

Міністерство охорони здоров'я України  
Національний фармацевтичний університет

**Прокопенко Юлія Сергіївна**

УДК 615.32:615.217:311.21

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ОПТИМІЗАЦІЇ  
ПОШУКУ РОСЛИННИХ ПРОТИСУДОМНИХ ЗАСОБІВ**

**15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія**

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

**Харків – 2019**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Національному фармацевтичному університеті Міністерства охорони здоров'я України.

**Науковий консультант:** доктор фармацевтичних наук, професор  
**Георгіяниц Вікторія Акопівна**  
*Національний фармацевтичний університет,  
завідувач кафедри фармацевтичної хімії*

**Офіційні опоненти:** доктор фармацевтичних наук, професор  
**Мазулін Олександр Владилєнович**  
*Запорізький державний медичний університет,  
завідувач кафедри фармакогнозії, фармхімії і  
технології ліків*

доктор фармацевтичних наук, професор  
**Мартинів Артур Вікторович**  
*ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені  
І. І. Мечникова НАМН України»,  
завідувач лабораторії та клінічного відділу  
молекулярної імунофармакології*

доктор фармацевтичних наук  
**Гудзенко Андрій Вікторович**  
*ПВНЗ «Київський медичний університет»,  
завідувач кафедри хімії*

Захист відбудеться «11» листопада 2019 р. 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 в бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «11» жовтня 2019 р.

В. о вченого секретаря  
спеціалізованої вченої ради,  
професор

О. А. Рубан

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** На сьогоднішній день залишається актуальною проблема зростання кількості неврологічних патологій, зокрема, епілепсії. Епілепсію відносять до числа найбільш розповсюджених захворювань центральної нервової системи (ЦНС): за даними ВООЗ, у світі зареєстровано майже 50 мільйонів хворих, в Україні даний показник сягає 500 000 осіб. Відомі на сьогоднішній день засоби терапії не є достатньо ефективними: покращення стану хворих або регрес клінічних проявів захворювання спостерігається лише у кожному другому випадку, а кожен четвертий випадок епілепсії характеризується фармакотерапевтичною резистентністю.

На сьогоднішній день в Україні та інших країнах світу серед арсеналу лікарських засобів для лікування епілепсії представлені лише препарати синтетичного походження. Проте застосування рослинних лікарських засобів може бути доцільним та виправданим, зважаючи на комплексний вплив на механізми розвитку судомних нападів та м'яку психотропну дію, що суттєво нівелює розвиток симптомів епілептичних змін особистості. Враховуючи вищевикладене, впровадження нових алгоритмів пошуку, розробки та стандартизації фітотерапевтичних засобів з доведеною протисудомною активністю є доцільним та актуальним.

Вивченням протисудомних властивостей лікарської рослинної сировини (ЛРС) займаються вчені різних країн світу: США (*Goldenberg M. M.*, 2010), Греції (*Magiorkinis E.*, 2011), Індії (*Hasan S.*, *Dwivedi V.*, *Misra M.*, 2012; *Gupta G.*, 2014; *Kar D. M.*, 2014), Сінгапуру (*Edema M. O.*, *Omogbai E. K.*, 2006), Великої Британії (*Nsour W. M.*, 2000), Китаю (*Lau C. B.-S.*, 2000; *Liu W.*, 2017), Бразилії (*Carod-Artal F. J.*, 2007; *Quintans Junior L. J.*, 2008), України (*Мищенко В. А.*, 2013; *Штриголь С. Ю.*, 2015; *Марчишин С. М.*, 2016; *Цивунін В. В.*, 2016), Ірану (*Rezvani M. E.*, 2011; *Kiasalari Z.*, 2012; *Hosseinzadeh H.*, 2012; *Abdollahi F. M.*, 2013; *Sahranavard S.*, 2014), Нігерії (*Okoli C. O.*, 2010), Узбекистану (*Mamadaliyeva N. Z.*, 2017), Танзанії (*Moshi M. J.*, *Kagashe G. A. B.*, 2005), Іспанії (*Lorente L.*, *Martin M. M.*, *Abreu-González P.*, 2015), Казахстану (*Sermukhamedova O. V.*, 2015), Йорданії (*Abuhamdah S.*, 2015).

В описаних науковцями інформаційних першоджерелах існують дані щодо протисудомної активності ЛРС, проте більшість видів, що досліджувалися, мають обмежений ареал розповсюдження. Даний аспект значно ускладнює як її заготівлю, так і культивування в окремих регіонах України, оскільки одним з найбільш вагомих аргументів стосовно перспективи застосування того чи іншого виду ЛРС є її можливості заготівлі. Тому актуальним питанням на сьогоднішній день є пошук перспективних джерел ЛРС у флорі України для подальшої розробки оригінальних засобів для лікування епілепсії.

Для оптимізації спрямованого пошуку протисудомних ЛЗ синтетичного походження досить ефективно використовуються дослідження *in silico*, що дозволяє оптимізувати фармакологічні дослідження, зберегти життя тварин та заощадити значні кошти. Цьому передували широкі системні дослідження щодо якісного та кількісного впливу хімічної структури на протисудомну активність за результатами експериментальних досліджень, визначення первинних та вторинних фармакофорів.

Для рослинних антиконвульсантів такі дослідження системно не проводились, крім того, як правило, біологічну активність ЛРС обумовлює цілий комплекс

біологічно активних речовин. Комплексне експериментальне вивчення хімічного складу та протисудомної активності ЛРС та рослинних екстрактів дасть змогу виявити закономірності їх сполучення та обґрунтувати шляхи оптимізації пошуку рослинних антиконвульсантів.

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

Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету за темами «Фармакогностичне вивчення біологічноактивних 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 завдання дослідження.** Метою дисертаційної роботи було теоретичне та експериментальне обґрунтування оптимізації цілеспрямованого пошуку ЛРС протисудомної дії.

Для досягнення поставленої мети необхідно було розв'язати наступні завдання:

- запропонувати алгоритм цілеспрямованого пошуку перспективних джерел ЛРС для розробки оригінальних антиконвульсантів рослинного походження;
- здійснити дослідження хімічного складу обраних видів ЛРС та експериментально визначити вміст основних груп біологічно активних речовин, що мають найбільший протисудомний потенціал;
- з досліджуваної ЛРС одержати сухі екстракти та піддати їх фармакологічному скринінгу; за результатами фармакологічного дослідження обрати об'єкти для подальшого хімічного та фармакологічного вивчення; оцінити вплив біологічно активних речовин на реалізацію протисудомного ефекту;
- здійснити кореляційні дослідження щодо взаємозв'язку між вмістом основних біологічно активних речовин в екстрактах-лідерах та реалізацією їх протисудомної активності;
- на підставі проведеного фітохімічного дослідження запропонувати параметри стандартизації екстрактів-лідерів та вхідного контролю відповідної ЛРС;
- на основі здійснених експериментальних досліджень сформулювати основні принципи цілеспрямованого пошуку рослинних антиконвульсантів та розробити програмне забезпечення для розрахунку протисудомного потенціалу ЛРС.

**Об'єкт дослідження.** Цілеспрямований пошук рослинних протисудомних засобів.

**Предмет дослідження.** Експериментальне дослідження хімічного складу (алкалоїди, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, амінокислоти, терпенові сполуки, поліфенольні сполуки), які є представниками родин барбарисові, березові, глухокропивні, гортензієві, жимолостеві, маслинові, омелові, пасльонові, руткові, синюхові; субстанцій з вищенаведеної ЛРС: сухі екстракти (1:20) водні, водно-

спиртові, спиртові та ліпофільні; кореляційні дослідження щодо зв'язку вмісту основних груп БАР та протисудомною активністю; визначення маркерів впливу на протисудомну активність методами *in silico*.

**Методи дослідження.** Для визначення якісного та кількісного вмісту БАР використані методи: ПХ, ТШХ, ВЕТШХ, ВЕРХ, ГРХ (GC-MS), абсорбційна спектрофотометрія в УФ- та видимій області, ІЧ-спектроскопія, специфічні якісні реакції. Для кореляційних досліджень використані результати фармакологічних досліджень, виконані *in vitro* та *in vivo*. *In silico* прогнозування протисудомної активності БАР здійснювали за допомогою програмного забезпечення PASS-online. Для здійснення молекулярного докінгу використовували програмне забезпечення Scigress Explorer (ліцензія 742F6852C191). Побудова математичних QSAR-моделей здійснювалась з використанням програми BuildQSAR за GA-MLRA методикою.

Результати експериментальних досліджень статистично оброблені, запропоновані методики контролю якості є прийнятними за результатами валідаційних досліджень відповідно до вимог ДФУ.

**Наукова новизна отриманих результатів.** У дисертаційній роботі вперше теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено оригінальний методологічний підхід до цілеспрямованого пошуку рослинних протисудомних засобів.

Вперше здійснено комплексне порівняльне фітохімічне визначення БАР рослин родин барбарисові, березові, глухокропивні, гортензіїві, жимолостеві, маслинові, омелові, пасльонові, руткові, синюхові з метою встановлення їх впливу на протисудомну активність досліджуваної ЛРС. Вперше розроблено оригінальну методику кількісного визначення амінокислот у ЛРС методом ВЕРХ з використанням колонки НІІС, оптимізовано методики визначення окремих груп БАР (алкалоїди, терпенові сполуки) методами екстракційної фотометрії та ВЕРХ.

В результаті проведеного пошуку в об'єктах дослідження ідентифіковано та визначено кількісний вміст сполук, що обумовлюють протисудомний потенціал. Структурний аналог вальпроєвої кислоти – 4-гексенову кислоту – виявлено у зразках листя ліщини звичайної та пагонів обмели білої, що паразитувала на гілках клену польового. Встановлено наявність каприлової кислоти у рослинах родин губоцвіті, синюхові, пасльонові та гортензіїві. Визначено, що рослини родини омелові, руткові та глухокропивні характеризуються високим вмістом ГАМК. Встановлено наявність урсолової кислоти у зразках трави базилику камфорного сортів Пурпурний та Генуезький, а також у зразках пагонів обмели білої, зібраних з гілок різних дерев-хазяїв. Методом ВЕРХ встановлено наявність фумарової кислоти у траві рутки Шлейхера. Вперше здійснено порівняльне дослідження вмісту суми флавоноїдів, алкалоїдів, гідроксикоричних кислот та поліфенольних сполук як перспективних маркерів протисудомної активності.

За результатами фармакологічних досліджень виявлено наявність протисудомної активності у 11 сухих екстрактів. Для вибору маркерів протисудомної активності вперше здійснено прогноз біологічної активності БАР методами *in silico*. Вперше здійснено комплексне вивчення хімічного складу та кореляційні дослідження залежності протисудомної активності від вмісту основних

груп БАР за допомогою QSAR-аналізу для водних сухих екстрактів з досліджуваної ЛРС.

Вперше доведено високий протисудомний потенціал та встановлено наявність супутніх нейрогенних властивостей для сухих водних екстрактів трави рутки Шлейхера та трави базилику камфорного сорту Пурпурний. Вперше здійснено апробацію портативного обладнання для контролю якості ЛРС. Вперше запропоновано критерії стандартизації сухого водного екстракту трави базилику камфорного сорту Пурпурний.

Вперше здійснено *in silico* вивчення протисудомного потенціалу БАР трави рутки Шлейхера методом молекулярного докінгу. Вперше за результатами дослідження *in vivo* встановлений протисудомний потенціал флавоноїдів, протеїн-полісахаридного комплексу, суми алкалоїдів та протопіну, що входять до складу сухого водного екстракту трави рутки Шлейхера. Запропоновано параметри стандартизації сухого водного екстракту трави рутки Шлейхера.

За результатами узагальнення проведених досліджень вперше запропоновано алгоритм вибору ЛРС з протисудомним потенціалом в залежності від її хімічного складу. Розроблено та протестоване оригінальне програмне забезпечення для розрахунку ймовірного протисудомного потенціалу ЛРС.

Наукова новизна дисертаційних досліджень підтверджена патентами України на винахід: № 106117 «Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу із протисудомною дією», № 110947 «Застосування лікувально-профілактичного засобу у формі сухого екстракту рутки Шлейхера як агента, що проявляє анксиолітичну дію», № 110618 «Лікувально-профілактичний засіб із протисудомною дією на основі рослинної сировини», а також патентами на корисні моделі.

**Теоретичне та практичне значення отриманих результатів.** Одержані у дисертаційній роботі результати є теоретичним підґрунтям для цілеспрямованого пошуку ЛРС та розробки оригінальних рослинних засобів з протисудомною дією. Вперше встановлено фактори хімічного складу, що можуть сприяти прояву протисудомної активності: вміст флавоноїдів від 15 мг/г, вміст рутину від 10 мг/г, вміст гідроксикоричних кислот від 1,6 мг/г, вміст поліфенольних сполук від 0,6 %. Визначені закономірності «хімічний склад – протисудомна активність» є корисними для досліджень у цьому напрямку.

Сухий екстракт базилику камфорного сорту Пурпурний впроваджено у промислове виробництво на ТОВ «Дослідний завод ДНЦЛЗ» та наразі планується до впровадження у вигляді лікарського засобу після здійснення відповідних випробовувань.

Технологія одержання екстракту трави рутки Шлейхера та методики контролю його якості апробовані в промислових умовах на базі ТОВ «ДКП „Фармацевтична фабрика“», м. Житомир. Планом наукових досліджень на 2019–2020 р. підприємства передбачено фармацевтичну розробку лікарської форми на основі сухого екстракту трави рутки Шлейхера та доклінічні дослідження відповідно до вимог реєстраційного досьє.

Узагальнення практичних результатів досліджень впроваджено в галузі охорони здоров'я: інформаційний лист МОЗ України № 282–2013, 2013 р.

«Використання сухого екстракту рутки Шлейхера для розробки лікарського засобу протисудомної дії», інформаційний лист МОЗ України № 45–2016, 2016 р. «Інноваційні перспективи використання сухого екстракту ліщини звичайної для розробки лікарського засобу протисудомної дії».

За результатами здійсненого дослідження розроблено та протестоване програмне забезпечення «AntiConvulsant\_Test» для розрахунку наявності протисудомної активності у зразках ЛРС в залежності від хімічного складу.

Результати наукових досліджень впроваджено у науково-практичну діяльність кафедри фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет»; кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського Національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського; кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету; кафедри загальної та клінічної фармації Дніпропетровської медичної академії; кафедри клінічної біохімії, судово-медичної токсикології та фармації Харківської медичної академії післядипломної освіти.

**Особистий внесок здобувача.** Співавторами дисертанта у наукових публікаціях є науковий консультант та науковці, що були залучені до виконання досліджень.

У комплексних дослідженнях дисертантом особисто здійснено: аналіз наукових літературних даних з метою визначення основних напрямків експериментального дослідження; науково-теоретичне обґрунтування і пошук оптимальних алгоритмів вибору джерел ЛРС для лікування епілепсії; автором особисто сплановано та здійснено усі експериментальні дослідження, описані у дисертаційній роботі, узагальнено та інтерпретовано одержані результати.

Визначення хімічного складу досліджуваних зразків ЛРС та сухих екстрактів, а також ізолювання БАР з екстракту трави рутки Шлейхера здійснювали на базі кафедри фармацевтичної хімії НФаУ, Державної науково-дослідної лабораторії з контролю якості лікарських засобів НФаУ (завідувач – к.фарм.н. С. М. Губарь), кафедри аналітичної та токсикологічної хімії Литовського медичного університету (при консультативній допомозі проф. Liudas Ivanauskas), кафедри фармакогнозії Литовського медичного університету (при консультативній допомозі проф. Valdas Jakštas), а також Лабораторії «Spectral Library» Фармакопеї Сполучених Штатів Америки (при консультативній допомозі керівника проекту Wei Ma). Фармакологічне та токсикологічне випробування здійснювали на базі кафедр фармакології та фармакотерапії НФаУ д-р мед. наук, проф. С. Ю. Штриголь, канд. фарм. наук, асист. В. В. Цивуніна, канд. фарм. наук, доц. А. В. Таран. Кореляційне дослідження QSAR здійснювали при консультативній допомозі канд. фарм. наук, доц. кафедри загальної, біонеорганічної та фізколоїдної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького І. В. Драпак. Молекулярний докінг здійснювали при консультативній допомозі д-р фарм. наук, проф. Л. О. Переходи. Консультативну допомогу при розробці програмного забезпечення надавала провідний інженер-програміст Інформаційно-

обчислювального центру Харківського Національного університету радіоелектроніки Н. О. Кривохатська.

Співавторами наукових праць дисертанта захищені кандидатські дисертаційні роботи: Міщенко В. А. «Цілеспрямований пошук протисудомних субстанцій з рослин родини Solanaceae», Запоріжжя, 2013, 161 с.; Цивунін В. В. «Пошук нових антиконвульсантів рослинного походження», Харків, 2017, 223 с. Разом з Міщенко В. А. було частково досліджено хімічний склад екстрактів надземних частин офіційних та овочевих рослин родини пасльонові. Але залишилися недослідженими об'єкти: листя тютюну справжнього, листя дерези звичайної та трава петунії гібридної, які є перспективною сировиною для поглибленого фітохімічного вивчення, а також було використане інше аналітичне обладнання та розроблені оригінальні методики. Цивуніним В. В. експериментально вивчено протисудомні властивості досліджуваної ЛРС. У кандидатській дисертації Прокопенко Ю. С. досліджувала траву рутки Шлейхера як можливу домішку до трави рутки лікарської, що входила до складу мазі «Псоріфіт» для лікування псоріазу. Хімічний склад екстрактів рутки Шлейхера та їх протисудомна активність у кандидатській дисертаційній роботі не вивчались. Положення, що виносились на захист кандидатської дисертації, на захист не виносяться.

Усі наукові узагальнення, положення, обґрунтування, інтерпретація результатів, формування висновків та рекомендацій, викладених у дисертаційній роботі, виконані особисто автором.

**Апробація результатів дисертації.** Результати дисертаційної роботи були представлені на вітчизняних та міжнародних науково-практичних конференціях: V міжнародний науково-практичний конгрес «Актуальні проблеми сучасної медицини» (Київ, 2011); IV науково-практична конференція «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2011); IX міжнародна медико-фармацевтична конференція студентів та молодих вчених «Актуальні питання медицини і фармації» (Чернівці, 2012); всеукраїнська науково-практична конференція студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 2012); IV науковий симпозіум «Растительные полифенолы и неспецифическая резистентность» (Одеса, 2012); III всеукраїнська науково-практична конференція «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2012); Національний конгрес «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (Харків, 2013); I науково-практична конференція «Функціональні харчові продукти – дієтичні добавки – як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань» (Харків, 2013); International congress Phytopharm (Відень, 2013); V науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2013); The 10th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (Ташкент, 2013); The 2nd International Scientific Conference «Pharmaceutical Sciences in XXI Century» (Тбілісі, 2014); Науково-практична інтернет-конференція «Аналітична хімія у фармації» (Харків, 2015); Науково-практична конференція «Science and Practice» (Каунас, 2015, 2016); Науково-практична інтернет-конференція «Аналітична хімія у фармації» (Харків, 2016); «Фармацевтична наука



та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку» (Харків, 2016); Науково-практична конференція «Science and Practice» (Каунас, 2018).

**Публікації.** За результатами дисертаційних досліджень опубліковано: 25 статей у наукових фахових виданнях, з яких 7 – у зарубіжних фахових виданнях; 3 патенти на винахід; 4 патенти на корисну модель; 19 тез доповідей, 2 інформаційних листи.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, 6 розділів експериментальних досліджень, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Основний зміст дисертаційної роботи викладено на 270 сторінках. Робота ілюстрована 20 таблицями, 98 рисунками. Список використаних джерел містить 459 найменувань.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Розділ 1. Сучасні аспекти застосування лікарських рослин для лікування епілепсії (Огляд літератури).** В огляді літератури наведено загальну характеристику даного захворювання, тенденції захворюваності на епілепсію в Україні та країнах світу, а також основні принципи фармакотерапії епілепсії. Враховуючи численні побічні ефекти існуючих протисудомних засобів, актуальність застосування фітотерапевтичних засобів для корекції даної патології не викликає сумнівів. У розділі наведено критичний аналіз даних інформаційних джерел щодо перспектив застосування рослин різних родин, а також різних груп БАР, для лікування епілепсії, що стало підґрунтям для вибору об'єктів дослідження.

**Розділ 2. Теоретичне обґрунтування вибору об'єктів дослідження. Методи дослідження.** У розділі наведено результати розробки та сформульовано алгоритм вибору джерел ЛРС, що є представниками флори України, перспективних для дослідження як потенційних антиконвульсантів. Складання алгоритму пошуку здійснювали на підставі результатів аналізу літературних джерел стосовно обраної тематики (рис. 1). При виборі найбільш перспективної ЛРС враховувались такі критерії, як відомості щодо застосування ЛРС для лікування розладів ЦНС офіційною чи народною медициною; здатність БАР, що входять до складу ЛРС, впливати на реалізацію протисудомної активності, а також наявність перспективної ЛРС у флорі України. На підставі здійсненого аналізу літературних джерел та розробленого алгоритму для експериментальних досліджень було обрано 27 видів ЛРС, які входять до 10 ботанічних родин. Також слід окремо зазначити вибір двох сортів барбарису Тунберга (*Kobold* та *Atroripruga*), двох сортів базиліку камфорного (Генуезький та Пурпурний) та пагонів омели білої, що паразитували на 6 видах дерев-хазяїв.

Ми звернули увагу на те, що деякі види ЛРС, які було відібрано для дослідження, раніше досліджувались науковцями НФаУ (д-р фарм. наук, проф. Гонтова Т. М.; д-р фарм. наук, проф. Хворост О. П.; д-р фарм. наук, доц. Федченкова Ю. А.; канд. фарм. наук, доц. Краснікова Т. О.; канд. фарм. наук, асист. Упир Д. В.; канд. фарм. наук, асист. Мусієнко К. С.; д-р фарм. наук Прокопенко С. О.; д-р фарм. наук, проф. Кошовий О. М.; д-р фарм. наук, проф. Попова Н. В.), проте аналіз відповідних наукових першоджерел виявив, що для жодного зразку ЛРС не було здійснено визначення протисудомного потенціалу.

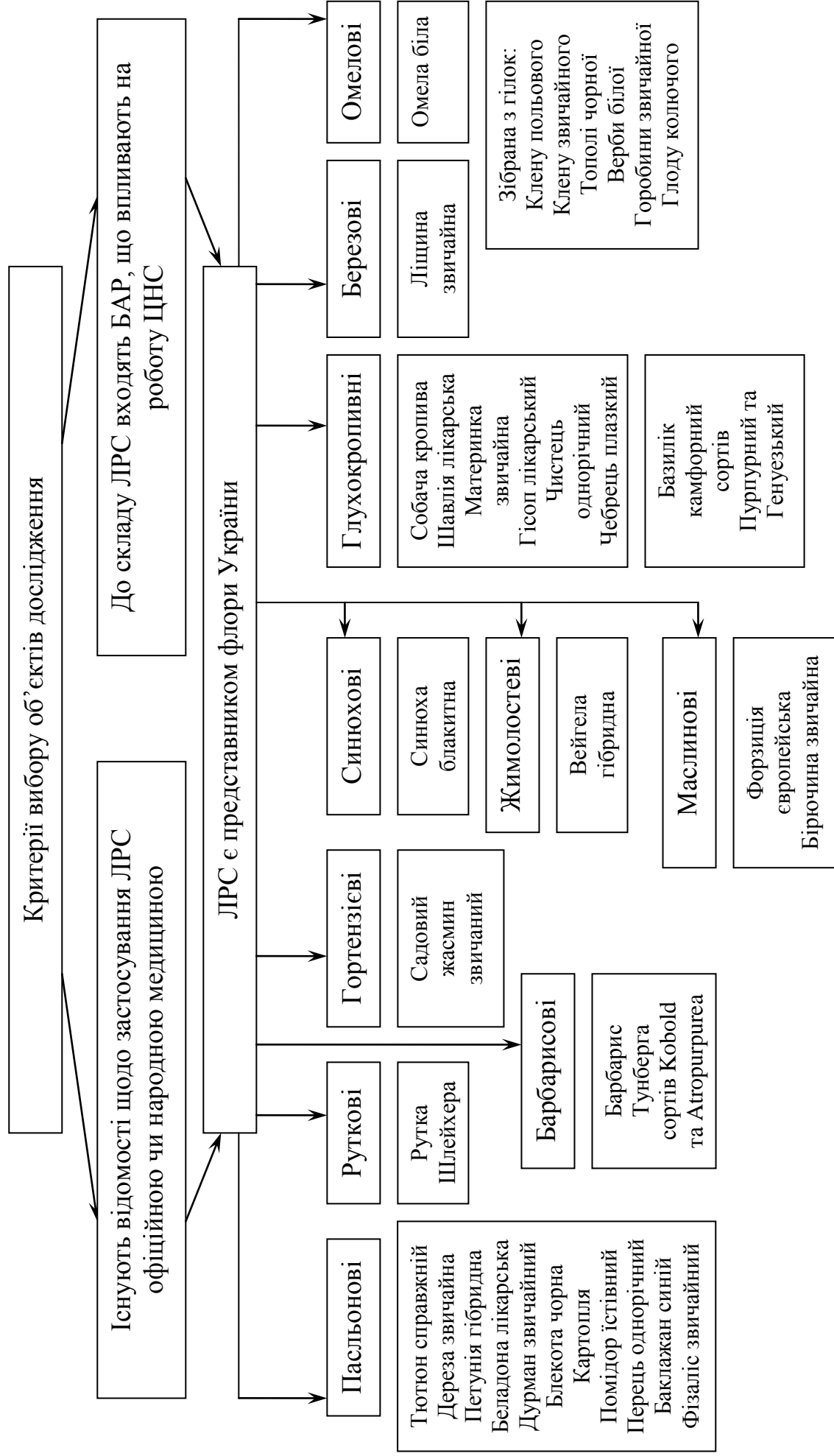


Рис. 1 – Алгоритм вибору об'єктів дослідження

Крім того, метою даного дисертаційного дослідження було визначення впливу різних груп БАР на реалізацію цієї активності.

З метою одержання найбільш об'єктивних результатів було вирішено не звертатись до даних попередніх досліджень, а створити однакові умови експерименту для всіх досліджуваних зразків ЛРС. Для здійснення подальшої роботи було складено загальний дизайн дослідження (рис. 2).

З обраної ЛРС готували сухі водні, водно-спиртові, спиртові та ліпофільні екстракти (1:20), для яких проведено стандартизацію та визначено протисудомну активність на обраних фармакологічних моделях.

При виборі речовин-маркерів для дослідження були враховані дані експериментальних досліджень з вивчення хімічного складу обраних видів рослинної сировини. Основним критерієм при виборі методів експериментального дослідження була їх відповідність поставленим завданням.

**Розділ 3. Визначення вмісту БАР у досліджуваних видах ЛРС.** Незважаючи на те, що хімічний склад більшості обраних рослинних об'єктів вже добре вивчений, кореляційні дослідження щодо вмісту біологічно активних речовин та протисудомної активності даних зразків у багатьох випадках є не дослідженими та невідомими. Тому для проведення коректних кореляційних досліджень необхідно було здійснити вивчення хімічного складу обраних видів ЛРС в однакових умовах експерименту з застосуванням різних хімічних та фізико-хімічних методів. При дослідженні хімічного складу особливу увагу приділяли БАР, вміст яких може сприяти прояву протисудомної активності.

Враховуючи те, що похідні вальпроєвої кислоти широко застосовуються для лікування епілепсії, було вирішено проаналізувати вміст коротколанцюжкових жирних кислот у досліджуваних зразках ЛРС. Найближчий структурний аналог вальпроєвої кислоти – 4-гексенову кислоту, амід якої входять до складу протисудомних лікарських засобів, – було ідентифіковано у зразках листя ліщини звичайної та пагонах омели білої з клену звичайного. Каприлову кислоту, яка потенціює протисудомну дію вальпроєвої кислоти, було ідентифіковано у зразках трави базилику камфорного сорту Генуезький, трави синюхи блакитної, чистецю однорічного, собачої кропиви, трави блекоти чорної, а також листі садового жасмину звичайного, листі беладони лікарської та листі дурману звичайного. Серед сполук терпенової природи, що чинять протисудомну дію, було ідентифіковано карвакрол у траві материнки звичайної та чебрецю плазкого, а також тимол, який було ідентифіковано у траві материнки звичайної, чебрецю плазкого, траві синюхи блакитної та листі шавлії лікарської. Вмістом сполук спатуленолу, борнеолу та терпінеолу характеризувались види родини глухокропивні, а також трава синюхи блакитної та петунії гібридної. Крім того, у траві гісопу лікарського ідентифіковано сполуку-проконвульсант сабінен.

Методом паперової хроматографії у системі БОВ (4:1:2) у досліджуваних зразках ЛРС ідентифіковано нейромедіаторні та нейротропні амінокислоти: гліцин, гама-аміномасляна кислота (ГАМК), гістидин, валін, аланін, триптофан. Для визначення кількісного вмісту амінокислот у досліджуваній ЛРС використовували метод рідинної хроматографії, для чого було розроблено оригінальну методику із застосуванням хроматографічної колонки НІІС.

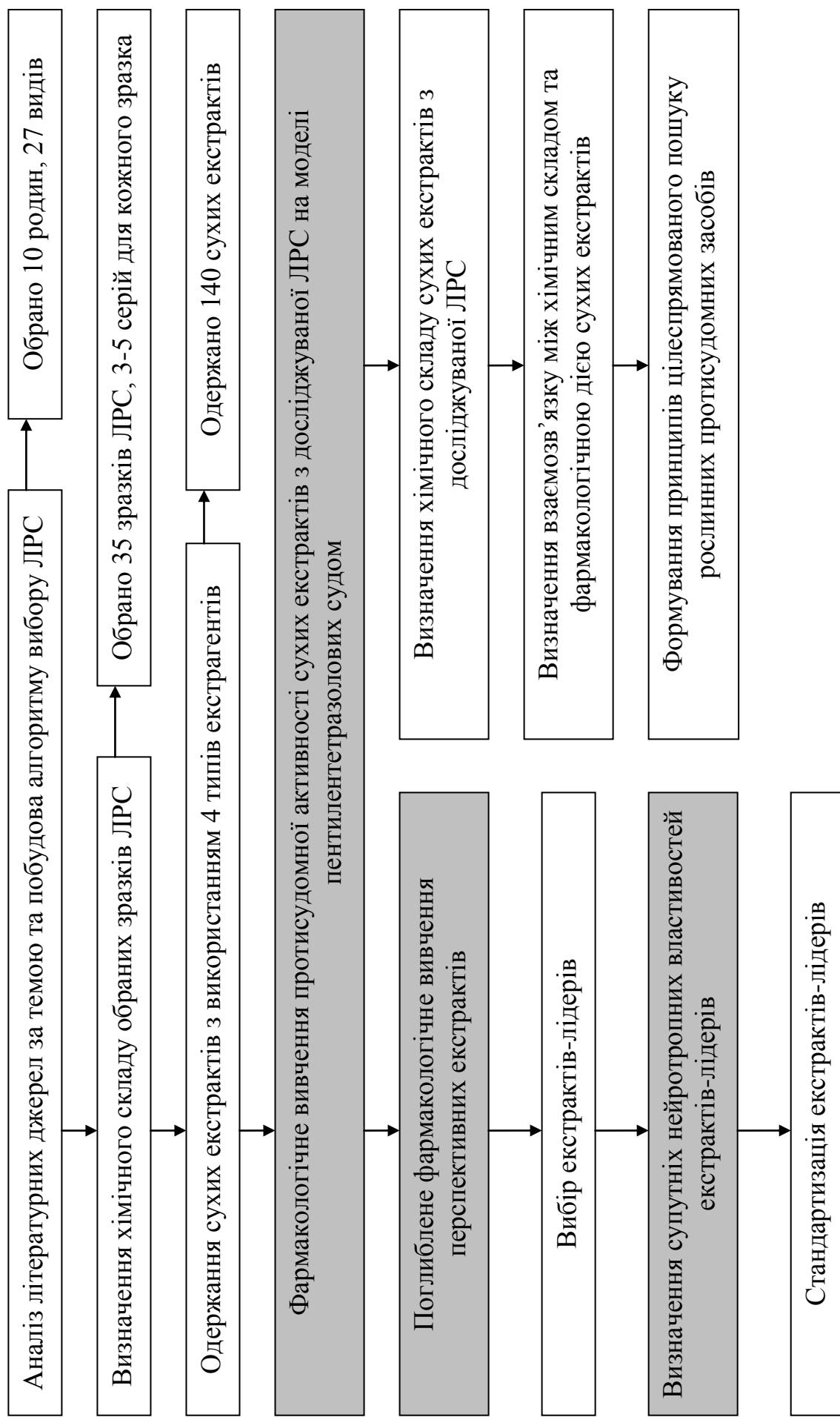


Рис. 2 – Загальний дизайн дослідження

При виборі рухомої фази було встановлено, що хроматографічний режим гідрофільної взаємодії, при якому рухома фаза збагачена органічним розчинником, є перспективним та підходящим методом розділення амінокислот. Встановлено високий вміст гліцину у досліджуваних зразках пагонів омели білої з верби білої (8,71 мг/кг), пагонів омели білої з липи серцелистої (7,92 мг/кг), пагонів омели білої з глоду колючого (7,58 мг/кг). Трава базилику камфорного сорту Пурпурний характеризується найменшим вмістом гліцину серед досліджуваних зразків – 0,45 мг/кг.

Найвищим кількісним вмістом триптофану серед досліджуваної ЛРС характеризувались зразки трави рутки Шлейхера (11,35 мг/кг), пагонів омели білої, зібраної з гілок горобини звичайної (10,27 мг/кг), клену звичайного (9,46 мг/кг), а також трави базилику камфорного сорту Пурпурний (9,13 мг/кг). Триптофан не було ідентифіковано у листі тютюну справжнього, листі беладони лікарської, листі дерези звичайної та траві фізалісу звичайного.

З урахуванням ГАМК-ергічних механізмів терапії епілепсії, ми приділили особливу увагу ідентифікації та визначенню кількісного вмісту цієї амінокислоти в ЛРС. ГАМК була ідентифікована майже в усіх рослинних зразках, за винятком листя форзиції європейської, листя барбарису Тунберга сортів Kobold та Atropurpurea, листя дерези звичайної, трави чабрецю плазкого, трави чистецю однорічного, трави синюхи звичайної та листя садового жасмину звичайного. Максимальним вмістом ГАМК характеризувались трава базилику камфорного сорту Пурпурний (50,76 мг/кг); трава рутки Шлейхера (56,39 мг/кг); пагони омели білої, зібраної з гілок верби білої (57,73 мг/кг); пагони омели білої, зібраної з гілок липи серцелистої (34,18 мг/кг), а також пагони омели білої, зібраної з гілок глоду колючого (69,46 мг/кг)

За думкою деяких авторів, флавоноїди, зокрема, рутин, а також гідроксикоричні кислоти також можуть виступати як маркери протисудомної активності. Ідентифікацію флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у досліджуваних зразках ЛРС здійснювали методом ВЕТШХ у системах етилацетат – оцтова кислота – мурашина кислота – вода (100:11:11:26) та мурашина кислота – ацетон – метанол – етилацетат (4:20:20:30), відповідно (рис. 3).

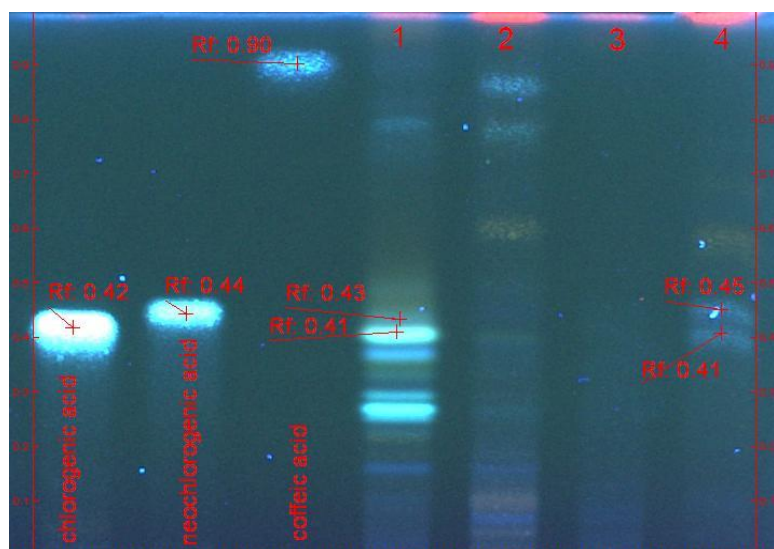


Рис. 3 – ВЕТШХ хроматограма на прикладі досліджуваних розчинів з розчинів з трави рутки Шлейхера (1), трави базилику камфорного сорту Генуезький (2), трави петунії гібридної (3) та трави базилику камфорного сорту Пурпурний (4)

У досліджуваних зразках сировини флавоноїди здебільшого представлені рутином, лютеоліном, гіперозидом та кверцитрином. Методом абсорбційної спектрофотометрії здійснено кількісне визначення вмісту суми флавоноїдів у перерахунку на рутин, який було обрано за результатами хроматографічного аналізу. Методом ВЕРХ визначено вміст хлорогенової (1) та неохлорогенової (2) кислот, а також розраховано кількісний вміст рутину (3) у досліджуваних зразках ЛРС. Приклад хроматограми наведено на рис. 4

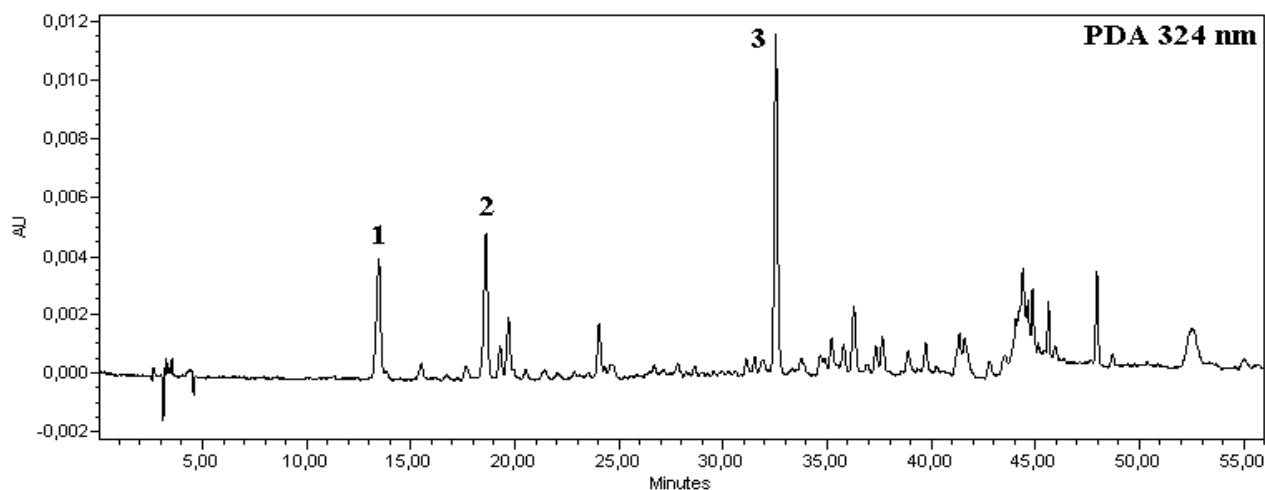


Рис. 4 – Хроматограма досліджуваного розчину з пагонів омели білої, що паразитувала на липі серцелистій

Порівняльний вміст флавоноїдів та рутину у досліджуваних зразках сировини наведений на рис. 5.

Встановлено, що листя садового жасмину звичайного та листя форзиції європейської характеризуються найвищим вмістом флавоноїдів серед досліджуваних зразків – 17,4 мг/г та 15,8 мг/г, відповідно. Найнижчим вмістом флавоноїдів серед досліджуваних видів сировини характеризувались трава петунії гібридної (2,4 мг/г) та трава картоплі (4,5 мг/г).

Визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у досліджуваних зразках ЛРС здійснювали методом ВЕРХ. Встановлено високий вміст гідроксикоричних кислот у пагонах омели білої з липи серцелистої (4,86 мг/г), траві чебрецю плазкого (3,86 мг/г), а також листі бирючини звичайної (3,22 мг/г).

Враховуючи потенціал урсолової кислоти для лікування розладів ЦНС та епілепсії, було визначено кількісний вміст даної сполуки у досліджуваних зразках ЛРС. Встановлено, що дана сполука притаманна лише зразкам трави базилику камфорного сортів Пурпурний та Генуезький та зразкам пагонів омели білої, що паразитувала на різних деревах.

За результатами розрахунку кількісного вмісту урсолової кислоти встановлено, що її вміст у траві базилику камфорного сортів Пурпурний та Генуезький становить відповідно 0,012 мг/г та 0,018 мг/г, у зразках омели білої – від 0,053 мг/г до 0,067 мг/г, в залежності від дерева, на гілках якого паразитувала дана рослина.

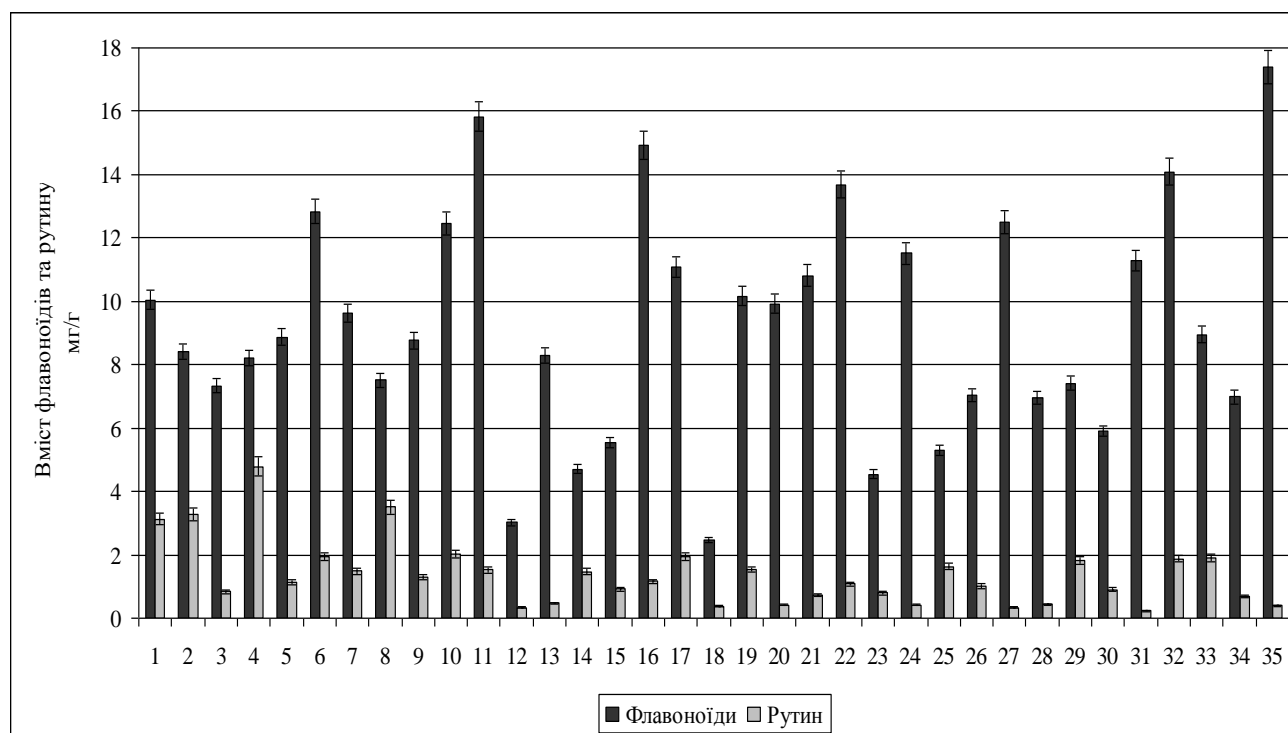


Рис. 5 – Результати розрахунку кількісного вмісту флавоноїдів та рутину у досліджуваних зразках ЛРС

Примітка. 1 – трава рутки Шлейхера, 2 – трава базилику камфорного сорту Пурпурний, 3 – трава базилику камфорного сорту Генуезький, 4 – пагони омели білої (з тополі чорної), 5 – пагони омели білої (з верби білої), 6 – пагони омели білої (з клену звичайного), 7 – пагони омели білої (з клену польового), 8 – пагони омели білої (з липи серцелистої), 9 – пагони омели білої (з горобини звичайної), 10 – пагони омели білої (з глоду колючого), 11 – листя форзиції європейської, 12 – листя бирючини звичайної, 13 – листя вейгели гібридної, 14 – листя барбарису Тунберга сорту Kobold, 15 – листя барбарису Тунберга сорту Atropurpurea, 16 – листя ліщини звичайної, 17 – листя дерези звичайної, 18 – трава петунії гібридної, 19 – листя дурману звичайного, 20 – листя беладони, 21 – трава блекоти чорної, 22 – трава фізалісу звичайного, 23 – трава картоплі, 24 – трава помідору звичайного, 25 – трава баклажану синього, 26 – трава перцю однорічного, 27 – листя тютюну справжнього, 28 – трава гісопу лікарського, 29 – трава чабрецю плазкого, 30 – листя шавлії лікарської, 31 – трава чистецю однорічного, 32 – трава синюхи звичайної, 33 – трава материнки звичайної, 34 – трава собачої кропиви, 35 – листя садового жасмину звичайного.

Враховуючи те, що серед досліджуваних рослин зустрічаються види, що містять алкалоїди у своєму складі, які можуть не тільки впливати на токсичність ЛРС, але й, за думкою науковців, бути визначальними факторами протисудомної дії, було вирішено проаналізувати їх вміст. Методи, що використовувались та одержані результати наведені у табл. 1

Таблиця 1

#### Кількісний вміст алкалоїдів у досліджуваній ЛРС

ЛРС	Метод, що використовувався	Вміст алкалоїдів
1	2	3
Ізохінолінові алкалоїди		
Трава рутки Шлейхера	Ацидиметрія в неводному середовищі	(0,21 ± 0,05) % у перерахунку на протопін

1	2	3
Листя барбарису Тунберга	Абсорбційна спектрофотометрія ( $\lambda_{\max} = 425$ нм)	Сорт Kobold: ( $1,58 \pm 0,05$ ) % у перерахунку на берберин
		Сорт Atropurpurea: ( $1,37 \pm 0,07$ ) % у перерахунку на берберин
Тропанові алкалоїди		
ЛРС родини пасльонові	Абсорбційна спектрофотометрія після реакції з бромотимоловим синім ( $\lambda_{\max} = 415$ нм)	Від 0,02 % до 0,04 % у перерахунку на атропін
Глікоалкалоїди		
ЛРС родини пасльонові	Абсорбційна спектрофотометрія після реакції з метиловим червоним ( $\lambda_{\max} = 420$ нм)	Від 0,01 % до 0,02 % у перерахунку на соласодин
Піридинові алкалоїди		
Листя тютюну справжнього	Абсорбційна спектрофотометрія ( $\lambda_{\max} = 260$ нм)	( $0,88 \pm 0,08$ ) % у перерахунку на нікотин

#### Розділ 4. Обговорення результатів дослідження протисудомної активності та вивчення хімічного складу сухих екстрактів з досліджуваної ЛРС.

Для фармакологічного випробування одержано сухі екстракти з використанням 4 типів екстрагентів: води очищеної, спирту етилового 50 %, спирту етилового 96 % та хлороформу у співвідношенні з сировиною 1:20. Екстракцію здійснювали двічі протягом 120 хв. Одержані екстракти випарювали у вакуумі та висушували до остаточного вмісту вологи не більше 5 %. Загальна кількість сухих екстрактів для попереднього фармакологічного скринінгу становила 140.

Одержані екстракти було передано для фармакологічного скринінгу на базовій моделі пентилентетразолових судом.

За результатами фармакологічних досліджень встановлено, що сухі водні екстракти трави петунії гібридної, трави чебрецю плазкого, листя вейгели гібридної, листя бирючини звичайної, а також сухі водні екстракти листя барбарису Тунберга сортів Kobold та Atropurpurea не проявляють протисудомних властивостей та посилюють токсичну дію пентилентетразолу. Після введення даних екстрактів лабораторним тваринам спостерігали збільшення тяжкості судом та, як наслідок, загибель тварин вже після першого чи другого судомного нападу. Летальність у групах досліджуваних тварин становила 100 %.

Серед досліджуваних сухих екстрактів встановлено наявність виразних протисудомних властивостей у 11 сухих екстрактів: водного екстракту трави рутки



Шлейхера, водного екстракту трави базилику камфорного сорту Пурпурний, водного екстракту листя ліщини звичайної, водного екстракту трави собачої кропиви, водного екстракту пагонів омели білої з гілок клену звичайного, водно-спиртового екстракту трави базилику камфорного сорту Генуезький, водно-спиртового екстракту пагонів омели білої з гілок клену звичайного, водно-спиртового екстракту трави перцю однорічного та водно-спиртового екстракту трави собачої кропиви. Введення даних екстрактів приводило до зниження летальності у групах лабораторних тварин до (11–35) % (у контрольній групі летальність становила 75 %) (рис. 6).

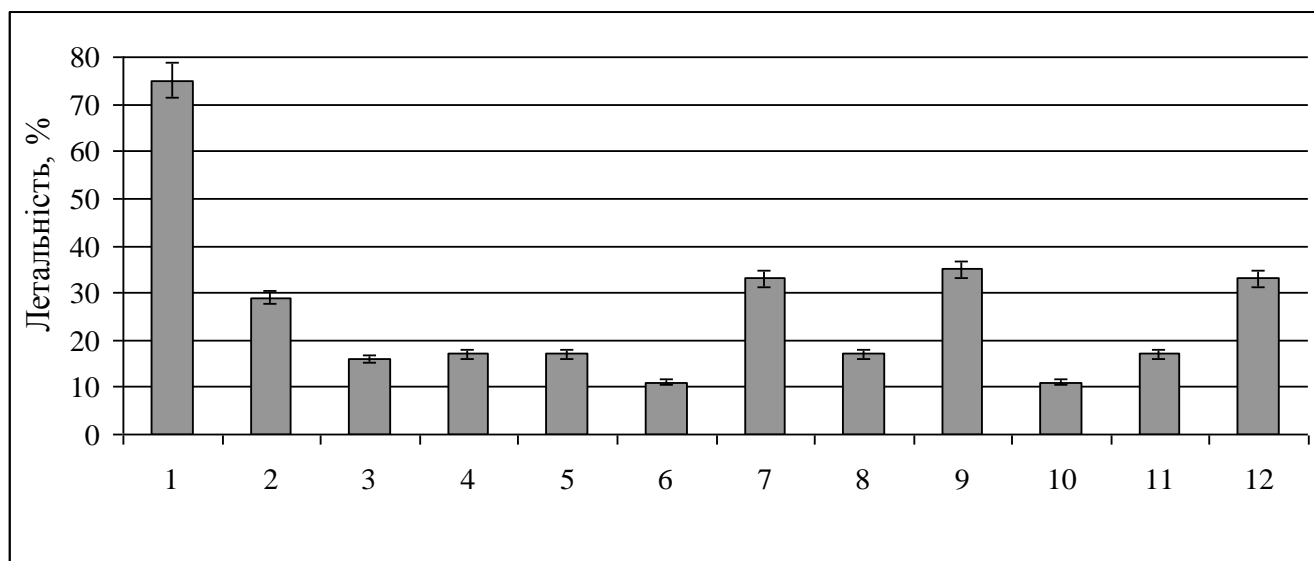


Рис. 6 – Показники летальності після введення екстрактів, що мають найбільш виразні протисудомні властивості

Примітка. 1 – контрольна група; групи тварин, які отримували сухі водні екстракти відповідно: 2 – трави рутки Шлейхера; 3 – трави базилику камфорного сорту Пурпурний; 4 – листя ліщини звичайної; 5 – пагонів омели білої (з клену звичайного); 6 – трави собачої кропиви; групи тварин, які отримували сухі водно-спиртові екстракти відповідно: 7 – трави базилику камфорного сорту Генуезький; 8 – пагонів омели білої (з клену звичайного); 9 – трави перцю однорічного; 10 – трави собачої кропиви; групи тварин, які отримували сухі спиртові екстракти відповідно: 11 – трави базилику камфорного сорту Генуезький; 12 – пагонів омели білої (з верби білої).

Крім летальності, ці екстракти достовірно подовжували латентний період судомних нападів, зменшували тяжкість судом та тривалість судомних нападів, а також зменшували кількість судом на 1 мишу (рис. 7).

Показники протисудомної дії інших 123 екстрактів, у тому числі ліпофільних, не виявили суттєвих відмінностей від показників контрольної групи.

Найбільш активні екстракти було піддано поглибленому фармакологічному дослідженню на моделях судом із різним патогенезом – індукованих пікротоксином, тіосемікарбазидом, стрихніном, камфорою та максимальним електрошкочком. Виявлено високий мультифакторний протисудомний потенціал сухих водних екстрактів трави рутки Шлейхера, трави базилику камфорного сорту Пурпурний.

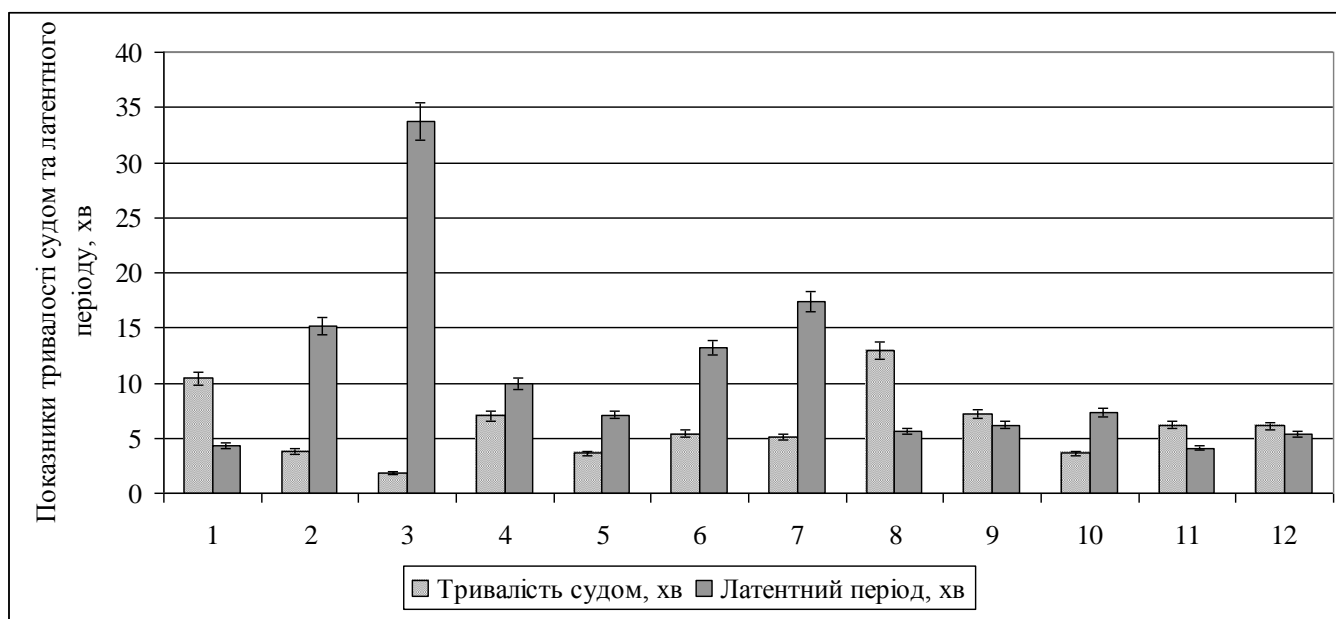


Рис. 7 – Показники тривалості судом та латентного періоду після введення екстрактів, що мають найбільш виразні протисудомні властивості

Примітка. 1 – контрольна група; групи тварин, які отримували сухі водні екстракти відповідно: 2 – трави рутки Шлейхера; 3 – трави базилику камфорного сорту Пурпурний; 4 –листя ліщини звичайної; 5 - пагонів омели білої (з клену звичайного); 6 –трави собачої кропиви; групи тварин, які отримували сухі водно-спиртові екстракти відповідно: 7 –трави базилику камфорного сорту Генуезький; 8 – пагонів омели білої (з клену звичайного); 9 –трави перцю однорічного; 10 – трави собачої кропиви; групи тварин, які отримували сухі спиртові екстракти відповідно: 11 – трави базилику камфорного сорту Генуезький; 12 –пагонів омели білої (з верби білої).

Враховуючи руйнівний вплив оксидативного стресу на розвиток низки нейродегенеративних захворювань, у тому числі й епілепсії, здійснено *in vitro* визначення антиоксидантних властивостей досліджуваних сухих екстрактів. Методом ВЕРХ з постколунковою дериватизацією АВТС катіон-радикалом було виявлено наявність слабких антиоксидантних властивостей сухого екстракту базилику камфорного сорту Пурпурний відповідно до змін показника ТЕАС (рис. 8).

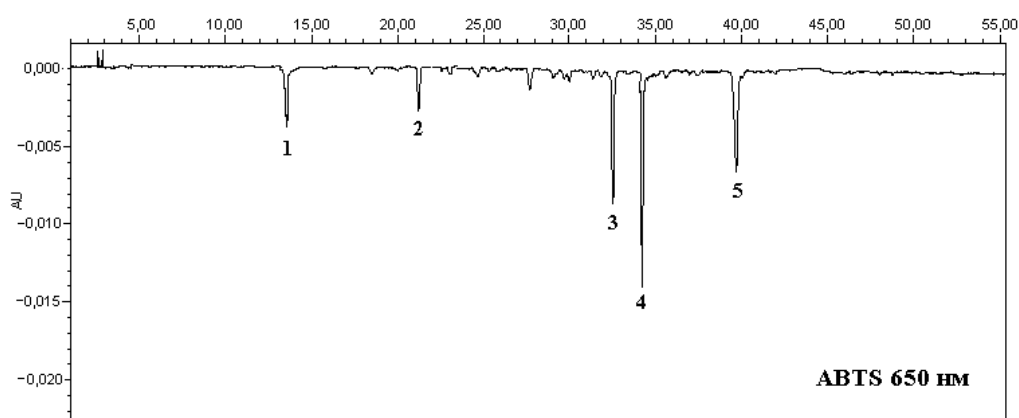


Рис. 8 – Хроматограма екстракту базилику камфорного, представлена у вигляді негативних піків (постколункова дериватизація АВТС)

Примітка. 1 – хлорогенова кислота; 2 – кофейна кислота; 3 – рутин; 4 – розмаринова кислота; 5 – кверцитрин.

Антиоксидантні властивості даного екстракту можна побачити за негативними площами піків, що відповідають рутину, хлорогеновій кислоті та розмариновій кислоті.

У результаті здійсненого PASS-прогнозування було виявлено, що основним групам БАР, які входять до складу екстрактів-лідерів, притаманна протисудомна активність, проте вона не є визначальною. Було виявлено, що алкалоїд протопін, флавоноїд рутин та фумарова кислота характеризуються найвищими індексами протисудомної активності (0,81; 0,82, та 0,70, відповідно) за рахунок ймовірної взаємодії з ГАМК-рецепторами. Також було виявлено, що протопін характеризується слабкою ймовірністю наявності антидепресивної дії (0,42). Для амінокислоти гістидин виявлено високий індекс ймовірності протиепілептичної активності (0,75); для триптофану – нейропротекторної активності (0,70) та покращення когнітивних функцій (0,49).

З метою встановлення якісного та кількісного взаємозв'язку між вмістом БАР та реалізацією протисудомної активності проведено визначення хімічного складу сухих водних екстрактів.

Вміст нейромедіаторних та нейротропних амінокислот (гліцину, ГАМК, аланіну, валіну, триптофану та гістидину) у досліджуваних сухих водних екстрактах визначали методом ВЕРХ на колонці НІІС з мас-детекцією. У результаті дослідження було встановлено, найвищим вмістом ГАМК очікувано характеризувались екстракти з виразними протисудомними властивостями (табл. 2). Екстракти-проконвульсанти, у свою чергу, характеризувались відсутністю або низьким вмістом ГАМК.

Таблиця 2

### Кількісний вміст амінокислот у сухих водних екстрактах з досліджуваної ЛРС

ЛРС, з якої одержано сухі водні екстракти	Амінокислоти, мг/г		
	ГАМК	Триптофан	Гліцин
1	2	3	4
Трава рутки Шлейхера	1,71	0,97	1,34
Трава базилику камфорного сорту Пурпурний	1,42	1,21	0,46
Трава базилику камфорного сорту Генуезький	1,25	0,86	0
Пагони омели білої (з тополі чорної)	1,60	0,97	0,14
Пагони омели білої (з верби білої)	1,21	0,87	1,29
Пагони омели білої (з клену звичайного)	1,36	1,44	1,53
Пагони омели білої (з клену польового)	1,09	1,85	0,92
Пагони омели білої (з липи серцелистої)	0,95	1,69	1,35
Пагони омели білої (з горобини звичайної)	0,60	1,03	1,61
Пагони омели білої (з глоду колючого)	1,05	0,65	1,82
Листя форзиції європейської	0	0,35	0
Листя бирючини звичайної	0,21	1,03	1,15
Листя вейгели гібридної	0,30	0	0
Листя ліщини звичайної	0,47	1,23	1,68
Листя дурману звичайного	0,31	0,16	0,52

1	2	3	4
Листя беладони лікарської	0,60	0	0,49
Трава блекоти чорної	0,94	0,63	0,26
Листя дерези звичайної	0	0	0,95
Трава петунії гібридної	0,26	0	0,63
Трава фізалісу звичайного	0,10	0	1,16
Трава картоплі	0	0	0
Трава помідору звичайного	0,41	0,19	0
Трава баклажану синього	0,84	0	0
Трава перцю однорічного	0,63	0,98	0,76
Листя тютюну справжнього	0	0	0,37
Трава гісопу лікарського	0,32	3,29	0,85
Трава чебрецю плазкого	0	0,60	0
Листя шавлії лікарської	0,52	0	0,74
Трава чистецю однорічного	0	0	0
Трава синюхи блакитної	0	0,21	0,35
Трава материнки звичайної	0,53	0,78	0,44
Трава собачої кропиви	1,04	1,38	1,17
Листя садового жасмину звичайного	0	0,26	0
Листя барбарису Гунберга сорту Kobold	0	0,20	1,18
Листя барбарису Гунберга сорту Atropurpurea	0	0	1,51

Встановлено, що за вмістом флавоноїдів домінували екстракти з виразними протисудомними властивостями: 8,93 % у сухому водному екстракті трави рутки Шлейхера, 7,76 % у сухому водному екстракті трави базилику камфорного сорту Пурпурний. Встановлено, що кількісний вміст флавоноїдів у сухих екстрактах-проконвульсантах(екстракти трави петунії гібридної, трави чебрецю плазкого, листя вейгели гібридної, листя бирючини звичайної, листя барбарису Гунберга сортів Kobold та Atropurpurea) виявився значно нижчим та не перевищував 0,65 %. Високий вміст рутину серед досліджуваних екстрактів було виявлено у сухому екстракті трави рутки Шлейхера (11,03 мг/г), екстрактах трави базилику камфорного сортів Пурпурний (11,86 мг/г) та Генуезький (9,22 мг/г), сухому екстракті листя ліщини звичайної (10,89 мг/г) та екстракті трави собачої кропиви (11,74 мг/г) (рис. 9).

Визначення кількісного вмісту поліфенольних сполук у сухих водних екстрактах здійснювали методом абсорбційної спектрофотометрії. Високим вмістом поліфенольних сполук характеризувались сухі водні екстракти листя форзиції європейської (5,56 %), дерези звичайної (4,02 %) та садового жасмину звичайного (1,51 %). Сухі водні екстракти пагонів омели білої також характеризувались високим вмістом поліфенольних сполук – від 2,42 % до 6,78 % (табл. 3).

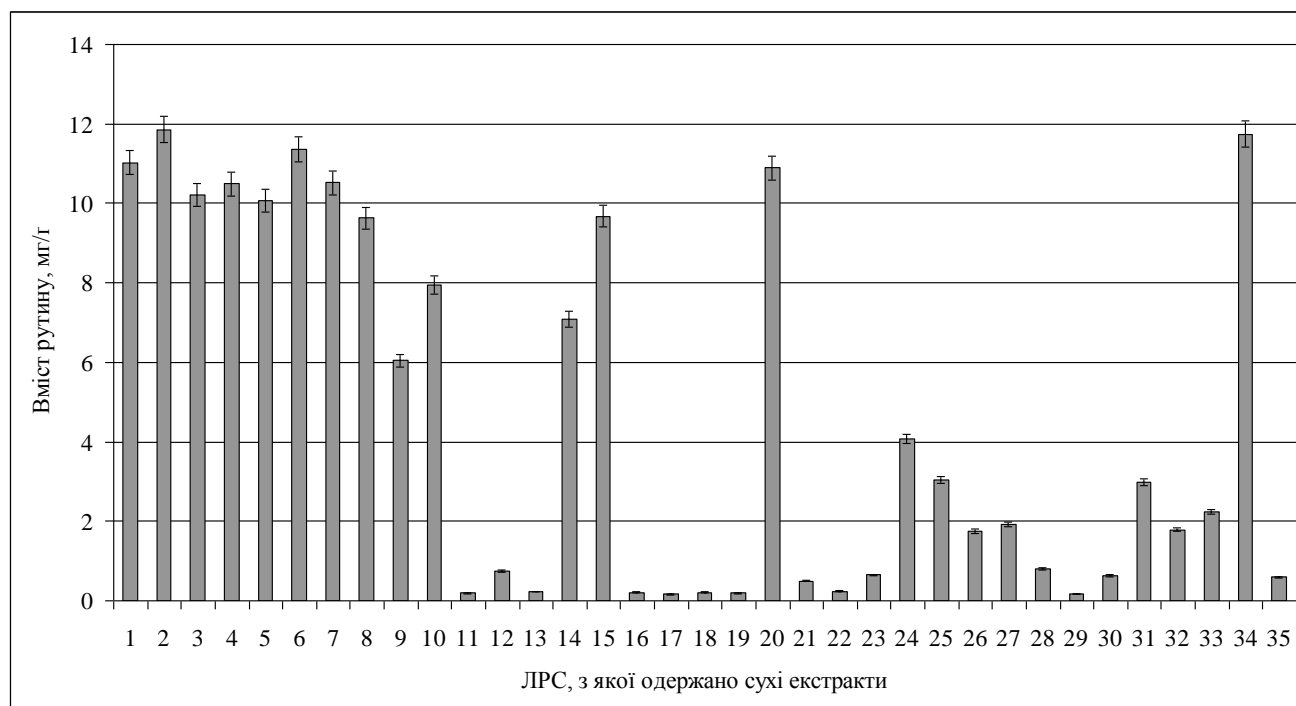


Рис. 9 – Вміст рутину у сухих водних екстрактах з досліджуваної ЛРС  
Примітка. ЛРС, з якої одержано сухі екстракти: нумерацію див. на рис. 5.

Таблиця 3

**Кількісний вміст поліфенольних сполук у досліджуваних екстрактах**

ЛРС, з якої одержано сухі екстракти	Кількісний вміст поліфенольних сполук, % у перерахунку на абсолютно суху сировину (m = 5)
1	2
Трава рутки Шлейхера	0,77 ± 0,02
Трава базиліку камфорного сорту Пурпурний	0,69 ± 0,02
Трава базиліку камфорного сорту Генуезький	0,51 ± 0,02
Пагони омели білої (з тополі чорної)	2,91 ± 0,05
Пагони омели білої (з верби білої)	4,80 ± 0,20
Пагони омели білої (з клену звичайного)	4,31 ± 0,16
Пагони омели білої (з клену польового)	4,72 ± 0,17
Пагони омели білої (з липи серцелистої)	6,78 ± 0,17
Пагони омели білої (з горобини звичайної)	2,42 ± 0,10
Пагони омели білої (з глоду колючого)	6,53 ± 0,16
Листя форзиції європейської	5,56 ± 0,14
Листя бирючини звичайної	0,40 ± 0,02
Листя вейгели гібридної	0,65 ± 0,02
Листя ліщини звичайної	1,49 ± 0,02
Листя дурману звичайного	0,42 ± 0,02
Листя беладони лікарської	0,53 ± 0,02
Трава блекоти чорної	0,74 ± 0,02
Листя дерези звичайної	4,02 ± 0,11
Трава петунії гібридної	0,41 ± 0,02

1	2
Трава фізалісу звичайного	0,72 ± 0,01
Трава картоплі	0,70 ± 0,03
Трава помідору звичайного	0,87 ± 0,04
Трава баклажану синього	0,61 ± 0,02
Трава перцю однорічного	0,90 ± 0,02
Листя тютюну справжнього	0,87 ± 0,03
Трава гісопу лікарського	0,45 ± 0,02
Трава чебрецю плазкого	0,39 ± 0,02
Листя шавлії лікарської	0,87 ± 0,03
Трава чистецю однорічного	0,72 ± 0,02
Трава синюхи блакитної	1,00 ± 0,04
Трава материнки звичайної	1,51 ± 0,05
Трава собачої кропиви	0,87 ± 0,03
Листя садового жасмину звичайного	1,51 ± 0,06
Листя барбарису Тунберга сорту Kobold	0,51 ± 0,02
Листя барбарису Тунберга сорту Atropurpurea	0,64 ± 0,02

Встановлено, що найвищим вмістом гідроксикоричних кислот характеризуються сухі водні екстракти трави рутки Шлейхера та трави собачої кропиви – 2,4 мг/г та 2,3 мг/г, відповідно. В сухих екстрактах-проконвульсантах вміст гідроксикоричних кислот також виявився низьким (екстракти листя бирючини звичайної, трави чебрецю звичайного та трави петунії гібридної вміст гідроксикоричних кислот) та не перевищував 0,8 мг/г (рис. 10).

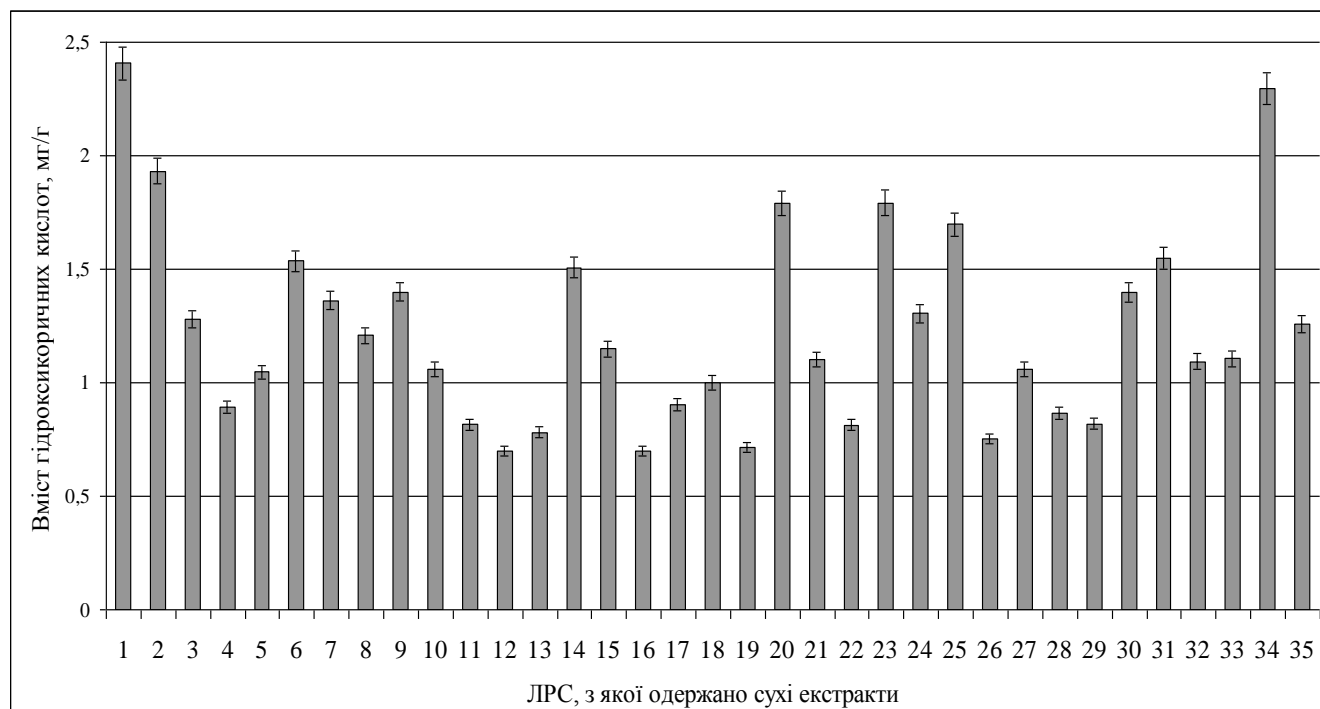


Рис. 10 – Сумарний вміст гідроксикоричних кислот у сухих водних екстрактах з досліджуваної ЛРС

Примітка. ЛРС, з якої одержано сухі екстракти: нумерацію див. на рис. 5.

Узагальнення результатів дозволило виявити певні закономірності взаємозв'язку між вмістом основних груп БАР (алкалоїдів, флавоноїдів, поліфенольних сполук) та протисудомною активністю досліджуваних екстрактів (табл. 4).

Таблиця 4

**Якісний зв'язок між вмістом БАР в екстрактах та реалізацією фармакологічної активності**

Чинники, що негативно впливають на реалізацію протисудомної активності екстрактів	Чинники, що позитивно впливають на реалізацію протисудомної активності екстрактів
Вміст суми флавоноїдів < 6 мг/г (від 4 мг/г до 6 мг/г в екстрактах-проконвульсантах)	Вміст суми флавоноїдів > 70 мг/г (від 75 мг/г до 89 мг/г в екстрактах-антиконвульсантах)
Вміст рутину < 0,3 мг/г (від 0,2 мг/г до 0,3 мг/г в екстрактах-проконвульсантах)	Вміст рутину > 10 мг/г (від 10 мг/г до 12 мг/г в екстрактах-антиконвульсантах)
Вміст суми гідроксикоричних кислот < 1,3 мг/г (від 0,7 мг/г до 1,3 мг/г в екстрактах-проконвульсантах)	Вміст суми гідроксикоричних кислот > 1,5 мг/г (від 1,6 мг/г до 2,4 мг/г в екстрактах-антиконвульсантах)
Наявність ізохінолінового алкалоїду берберину	Наявність ізохінолінового алкалоїду протопіну
Вміст суми поліфенолів < 3 мг/г (від 2 мг/г до 3 мг/г в екстрактах-проконвульсантах)	Вміст суми поліфенолів > 6 мг/г (від 6,9 мг/г до 14,9 мг/г в екстрактах-антиконвульсантах)

Зведені та співставлені дані щодо хімічного складу досліджуваних рослинних зразків та результатів фармакологічного скринінгу були використані для встановлення кількісних параметрів кореляції «вміст біологічно активних речовин – протисудомна активність». До сумарної вибірки було включено 35 сухих водних екстрактів з ЛРС та вміст основних групи БАР, що входять до їх складу. У якості критеріїв оцінки протисудомної активності рослинної сировини було обрано статистичні показники тривалості латентного періоду (LP) та тривалості судомного нападу (LT) (на моделі пентилентетразолових судом).

Аналіз одержаних даних свідчить про те, що показник тривалості латентного періоду в балах (T) корелює із вмістом амінокислот та окремо із вмістом амінокислоти гліцин ( $r = 0,580$ ;  $s = 5,720$ ;  $F = 7,347$ ;  $Q2 = 0,015$ ;  $SPRESS = 7,073$ ). Вплив вмісту амінокислот на тривалість латентного періоду також прослідковується на трипараметричній кореляційній моделі. Крім того, було виявлено значущу кореляцію із вмістом рутину (TR) ( $r = 0,614$ ;  $s = 5,638$ ;  $F = 5,657$ ;  $Q2 = 0,048$ ;  $SPRESS = 7,317$ ) (рис. 11).

Встановлено, що параметри тривалості латентного періоду та судомного нападу корелюють між собою з високим рівнем достовірності ( $r = 0,99 - 1,0$ ).

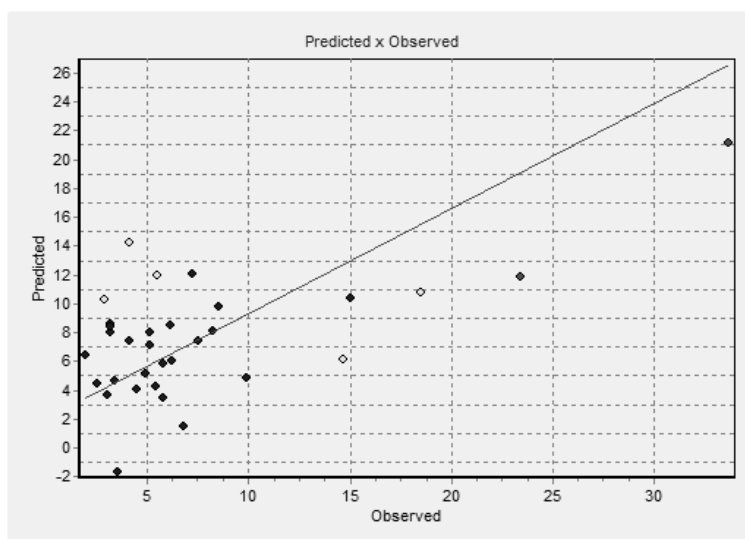


Рис. 11 – Залежність тривалості латентного періоду від вмісту гліцину, амінокислот та рутину

Аналіз даних статистичної обробки результатів чотирипараметричної кореляційної моделі свідчить про те, що показники латентного періоду та тривалості судомного нападу, крім кореляції із вмістом амінокислот та гліцину, також корелюють із вмістом суми флавоноїдів та окремо вмістом рутину (коефіцієнти кореляції становлять  $r=0,587$  та  $r=0,591$ , відповідно) (рис. 12).

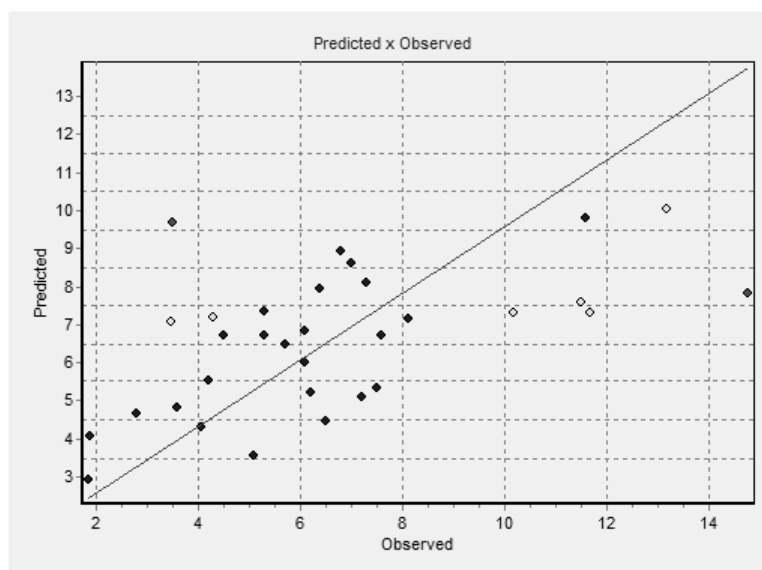


Рис. 12 – Залежність тривалості судомного періоду від вмісту амінокислот

Крім того, слід зазначити кореляції тривалості судомного періоду із вмістом як суми нейромедіаторних амінокислот ( $r = 0,568$ ), так і з вмістом окремих амінокислот: аланіну ( $r = 0,568$ ), гістидину та триптофану ( $r = 0,551$ ), а також валіну ( $r = 0,579$ ) та ГАМК ( $r = 0,583$ ). Слід тим не менше зазначити, що в цілому коефіцієнти кореляції були невисокими і не перевищували 0,61, що є очікуваним для компонентів ЛРС.

**Розділ 5. Поглиблене дослідження та встановлення критеріїв стандартизації сухого екстракту трави базилику камфорного сорту Пурпурний.** Раніше нами було розроблено та впроваджено у виробництво на ТОВ «Дослідний



завод ДНЦЛЗ» добавку дієтичну «Нейроверт» на базі сухого водного екстракту трави базилику камфорного сорту Пурпурний. Після виявлення високої фармакологічної активності дієтичної добавки виробником було прийняте рішення відкликати дієтичну добавку, здійснити поглиблене вивчення нейротропних властивостей екстракту трави базилику камфорного сорту Пурпурний та встановити параметри його стандартизації.

На моделі пентилентетразолового кіндлінгу встановлено, що сухий водний екстракт трави базилику камфорного сорту Пурпурний статистично достовірно подовжує латентний період до початку першого судомного нападу: у контрольній групі спонтанні судоми спостерігали на 23 добу дослідження. Також сухий екстракт трави базилику камфорного сорту Пурпурний на 27 добу дослідження зменшував відсоток мишей із судомами. Також встановлено здатність сухого екстракту трави базилику камфорного сорту Пурпурний знижувати прояви спонтанних судом, зменшувати загальну кількість днів із судомами та кількість лабораторних тварин із судомами, що вказує на наявність м'якої протисудомної активності екстракту та дозволяє застосовувати сухий екстракт трави базилику камфорного сорту Пурпурний у якості профілактичного засобу у терапії епілепсії.

На моделі закритої черепно-мозкової травми (ЧМТ) встановлено здатність досліджуваного екстракту статистично значуще корегувати поведінкові порушення, характерні для групи контрольної патології, що вказує на його виразні нейропротекторні властивості та обумовлює перспективи застосування даного екстракту як допоміжного лікарського засобу для прискорення реабілітації пацієнтів після перенесеної ЧМТ.

В рамках проекту “USP Visiting Scientist Program” (м. Роквіл, США) вивчено можливості застосування портативного обладнання для контролю якості трави базилику камфорного під час заготівлі (рентген-флуориметр, ІЧ-спектрометр, ІЧ-Фур'є спектрометр). Одержані результати не можна вважати прийнятними до проведення їх валідації. Внаслідок значної мінливості хімічного складу використання даних методів для ЛРС потребує великої кількості експериментальних досліджень.

За допомогою портативного газового хроматографа здійснено ідентифікацію трави базилику камфорного сорту Пурпурний за вмістом основних компонентів ефірної олії – евкаліптолу та евгенолу (рис. 13).

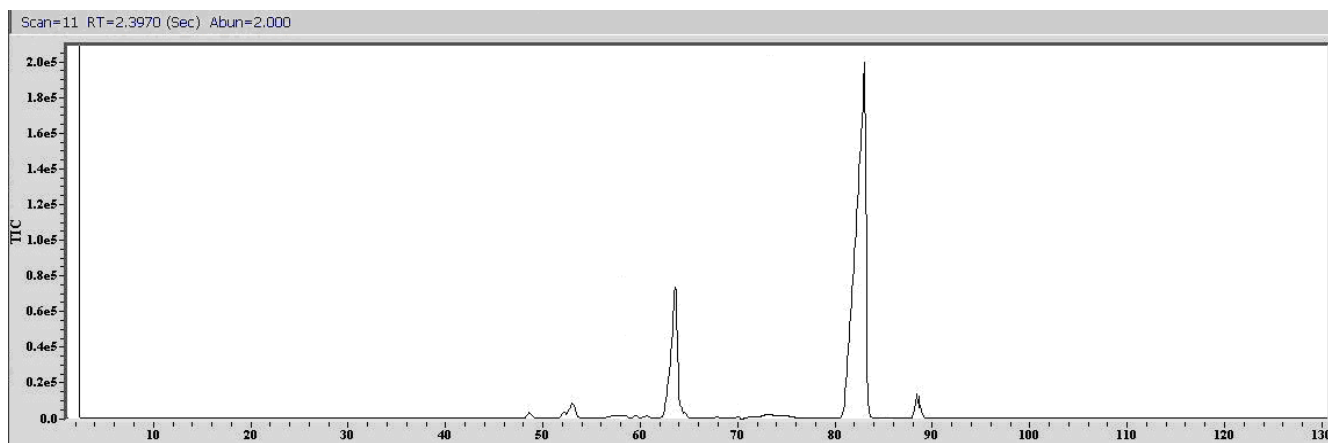


Рис. 13 – Хроматограма зразку трави базилику камфорного сорту Пурпурний

Для здійснення досліджень зі стандартизації сухого екстракту трави базилику камфорного сорту Пурпурний визначали показники якості для 5 серій сухого екстракту.

Стандартизацію сухого екстракту здійснювали відповідно до вимог ДФУ. Запропоновано здійснювати контроль якості сухого екстракту трави базилику камфорного сорту Пурпурний за такими параметрами: опис; ідентифікація за вмістом розмаринової кислоти; втрата в масі при висушуванні; важкі метали; мікробіологічна чистота; кількісне визначення флавоноїдів та рутину.

**Розділ 6. Поглиблене дослідження впливу БАР сухого екстракту трави рутки Шлейхера на протисудомну активність та його стандартизація.** За результатами поглибленого фармакологічного дослідження протисудомної активності сухого водного екстракту трави рутки Шлейхера на моделі пентилентетразолового кіндлінгу доведено протисудомну активність екстракту за умов хронічного епілептогенезу, встановлено гостру токсичність при внутрішньошлунковому шляху введення ( $LD_{50} > 5000$  мг/кг), встановлено відсутність негативного впливу на координацію рухів та локомоторну активність, а також виявлено анксиолітичні властивості.

Проведенню стандартизації передував вибір маркерів стандартизації. На першому етапі оцінку БАР, що чинять найбільший вплив на прояв протисудомної активності, здійснювали *in silico* методом молекулярного докінгу (рис. 14). Для докінгових досліджень було обрано мішені, що відповідають за ГАМК-ергічний механізм протисудомної активності: ГАМК<sub>A</sub> та ГАМК-амінотрансфераза.

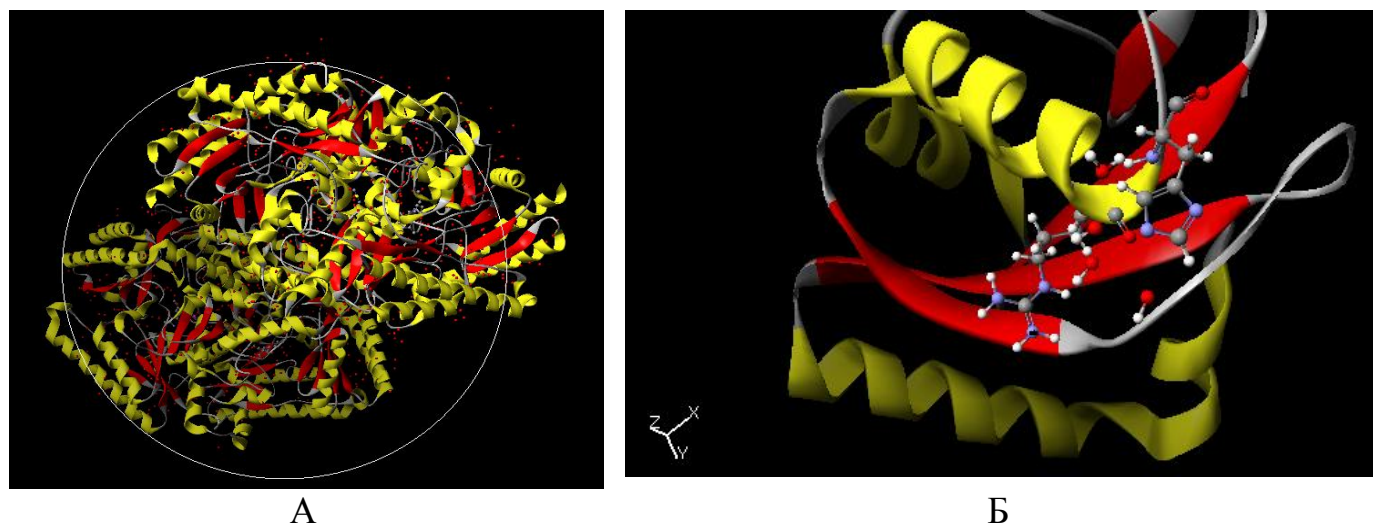


Рис. 14 – ГАМК-амінотрансфераза (А) та протопін в активному сайті протеїну ГАМК амінотрансферази (Б)

За результатами проведених докінгових досліджень жодна з досліджуваних речовин не виявила афінитету до активних сайтів обраних протеїнів (табл. 4), що може бути пов'язаним з іншим механізмом їх протисудомної дії.

Враховуючи це, ми вирішили провести експериментальне дослідження протисудомної активності окремих груп БАР, виділених з сухого екстракту трави рутки Шлейхера: флавоноїди, протеїн-полісахаридний комплекс (ППК), алкалоїди та протопін.

Скорингова функція для досліджуваних сполук

Сполука	Скорингова функція	
	протеїну ГАМК <sub>A</sub> (PDB код 1GNU)	протеїну ГАМК амінотрансферази (PDB код 1OHW)
Протопін	0,23	0,00
Рутин	0,51	24712,19
Фумарова кислота	0,75	13927,31
Гіперозид	0,74	50277,67
Кверцитрин	0,71	220518,47
Хлорогенова кислота	2,34	597,06

Для визначення протисудомного потенціалу окремих груп БАР використовували модель пентилентетразолових судом (рис. 15).

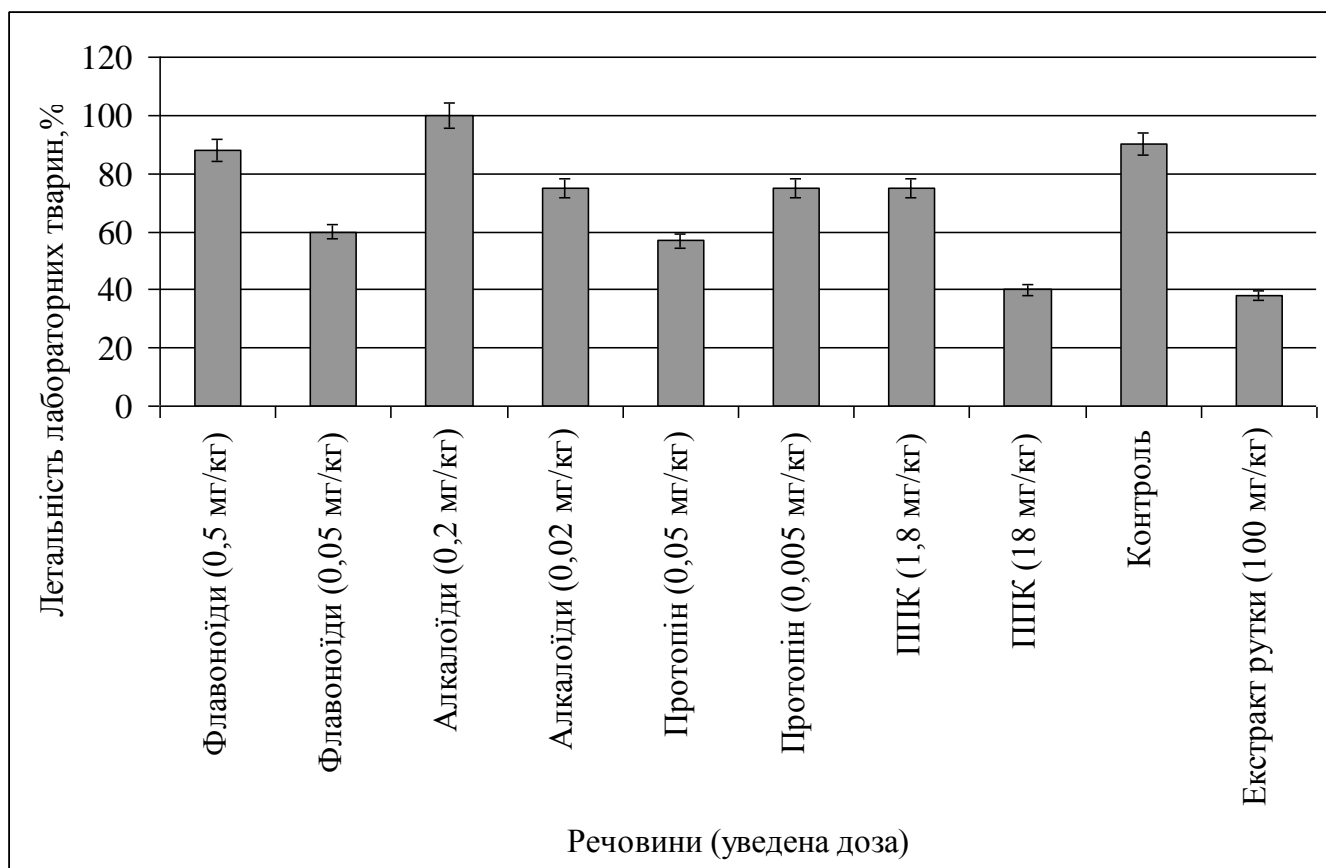


Рис. 15 – Показник летальності у досліджуваних групах після введення досліджуваних груп БАР рутки Шлейхера

Встановлено здатність флавоноїдів у дозуванні 0,05 мг/кг знижувати летальність у групі до 60 %. Також виявлено, що введення флавоноїдів у дозуванні 0,5 мг/кг та 0,05 мг/кг майже вдвічі подовжує латентний період та у незначній мірі зменшує тривалість судомного нападу у порівнянні з контролем, проте не впливає на показники тяжкості судом та кількості судом на 1 мишу (рис. 16).

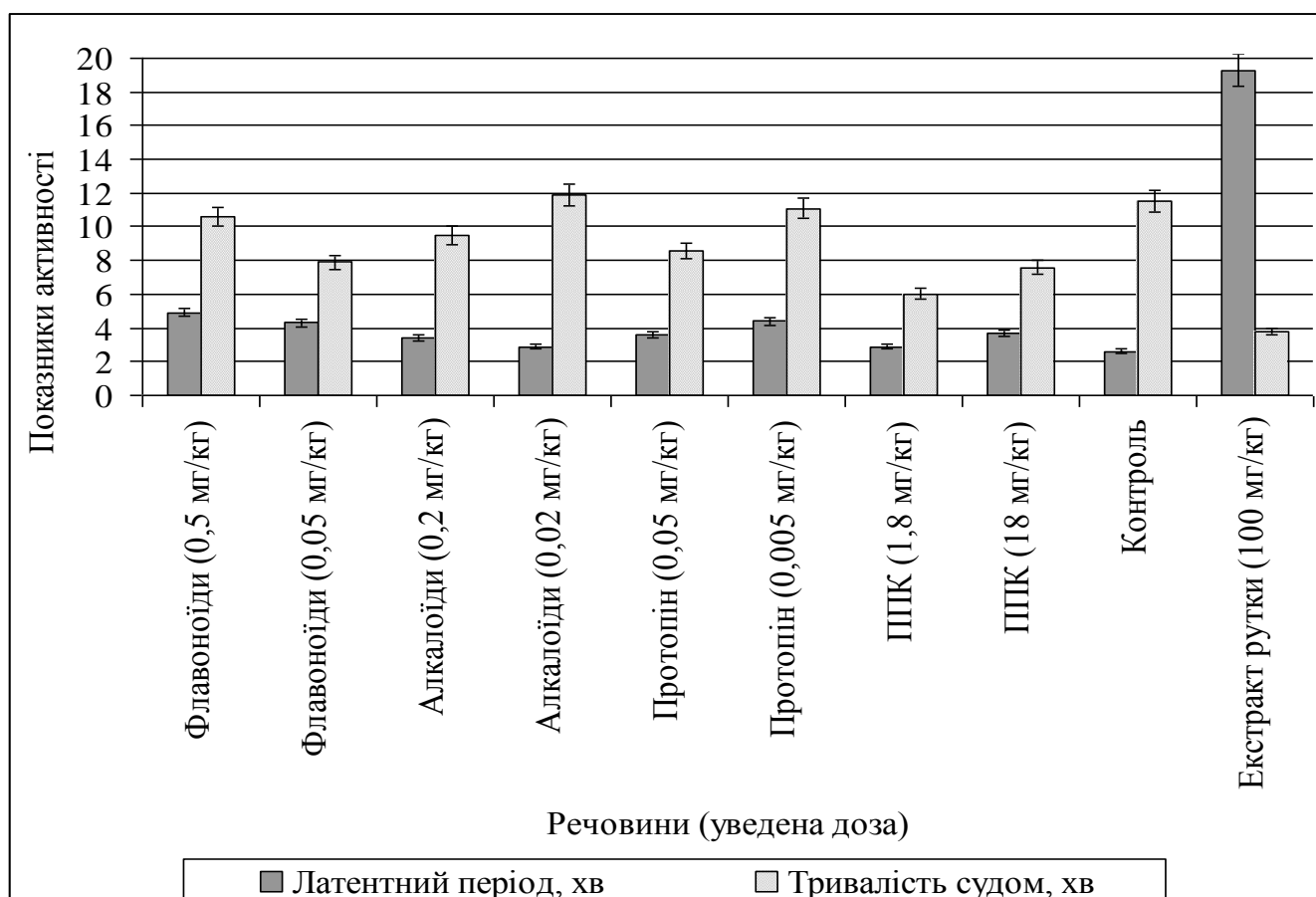


Рис. 16 – Показники протисудомної активності (латентний період та тривалість судом) БАР трави рутки Шлейхера

Введення ППК у дозуванні 18 мг/кг достовірно зменшує летальність у групі лабораторних тварин у порівнянні з контрольною групою, подовжує латентний період, знижує тяжкість судом та майже вдвічі зменшує тривалість судомного нападу. Також ми звернули увагу на те, що ППК у дозуванні 1,8 мг/кг достовірно знижує лише тривалість судом у групі лабораторних тварин, у той час, як інші показники протисудомної активності практично не відрізняються від контролю.

Після введення алкалоїдів істотних відмінностей серед показників протисудомної активності від контрольної групи відмічено не було. Введення алкалоїду протопіну у дозуванні 0,005 мг/кг сприяло достовірному подовженню латентного періоду, зменшенню кількості судом на 1 мишу та тяжкості судом, проте не вплинуло значним чином на показник летальності у групі, на відміну від протопіну у дозуванні 0,05 мг/кг – 75 % та 57 %, відповідно.

Протисудомний потенціал сухого екстракту трави рутки Шлейхера сприяв включенню даної субстанції до плану розробок ТОВ «ДКП „Фармацевтична фабрика“». При виборі маркерів стандартизації сухого водного екстракту трави рутки Шлейхера були враховані дані фармакологічного випробування окремих груп БАР екстракту рутки, а також на дані фармакологічного скринінгу та кореляційних досліджень. Для стандартизації сухого екстракту трави рутки Шлейхера здійснювали визначення показників якості для 5 серій сухого екстракту. Запропоновано здійснювати контроль якості сухого екстракту трави рутки Шлейхера за параметрами: опис; ідентифікація за вмістом протопіну; втрата в масі

при висушуванні; важкі метали; мікробіологічна чистота; кількісне визначення алкалоїдів; кількісне визначення флавоноїдів та рутину.

**Розділ 7. Формулювання методологічних підходів до пошуку рослинних протисудомних засобів.** За допомогою наведених у дисертаційній роботі результати комплексного хімічного, фармакологічного та кореляційного дослідження було доведено, що певні групи БАР у різній мірі здатні впливати на механізми розвитку судомного нападу та зумовлювати посилення або послаблення протисудомного потенціалу рослин. Тому факт, що вибір та застосування ЛРС для лікування епілепсії повинне ґрунтуватись на чіткому розумінні її хімічного складу, не викликає сумнівів. Виявлені закономірності впливу наявності та кількісного вмісту різних груп БАР на реалізацію протисудомного ефекту було узагальнено у вигляді дерева рішень, що, на нашу думку, допоможе оптимізувати цілеспрямований пошук рослинних антиконвульсантів (рис. 17).

Слід зазначити, що наведені групи БАР зустрічаються у переважній більшості ЛРС, тому на наявність чи відсутність протисудомного потенціалу рослин буде впливати не стільки наявність та кількість цих речовин, скільки їх співвідношення між собою. Зважаючи на це, ми прийняли рішення розробити оригінальне програмне забезпечення, яке було б здатне розрахувати або передбачити протисудомний потенціал рослин, враховуючи співвідношення окремих груп БАР.

Розробку здійснювали за допомогою платформи Java для операційних систем Windows та Ubuntu. У якості параметрів протисудомного потенціалу було обрано тривалість латентного періоду та тривалість судомного нападу, на основі яких розраховували сумарну протисудомну активність для досліджуваної сировини. Було розраховано закономірності впливу кожної групи БАР для кожного окремого рослинного зразку на сумарну протисудомну активність сировини. Було вирішено, що програмне забезпечення під умовною назвою «AntiConvulsant\_Test» матиме вигляд інтерактивного вікна (рис. 18).

Рис. 18 – Інтерактивне вікно розробленого програмного забезпечення

У запропоноване вікно необхідно вносити дані кількісного вмісту біологічно активних сполук для досліджуваного виду рослинної сировини (мг/г), після чого буде обчислено її протисудомний потенціал у балах від 0 до 100, де 100 балів – виразна протисудомна активність, а 0 балів – відсутність протисудомної активності. Програмне забезпечення було протестоване на досліджуваних зразках: сформовано тестову вибірку, що обраховувала результати хімічного та фармакологічного дослідження для усіх зразків ЛРС та 100 сухих екстрактів. Валідацію здійснювали перевіркою 35 зразків ЛРС та 35 екстрактів. Розрахунок потенційної активності ЛРС в процесі валідації підтвердив високу кореляцію результатів з одержаними раніше експериментальними даними.

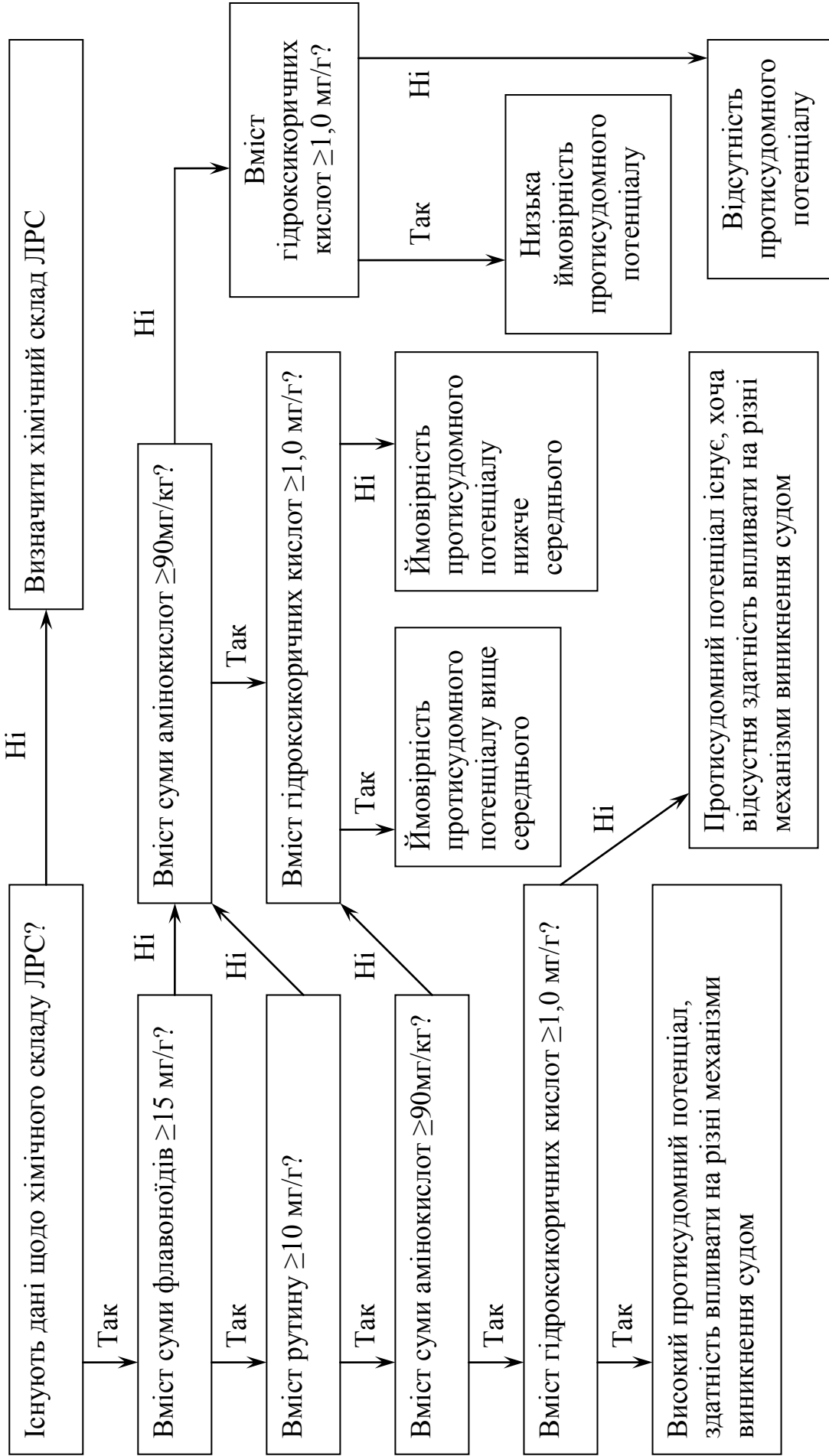


Рис. 17 – Дерево рішень цілеспрямованого пошуку антиконвульсантів рослинного походження

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне обґрунтування та експериментальне вирішення наукової проблеми цілеспрямованого пошуку протисудомних засобів рослинного походження. Розроблено узагальнений алгоритм, на основі якого обрано 35 перспективних рослин, одержано 140 екстрактів, досліджено їх хімічний склад, за результатами фармакологічного скринінгу виявлено, що водний сухий екстракт трави рутки Шлейхера має широкий спектр протисудомної активності, що перевищує референс-препарати, та низьку токсичність. На основі проведених досліджень розроблено пілотний проект програмного забезпечення для пошуку рослинних антиконвульсантів.

1. Узагальнено наведені в літературі стосовно відомостей про протисудомну активність окремих видів або родин ЛРС та найбільш активних груп БАР, та розроблено базовий алгоритм вибору ЛРС для цілеспрямованого пошуку рослинних антиконвульсантів. На основі даного алгоритму обґрунтовано вибір об'єктів (35 рослин з 10 родин, 140 екстрактів) та методологію дисертаційних досліджень.

2. У досліджуваних зразках ЛРС методом ГРХ визначено ліпофільні сполуки, що мають найбільший вплив на ЦНС та обумовлюють протисудомний потенціал: структурні аналоги вальпроєвої кислоти - 4-гексенову кислоту та каприлову кислоту виявлено у зразках листя ліщини звичайної та пагонів омели білої з клену польового. Сполуки терпенової природи (карвакрол, тимол, спатуленол, борнеол, терпінеол), що можуть мати гальмівний або стимулюючий вплив на ЦНС, виявлено в значних кількостях у зразках ЛРС родини глухокропивні (трава материнки звичайної, трава базиліку камфорного сортів Генуезький та Пурпурний, трава чебрецю плазкого, трава чистецю однорічного, листя шавлії лікарської, трава собачої кропиви, трава гісопу лікарського), а також у траві петунії гібридної

3. Для виявлення у зразках ЛРС нейрогенних амінокислот розроблено оригінальну методику визначення їх вмісту методом вискоєфективної рідинної хроматографії з гідрофільною взаємодією. У складі ЛРС виявлено та кількісно визначено вміст ГАМК, гліцину, триптофану, валіну, гістидину, аланіну. Виявлено, що пагони омели білої з тополі чорної та глоду колючого, а також трава базиліку камфорного сорту пурпурний переважають за вмістом ГАМК. Найбільший вміст гліцину серед досліджуваних зразків сировини було зафіксовано у пагонах омели білої з липи серцелистої та глоду колючого. За вмістом триптофану переважають пагони омели білої з горобини звичайної, за вмістом валіну – пагони омели білої з липи серцелистої, за вмістом аланіну – пагони омели білої з верби білої. Високим вмістом гістидину характеризуються зразки трави базиліку камфорного сорту Пурпурний та листя дерези звичайної.

4. Здійснено ідентифікацію та кількісне визначення флавоноїдів у зразках ЛРС методами ВЕТШХ, ВЕРХ, абсорбційної спектрофотометрії. Основними представниками були рутин, лютеолін, кверцитрин та гіперозид. Сумарний вміст флавоноїдів коливався від 2,47 мг/г (трава петунії гібридної) до 17,39 мг/г (листя садового жасмину звичайного). Найбільшим вмістом рутину, що може бути маркером протисудомної активності, відзначались пагони омели білої з тополі чорної (4,26 мг/г), трава рутки Шлейхера (3,13 мг/г) та трава базиліку камфорного

сорту Пурпурний (3,26 мг/г). В досліджуваних зразках сировини ідентифіковано гідроксикоричні кислоти – неохлорогенова, хлорогенова – в усіх зразках досліджуваної сировини. Розмаринову кислоту було виявлено у зразках трави базилику камфорного сортів Генуезький та Пурпурний, пагонах омели білої з різних дерев-хазяїв, траві собачої кропиви. У траві рутки Шлейхера встановлено наявність фумарової кислоти. Листя ліщини звичайної характеризується вмістом кофейної кислоти. У траві базилику камфорного сорту Пурпурний та пагонах омели білої з липи серцелистої методом встановлено наявність урсолової кислоти. Розраховано сумарний вміст гідроксикоричних кислот у досліджуваних зразках ЛРС від 0,24 мг/г (трава петунії гібридної) до 4,86 (пагони омели білої з липи серцелистої).

5. Сумарний вміст поліфенольних сполук у досліджуваних зразках ЛРС коливався в межах 1,24 мг/г (у листі тютюну справжнього) до 99,57 мг/г (у листі ліщини звичайної). зразках ЛРС. В досліджуваних видах ЛРС ідентифіковано та визначено кількісний вміст тропанових алкалоїдів від 0,02 % (листя дерези звичайної) до 0,04 % (листя беладони лікарської), глікоалкалоїдів – від 0,01 % (трава баклажану синього) до 0,02 % (трава картоплі), ізохінолінових алкалоїдів у перерахунку на протопін у листя рутки Шлейхера – 0,04 %, ізохінолінових алкалоїдів у перерахунку на берберин у листя барбарису Тунберга сортів Kobold (1,58 %) та *Atropurpurea* (1,37 %), а також піридинових алкалоїдів у перерахунку на нікотин у листі тютюну справжнього (0,88 %).

6. З досліджуваної сировини одержано сухі водні, водно-спиртові, спиртові та хлороформні екстракти (усього 140) та передано для фармакологічного скринінгу на виявлення протисудомної активності на базовій моделі пентилентетразолових судом. Найбільш активними виявились водні та водно-спиртові екстракти. Серед досліджуваних екстрактів 11 виявили протисудомні властивості, 6 були проконвульсантами, 123 екстракти не чинили істотного впливу на перебіг пентилентетразолових судом. За результатами поглибленого вивчення активних екстрактів на моделях судом різного генезу, сухі водні екстракти рутки Шлейхера, базилику камфорного сорту Пурпурний та листя ліщини звичайної визначено як лідери фармакологічного випробування та рекомендовано для подальших досліджень.

7. Для речовин, в ЛРС, проведені *in silico* дослідження з метою виявлення речовин-маркерів активності. PASS-прогноз відзначив протисудомний потенціал таких речовин як протопін, рутин та нейромедіаторних амінокислот переважно за рахунок взаємодії з ГАМК-рецепторами, а також антидепресантну активність та здатність впливати на когнітивні функції. На підставі одержаних результатів складено дизайн хімічного дослідження екстрактів з досліджуваних видів ЛРС. Вивчено хімічний склад сухих водних екстрактів на наявність та кількісний вміст нейромедіаторних амінокислот, фенольних кислот, флавоноїдів, поліфенольних сполук та алкалоїдів. Співставлення одержаних результатів показало, що для прояву протисудомної активності ключовим є присутність нейромедіаторних амінокислот, зокрема ГАМК та гліцину, та флавоноїдів (переважно рутину). Результати визначення хімічного складу та показників фармакологічної активності (латентний період, тривалість та тяжкість судом) було піддано кореляційному аналізу з метою виявлення статистичної залежності протисудомної активності від хімічного складу.



QSAR-дослідження показали відсутність кореляцій при застосуванні однопараметричних моделей. Найкращим чином протисудомна активність корелювала з вмістом амінокислот та флавоноїдів при застосуванні дво- та три параметричних моделей.

8. Розроблено дієтичну добавку на основі екстракту трави базилику камфорного сорту Пурпурний «Нейроверт». Експериментальні фармакологічні дані щодо анксиолітичних та адаптогенних властивостей екстракту трави базилику камфорного сорту Пурпурний стали підставою для поглиблених досліджень з метою розробки потенційного лікарського засобу підприємством ТОВ «Дослідний завод ДНЦЛЗ». Для всіх сухих екстрактів-лідерів встановлено параметри стандартизації, розроблено методики ідентифікації та кількісного визначення ключових БАР. Експериментально визначено доцільність застосування портативного обладнання для здійснення ідентифікації трави базилику камфорного та оптимізації терміну заготівлі ЛРС.

9. Проведено поглиблені дослідження лідера фармакологічних досліджень сухого водного екстракту трави рутки Шлейхера. Фармакологічними дослідженнями підтверджено високий протисудомний потенціал сухого водного екстракту трави рутки Шлейхера, а також наявність супутніх нейротропних властивостей поряд із низькою токсичністю –  $LD_{50} > 5000$  мг/кг. Докінгові дослідження не дозволили обрати маркер для стандартизації. Для встановлення ролі окремих груп БАР на протисудомну активність та визначення маркерів активності одержано фракції флавоноїдів, алкалоїдів, алкалоїду протопіну та протеїн-полісахаридного комплексу. Встановлено, що протисудомна активність окремих компонентів не перевищує дії екстракту. Найбільшу активність виявили фракція алкалоїдів та протеїн-полісахаридний комплекс. Враховуючи це, маркерами ідентифікації обрано алкалоїди, для кількісного визначення – протопін та сума флавоноїдів. Проведено дослідження зі стандартизації екстракту та встановлені параметри стандартизації за вмістом флавоноїдів, алкалоїдів та фенольних кислот. Розробку лікарського засобу у формі сиропу внесено в план наукових досліджень ТОВ «ДКП „Фармацевтична фабрика“».

10. За узагальненими результатами здійснених експериментальних підтверджено доцільність та коректність запропонованого алгоритму вибору ЛРС, що має протисудомні властивості, а також здійснено його конкретизацію з урахуванням ролі окремих БАР у вигляді «дерева рішень». Визначено перспективи застосування рослинної сировини та фітотерапевтичних засобів для лікування епілепсії.

11. Для оптимізації цілеспрямованого пошуку рослинних антиконвульсантів розроблено оригінальне програмне забезпечення AntiConvulsant\_Test.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Прокопенко Ю. С., Міщенко В. А., Бевз Н. Ю. Екстракційно-фотометричний аналіз вмісту тропанових алкалоїдів у лікарській рослинній сировині родини Solanaceae. *Українській журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2011.

- № 4. С. 188–191. (Особистий внесок – постановка проблематики статті, планування експерименту, узагальнення результатів та підготовка статті).
2. Визначення вмісту тропанових алкалоїдів у надземній частині овочевих рослин родини Solanaceae методом екстракційної фотометрії / В. А. Міщенко, Ю. С. Прокопенко, С. В. Гарна, О. С. Головченко. *Фармацевтичний часопис*. 2012. № 2. С. 73–75. (Особистий внесок – планування експериментального дослідження, розробка аналітичних методик, обробка та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).
  3. Дослідження вмісту тропанових алкалоїдів у надземній частині фізалісу звичайного / В. А. Міщенко, Ю. С. Прокопенко, С. В. Гарна, Є. І. Бисага. *Зб. наук. праць співроб. НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2012. № 21(4). С. 447–450. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, здійсненні експериментального дослідження, узагальненні результатів та підготовці статті).
  4. Mishchenko V. A., Prokopenko Yu. S., Garna S. V. Determination of chemical compounds of vegetable plants of the Solanaceae family. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2013. № 1 (27). С. 6–9. (Особистий внесок – планування експериментального дослідження, обробка та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).
  5. Скринінгове дослідження протисудомної активності сухих екстрактів із 8 видів рослин родин Solanaceae, Paravogaceae, Lamiaceae та Polemoniaceae / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, Ю. С. Прокопенко, В. А. Георгіянець. *Клінічна фармація*. 2012. № 4. С. 47–50. (Особистий внесок – брала участь у постановці проблематики дослідження, плануванні експерименту, узагальненні отриманих результатів дослідження та додрукарській підготовці статті).
  6. Липофильные соединения листьев и стеблей *Capsicum anuum* / Ю. С. Прокопенко, В. А. Георгіянець, В. А. Мищенко, С. В. Гарная. *Химия природных соединений*. 2013. № 4. С. 631–633. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, експериментальному дослідженні, обробці та узагальненні результатів, підготовці статті до друку).
  7. Цывунин В. В., Штриголь С. Ю., Прокопенко Ю. С. Нейропротекторные свойства сухих экстрактов дымянки Шлейхера и базилика камфорного. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2013. № 3. С. 66–71. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні отриманих результатів дослідження та додрукарській підготовці статті).
  8. Анализ липофильных соединений листьев *Corylus avellana* L. / Ю. С. Прокопенко, Н. А. Близнюк, В. А. Георгіянець, В. А. Мищенко. *Химия природных соединений*. 2014. № 1. С. 106–107. (Особистий внесок – брала участь в експериментальному дослідженні, обробці та узагальненні результатів, підготовці статті до друку).
  9. Експериментальне визначення спектра протисудомної дії перспективних антиконвульсантів рослинного походження / В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, Ю. С. Прокопенко, Е. Л. Торянік. *Український біофармацевтичний журнал*. 2014. № 3. С. 45–49. (Особистий внесок – брала участь у плануванні

експерименту, узагальненні отриманих результатів дослідження та додрукарській підготовці статті).

10. Прокопенко Ю. С., Георгіянец В. А., Мищенко В. А. Липофильные соединения надземной части *Physalis alkekengi*. *Химия природных соединений*. 2014. № 6. С. 952–953. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, здійсненні дослідницької роботи, обробці та узагальненні результатів, підготовці статті до друку).
11. Дослідження вмісту поліфенольних сполук у надземних частинах рослин родини Пасльонові / Ю. С. Прокопенко, В. А. Міщенко, В. А. Георгіянец, Н. Ю. Бевз. *Зб. наук. праць співроб. НМАПО імені П. Л. Шупика*. № 23 (4). 2014. С. 369–373. (Особистий внесок – постановка проблематики та планування експерименту, виконання дослідження, обробка та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).
12. Прокопенко Ю. С., Георгіянец В. А., Мищенко В. А. Порівняльне дослідження вмісту глікоалкалоїдів у надземних частинах овочевих рослин родини Solanaceae. *Фармацевтичний часопис*. № 4. 2014. С. 20–23. (Особистий внесок – планування експерименту, виконання експериментального дослідження, обробка та узагальнення одержаних результатів, підготовка статті до друку).
13. Прокопенко Ю. С., Георгіянец В. А., Мищенко В. А. Види родини пасльонові як перспективні джерела флавоноїдів. *Фітотерапія. Часопис*. № 4. 2014. С. 74–77. (Особистий внесок – брала участь у плануванні та здійсненні експериментального дослідження, узагальненні результатів та підготовці публікації).
14. Близнюк Н. А., Прокопенко Ю. С., Георгіянец В. А. Дослідження вмісту поліфенольних сполук у листі *Corylus avellana* L. *Фітотерапія. Часопис*. 2015. № 1. С. 63–66.
15. Близнюк Н. А., Прокопенко Ю. С., Георгіянец В. А. Порівняльне дослідження вмісту флавоноїдів у листі декоративних чагарників – представників флори України. *Зб. наук. праць співроб. НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2015. № 4. С. 321–325. (Особистий внесок – брала участь у постановці проблематики, плануванні та здійсненні експериментального дослідження, узагальненні результатів та підготовці публікації).
16. Прокопенко Ю. С., Георгіянец В. А., Мищенко В. А. Визначення вмісту амінокислот у видах родини Пасльонові. *Зб. наук. праць співроб. НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2015. № 5. С. 190–194. (Особистий внесок – брала участь у плануванні та здійсненні експериментального дослідження, обробці результатів та підготовці публікації до друку).
17. Міщенко В. А., Прокопенко Ю. С. Особливості визначення тропанових алкалоїдів у листі дурману звичайного. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2015. № 4. С. 10–14. (Особистий внесок – брала участь у постановці проблематики, плануванні та здійсненні експериментального дослідження, обробці та узагальненні результатів, підготовці статті до друку).
18. Blyznyuk N., Prokopenko Yu., Georgiyants V. Development of methods for determination of phenolic acids and flavonoids in capsules containing *Corylus avellana* L. dry extract. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2016. № 2/4.

- С. 18–22. (Особистий внесок – брала участь у плануванні дослідницької роботи, в експериментальному дослідженні, обробці та узагальненні результатів, підготовці статті до друку).
19. Blyznyuk N. A, Prokopenko Yu. S, Georgiyants V. A. A comparative phytochemical and pharmacological analysis of the extracts from leaves of Ukrainian flora shrubs. *Вісник фармації*. 2016. № 1. С. 29–33. (Особистий внесок – постановка завдань дослідження, планування експерименту, виконання хімічного аналізу, обробка та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).
  20. In vivo anticonvulsant activity of extracts and protopine from *Fumaria schleicheri* herb / Yu. Prokopenko, V. Tsyvunin, S. Shtrygol', V. Georgiyants. *Scientia Pharmaceutica*. 2016. № 84. С. 547–554. (Особистий внесок – брала участь у здійсненні експериментального дослідження, узагальненні результатів та підготовці публікації).
  21. Influence of dry herbal extracts on pentylenetetrazole-induced seizures in mice: screening results and relationship “Chemical composition – pharmacological effect” / V. Tsyvunin, S. Shtrygol', Y. Prokopenko, V. Georgiyants, N. Blyznyuk. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2016. № 1. С. 18–28. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, здійсненні дослідження, узагальненні отриманих результатів дослідження та додрукарській підготовці статті).
  22. Prokopenko Yu. S., Georgiyants V. A., Mishchenko V. A. Study of chemical composition of the Solanaceae family members for new antiepileptic remedies creation. *Зб. наук. праць співроб. НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2016. № 26. С. 390–395. (Особистий внесок – брала участь у постановці проблематики, плануванні та здійсненні експериментального дослідження, обробці та узагальненні результатів, підготовці статті до друку).
  23. HILIC MS/MS determination of amino acids in herbs of *Fumaria schleicheri* L., *Ocimum basilicum* L., and leaves of *Corylus avellana* L. / Yuliya Prokopenko, Valdas Jakštas, Vaidotas Žvikas, Victoriya Georgiyants, Liudas Ivanauskas. *Natural product research*. 2018. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1477145>. (Особистий внесок – брала участь у плануванні та здійсненні експериментального дослідження, обробці результатів та підготовці публікації до друку).
  24. Prokopenko Yu., Georgiyants V. Methodological approaches to the search of new herbal anticonvulsants. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2018. № 2. С. 32–36. (Особистий внесок – постановка завдань дослідження, планування експерименту, виконання хімічного аналізу, обробка та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).
  25. Prokopenko Yu., Perekhoda L., Georgiyants V. Docking studies of biologically active substances from plant extracts with anticonvulsant activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2019. № 1. С. 66–72. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, здійсненні дослідження, узагальненні отриманих результатів дослідження та додрукарській підготовці статті).

26. Прокопенко Ю. С., Міщенко В. А., Георгіянц В. А., Бевз Н. Ю., Гарна С. В. Екстракційно-фотометричний спосіб визначення алкалоїдів групи тропану у надземній частині овочевих рослин родини Пасльонових: пат. 75939 Україна. № у 2012 03557; заявл. 26.03.2012; опубл. 25.12.2012, Бюл. № 24. (Особистий внесок – брала участь у здійсненні патентного пошуку, експериментальних дослідженнях та оформленні патенту).
27. Прокопенко Ю. С., Міщенко В. А., Георгіянц В. А. Спосіб одержання сухого екстракту з трави перцю однорічного з протисудомною дією: пат. 82981 Україна. № у 2013 01607; заявл. 11.02.2013; опубл. 27.08.2013, Бюл. № 16. (Особистий внесок – брала участь у здійсненні патентного пошуку, експериментальних дослідженнях та оформленні патенту).
28. Цивунін В. В., Прокопенко Ю. С., Штриголь С. Ю., Георгіянц В. А. Лікувально-профілактичний засіб із протисудомною дією: пат. 79433 Україна. № у 2012 11071; заявл. 24.09.2012; опубл. 25.04.2013, Бюл. № 8. (Особистий внесок – брала участь у здійсненні патентного пошуку, експериментальних дослідженнях та оформленні патенту).
29. Цивунін В. В., Прокопенко Ю. С., Штриголь С. Ю., Георгіянц В. А. Лікувально-профілактичний засіб з анксиолітичною дією на основі рослинної сировини: пат. 89372 Україна. № у 2013 04354; заявл. 08.04.2013; опубл. 25.04.2014, Бюл. № 8. (Особистий внесок – брала участь у здійсненні патентного пошуку, експериментальних дослідженнях та оформленні патенту).
30. Цивунін В. В., Прокопенко Ю. С., Штриголь С. Ю., Георгіянц В. А. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу із протисудомною дією: пат. 106117 Україна. № а 2012 11072; заявл. 24.09.2012, опубл. 25.07.2014, Бюл. № 14. (Особистий внесок – брала участь у здійсненні патентного пошуку, експериментальних дослідженнях та оформленні патенту).
31. Прокопенко Ю. С., Міщенко В. А., Георгіянц В. А., Таран А. В. Лікувально-профілактичний засіб із протисудомною дією на основі рослинної сировини: пат. 110618 Україна. № а 2013 01606; заявл. 11.02.2013, опубл. 25.01.2016, Бюл. № 2. (Особистий внесок – брала участь у здійсненні патентного пошуку, експериментальних дослідженнях та оформленні патенту).
32. Цивунін В. В., Прокопенко Ю. С., Штриголь С. Ю., Георгіянц В. А. Застосування лікувально-профілактичного засобу у формі сухого екстракту рутки Шлейхера як агента, що проявляє анксиолітичну дію: пат. 110947 Україна. № а 2013 04353; заявл. 08.04.2013, опубл. 10.03.2016, Бюл. № 5. (Особистий внесок – брала участь у здійсненні патентного пошуку, експериментальних дослідженнях та оформленні патенту).
33. Прокопенко Ю. С., Міщенко В. А. Стандартизація представників родин Руткові та Пасльонові з точки зору перспективи застосування. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: мат. IV наук.-пр. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 29–30 вересня 2011 р. Тернопіль : ТДМУ, 2011. С. 45–46.
34. Міщенко В. А., Прокопенко Ю. С. Розробка методик стандартизації лікарської рослинної сировини, що містить алкалоїди. *Актуальні проблеми сучасної*

- медицини* : мат. V Міжнар. наук.-пр. конгресу, м. Київ, 23–25 жовтня 2011 р. Київ : НМУ ім. О. О. Богомольця, 2011. С. 467.
35. Міщенко В. А., Прокопенко Ю. С. Використання фізико-хімічних методів аналізу для стандартизації фітотерапевтичних лікарських засобів. *Актуальні питання медицини і фармації* : мат. IX Міжнар. мед.- фарм. конф. студ. та молод. вчених, м. Чернівці, 4–6 квітня 2012 р. Чернівці : БДМУ, 2012. С. 271.
  36. Прокопенко Ю. С., Міщенко В. А. Дослідження надземних частин овочевих рослин родини Solanaceae на вміст тропанових алкалоїдів. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : мат. Всеукр. наук.- пр. конф. студ. та молод. вчених, м. Харків, 19–20 квітня 2012 р. Харків : НФаУ, 2012. С. 103.
  37. Міщенко В. А., Прокопенко Ю. С., Таран А. В. Залежність протисудомної активності від вмісту поліфенольних сполук у надземних частинах рослин родини Пасльонові. *Растительные полифенолы и неспецифическая резистентность* : мат. IV наук. симпоз., м. Одеса, 13–14 вересня 2012 р. Одеса, 2012. С. 36.
  38. Прокопенко Ю. С., Міщенко В. А., Гарна С. В., Таран А. В. Визначення протисудомної активності екстрактів з надземних частин овочевих рослин родини Пасльонові. *Клінічна фармація: 20 років в Україні* : мат. нац. конгресу, м. Харків, 21–22 березня 2013 р. Харків : НФаУ, 2013. С. 189.
  39. Прокопенко Ю. С., Міщенко В. А., Гарна С. В. Застосування рослин родини Пасльонові, Губоцвіті та Руткові для розробки дієтичної добавки з амінокислотами. *Функціональні харчові продукти – дієтичні добавки – як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань* : мат. I Міжнар. наук.-пр. конф., м. Харків, 11–12 квітня 2013 р. Харків : НФаУ, 2013. С. 193.
  40. Prokopenko Yu. S., Georgiyants V. A., Myshchenko V. A., Tsyvunin, V. V., Blyznyuk, N. A., Markiv, V. I. Prospects of using of IR-spectroscopy methods for the quality control of herbs. *Phytopharm* : мат. Міжнар. Конгресу, м. Відень, 8–10 червня 2013. Відень, 2013. С. 64.
  41. Прокопенко Ю. С., Георгіянц В. А. Можливості застосування ближньої ІЧ-спектроскопії для контролю якості лікарської рослинної сировини родини Lamiaceae. *Хімія природних сполук* : мат. III Всеукраїнської науково-практичної конференції, м. Тернопіль, 30–31 жовтня 2012 р. Тернопіль : ТДМУ, 2012. С. 131–132.
  42. Близнюк Н. А., Прокопенко Ю. С., Георгіянц В. А. Актуальность разработки лекарственного препарата растительного происхождения для лечения эпилепсии. *Медична наука та медична практика в Україні: проблеми розвитку та взаємодії* : мат. Міжнар. науково-практичної конференції, м. Одеса, 8–9 листопада 2013 р. Одеса, 2013. С. 41–42.
  43. Близнюк Н. А., Прокопенко Ю. С., Георгіянц В. А. Пошук перспективних протисудомних субстанцій з ЛРС родини Березові. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : мат. V наук.-пр. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 27–28 вересня 2013 р. Тернопіль : ТДМУ, 2013. С. 343.
  44. Prokopenko Yu. S., Blyznyuk N. A., Georgiyants V. A., Tsyvunin V. V. Research of the anticonvulsant activity of members of Betulaceae, Lamiaceae, Fumariaceae

- and Oleaceae families. *Chemistry of Natural Compounds* : мат. X симпоз. з міжнар. участю, м. Ташкент, 21–23 листопада 2013 р. Ташкент, 2013. С. 275.
45. Prokopenko Yu., Georgiyants V., Mishchenko V., Tsyvunin V. The search of new herbal anticonvulsants. *Pharmaceutical Sciences in XXI Century* : мат. II Міжнар. наук. конгресу, м. Тбілісі, 2–4 травня 2014 р. Тбілісі, 2014. С. 78.
  46. Близнюк Н. А., Прокопенко Ю. С., Георгіянц В. А., Міщенко В. А. Визначення вмісту основних груп БАР у листі декоративних рослин флори України. *Аналітична хімія у фармації* : мат. науково-практ. інтернет-конф., м. Харків, 19–20 березня 2015 р. Харків : НФаУ, 2015. С. 116–117.
  47. Prokopenko Yu., Georgiyants V., Mishchenko V., Blyznyuk N. International approaches to the quality control and standardization of herbs. *Science and Practice-2015* : мат. VI науково-практ. конф., м. Каунас (Литва), 5–6 листопада 2015 р. Каунас, 2015. С. 21–22.
  48. Близнюк Н. А., Прокопенко Ю. С., Георгіянц В. А. Розробка методики ідентифікації флавоноїдів методом ВЕТШХ для здійснення контролю якості капсульованої лікарської форми. *Аналітична хімія у фармації* : мат. науково - практ. інтернет - конф., м. Харків, 17 березня 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. С. 122–123.
  49. Прокопенко Ю. С., Георгіянц В. А., Близнюк Н. А., Міщенко В. А. Пошук антиконвульсантів рослинного походження. *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку* : мат. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 24–25 березня 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. С. 135.
  50. Prokopenko Yu., Georgiyants V., Mishchenko V. Herbal anticonvulsants: a targeted search and prospects of using. *Science and Practice-2016* : мат. VII науково-практ. конф., м. Каунас (Литва), 20–21 жовтня 2016 р. Каунас, 2016. С. 12–13.
  51. Prokopenko Yu., Georgiyants V. The relevance of the software development for anticonvulsant potential study of herbs and herbal remedies. *Science and Practice-2018* : мат. IX науково-практ. конф., м. Каунас (Литва), 9 листопада 2018 р. Каунас, 2018. С. 88.
  52. Штриголь С. Ю., Цивунін В. В., Прокопенко Ю. С. Використання сухого екстракту рутки Шлейхера для розробки лікарського засобу протисудомної дії: інформаційний лист № 282–2013, вип. з проблеми «Фармація», протокол № 81 від 19.06.2013 р., Київ. 4 с.
  53. Цивунін В. В., Штриголь С. Ю., Прокопенко Ю. С., Георгіянц В. А., Близнюк Н. А. Інноваційні перспективи використання сухого екстракту ліщини звичайної для розробки лікарського засобу протисудомної дії: інформаційний лист № 45–2016, вип. з проблеми «Фармація», протокол № 95 від 17.02.2016 р., Київ. 4 с.

## АНОТАЦІЯ

**Прокопенко Ю. С.** Експериментально-теоретичне обґрунтування оптимізації пошуку рослинних протисудомних засобів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук 15.00.02 — фармацевтична хімія і фармакогнозія. – Національний фармацевтичний університет, Харків, 2019.

Робота присвячена теоретичному узагальненню та експериментальному вирішенню наукової проблеми з пошуку рослинних протисудомних засобів. Обґрунтовано та побудовано алгоритм вибору об'єктів та напрямів дослідження. Здійснено експериментальне дослідження вмісту основних груп БАР, що чинять найбільший вплив на функціонування ЦНС: нейромедіаторних та нейротропних амінокислот, флавоноїдів, алкалоїдів, поліфенольних сполук, гідроксикоричних кислот. На моделі пентилентетразолових судом, а також за результатами поглибленого вивчення механізмів протисудомної дії було встановлено значний протисудомний потенціал сухих водних екстрактів трави рутки Шлейхера та трави базиліку камфорного сорту Пурпурний. За допомогою програми PASS-online розраховано протисудомний потенціал сполук у складі екстрактів. Визначено вміст основних груп БАР у сухих водних екстрактах.

Встановлено якісний та кількісний взаємозв'язок між хімічним складом та протисудомною активністю досліджуваних сухих екстрактів. Розроблено оригінальне програмне забезпечення «AntiConvulsant\_Test» для встановлення протисудомного потенціалу ЛРС в залежності від вмісту основних груп БАР. Виявлені закономірності впливу наявності та кількісного вмісту різних груп БАР на реалізацію протисудомного ефекту було узагальнено у вигляді дерева рішень, що допоможе оптимізувати цілеспрямований пошук рослинних антиконвульсантів.

**Ключові слова:** лікарська рослинна сировина, фітохімічний аналіз, протисудомна активність, *in silico* дослідження

## ANNOTATION

**Prokopenko Yu. S.** Experimental and theoretical substantiation for optimization of the search of herbal substances having anticonvulsant activity. – Qualifying scientific work manuscript copyright.

The thesis for a doctor of pharmaceutical science degree in speciality 15.00.02 pharmaceutical chemistry and pharmacognosy. – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2019.

The thesis is devoted to theoretical generalization and experimental solution of the scientific problem of the search of herbal anticonvulsants.

A comprehensive comparative phytochemical determination of biologically active compounds of herbs members of *Lamiaceae*, *Fumariaceae*, *Solanaceae*, *Betulaceae*, *Polemoniaceae*, *Berberidaceae*, *Caprifoliaceae*, *Oleaceae*, *Hydrangeaceae*, and *Viscaceae* families was carried out for the first time to determine their influence on the anticonvulsant activity of the studied herbs. The literature data concerning anticonvulsant activity of certain herbal species or botanical families was summarized, and a basic algorithm for the selection of herbs for the further targeted search for herbal anticonvulsants was developed. On it basis, 35 herbs from 10 botanical families were selected, 140 dry extracts were prepared, and scientific methodology was substantiated.

In result of the scientific study, quantitative content of compounds influencing on the anticonvulsant potential of herbs was carried out for the first time. The structural



analogue of valproic acid, 4-hexenic acid, was found in *Corylus avellana* leaves and *Viscum album* shoots (the one parasitizing on *Acer campestre* branches). The presence of caprylic acid in *Lamiaceae*, *Polemoniaceae*, *Solanaceae*, and *Hydrangeaceae* was determined. Original HPLC technique for neurotransmitter amino acids determination in herbal material using HILIC column was developed for the first time. The content of GABA, glycine, tryptophan, valine, histidine, and alanine in the studied herbs was determined for the first time. It has been found that *Viscum album* shoots (from *Populus nigra* and *Crataegus laevigata* branches), as well as *Ocimum basilicum* Purple herb, has the highest content of GABA. The highest content of glycine among the studied herbal samples was found in *Viscum album* shoots (from *Crataegus laevigata* and *Tilia cordata* branches). *Viscum album* shoots (from *Sorbus aucuparia* branches) dominated by tryptophan content; *Viscum album* shoots (from *Tilia cordata* branches) – by valine content. The highest content of histidine was found in *Ocimum basilicum* Purple herb and *Lycium barbarum* leaves. Identification and quantitative determination of flavonoids in the studied herbs was carried out by HPTLC, HPLC, and absorption spectroscopy methods. It was found that the main flavonoids in the studied herbs are rutin, luteolin, quercitrin and hyperoside. The content of the sum of flavonoids ranged from 2.47 mg/g (*Petunia nyctaginiflora* herb) to 17.39 mg/g (*Philadelphus coronarius* leaves). The highest content of rutine, which may act as anticonvulsant activity marker, was determined in *Viscum album* shoots (from *Populus nigra* branches) (4.26 mg/g), *Fumaria Schleicheri* herb (3.13 mg/g), and *Ocimum basilicum* Purple herb (3.26 mg/g). The general content of hydroxycinnamic acids was calculated. The total content of polyphenolic compounds in the studied herbal samples ranged from 1.24 mg/g (in *Nicotiana tabacum* leaves) to 99.57 mg/g (in *Corylus avellana* leaves). Isoquinoline, pyridine, tropane and glycoalkaloids were determined in herbal samples by wet titration method, absorption spectroscopy method and extraction photometry method after its optimization.

Pharmacological studies have shown the presence of anticonvulsant activity in 11 dry extracts. For the selection of anticonvulsant activity markers, prediction of biological activity of active substances using *in silico* methods was carried out for the first time. PASS-online prediction has shown the anticonvulsant potential of protopin, rutin and neurotransmitter amino acids mainly due to their interaction with GABA receptors. Results of the chemical composition determination of the dry aqueous extracts and pharmacological activity indicators (latent period, duration and severity of seizures) were subjected to QSAR analysis to identify statistical correlation between anticonvulsant activity and chemical composition. Statistically significant correlation was 0.551 for flavonoids, 0.572 for rutin and 0.580 for amino acids.

High anticonvulsant potential and the presence of concomitant neurogenic properties of dry aqueous extracts of *Ocimum basilicum* Purple herb and *Fumaria Schleicheri* herb were determined for the first time. Standardization parameters for the mentioned extracts were offered, regarding key biologically active compounds determining anticonvulsant potential of the extracts. Possibility of the use of portable equipment for determination of the optimum harvesting period and identification parameters on the example of *Ocimum basilicum* Purple and Gevovese herbs was tested.

*In silico* determination of the anticonvulsant potential of *Fumaria Schleicheri* extract substances using molecular docking was carried out for the first time. *In vivo*

determination of the anticonvulsant potential of flavonoids, protein-polysaccharide complex, alkaloids and protopin isolated from *Fumaria Schleicheri* extract was carried out. Alkaloids and protein-polysaccharide complex showed the highest activity. Standardization parameters of dry aqueous extract of *Fumaria Schleicheri* were offered.

According to the generalized results of the study, the algorithm for selection of herbs with anticonvulsant potential depending on their chemical composition was offered for the first time. «AntiConvulsant\_Test» software was developed and tested to calculate the anticonvulsant potential herbs.

The obtained results of chemical and pharmacological studies were implemented in scientific and research work of related higher education institutions of Ukraine.

**Key words:** herbal material, phytochemical analysis, anticonvulsant activity, *in silico* studies.

## АННОТАЦИЯ

**Прокопенко Ю. С.** Экспериментально-теоретическое обоснование оптимизации поиска растительных противосудорожных средств. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2019.

Работа посвящена теоретическому обобщению и экспериментальному решению научной проблемы поиска растительных противосудорожных средств. Обоснован и составлен алгоритм выбора объектов и направлений исследования. Осуществлено экспериментальное исследование содержания основных групп биологически активных веществ, оказывающих наибольшее влияние на ЦНС: нейромедиаторных и нейротропных аминокислот, флавоноидов, алкалоидов, полифенольных соединений, гидроксикоричных кислот.

На модели пентилентетразоловых судорог, а также по результатам углубленного изучения механизмов противосудорожного действия был обнаружен высокий противосудорожный потенциал сухих водных экстрактов травы дымянки Шлейхера и травы базилика камфорного сорта Пурпурный. С помощью программы PASS-online рассчитан противосудорожный потенциал соединений в составе экстрактов. Определено содержание основных групп биологически активных веществ в сухих водных экстрактах. Установлена качественная и количественная взаимосвязь между химическим составом и противосудорожной активностью испытуемых сухих экстрактов. Разработано оригинальное программное обеспечение «AntiConvulsant\_Test» для установления противосудорожного потенциала ЛРС в зависимости от содержания основных групп биологически активных веществ. Определенные закономерности влияния наличия и количественного содержания разных групп биологически активных веществ на реализацию противосудорожного действия были обобщены в виде дерева решений, которое должно помочь оптимизировать целенаправленный поиск растительных антиконвульсантов.

**Ключевые слова:** лекарственное растительное сырье, фитохимический анализ, противосудорожная активность, *in silico* исследования.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

БАР – біологічно активна речовина;  
ВЕТШХ – високо ефективна тонкошарова хроматографія;  
ВЕРХ – високо ефективна рідинна хроматографія;  
ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я;  
ГРХ – газо-рідинна хроматографія  
ДКП – Державне комунальне підприємство;  
ДНЦЛЗ – Державний науковий центр лікарських засобів  
ДУ – Державна установа;  
ДФУ – Державна фармакопея України;  
ГЧ-спектроскопія – інфрачервона спектроскопія;  
ЛРС – лікарська рослинна сировина;  
МОЗ – Міністерство охорони здоров'я;  
НАМН – Національна академія медичних наук;  
ПВНЗ – Приватний вищий навчальний заклад;  
ПХ – паперова хроматографія;  
ТОВ – товариство з обмеженою відповідальністю  
ТШХ – тонкошарова хроматографія;  
ЦНС – центральна нервова система;  
ЧМТ – черепно-мозкова травма  
ABTS – 2,2'-азинобіс(3-етилбензтіазолін-6-сульфонової кислоти)  
GA-MLRA – Genetic Algorithm combined with Multiple Linear Regression Analysis  
GC-MS – Gas chromatography-mass spectroscopy  
HILIC – Hydrophilic interaction liquid chromatography  
QSAR – Quantitative structure–activity relationship  
TEAC – Trolox equivalent antioxidant capacity

Підписано до друку 10.10.2019 р. Формат 60x84/16.  
Папір офсетний. Гарнітура Times ET. Друк ризографічний.  
Ум. друк. арк. 1,9. Наклад 100 пр. Зам. № 1010/9-19.

---

Надруковано з готового оригінал-макету у друкарні ФОП В. В. Петров  
Єдиний державний реєстр юридичних осіб та фізичних осіб-підприємців.  
Запис № 24800000000106167 від 08.01.2009 р.  
61144, м. Харків, вул. Гв. Широнінців, 79в, к. 137, тел. (057) 78-17-137.  
e-mail:bookfabrik@mail.ua