції настойка за умов гострого запалення, індукованого УФ-опроміненням, проявляє антипроліферативну, антиексудативну дію, за якою переважає дію кверцетину, дещо поступається за виразністю натрію диклофенаку, та має помірну жарознижувальну дію, за якою поступається натрію диклофенаку і переважає кверцетин.

Отже, застосування настурції настойки в складі протизапальної терапії дозволить знизити дозу та зменшити побічні ефекти класичних нестероїдних протизапальних засобів.

Методом «колодязя» встановлено, що субстанції настурції великої трави (настойка, сік, гомогенат) проявляють антимікробну дію і діяли найефективніше проти штаму *S. aureus* ATCC 6538.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено результати фармакогностичного дослідження нової лікарської рослинної сировини – настурції великої трави (красолі великої трави). Визначено якісний склад та кількісний вміст біологічно активних речовин, проведено морфолого-анатомічний аналіз трави досліджуваного виду, розроблена технологія одержання настурції настойки та проведено вивчення її фармакологічної активності.

1. Фітохімічними та хроматографічними методами дослідження встановлено, що до складу настурції великої трави входять конденсовані дубильні речовини, флавоноїди, кислоти гідроксикоричні, полісахариди, хлорофіли, каротиноїди, кислоти органічні, в тому числі аскорбінова, які забезпечують її фармакологічну активність.

2. Визначено кількісний вміст фенольних сполук: флавоноїдів 3,88 %, кислот гідроксикоричних 2,28 %, дубильних речовин 1,96 %, окиснюваних фенолів 4,80 %, а також кислот органічних 4,80 %, кислоти аскорбінової 1,66 %, водорозчинних полісахаридів 7,95 % і пектинових речовин 12,89 % у настурції великої трави.

3. Методом ВЕРХ виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст у настурції великої трави 4 кислоти гідроксикоричні – хлорогенову, розмаринову, кофейну і *n*-кумарову; 1 аглікон флавоноїдів (лютеолін) і 2 глікозиди флавоноїдів – рутин та ізокверцитрин. Серед кислот гідроксикоричних найбільший вміст становить кислота хлорогенова – 0,34 %, серед флавоноїдів – ізокверцитрин – 0,60 %.

4. Досліджено якісний склад та кількісний вміст ефірних олій настурції великої трави, яку заготовляли у різні роки. Встановлено, що досліджувані ефірні олії містять від 30 до 53 компонентів, з яких ідентифіковано від 20 до 35. Встановлено, що ефірні олії настурції великої, заготовлені у різні роки, відрізняються як за якісним складом, так і за кількісним вмістом компонентів.

Спільними компонентами для усіх досліджуваних зразків є бензилізотіоціанат, пентакозан, гептакозан, нонакозан.

5. Вперше проведено дослідження ліпофільної фракції настурції великої трави, ідентифіковано 8 кислот жирних. Переважають ненасичені кислоти жирні: олеїнова та ерукова. З насичених кислот жирних переважає пальмітинова. Визначено кількісний вміст каротиноїдів і хлорофілів. Кількісний вміст суми каротиноїдів у настурції великої трави (метанольна фракція) становив 1,20 мг/г, вміст хлорофілів – 1,07 мг/г; вміст суми каротиноїдів у настурції великої трави (хлороформна фракція) становив 4,31 мг/г, вміст хлорофілів – 3,35 мг/г у перерахунку на масу повітряно-сухої сировини.

6. Вперше вивчено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки настурції великої трави, які використані при складанні проекту МКЯ на нову рослинну сировину «Настурції трава», а також при таксономічному упорядкуванні порядку TROPAEOLALES.

7. Розроблено технологію одержання настурції настойки, вивчено її хімічний склад та розроблено проект МКЯ «Настурції настойка».

8. У результаті фармакологічних досліджень настурції настойки встановлена її антипроліферативна, антиексудативна, помірна антиальтеративна, жарознижувальна дія та репаративна активність, за якими вона переважає дію кверцетину та дещо поступається за виразністю натрію диклофенаку. Можна стверджувати про наявність у настурції настойки помірних протизапальних властивостей. Встановлено антимикробну активність біологічно активних речовин настурції великої.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Елементний склад листків настурції великої / Г.Р. Козир, С.М. Марчишин, О.О. Баєв, Ю.І. Шафранська // Фармацевтичний часопис. – 2010. – № 1 (10). – С. 10-12. *(Особистий внесок – участь у проведенні досліджень та написанні статті).*

2. Морфолого-анатомічний аналіз трави красолі великої (*Tropeolium majus* L.) / С. М. Марчишин, Л.М. Сіра, Г.Р. Козир, О.О. Баєв, З.В. Шкільник // Фармацевтичний журнал – 2010.- № 4 – С.60–63. *(Особистий внесок – участь у проведенні досліджень та написанні статті).*

3. Марчишин С.М. Дослідження вмісту ефірних олій у траві настурції великої (*Tropeolium majus* L.) / С. М. Марчишин, О.О. Баєв // Медична хімія. – 2011. – Т. 13, № 1 (46). – С. 108-110. *(Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті).*

4. Технологічні аспекти виготовлення настойки з трави красолі великої / Г.Р. Козир, З.В. Шкільник, О.О. Баєв, М.М. Васенда // Фармацевтичний часопис. – 2011. – № 3 (19). – С. 49-51. *(Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті).*

5. Експериментальне дослідження фармакологічної активності настоянки настурції на моделі некротичних виразок у щурів / С.М. Дроговоз,

С.М. Марчишин, К.Г. Щокіна, Г.Р. Козир, О.О. Баєв // Фармацевтичний журнал. – 2011. – № 5. – С. 92-95. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті).

6. Козир Г.Р. Визначення технологічних характеристик трави красолі великої та їх впливу на процес екстрагування / Г.Р. Козир, М.М. Васенда, О.О. Баєв // Український медичний альманах. – 2012. – Т. 15, № 5. – С. 129-130. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті).

7. Протизапальні властивості настойки настурції на моделі ультрафіолетової еритеми у мурчаків / С.М. Дроговоз, С.М. Марчишин, К.Г. Щокіна, О.О. Баєв, М.І. Куліцька // Фармацевтичний часопис. – 2012. – № 1 (21). – С. 102-105. (Особистий внесок – участь у проведенні досліджень, обробці результатів та написанні статті).

8. Марчишин С. М. Определение флавоноидов и гидроксикоричных кислот в траве *Tropeolium majus* L. методом ВЭЖХ / С.М. Марчишин, С.С. Козачок, А.А. Баєв, Г.Р. Козыр // Медицина и образование в Сибири. – 2014. – № 1 – Режим доступа : [http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text\\_full.php?id=1259](http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1259). (Особистий внесок - участь у плануванні, обробці отриманих результатів та написанні статті).

9. Пат. № 89067 Україна, МПК А61К 35/00, А61К 9/08. Спосіб отримання рослинної субстанції з протизапальною, репаративною дією / Марчишин С.М., Козир Г.Р., Баєв О.О., Васенда М. М.: заявник і патентовл. Марчишин С.М., Козир Г.Р., Баєв О.О., Васенда М. М.. - u201312798; заявл. 04.11.13 ; опубл. 10.04.14, Бюл. №7.

10. Баєв О.О. Жирнокислотний склад ліпофільного екстракту трави красолі великої (*Tropeolium majus* L.) / О.О. Баєв, Г.Р. Козир // Фармація України. Погляд у майбутнє : матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України (Харків, 15-17 верес. 2010 р.). У 2 т. / М-во охорони здоров'я України, Нац. фармац. ун-т ; ред. кол. : В.П. Черних (голова) та ін.; Н.А. Третьякова та ін. – Х. : НфаУ, 2010. – Т.1. – С. 220.

11. Шкільник З. Визначення вільних органічних та аскорбінової кислот в траві красолі великої / З. Шкільник, О. Баєв // Матеріали XIV Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, 13-15 квітня 2010 р. – Тернопіль: ТДМУ, 2010. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2010. – С. 317.

12. Шкільник З.В. Вміст ефірних олій у настоянках красолі великої (*Tropeolium majus* L.) / З.В. Шкільник, О.О. Баєв // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: тези доповідей всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих вчених (21-22 квітня 2011 р.). – Х.: вид-во НФаУ, 2011. – С. 133.

13. Шкільник З. Біологічно активні речовини трави настурції великої (*Tropeolium majus* L.) // Матеріали XV Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, 27-29 квітня 2011 р. – Тернопіль: ТДМУ, 2011. – С. 379.



14. Баєв О.О. Вміст вуглеводів у траві красолі великої (*Tropaeolum majus* L.) / О.О. Баєв // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2011. – С. 29.

15. Марчишин С.М. Дослідження антиексудативної активності настойки красолі великої на моделі карагенінового набряку у щурів / С.М. Марчишин, О.О. Баєв, Г.Р. Козир, О.В. Сопель // Здобутки клінічної і експериментальної медицини : підсумкова науково-практична конференція присвячена 55-річчю Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, 17 квітня 2012 р. : матеріали конф. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2012. – С. 192-193.

16. Козыр Г.Р. Исследование содержания эфирных масел в настойках настурции большой // Г.Р. Козыр, О.Л. Демидьяк, О.О. Баев // Молодые ученые и фармацевция XXI века : матер. первой научно-практ. конф. аспирантов и молодых ученых ГНУ ВИЛАР Россельхозакадемии, ВИЛАР, 2013. – М., 2013. – С. 88-90.

17. Марчишин С.М. Макро- і мікроскопічні ознаки трави красолі великої (*Tropaeolum majus* L.): інформ. лист / С.М. Марчишин, О.Л. Демидьяк, О.О. Баєв. – К. : Центр „Укрмедпатентінформ” МОЗ України, 2012. – № 36-2012. – 3 с.

## АНОТАЦІЯ

**Баєв О. О. Фармакогностичний аналіз трави настурції великої (*Tropaeolum majus* L.). – На правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. Національний фармацевтичний університет, Харків, 2016.

Вперше в Україні проведено комплексне фармакогностичне вивчення настурції великої (красолі великої) трави. У досліджуваній сировині встановлено наявність та визначено кількісний вміст кислот гідроксикоричних, флавоноїдів, конденсованих дубильних речовин, окиснюваних фенолів, вільних кислот органічних кислот, в тому числі аскорбінової, ліпофільних сполук (хлорофілів, каротиноїдів, кислот жирних), вуглеводів (водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, моноцукрів), ефірних олій, а також визначено якісний склад і кількісний вміст макро- та мікроелементів. Методом ВЕРХ у настурції великої траві виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст кислот хлорогенової, розмаринової, *n*-кумарової і кофейної, 1 аглікону флавоноїдів (лютеоліну) і 2 глікозидів флавоноїдів – рутину та ізокверцитрину.

Проведено макро- і мікроскопічний аналіз настурції великої трави, визначено основні діагностичні ознаки її морфологічної та анатомічної будови. Розроблено проект методики контролю якості на нову лікарську рослинну сировину «Настурції трава».

Розроблено технологію отримання настойки з трави настурції великої та проект методики контролю якості на настойку «Настурції настойка».

Проведено фармакологічні дослідження настурції настойки; визначено наявність протизапальних властивостей. Встановлено антимикробну активність настурції великої.

**Ключові слова:** настурція велика (красоля велика), трава, біологічно активні речовини, фармакогностичні та фармакологічні дослідження, морфолого-анатомічний аналіз, настойка.

## АННОТАЦІЯ

**Баев А. А. Фармакогностический анализ травы настурции (*Tropaeolum majus* L.). – На правах рукописи.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2016.

Проведено комплексное фармакогностическое изучение настурции большой травы. Установлен качественный состав и определено количественное содержание биологически активных веществ исследуемого сырья: эфирных масел, полисахаридов, кислот гидроксикоричных, флавоноидов, конденсированных дубильных веществ, окисляющихся фенолов, соединений липофильной природы (кислот жирных, хлорофиллов и каротиноидов), кислот органических, в том числе аскорбиновой, макро- и микроэлементов. Методом тонкослойной хроматографии установлено наличие в настурции большой траве кислот лимонной, яблочной и янтарной. В гидролизатах водорастворимых полисахаридов настурции большой идентифицированы глюкоза, арабиноза, ксилоза и следы рамнозы; в гидролизатах пектиновых веществ обнаружено глюкозу, галактозу арабинозу, ксилолу и следы рамнозы.

Методом ВЭЖХ в настурции большой траве выявлено, идентифицировано и определено количественное содержание кислот хлорогеновой (0,34 %), розмариновой (0,005 %), *n*-кумаровой (0,05 %), кофейной (0,009 %); 1 агликона флавоноидов – лютеолина (0,014 %) и 2 гликозидов флавоноидов – рутин (0,16 %) та изокверцитрина (0,61 %).

В настурции большой траве установлено количественное содержание фенольных соединений: 2,28 % кислот гидроксикоричных; 3,88 % флавоноидов; 4,80 % окисляющихся фенолов, 1,96 % дубильных веществ; 4,80 % кислот органических; 1,66 % кислоты аскорбиновой; 7,95 % водорастворимых полисахаридов; 12,89 % пектиновых веществ. Установлены основные числовые показатели настурции большой травы – потеря в массе при высушивании, содержание общей золы и золы, нерастворимой в 10% кислоте хлоридной.

Методом перегонки с водяным паром получено эфирное масло из настурции большой травы, содержание которого составляло 0,08-0,1 %. Эфирное масло травы настурции - это прозрачная жидкость светло-зеленого цвета, жгучая на вкус, с сильным, своеобразным запахом. Методом хромато-масс-спектрометрии определен компонентный состав эфирных масел настурции большой травы, заготовленной в разные годы. Установлено, что исследуемые

образцы, отличаются качественным составом и количественным содержанием компонентов. Общими компонентами являются бензилизотиоцианат, пентакозан, гептакозан, нонакозан.

Определен качественный состав и количественное содержание кислот жирных в липофильных фракциях исследуемого растения. Отмечено преобладание ненасыщенных кислот жирных, доминируют кислоты эруковая (39,40 %) и олеиновая (15,7 %); из насыщенных преобладает кислота пальмитиновая.

Исследован элементный состав настурции большой травы. Обнаружено 22 элемента 4 макро- (K, Ca, Na, Mg) и 18 микроэлементов (Fe, Zn, Pb, Mn, Cu, Ni, Cd, As, Hg, Ba, Br, Sr, Ti, Rb, V, Ce, La, Se). Установлено, что в значительном количестве накапливаются макроэлементы: кальций (Ca – 16050 мг/кг; магний (Mg – 6000 мг/кг; калий (K – 1080 мг/кг).

Изучены морфолого-анатомические особенности строения настурции большой травы, определены характерные и специфические признаки морфологического и анатомического строения, которые можно использовать для идентификации и стандартизации данного вида растительного сырья. Разработан проект методики контроля качества на новое лекарственное растительное сырье «Настурции трава».

Разработаны технология получения настойки из травы настурции большой и проект методики контроля качества «Настурции настойка». Получен патент на полезную модель «Способ получения растительной субстанции с противовоспалительным, репаративным действием» (u201312798 от 10.04.14).

Фармакологические исследования, проведенные на базе кафедры фармакологии с лекарственной токсикологией Национального фармацевтического университета под руководством профессора Е.Г. Щокиной, показали, что настурции настойка проявляет противовоспалительное действие. Доказана антимикробная активность биологически активных соединений настурции большой. Высококочувствительной была тест-культура золотистого стафилококка (*S. aureus* ATCC +6538).

**Ключевые слова:** настурция большая, трава, биологически активные вещества, фармакогностические и фармакологические исследования, морфолого-анатомический анализ, настойка.

## ANNOTATION

**Baiev O. O. Pharmacognostic Analysis of the Herb Garden Nasturtium (*Tropaeolum Majus* L.). — The manuscript.**

Thesis for the Degree in Pharmacy in specialty 15.00.02 — pharmaceutical chemistry and pharmacognosy. National Pharmaceutical University, Kharkiv, 2016.

A comprehensive pharmacognostic study of the herb garden nasturtium was conducted in Ukraine for the first time. The presence and quantitative contents of hydroxycinnamic acids, flavonoids, condensed tannins, oxidized phenols, free organic

acids, including ascorbic, lipophilic compounds (chlorophylls, carotenoids, fatty acids), carbohydrates (water soluble polysaccharides, pectins, monosaccharides), essential oils, and also the qualitative composition and quantitative contents of macro- and microelements were defined in the studied raw materials. The quantitative contents of chlorogenic, rosmarinic, p-coumaric and caffeoyl acids, 1 flavonoid aglycone (luteolin) and 2 flavonoid glycosides (rutin and isoquercitrin) were detected, identified and established in the herb garden nasturtium by high-performance liquid chromatography (HPLC) method.

The macro- and microscopic analyses of the herb garden nasturtium were conducted; the main diagnostic features of its morphological and anatomical structure were defined. The project of the quality control method for the new medicinal herb 'Krasoli Trava' ('Nasturtium Herb') was elaborated.

The technology of getting a tincture from the herb garden nasturtium and the project of the quality control method for the tincture 'Krasoli Nastoika' ('Nasturtium Tincture') were elaborated.

The pharmacological studies of the tincture of nasturtium were conducted; the presence of anti-inflammatory properties was defined. The antimicrobial activity of biologically active substances of the herb garden nasturtium was established.

**Key words:** garden nasturtium, herb, biologically active substances, pharmacognostic and pharmacological studies, morpho-anatomical analysis, tincture.