

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

КОЛІСНИК ЮЛІЯ СЕРГІЇВНА

УДК: 615.3:615.244:615.273:582.683.2:547.56

**ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ CAPSELLA BURSA
PASTORIS (L.) MEDIK.**

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 хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор
КИСЛИЧЕНКО ВІКТОРІЯ СЕРГІЇВНА
Національний фармацевтичний університет,
завідувач кафедри хімії природних сполук

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
КОНОВАЛОВА ОЛЕНА ЮРІЇВНА
Київський медичний університет Української асоціації народної медицини МОЗ України,
завідувач кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії

кандидат фармацевтичних наук, доцент
ДАРМОГРАЙ РОМАН ЄВДОКИМОВИЧ
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
завідувач кафедри фармакогнозії і ботаніки

Захист відбудеться "10" червня 2016 року о 12⁰⁰ 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 " 6 " травня 2016 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
професор

В.А. Георгіянц

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Лікарська рослинна сировина (ЛРС) була і залишається одним з найважливіших джерел для створення нових лікарських засобів. Але обов'язковими умовами використання ЛРС (як культивованої, так і дикорослої) є її відповідна якість та доведена фармакологічна активність. Документом, що регламентує якість ЛРС в Україні, є монографії в ДФУ, які представлені як гармонізованими з Європейською фармакопеєю (ЄФ) монографіями, так і їх національними частинами.

Проте, спираючись тільки на вимоги ЄФ, виробники та споживачі можуть втратити велику кількість популярної в Україні лікарської сировини. Це стосується, насамперед, трави грициків звичайних, що здавна використовується в медицині та набула популярності серед населення України. У другому виданні ДФУ відсутня монографія на траву грициків звичайних, тому розробка МКЯ, як перший етап розробки національної монографії на сировину є актуальною проблемою. Корепановою Н.С. (Пермська державна фармацевтична академія) в 1999 році була захищена кандидатська дисертація, яка була присвячена дослідженню трави грициків. В даній роботі досліджено, переважно, флавоноїди трави грициків звичайних без виділення їх в індивідуальному стані, та зовсім не вивчені інші класи БАР. Крім того, в роботі не наведені сучасні методики контролю якості, за якими можливо б було стандартизувати сировину. Тому фармакогностичне та фармакологічне дослідження трави грициків звичайних та отримання з неї нових фітозасобів є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом проблемної комісії «Фармація» МОЗ та АМН України і є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне вивчення біологічно активних речовин, створення лікарських засобів рослинного походження» (номер державної реєстрації 0103U000476) та «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946).

Мета і задачі дослідження. Метою роботи було фармакогностичне вивчення трави грициків звичайних та розробка фітозасобів на її основі.

Для досягнення цієї мети необхідно було вирішити наступні задачі:

- провести інформаційний пошук, аналіз сучасного стану досліджень за темою дисертаційної роботи;
- провести попередні фітохімічні дослідження якісного складу трави грициків звичайних;
- виділити в індивідуальному стані БАР і встановити їх структуру;
- визначити кількісний вміст основних груп БАР в траві грициків звичайних;
- встановити основні анатомо-діагностичні ознаки сировини;
- розробити оптимальну технологію одержання субстанцій та обрати основні критерії їх стандартизації;

- підтвердити можливість створення нових лікарських засобів з сировини, що вивчалася, шляхом вивчення фармакологічної активності отриманих субстанцій.
- розробити методики контролю якості (МКЯ) на сировину та субстанції;
Об'єкт дослідження – комплексне фармакогностичне дослідження трави грициків звичайних.

Предмет дослідження - виявлення, виділення, ідентифікація БАР трави грициків звичайних, встановлення кількісного вмісту основних груп БАР, встановлення основних діагностичних ознак сировини, вибір оптимальної технології отримання субстанцій, вивчення їх біологічної активності, розробка МКЯ.

Методи дослідження. Якісний і кількісний вміст БАР визначали фармакопейними методами, а також використовували ТШХ, ПХ, ГХ, хромато-мас-спектрометрію, гравиметрію, спектрофотометрію, атомно-абсорбційну спектроскопію. Для розділення речовин використовували адсорбційну хроматографію на поліаміді, силікагелі та целюлозі, препаративну хроматографію на папері та в тонкому шарі сорбенту. Хімічну будову виділених сполук встановлювали за допомогою ІЧ-, УФ- та ПМР-спектрів, температури плавлення та їх хімічних перетворень. Анатомічну будову трави вивчали на препаратах з поверхні за допомогою мікроскопу. Фармакологічні дослідження проводили *in vitro* та *in vivo*. Статистичну обробку результатів експериментів проводили згідно до вимог ДФУ.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведено комплексне фармакогностичне вивчення БАР трави грициків звичайних.

Встановлено наявність та кількісний вміст вуглеводів, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, дубильних речовин, летких речовин, хлорофілів, каротиноїдів, жирних кислот, макро- і мікроелементів.

В індивідуальному стані виділено та встановлено структуру 17 речовин. Визначено наявність 19 макро- і мікроелементів, ідентифіковано 15 жирних кислот.

Вперше визначені анатомо-діагностичні ознаки листя, квіток, стебла та плодів грициків звичайних.

Вперше вивчена гостра токсичність, кровоспинна, антицитолітична, протизапальна, жовчогінна та гепатозахисна активності для одержаного густого екстракту.

Новизна досліджень підтверджена та захищена деклараційними патентами України на корисні моделі № 100565 «Рослинний засіб гепатопротекторної та жовчогінної дії» та № 100886 «Застосування густого екстракту трави грициків як засобу мембраностабілізуювальної та протизапальної дії».

Практичне значення одержаних результатів. Вперше розроблено спосіб одержання густого екстракту з трави грициків звичайних. Вперше розроблено та валідовано методику кількісного визначення суми флавоноїдів в траві грициків звичайних. Розроблені проекти МКЯ на «Грициків звичайних трава» та «Грициків звичайних трави екстракт густий».

Фармакогностичними та фармакологічними дослідженнями доведена можливість розширення спектра застосування трави грициків звичайних в офіціальній медицині.

Результати досліджень впроваджені у навчальний процес кафедри фітотерапії, гомеопатії та біоенергоінформаційної медицини ПВНЗ «Київського медичного університету УАНМ»; кафедри організації, економіки фармації і фармакогнозії Одеського національного медичного університету; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»; кафедри якості, стандартизації та сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету.

Особистий внесок здобувача. Безпосередньо автором здійснено:

- інформаційний пошук за темою дисертаційної роботи та аналіз першоджерел, аналіз сучасних досліджень за проблематикою;
- встановлено наявність і визначено кількісний вміст БАР;
- розроблено та валідовано методику кількісного вмісту суми флавоноїдів в траві грициків звичайних;
- виділено та ідентифіковано 17 речовин;
- розроблено спосіб одержання густого екстракту з трави грициків звичайних;
- вивчено анатомічну будову листа, стебла, квіток і плодів грициків звичайних;
- розроблено проекти МКЯ на «Грициків звичайних трава», та «Грициків звичайних трави екстракт густий».

Апробація результатів дисертації. Основний зміст дисертаційної роботи викладено та обговорено на 13-th International Congress Phytopharm 2009 «Development of a herbal species for treatment of gastroenteric diseases» (Bonn, 2009), VI регіональній науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Фармацевтична наука: історичні аспекти формування та шляхи вдосконалення» (м. Луганськ, 2010), VII Національному з'їзді фармацевтів України (м. Харків, 2010), 2-rd International symposium on medicinal plants, Their cultivation and Aspects of Uses (Petra, 2012), Всеросійської науково-практичної інтернет-конференції с міжнародним участием «Современные аспекты разработки и совершенствования состава и технологии лекарственных форм» (г. Курск, 2011), II науково-практичній конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології» (м. Харків, 2011), II Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Здобутки та перспективи розвитку фармацевтичної та медичної галузі в сучасному світі» (м. Луганськ, 2012), III Всеукраїнській науково-практичній конференції «Хімія природних сполук» (м. Тернопіль, 2012), The 3-rd International Symposium on Medicinal Plants, their Cultivation and Aspects of Uses (Petra, 2012), I Міжнародній науково-практичній конференції «Функціональні харчові продукти – дієтичні добавки – як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань» (м. Харків, 2013), Міжнародній науково-практичній конференції «Медичні та фармацевтичні науки: історія, сучасний стан та перспективи досліджень» (м. Одеса, 2013), Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні тенденції розвитку медичної науки та медичної практики» (м. Львів, 2013), I Міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (м. Харків, 2014), IV науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології

та біотехнології» (м. Харків, 2014), I Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (м. Харків, 2014), X научно-практической конференции молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием «Внедрение достижений медицинской науки в клиническую практику» (г. Душанбе, 2015), II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (м. Харків, 2015).

Публікації. Матеріали дисертації опубліковано у 27 наукових роботах, в тому числі 8 статтях у фахових наукових виданнях України та інших держав, 17 тезах доповідей, 2 патентах України на корисну модель.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 163 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 127 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 39 таблицями та 16 рисунками. Список використаних джерел містить 162 найменування, з них 115 кирилицею та 47 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Грицики звичайні – перспективне джерело біологічно активних речовин (огляд літератури). В огляді літератури наведені дані про ботанічну характеристику, розповсюдження, ресурси, хімічний склад та застосування грициків у медицині та народному господарстві. Літературні дані свідчать, що деякі групи БАР грициків звичайних почали вивчатися досить давно, але відомості про дослідження, наприклад, полісахаридів, гідроксикоричних кислот, пігментів у доступній літературі відсутні. Показники якості на траву грициків звичайних, за якими можливо б стандартизувати сировину також відсутні. На даний момент у 2 виданні ДФУ відсутня монографія на траву грициків звичайних. Але трава грициків звичайних, завдяки багатому хімічному складу та високій фармакологічній активності, залишається популярним видом ЛРС на території України.

Тому актуальним є систематичне фармакогностичне дослідження трави грициків звичайних та розробка МКЯ, отримання фітозасобів та вивчення їх фармакологічних властивостей.

Матеріали, методи та методики досліджень. У розділі представлено характеристику методів дослідження, наведено матеріали, методики та обладнання, які були використані при виконанні експериментальної частини дисертаційної роботи.

Ідентифікація та виділення біологічно активних речовин трави грициків звичайних. Якісними реакціями та сучасними методами аналізу (ГХ, ГХ-МС, ГРХ) в траві грициків звичайних були ідентифіковані: вільні та зв'язані цукри, амінокислоти, карбонові кислоти, флавоноїди, дубильні речовини. Одержана та вивчена ліпофільна фракція трави грициків звичайних. Основними компонентами цієї фракції є хлорофіли, каротиноїди, жирні кислоти. Методом колонкової хроматографії у вільному стані з трави грициків звичайних виділені та ідентифіковані 17 речовин: апі-

генін, лютеолін, кверцетин, кемпферол, рутин, нікотифлорин, антозид, кофейна, хлорогенова, неохлорогенова та *n*-кумарова, щавлева, бурштинова, яблучна, лимонна, галова та елагова кислоти.

Визначення кількісного вмісту основних груп БАР в траві грициків звичайних. Гравіметричним методом визначено кількісний вміст полісахаридів, який становив у перерахунку на абсолютно суху сировину $4,32 \pm 1,04$ %, а також проведено розділення полісахаридів за фракціями. Серед всіх фракцій полісахаридів переважала гіміцелюлоза А. Методом паперової хроматографії встановлено мономерний склад кожної фракції полісахаридів.

Методом ГХ проведено вивчення якісного складу та кількісного вмісту карбонових кислот. Результати досліджень представлені в табл. 1 та рис. 1.

Таблиця 1

Вміст карбонових кислот у траві грициків звичайних

№ з/п	Час утримання	Назва кислоти	Вміст, мг/кг
1	2	3	4
1.	5.15	Капронова кислота	15,90
2.	9.84	Щавлева кислота	297,20
3.	12.17	Малонова кислота	156,40
4.	12.90	Фумарова кислота	316,50
5.	14.01	Бурштинова кислота	212,80
6.	14.50	Бензойна кислота	8,50
7.	16.31	Глютарова кислота	12,30
8.	17.53	Фенілоцтова кислота	6,80
9.	17.77	Саліцилова кислота	11,20
10.	20.77	Гепта-2,4-дієнова кислота	1430,90
11.	24.83	Азелаїнова кислота	57,80
12.	29.67	Лимонна кислота	2614,90
13.	32.62	Ванілінова кислота	30,10
14.	40.26	Ферулова кислота	85,00

Результати проведених досліджень свідчили про значний вміст карбонових кислот в траві грициків звичайних. Так, в значній концентрації містилися такі органічні кислоти, як лимонна та гепта-2,4-дієнова.

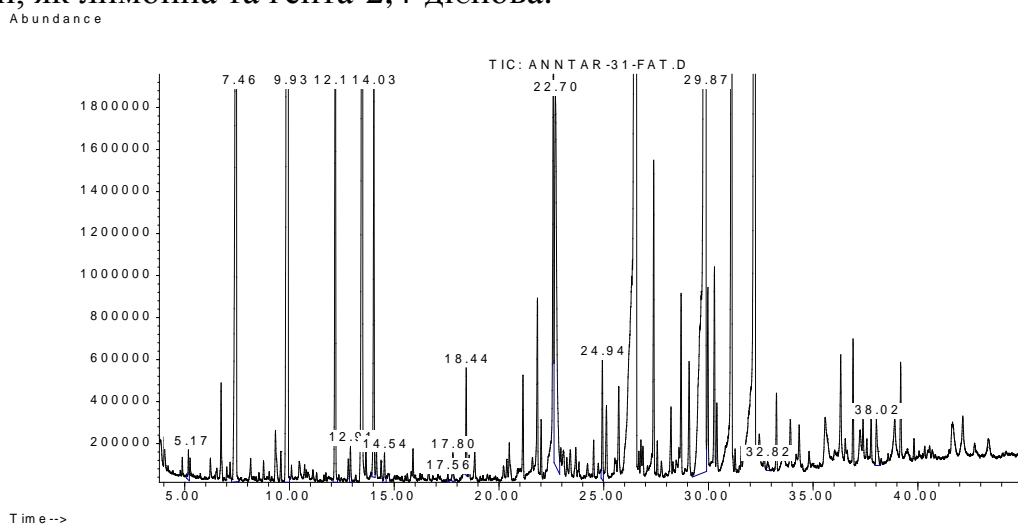


Рис. 1 ГХ карбонових кислот трави грициків звичайних

Досліджено компонентний склад легкої фракції трави грициків звичайних (рис. 2). Головними компонентами легкої фракції є жирні кислоти (пальмітинова, лінолева кислоти). Другими за кількісним вмістом йдуть алканові вуглеводні, серед яких переважає нонакозан. Результати наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Леткі сполуки трави грициків звичайних

№ з/п	Час утримання	Назва речовини	Вміст, мг/кг
1	2	3	4
1.	9.43	Нонаналь	22,50
2.	12.12	Каприлова кислота	28,50
3.	12.65	Деканаль	34,20
4.	14.70	Індол	37,10
5.	15.19	Нонанова кислота	32,40
6.	15.66	2-метокси-4-вінілфенол	85,90
7.	16.77	γ-окталактон	9,60
8.	21.48	Дигідроактинідіол	38,50
9.	23.98	Лауринова кислота	153,30
10.	28.54	Міристинова кислота	184,40

Продовж. табл. 2

1	2	3	4
11.	29.79	Гексагідрофарнезілацетон	601,80
12.	30.13	Пентадеканова кислота	113,00
13.	31.91	Пальмітинова кислота	2845,40
14.	33.45	Хенейкозан	121,50
15.	33,70	Лінолева кислота	1571,40
16.	34.04	Стеаринова кислота	95,40
17.	34.61	Докозан	69,20
18.	35.69	Трикозан	317,90
19.	36.71	Тетракозан	82,90
20.	37.70	Пентакозан	403,80
21.	38.63	Гексакозан	49,00
22.	39.54	Гептакозан	318,00
23.	40.40	Октакозан	39,60
24.	40.49	Сквален	291,10
25.	41.29	Нонакозан	1457,20
26.	42.85	Унтриаконтан	48,50

Abundance

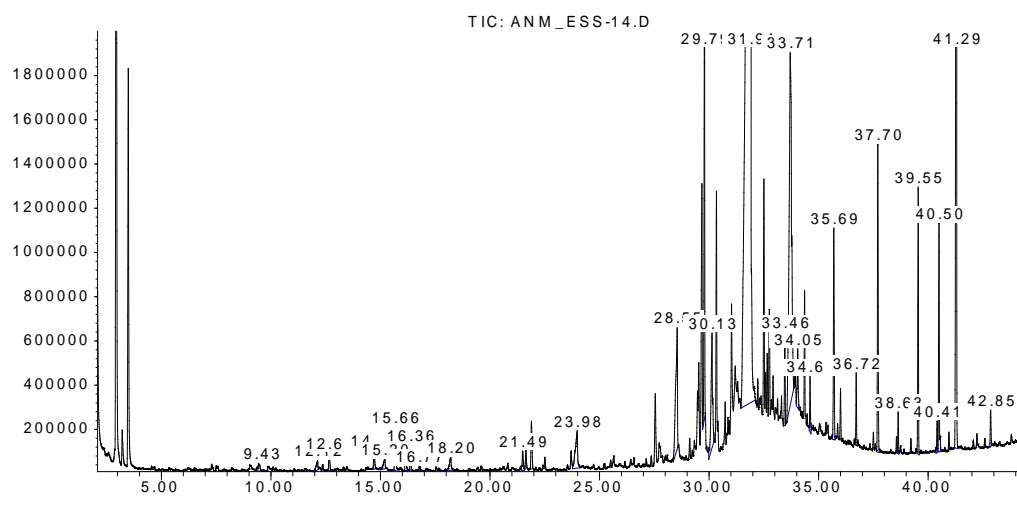


Рис 2. ГХ легкої фракції трави грициків звичайних

Розроблено та валідовано методику кількісного визначення суми флавоноїдів в траві грициків звичайних у перерахунку на лютеолін методом диференційної спектрофотометрії.

Для цієї мети нами були визначені окремі валідаційні характеристики: лінійність (табл. 3), стабільність, діапазон використання.

Таблиця 3

Результати вивчення лінійності модельних розчинів

№ модельного розчину	Введено, %	Введено розчину в мл	Знайдено, мг	Знайдено, %	Знайдено сер., %
1	70	0,70	2,50	67,6122	67,43
			2,49	67,2497	
			2,49	67,4309	
2	85	0,85	3,12	84,2887	84,23
			3,11	84,1074	
			3,12	84,2887	
3	100	1,00	3,70	100,0588	100,00
			3,70	100,0588	
			3,70	99,8775	
4	115	1,15	4,30	116,1915	116,31
			4,31	116,554	
			4,30	116,1915	
5	130	1,30	4,80	129,7864	130,03
			4,82	130,3302	
			4,81	129,9677	
Кутовий коефіцієнт лінійної залежності b					1,0040
Sb					0,0037
Вільний член лінійної залежності a					-0,4625
Sa					0,3737
Залишкове стандартне відхилення S_0					0,1814
Коефіцієнт кореляції методики r					1,0000
Критичне значення залишкового стандартного відхилення, $RSD^{1\%}$					24,7816
Критерій лінійного коефіцієнта кореляції R_c					0,9981

Для перевірки лінійності було приготовано 5 забарвлених розчинів комплексу лютеоліну з алюмінію хлоридом та виміряна їх оптична густина при довжині хвилі 405 нм і побудований графік залежності оптичної густини від концентрації флавоноїду в розчині (рис. 3).

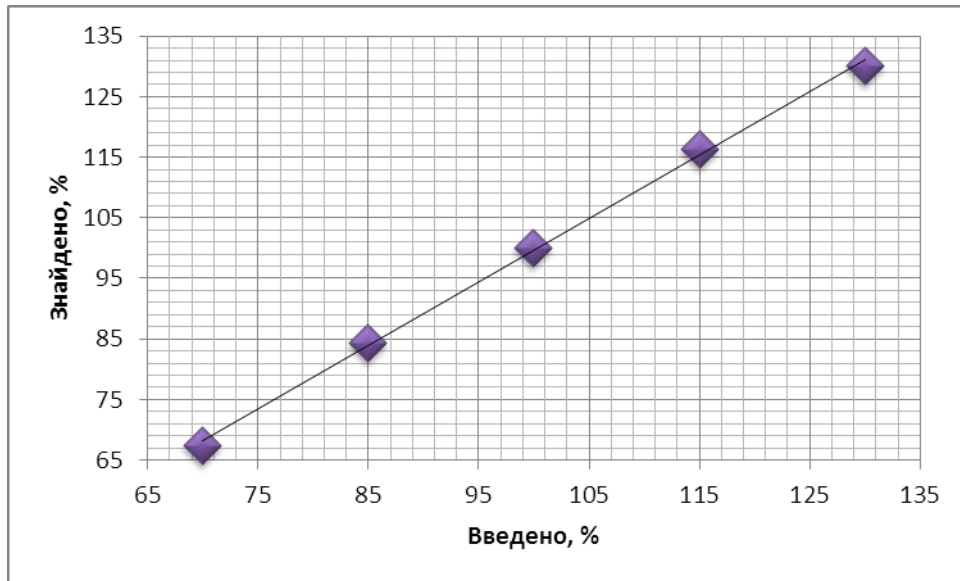


Рис. 3. Графік лінійної залежності оптичної густини розчину лютеоліну від його концентрації у нормалізованих координатах

В траві грициків звичайних спектрофотометричним методом визначено кількісний вміст різних груп фенольних сполук: загальний вміст гідроксикоричних кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту складав $5,42 \pm 1,21\%$; вміст поліфенолів у перерахунку на галову кислоту становив: $8,82 \pm 0,67\%$.

Встановлено вміст макро- та мікроелементів (табл. 4). В траві грициків звичайних виявлено 19 макро- та мікроелементів, з них: 4 макроелементи (Na, Mg, K, Ca), 6 життєво необхідних (Fe, P, Mn, Mo, Cu, Zn), 3 умовно життєво необхідних (Si, Ni, As). Вміст важких металів знаходиться в межах вимог гранично допустимих концентрацій для сировини та харчових продуктів та відповідає вимогам ДФУ.

Таблиця 4

Результати елементного аналізу трави грициків звичайних

№ з/п	Елемент	Вміст, мг/100 г
1	2	3
1.	Fe	72
2.	Si	700
3.	P	160
4.	Al	72
5.	Mn	18
6.	Mg	290

Продовж. табл. 4

1	2	3
7.	Pb	<0,03
8.	Ni	0,09
9.	Mo	<0,02
10.	Ca	720
11.	Cu	0,9
12.	Zn	0,9
13.	Na	90
14.	K	2700
15.	Sr	4,5
16.	Co	<0,03
17.	Cd	<0,01
18.	As	<0,01
19.	Hg	<0,01

Методом ГХ досліджено жирнокислотний склад ліпофільної фракції трави грициків звичайних. Встановлено, що вміст ненасичених жирних кислот в траві грициків звичайних більш ніж у 2,5 рази перевищує вміст насичених жирних кислот (табл. 5, рис. 4).

Таблиця 5

Жирнокислотний склад ліпофільної фракції трави грициків звичайних

№ з/п	Назва кислоти	Вміст, %
1	2	3
1.	Лауринова кислота	2,55
2.	Міристинова кислота	1,29
3.	Неідентифікована кислота	0,45
4.	Пальмітинова кислота	16,76
5.	Пальмітолеїнова кислота	1,34
6.	Стеаринова кислота	5,39
7.	Олеїнова кислота	10,46

Продовж. табл. 5

1	2	3
8.	Лінолева кислота	19,70
9.	Неідентифікована кислота	1,24
10.	Ліноленова кислота	24,39
11.	Гондоїнова кислота	14,95
12.	Бегенова кислота	0,20
13.	Ерукова кислота	0,02
14.	Неідентифікована кислота	0,78
15.	Лігноцерінова кислота	0,48
Сума неідентифікованих кислот		2,47
Сума насичених жирних кислот		26,67
Сума ненасичених жирних кислот		70,86

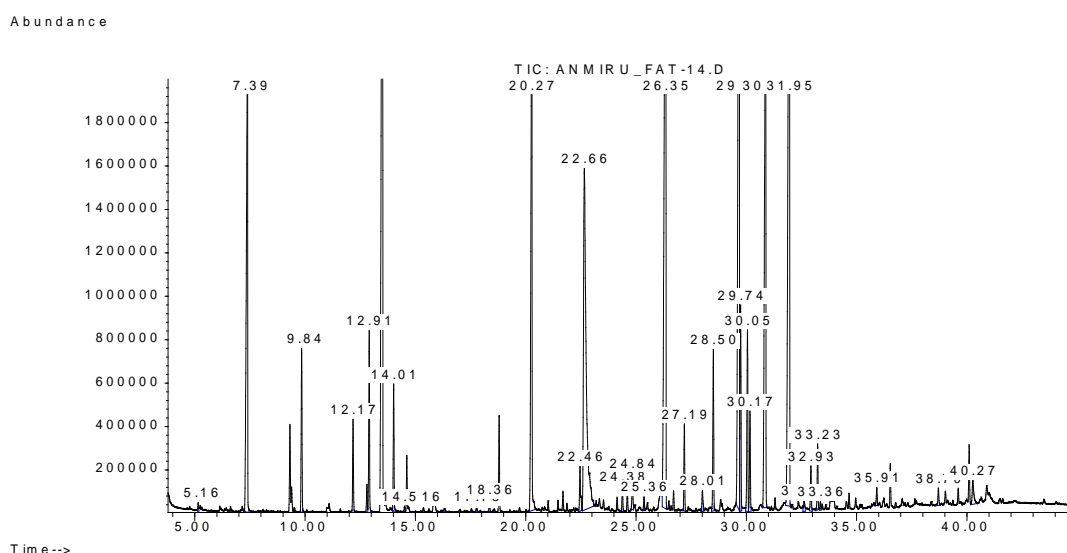


Рис. 4. ГХ жирних кислот трави грициків звичайних

У ліпофільній фракції трави грициків звичайних також встановлено вміст пігментів. Результати досліджень свідчать про незначний вміст хлорофілу а і b та каротиноїдів в траві грициків звичайних (табл. 6).

Таблиця 6

Кількісний вміст хлорофілів та каротиноїдів в траві грициків звичайних

Назва сировини	Вміст хлорофілу а, мг/г	Вміст хлорофілу b, мг/г	Вміст каротиноїдів, мг/г
Трава грициків звичайних	15,86	4,18	46,28

З метою комплексного дослідження сировини методом ГХ був встановлений кількісний вміст стероїдних сполук трави грициків звичайних (табл. 7). Аналіз отриманих даних свідчить, що трава грициків звичайних містить невисокі концентрації стероїдних сполук та не може бути розглянута як джерело для їх отримання.

Таблиця 7

Вміст стероїдних сполук в траві грициків звичайних

№ з/п	Назва сполуки	Кількісний вміст, мг/кг
1.	Стигмаста-3,5-дієн	8,2
2.	Стигмаста-4-єн-3-он	2,7

Стандартизація сировини, одержання субстанцій з трави грициків звичайних та вивчення їх фармакологічних властивостей. Нами були визначені критерії стандартизації трави грициків звичайних за ДФ СРСР різних видань та Британської трав'яної фармакопеї (British Herbal Pharmacopea – ВНР), а також визначені можливості розробки підходів щодо якості сировини при розробці МКЯ на «Грициків звичайних трава».

Аналіз отриманих даних свідчив, що у всіх виданнях Фармакопеї часів СРСР відсутні сучасні методи ідентифікації біологічно активних речовин трави грициків звичайних, а наводиться ідентифікація лише за зовнішніми та мікроскопічними діагностичними ознаками. У ВНР наведено дослідження метанольного екстракту з трави грициків звичайних в системі розчинників етилацетат-мурашина кислота-оцтова кислота-вода (100:11:11:27) у порівнянні з 0,02 % розчином рутину в метанолі. Крім того у всіх проаналізованих Фармакопеях відсутній розділ кількісного визначення біологічно активних речовин, а лише наведено визначення кількісного вмісту екстрактивних речовин: у ДФ СРСР ІХ та ХІ видання екстрактивних речовин, що вилучаються 70 % етанолом, а в ВНР - водою.

Визначені основні анатомо-морфологічні ознаки листя, стебла, квіток та плодів грициків звичайних, які були використані для розробки відповідного розділу проекту МКЯ на «Грициків звичайних трава» (рис. 5).

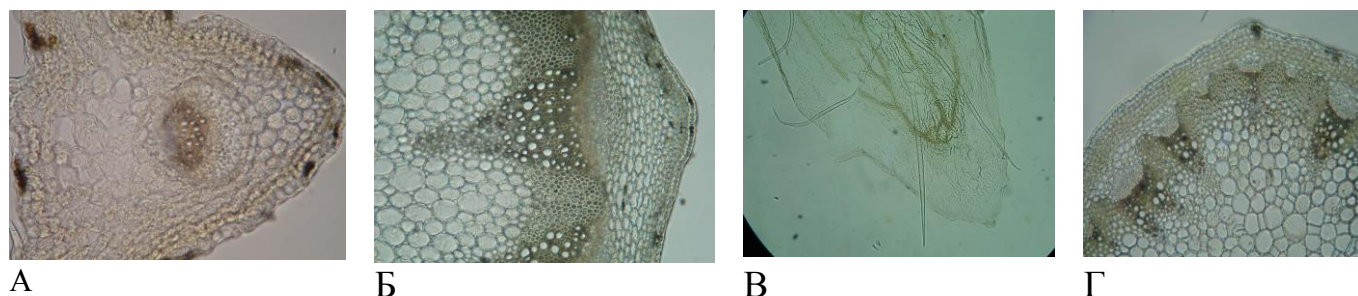


Рис. 5. Деякі мікроскопічні діагностичні ознаки трави грициків звичайних: поперечний зріз листової пластинки (А); поперечний зріз стебла (Б); поверхневий препарат клітин нижньої епідерми чашолистків (В); фрагмент поперечного зрізу вісі суцвіття (Г).

Основною групою біологічно активних речовин, що мають широкий спектр фармакологічної активності є фенольні сполуки. Контроль виходу фенольних сполук з трави грициків в екстракт контролювали методом ВЕРХ за допомогою хроматографа Agilent Technologies (модель 1100). Ідентифікацію фенольних сполук проводили за часом утримання стандартів і спектральними характеристиками. Результати досліджень представлені в табл. 8.

Таблиця 8

Фенольний склад різних зливів екстракту трави грициків звичайних

№ з/п	Час утримання	Речовина	Кількісний вміст БАР у різних зливах, мг/л					
			номер зливу					
			1	2	3	4	5	6
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	11.12	Похідна <i>n</i> -кумарової кислоти	14,30	27,10	2,10	1,50	0,20	-
2.	11.53	Похідна кофейної кислоти	9,20	18,20	2,50	4,0	1,30	-
3.	12.40	Хлорогенова кислота	26,00	49,90	3,30	4,10	1,30	-
4.	13.04	Похідна кофейної кислоти	13,60	27,60	3,10	4,80	1,30	-
5.	15.00	Похідна <i>n</i> -кумарової кислоти	23,30	50,70	2,80	3,50	0,40	-
6.	16.92	Похідна апігеніну	87,80	172,70	13,30	10,20	1,30	1,60
7.	17.14	Похідна апігеніну	60,30	117,90	8,40	8,60	1,30	-
8.	17.40	Похідна лютеоліну	159,00	299,00	27,50	12,90	1,70	-
9.	18.26	Кемпферол-3-О-рутинозид	79,20	159,50	11,10	8,00	0,80	-
10.	18.65	Кверцетин-3-О-глюкозид-7-О-рамнозид	49,00	97,40	7,90	6,90	0,90	-
11.	19.01	Лютеолін-7-О-глюкозид	529,50	1012,80	76,40	43,60	19,30	-
12.	19.52	Рутин	217,70	407,10	31,90	17,20	2,60	-

Продовж. табл. 8

1	2	3	4	5	6	7	8	9
13.	20.47	Кемпферол-3-О-глюкозид-7-О-рамнозид	61,10	120,90	8,50	7,30	1,50	-
14.	20.87	Лютеолін-7-рамнозид	81,00	146,90	16,20	16,40	10,70	-
15.	21.07	Кемпферол-7-О-рамнозид	58,10	111,00	9,00	5,50	0,70	-
16.	21.36	Похідна кверцетину	77,70	153,60	10,30	6,00	0,90	-
17.	22.24	Похідна апігеніну	32,80	67,10	3,90	2,90	0,70	-
18.	23.99	Лютеолін	16,90	26,50	1,90	28,60	3,40	-
Загальна кількість фенольних сполук			1596,50	3066,60	240,10	195,60	49,20	1,6

Аналіз досліджень, наведених в табл. 8, свідчить, що найбільший вихід фенольних сполук спостерігався у другому зливі екстракту (3066,60 мг/л). Концентрація фенольних сполук різко, у 12 разів знижувалася у третьому зливі і становила лише 240,10 мг/л. Тому в подальшому було вирішено зупинитися на двох зливах екстракту.

Враховуючи технологічні параметри, визначення кількісного вмісту фенольних сполук у різних зливах екстракту був розроблений спосіб отримання густого екстракту з трави грициків звичайних (ГЕТГ).

При дослідженні нового лікарського засобу обов'язковою характеристикою поряд з вивченням лікувальних властивостей є встановлення показника ЛД₅₀, що визначається при вивченні гострої токсичності. Фармакологічне вивчення густого екстракту трави грициків звичайних проводили на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету під керівництвом ст. наукового співробітника О.М. Шаповал.

Комплекс проведених досліджень з вивчення гострої токсичності нового препарату дозволив встановити відсутність токсичної дії при одноразовому внутрішньошлунковому введенні щурам-самцям та щурам-самицям густого екстракту з трави грициків звичайних в дозі 5000 мг/кг, що свідчило про те, що ЛД₅₀ знаходилася за межами 5000 мг/кг. Згідно з токсикологічною класифікацією речовин К.К. Сидорова густий екстракт при внутрішньошлунковому введенні належить до V класу токсичності – практично нетоксичних речовин, що дозволило продовжити дослідження.

При визначенні показників впливу густого екстракту трави грициків звичайних на згортання крові, представлених в табл. 9, було встановлено, що при превентивному введенні в дозі 10 мг/кг він проявляє високу (47,6%), а в дозах 50 та 100 мг/кг – значущу – на рівні 70% - кровоспинну дію.

Вплив ГЕТГ на згортання крові

Експериментальна група	Доза, мг/кг	Згортання крові, сек.	Кровоспинна дія, %
1	2	3	4
Інтактний контроль	-	185±33	-
ГЕТГ	10	97±8 *	47,6
ГЕТГ	50	54±10 *	70,8
ГЕТГ	100	57±11 *	69,2

* – Відхилення показника достовірно по відношенню до групи інтактного контролю (P ≤ 0,05)

При вивченні протизапальної активності густого екстракту з трави грициків звичайних було встановлено, що найбільш виражену протинабрякову та протизапальну дію майже на рівні препарату порівняння діклофенаку натрію проявив екстракт у дозі 50 мг/кг – його середня за 5 годин протизапальна активність становить близько 40%. Результати досліджень наведені в табл. 10.

Таблиця 10

Вивчення протизапальної активності густого екстракту трави грициків на моделі запалення стопи у щурів, викликаного карагеніном, n=6

Умови досліджу		Доза, мг/кг	Динаміка розвитку запалення, години				
			1	2	3	4	5
1		2	3	4	5	6	7
Позитивний контроль	ΔV	-	19,0±0,4	18,2±0,9	22,5±0,6	31,8±0,9	40,7±1,6
	ГЕТГ	10	16,2±1,4	19,0±1,7 **	24,0±2,7 **	28,5±2,5 **	32,5±2,5 */**
Активність, %	15		-	-	10	20	
ГЕТГ	ΔV	50	9,8±1,4 *	12,5±0,7 *	14,0±1,5 *	21,7±1,3 */**	28,5±1,5 */**

1	2	3	4	5	6	7	
	Активність, %		48	31	38	32	30
ГЕТГ	ΔV	100	12,5±1,0 *	17,8±1,7 **	19,5±3,1	23,3±2,1 */**	26,5±1,4 */**
	Активність, %		34	-	13	27	35
Діклофенак натрію	ΔV	8	12,2±1,5 *	12,8±1,7 *	12,8±1,6 *	15,0±1,8 *	15,0±1,8 *
	Активність, %		36	29	43	53	53

Примітки: ГЕТГ- густий екстракт трави грициків звичайних

* - відмінності достовірні відносно групи позитивного контролю,

$p \leq 0,05$ (критерій Ньюмена-Кейлса)

** - відмінності достовірні відносно групи препарату порівняння диклофенаку натрію, $p \leq 0,05$ (критерій Ньюмена-Кейлса)

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено експериментальні дані для вирішення задач, поставлених для досягнення наукової мети роботи, що виявляються в фармакогностичному дослідженні трави грициків звичайних.

1. За допомогою якісних реакцій та хроматографічних методів аналізу в траві грициків звичайних були ідентифіковані: вільні та зв'язані цукри, амінокислоти, карбонові кислоти, леткі сполуки, флавоноїди, дубильні речовини. Отримана та вивчена ліпофільна фракція трави грициків звичайних. Основними компонентами якої є хлорофіли, каротиноїди, жирні кислоти.

2. З трави грициків звичайних в індивідуальному стані виділені 17 речовин: апігенін, лютеолін, кверцетин, кемпферол, рутин, нікотифлорин, антозид, кофеїна, хлорогенова, неохлорогенова та *n*-кумарова, щавлева, бурштинова, яблучна, лимонна, галова та елагова кислоти.

3. Вперше визначено кількісний вміст полісахаридів, який становить в перерахунку на абсолютно суху сировину відповідно 4,32±1,04 %, а також проведено розділення полісахаридів за фракціями. Серед всіх фракцій полісахаридів переважала фракція ГЦ А. Крім того встановлений мономерний склад кожної полісахаридної фракції. Методом ГХ проведено вивчення якісного складу та кількісного вмісту карбонових кислот та компонентів леткої фракції.

4. В траві грициків звичайних визначено кількісний вміст різних груп фенольних сполук: вміст флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту хлорогенову та вміст поліфенолів у перерахунку на кислоту галову. В траві грициків звичайних виявлено 19 макро- та мікроелементів, з них: 4 макроелементи

(Na, Mg, K, Ca), 6 життєво необхідних (Fe, P, Mn, Mo, Cu, Zn), 3 умовно життєво необхідних (Si, Ni, As). Методом ГХ встановлений кількісний вміст стероїдних сполук трави грициків звичайних. Аналіз отриманих даних свідчить, що трава грициків звичайних містить невисокі концентрації стероїдних сполук та не може бути розглянута як джерело для їх отримання.

5. Визначені основні анатомо-морфологічні ознаки листя, стебла, квіток та плодів грициків звичайних, які були використані для розробки відповідного розділу проекту МКЯ на «Грициків звичайних трава».

6. Вперше розроблено спосіб отримання густого екстракту з трави грициків звичайних, використовуючи результати визначення технологічних параметрів та кількісного вмісту фенольних сполук у різних зливах екстракту.

7. Проведений аналіз даних монографій Фармакопей показав, що у всіх виданнях Фармакопей часів СРСР відсутні сучасні методи ідентифікації біологічно активних речовин трави грициків звичайних, а наводиться ідентифікація лише за зовнішніми та мікроскопічними діагностичними ознаками. Крім того у всіх проаналізованих Фармакопєях відсутній розділ кількісного визначення біологічно активних речовин.

8. Фармакологічними дослідженнями визначена гостра токсичність густого екстракту та достовірно доведено, що отримана субстанція може бути використана при створенні кровоспинних, мембраностабілізуювальних та гепатопротекторних лікарських засобів.

9. Розроблено проекти МКЯ на «Грициків звичайних трава» та «Грициків звичайних трави екстракт густий».

Список опублікованих праць за темою дисертації

1. Колісник, Ю. С. Дослідження флавоноїдів трави грициків звичайних / Ю. С. Колісник, В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова // Укр. журн. клін. та лаб. медицини. – 2011. – Т. 6, № 3. – С. 122 – 123. (Особистий внесок – провела фітохімічні дослідження, брала участь в оформленні роботи).

2. Колісник, Ю. С. Дослідження жирнокислотного складу ліпідів трави грициків звичайних / Ю. С. Колісник, В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова // Фармацевтичний часопис. – 2012. – № 2(22). – С. 51 – 53. (Особистий внесок – отримала ліпофільну фракцію, брала участь в узагальненні результатів та підготовці статті).

3. Колісник, Ю. С. Полісахариди та органічні кислоти трави грициків звичайних / Ю. С. Колісник, В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова // Фітотерапія. Часопис. – 2013. – № 1. – С. 55 – 58. (Особистий внесок – брала участь в дослідженнях та підготовці статті).

4. Колісник, Ю. С. Пігменти трави грициків звичайних (*Capsella bursa pastoris*) / Ю. С. Колісник, В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова // Фармац. журн. – 2013. – № 1. – С. 75 – 77. (Особистий внесок – провела фітохімічні дослідження, брала участь в оформленні роботи).

5. Исследование компонентного состава летучих фракций травы пастушьей сумки и почек смородины черной / Н. А. Сущук, Ю. С. Колесник, В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова // Вестник Таджик. нац. ун-та. Сер. Естественных наук. – 2013. – №

1/3 (110). – С. 84 – 88. (Особистий внесок – підготовка зразка для аналізу, участь в обробці результатів аналізу та написанні статті).

6. Елементний склад трави грициків звичайних та вичавок плодів смородини чорної / В. С. Кисличенко, Ю. С. Колісник, Н. А. Суцук, В. Ю. Кузнєцова // Фітотерапія. Часопис. – 2013. – № 4. – С. 53 – 55. (Особистий внесок – підготовка зразка для аналізу, участь в обробці результатів аналізу та написанні статті).

7. Кисличенко, В. С. Про необхідність розробки монографії «Грициків трава» для введення до Державної фармакопеї України / В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнєцова, Ю. С. Колісник // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупіка. – 2014. – Вип. 23, кн. 4. – С. 281 – 287. (Особистий внесок – брала участь в дослідженнях та підготовці статті).

8. Кузнєцова, В. Ю. Вивчення гострої токсичності густого екстракту з трави грициків звичайних / В. Ю. Кузнєцова, В. С. Кисличенко, Ю. С. Колісник // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупіка. – 2015. – Вип. 24, кн. 5. – С. 138 – 143. (Особистий внесок – підготовка зразка для аналізу, участь в обробці результатів аналізу та написанні статті).

9. Патент № 100565 Україна, МПК А61К 36/31, А61Р 1/16. Рослинний засіб гепатопротекторної та жовчогінної дії / Кисличенко В. С., Колісник Ю. С., Кузнєцова В. Ю. – № u 2015 02352 ; заявл. 16.03.2015 ; опубл. 27.07.2015, Бюл. № 14. (Особистий внесок – приймала участь в патентному пошуку, підготовці зразка для аналізу та в оформленні патенту).

10. Патент № 100886 Україна, МПК А61К 36/00, А61 К 135/00, А 61/Р 29/00. Застосування густого екстракту трави грициків як засобу мембраностабілізуючої та протизапальної дії / Кисличенко В. С., Колісник Ю. С., Кузнєцова В. Ю. – № u 2015 02339 ; заявл. 16.03.2015 ; опубл. 10.08.2015, Бюл. № 15. (Особистий внесок – приймала участь в патентному пошуку, підготовці зразка для аналізу та в оформленні патенту).

11. Development of a herbal species for treatment of gastroenteric diseases / O. A. Kyslychenko, Ye. V. Gladukh, O. S. Kukhtenko, L. I. Shulga, Iu. S. Kolisnyk // The 13-th International Congress Phytopharm 2009: Abstracts Book, 29–31 July 2009, Bonn. – Bonn, 2009. – P. 67.

12. Колісник, Ю. С. Трава грициків як перспективний гемостатичний засіб / Ю. С. Колісник, В. С. Кисличенко // Фармацевтична наука: історичні аспекти формування та шляхи вдосконалення : матеріали VI регіон. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів. – Луганськ : Віртуальна реальність, 2010. – С. 123 – 124.

13. Колісник, Ю. С. Грицики звичайні як перспективна рослина для розробки коректора еректильної дисфункції у чоловіків / Ю. С. Колісник, В. С. Кисличенко // Фармація України. Погляд у майбутнє : матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 15–17 верес. 2010 р. – Х. : НФаУ, 2010. – С. 287.

14. Gurieva, I. G. Phytochemical Study of Tyfon (*Brassica campestris* f. *biennis* DC. x *B. Rapa* L.) / I. G. Gurieva, V. S. Kyslychenko, Iu. S. Kolisnyk // The 2-nd International symposium on medicinal plants, Their cultivation and Aspects of Uses, 3–4 November 2010, Petra. – Petra, 2012. – P. 72 – 73.

15. Колесник, Ю. С. Определение основных технологических параметров травы пастушьей сумки / Ю. С. Колесник, В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова // Современные аспекты разработки и совершенствования состава и технологии лекарственных форм : материалы Всеросс. науч.-практ. интернет-конф. с междунар. участием, г. Курск, 27 апр. 2011 г. – Курск, 2011. – С. 84 – 85.

16. Колісник, Ю. С. Вивчення якісного складу трави грициків звичайних / Ю. С. Колісник, В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова // Матеріали II наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 17–18 листоп. 2011 р. – Х., 2011. – С. 91 – 92.

17. Колісник, Ю. С. Визначення екстрактивних речовин трави грициків звичайних / Ю. С. Колісник, В. Ю. Кузнецова, В. С. Кисличенко // Здобутки та перспективи розвитку фармацевтичної та медичної галузі в сучасному світі : зб. тез доп. II Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів : м. Луганськ, 29 берез. 2012 р. – Луганськ, 2012. – С. 95 – 97.

18. Колісник, Ю. С. Вивчення гідроксикоричних кислот трави грициків звичайних / Ю. С. Колісник, В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова // Хімія природних сполук : матеріали III Всеукр. наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 30–31 жовт. 2012 р. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2012. – С. 26.

19. The Search of Plants with Expressed Theurapeutic Activity among the Cabbage Family / I. Zinchenko, G. Tartynska, Y. Kolisnyk, V. Kyslychenko // The 3-rd International Symposium on Medicinal Plants, Their cultivation and Aspects of Uses, 21–23 November 2012, Petra. – Petra, 2012. – P. 52.

20. Колісник, Ю. С. Перспективи використання трави грициків звичайних для створення дієтичних добавок / Ю. С. Колісник, В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова // Функціональні харчові продукти – дієтичні добавки – як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань : матеріали I Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 11–12 квіт. 2013 р. – Х. : ЕСЕН, 2013. – С. 128.

21. Колесник, Ю. С. Стероиды травы пастушьей сумки обыкновенной / Ю. С. Колесник, В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова // Медичні та фармацевтичні науки: історія, сучасний стан та перспективи досліджень : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., м. Одеса, 13–14 груд. 2013 р. – Одеса : Південна фундація медицини, 2013. – С. 18 – 20.

22. Колесник, Ю. С. Изучение свободных аминокислот в траве пастушьей сумки / Ю. С. Колесник, В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова // Сучасні тенденції розвитку медичної науки та медичної практики : зб. тез наук. робіт учасників Міжнар. наук.-практ. конф., м. Львів, 20–21 груд. 2013 р. – Львів : Львівська медична спільнота, 2013. – С. 100 – 102.

23. Кисличенко, В. С. Перспективи створення нового простатопротекторного засобу на основі біологічно активних речовин трави грициків звичайних / В. С. Кисличенко, Ю. С. Колісник, В. Ю. Кузнецова // Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин : матеріали I Міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 20–21 берез. 2014 р. – Х., 2014. – С. 94 – 95.

24. Кисличенко, В. С. Фенольный склад трави грициків звичайних / В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова, Ю. С. Колісник // Сучасні досягнення фармацевтичної тех-

нології та біотехнології : матеріали IV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 16–17 жовт. 2014 р. – Х. : Видавництво НФаУ, 2014. – С. 139 – 140.

25. Кисличенко, В. С. Визначення впливу кратності екстракції на вихід біологічно активних речовин з трави грициків звичайних / В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова, Ю. С. Колісник // Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії : матеріали I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 7–8 листоп. 2014 р. – Х. : Видавництво НФаУ, 2014. – С. 86 – 87.

26. Кузнецова, В. Ю. Карбоновые кислоты травы пастушьей сумки / В. Ю. Кузнецова, Ю. С. Колісник // Внедрение достижений медицинской науки в клиническую практику : сб. материалов X науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с междунар. участием, г. Душанбе, 24 апреля 2015 г. – Душанбе, 2015. – С. 348.

27. Кисличенко, В. С. Вивчення впливу густого екстракту трави грициків на згортання крові / В. С. Кисличенко, В. Ю. Кузнецова, Ю. С. Колісник // Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії : матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 12–13 листоп. 2015 р. – Х. : Видавництво НФаУ, 2015. – С. 136 – 137.

Колісник Ю.С. Фармакогностичне дослідження *Capsella bursa pastoris* (L.) Medik. – На правах рукопису.

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

Дисертаційна робота присвячена комплексному фармакогностичному дослідженню трави грициків звичайних. Використовуючи сучасні методи дослідження в траві грициків звичайних було ідентифіковано та визначено кількісний вміст вільних та зв'язаних цукрів, амінокислот, карбонових кислот, летких сполук, флавоноїдів, дубильних речовин. Отримана та досліджена ліпофільна фракція. Розроблена та валідована методика кількісного визначення флавоноїдів в траві грициків звичайних. В індивідуальному стані з трави грициків звичайних виділені 17 речовин. Виявлено та визначено кількісний вміст 19 макро- та мікроелементів.

Досліджені критерії стандартизації трави грициків звичайних за Фармакопеями Радянського Союзу та Британської трав'яної фармакопеї (British Herbal Pharmacopoeia – ВНР) та визначені можливості розробки підходів щодо якості сировини при розробці МКЯ на «Грициків звичайних трава».

Визначені основні анатомо-морфологічні ознаки листя, стебла, квіток та плодів грициків звичайних, які були використані для розробки відповідного розділу проекту МКЯ на «Грициків звичайних трава». Розроблений спосіб отримання густого екстракту з трави грициків звичайних.

Фармакологічними дослідженнями визначена гостра токсичність густого екстракту та достовірно доведено, що отримана субстанція може бути використана при створенні кровоспинних, мембраностабілізуювальних та гепатопротекторних лікарських засобів.

Ключові слова: грицики звичайні, фармакогностичне вивчення, густий екстракт, кровоспинна, протизапальна, жовчогінна активність.

Колесник Ю.С. Фармакогностическое исследование *Capsella bursa pastoris* (L.) Medik. - На правах рукописи.

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

Анализ литературных данных свидетельствует, что некоторые группы БАВ пастушьей сумки достаточно изучены, но сведения об исследованиях, например, полисахаридов, гидроксикоричных кислот, пигментов в доступной литературе отсутствуют. Показатели качества на траву пастушьей сумки, по которым возможно было бы стандартизировать сырье, также отсутствуют. На данный момент в II издании Государственной фармакопеи Украины (ГФУ) отсутствует монография на траву пастушьей сумки. Но трава пастушьей сумки, благодаря богатому химическому составу и высокой фармакологической активности, остается популярным видом ЛРС на территории Украины.

Качественными реакциями и хроматографическими методами анализа в траве пастушьей сумки были идентифицированы: свободные и связанные сахара, аминокислоты, карбоновые кислоты, летучие соединения, флавоноиды, дубильные вещества. Получена и изучена липофильная фракция травы пастушьей сумки. Основными компонентами ее являются хлорофиллы, каротиноиды, жирные кислоты.

Из травы пастушьей сумки в индивидуальном состоянии выделены 17 веществ: апигенин, лютеолин, кверцетин, кемпферол, рутин, никотифлорин, антозид, кофейная, хлорогеновая, неохлорогеновая и *n*-кумаровая, щавелевая, янтарная, яблочная, лимонная, галловая и эллаговая кислоты.

Впервые определено количественное содержание полисахаридов, а также проведено их разделение на фракции. Среди всех фракций полисахаридов преобладала фракция ГЦ А. Кроме того, установлен мономерный состав каждой полисахаридной фракции.

Методом ГХ проведено изучение качественного состава и количественного содержания карбоновых кислот и компонентов летучей фракции. Основными компонентами летучей фракции травы пастушьей сумки являются жирные кислоты (пальмитиновая, линолевая). Второе место по количественному содержанию занимают алкановые углеводороды, среди которых преобладает нонакозан. Среди карбоновых кислот в значительных количествах содержатся лимонная и гепта-2,4-диеновая кислоты.

В траве пастушьей сумки определено количественное содержание различных групп фенольных соединений: содержание флавоноидов, гидроксикоричных кислот и содержание полифенолов в пересчете на кислоту галловую. В траве пастушьей сумки обнаружено 19 макро- и микроэлементов, из них: 4 макроэлемента (Na, Mg, K, Ca), 6 жизненно необходимых (Fe, P, Mn, Mo, Cu, Zn), 3 условно жизненно необходимых (Si, Ni, As). Содержание тяжелых металлов находится в пределах требований предельно допустимых концентраций для сырья и пищевых продуктов и соот-

ветствует требованиям ГФУ. Методом ГХ установлено количественное содержание стероидных соединений (11,10 мг/кг).

Разработана и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов в траве пастушьей сумки. Их содержание составляет 0,36 % в пересчёте на лютеолин.

Методом ГХ изучен жирнокислотный состав липофильной фракции травы пастушьей сумки. Установлено, что содержание ненасыщенных жирных кислот в траве пастушьей сумки более чем в 2,5 раза превышает содержание насыщенных жирных кислот.

Исследованы критерии стандартизации травы пастушьей сумки по фармакопеям Советского Союза и Британской травяной фармакопее (British Herbal Pharmacopoea), сделаны выводы об отсутствии современных методик идентификации и определения количественного содержания биологически активных веществ. Проведенные исследования легли в основу определения подходов к разработке методик контроля качества на «Пастушьей сумки трава».

Изучены основные анатомо-морфологические признаки листьев, стеблей, цветков и плодов пастушьей сумки, которые были использованы при разработке соответствующего раздела в МКК на «Пастушьей сумки трава».

Разработан способ получения густого экстракта травы пастушьей сумки. Контроль выхода фенольных соединений из травы пастушьей сумки в экстракт контролировали методом ВЭЖХ с помощью хроматографа Agilent Technologies (модель 1100). Идентификацию фенольных соединений проводили по времени удержания стандартов и спектральным характеристикам. Наибольший выход фенольных соединений наблюдался во втором сливе экстракта (3066,60 мг/л). Концентрация фенольных соединений резко, в 12 раз снижалась в третьем сливе и составляла всего 240,10 мг/л. Поэтому в дальнейшем было решено остановиться на двух сливах экстракта.

Фармакологическое изучение густого экстракта травы пастушьей сумки проводили на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории Национального фармацевтического университета под руководством старшего научного сотрудника О.Н. Шаповал.

Комплекс проведенных исследований по изучению острой токсичности густого экстракта позволил установить отсутствие токсического действия при однократном внутрижелудочном введении крысам-самцам и крысам-самкам густого экстракта в дозе 5000 мг/кг. Согласно токсикологической классификации веществ К.К. Сидорова густой экстракт при внутрижелудочном введении относится к V классу токсичности - практически нетоксичным веществам. Дальнейшими фармакологическими исследованиями достоверно доказано, что полученная субстанция может быть использована при создании кровоостанавливающих, мембраностабилизирующих, противовоспалительных и гепатопротекторных лекарственных средств.

Ключевые слова: пастушья сумка, фармакогностическое изучение, густой экстракт, кровоостанавливающая, противовоспалительная, желчегонная активность.

Kolisnyk Yu.S. The pharmacognostic study of *Capsella bursa pastoris* (L.) Medik.
- A manuscript.

The Ph.D. thesis in Pharmacy (Candidate of Pharmaceutical Sciences) in specialty 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2016.

The thesis is devoted to the complex pharmacognostic study of shepherd's purse herb. The quantitative content of free and related sugars, amino acids, carboxylic acids, volatile compounds, flavonoids, tannins have been identified and determined using modern research methods. The lipophilic fraction has been obtained and studied.

The method for the quantitative determination of flavonoids in shepherd's purse herb has been developed and validated. In the individual state 17 substances have been isolated, and their structures have been determined. The quantitative content of 19 macro- and microelements has been identified.

The standardization criteria of shepherd's purse herb have been studied according to the Soviet Union Pharmacopoeia and British Herbal Pharmacopea (BHP); the possibilities for development of approaches concerning the quality of the raw material have been determined when developing the DMF for “Shepherd's purse herb”.

The basic anatomical and morphological characteristics of leaves, stems, flowers and fruits of shepherd's purse have been determined and used for developing the corresponding section of the DMF draft for “Shepherd's purse herb”. The method for obtaining a thick extract from shepherd's purse herb has been developed.

The pharmacological studies have determined the acute toxicity of the thick extract; it has been reliably proven that the substance obtained can be used to create hemostatic, membrane-stabilizing and hepatoprotective drugs.

Key words: Shepherd's purse, pharmacognostic study, thick extract, hemostatic, anti-inflammatory, cholagogue effects.