

Шиморова Ю. Є. Фармакогностичне вивчення пастернаку посівного (*Pastinaca sativa* L.). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація» (22 – Охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2020.

Дисертаційна робота присвячена комплексному фармакогностичному дослідженню трави, коренеплодів та плодів пастернаку посівного сортів Петрик і Белас, одержанню лікарських рослинних засобів на основі досліджуваної сировини, стандартизації сировини та одержаного лікарського рослинного засобу.

Методами ПХ та ТШХ у сировині пастернаку посівного виявлено речовини фенольної природи, зокрема флавоноїди, кумарини, гідроксикоричні кислоти, їх кількісний вміст визначали спектрофотометричним методом. У результаті встановлено, що кількісний вміст поліфенольних сполук, гідроксикоричних кислот та флавоноїдів був максимальним у траві пастернаку посівного сортів Петрик ( $2,90 \pm 0,06$  %,  $1,80 \pm 0,09$  %,  $0,59 \pm 0,01$  %) та Белас ( $2,76 \pm 0,06$  %,  $1,48 \pm 0,03$  %,  $0,66 \pm 0,02$  % відповідно). Кумарини накопичувалися переважно у плодах, їх вміст у плодах пастернаку сорту Петрик склав  $1,40 \pm 0,03$  %, сорту Белас –  $1,29 \pm 0,02$  %.

Визначено оптимальний термін заготівлі трави пастернаку посівного з огляду на накопичення фенольних сполук та запропоновано проводити її заготівлю до цвітіння.

Методом ВЕРХ у сировині пастернаку ідентифіковано та визначено вміст індивідуальних речовин фенольної природи. У траві за вмістом переважали хлорогенова кислота ( $10,203 \pm 0,02$  мг/г) та гіперозид ( $4,625 \pm 0,09$  мг/г), у плодах – ксантотоксол ( $8,528 \pm 0,17$  мг/г), ксантотоксин ( $5,784 \pm 0,12$  мг/г) та бергаптен ( $5,215 \pm 0,10$  мг/г), у коренеплодах – хлорогенова кислота ( $1,641 \pm 0,03$  мг/г) та ксантотоксол ( $0,658 \pm 0,01$  мг/г).

Методом DPPH визначено антиоксидантну активність трави та плодів пастернаку посівного, яка склала  $6,76 \pm 0,14$  мг/г та  $0,99 \pm 0,02$  мг/г у еквіваленті хлорогенової кислоти відповідно.

Амінокислотний склад сировини вивчали за допомогою амінокислотного аналізатору та встановили, що амінокислоти переважно накопичувалися у плодах та траві пастернаку посівного. У траві обох сортів у найбільшій кількості визначено глютамінову, аспарагінову кислоти та пролін, у плодах – глютамінову, аспарагінову кислоти та гліцин, у коренеплодах – глютамінову, аспарагінову кислоти, пролін та аргінін.

Методом титриметрії визначено кількісний вміст вільних органічних кислот, методом гравіметрії – кількісний вміст полісахаридів. Вміст цих класів переважав у коренеплодах та траві пастернаку посівного обох сортів. Для трави пастернаку посівного проведено кількісне визначення хлорофілів та каротиноїдів.

Одержано ефірну олію методом перегонки з водяною парою, її вихід із плодів пастернаку був  $2,59 \pm 0,05$  %, з коренеплодів –  $0,87 \pm 0,02$  %, з трави –  $0,31 \pm 0,01$  %.

Дослідження компонентного складу летких фракцій сировини пастернаку посівного проводили методом ГХ/МС. У траві пастернаку сорту Петрик ідентифіковано 30 летких сполук, у траві сорту Белас – 26, у плодах обох досліджуваних сортів та у коренеплодах сорту Белас – по 21 речовині, у коренеплодах сорту Петрик – 20 сполук. Слід відмітити, що за вмістом в усіх видах сировини пастернаку посівного за вмістом переважав міристицин, який можна вважати маркерною сполукою для пастернаку посівного.

Вивчено стероїдні сполуки методом ГХ/МС.  $\beta$ -Ситостерол визначено у найбільшій кількості в усіх досліджуваних зразках, окрім трави пастернаку посівного сорту Белас, у якій домінував стигмастерол ( $172,00 \pm 3,45$  мг/кг).

Жирні кислоти у складі ліпофільних фракцій трави, коренеплодів та плодів досліджували методом ГХ. У ліпофільних фракціях трави пастернаку посівного обох сортів ідентифіковано по 13 жирних кислот, у коренеплодах

та плодах пастернаку сорту Петрик – 12 та 9 жирних кислот, пастернаку сорту Белас – по 10 жирних кислот відповідно. У всіх зразках переважали ненасичені жирні кислоти, так у плодах пастернаку сортів Белас і Петрик їх визначено 94,78 % та 94,33 %, у коренеплодах – 82,55 % та 81,38 %, у траві – 67,86 % та 68,80 % відповідно.

У результаті вивчення мінерального складу у досліджуваній сировині виявлено та кількісно визначено по 19 елементів. Вміст важких металів у траві, коренеплодах і плодах пастернаку посівного обох сортів відповідав вимогам ДФУ для лікарської рослинної сировини. Калій, кальцій та магній накопичувалися у найбільшій кількості у сировині, що досліджувалася.

Проведеними експериментальними дослідженнями встановлено, що сировина пастернаку посівного сортів Петрик і Белас мала майже однаковий якісний склад БАР та їх кількісний вміст, тому для подальшої стандартизації сировини брали суміш досліджуваних сортів.

Визначено показники якості сировини відповідно до вимог ДФУ: втрату в масі при висушуванні, золу загальну, а також екстрактивні речовини.

Досліджено анатомічну будову та визначено діагностичні ознаки трави, коренеплодів та плодів пастернаку посівного.

Запропоновано критерії стандартизації трави: макро- та мікроскопічні ознаки, ідентифікація методом ТШХ хлорогенової кислоти і гіперозиду, втрата в масі при висушуванні (не більше 13,0 %), загальна зола (не більше 8,0 %), вміст поліфенольних сполук (не менше 2,5 %); коренеплодів: макро- та мікроскопічні ознаки, виявлення полісахаридів, втрата в масі при висушуванні (не більше 17,0 %), загальна зола (не більше 9,0 %), вміст полісахаридів (не менше 15,0 %); плодів: макро- та мікроскопічні ознаки, ідентифікація методом ТШХ міристицину та кумаринів, втрата в масі при висушуванні (не більше 10,0 %), загальна зола (не більше 7,0 %), вміст ефірної олії (не менше 20 мл/кг) та кумаринів (не менше 1,0 %).

Одержано пастернаку посівного трави екстракт густий методом трикратної дробної мацерації екстракцією 70 % етанолом у співвідношенні сировини до екстрагенту 1:5.

У екстракті методом ТШХ ідентифіковано гіперозид, рутин, кверцетин, хлорогенову, неохлорогенову та кофейну кислоти.

Визначено кількісний вміст поліфенольних сполук, гідроксикоричних кислот і флавоноїдів, який склав  $10,05 \pm 0,30$  %,  $4,95 \pm 0,10$  % і  $2,02 \pm 0,06$  % відповідно.

Вивчено амінокислотний склад екстракту на амінокислотному аналізаторі. Загальний вміст амінокислот після гідролізу склав 9,38 г / 100 г, у найбільшій кількості визначено глютамінову кислоту (2,11 г / 100 г), пролін (1,99 г / 100 г) та аспарагінову кислоту (1,36 г / 100 г).

Визначено вміст важких металів у одержаному екстракті та встановлено, що він не перевищував зазначені норми.

Запропоновані параметри стандартизації пастернаку посівного трави екстракту густого: опис, ідентифікація методом ТШХ хлорогенової кислоти і гіперозиду, втрата в масі при висушуванні (не більше 25,0 %), вміст поліфенольних сполук (не менше 8,0 %).

Фармакологічними дослідженнями визначено гостру токсичність (клас практично нешкідливі речовини (за токсикологічною класифікацією речовин К. К. Сидорова), ранозагоювальну та протизапальну активність пастернаку посівного трави екстракту густого.

Новизна роботи полягає у такому: уперше проведено комплексне порівняльне фармакогностичне дослідження трави, коренеплодів та плодів пастернаку посівного сортів Петрик і Белас.

У досліджуваній сировині вивчено фенольні сполуки, амінокислоти, органічні кислоти, полісахариди, леткі та стероїдні сполуки, жирні кислоти, хлорофіли, каротиноїди, мінеральні елементи.

Уперше для трави та плодів пастернаку посівного визначено антиоксидантну активність методом DPPH.

Проведено визначення анатомічних діагностичних ознак трави, коренеплодів та плодів пастернаку посівного досліджуваних сортів. Стандартизовано відповідно до вимог ДФУ траву, коренеплоди та плоди пастернаку посівного.

Уперше одержано пастернаку посівного трави екстракт густий та запропоновано параметри його стандартизації.

Для пастернаку посівного трави екстракту густого визначено гостру токсичність, репаративну та протизапальну активність.

Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель «Протизапальний засіб на основі пастернаку посівного».

На підставі проведених досліджень розроблено проекти МКЯ «Пастернаку посівного трава», «Пастернаку посівного коренеплоди», «Пастернаку посівного плоди» та «Пастернаку посівного трави екстракт густий».

Результати фітохімічного вивчення пастернаку посівного впроваджено у науково-дослідну роботу споріднених закладів вищої освіти України.

*Ключові слова:* пастернак посівний, фармакогностичне дослідження, трава, коренеплоди, плоди, ранозагоювальна активність, протизапальна активність.

#### *Список публікацій здобувача*

1. Шиморова Ю. Є., Кисличенко В. С., Кузнецова В. Ю. Вивчення жирнокислотного складу коренеплодів *Pastinaca sativa* L. *Фітомеранія. Часопис*. 2017. Вип.1. С. 46–49 (Особистий внесок – брала участь в обробці результатів, написанні статті).

2. Шиморова Ю. Є., Кисличенко В. С., Кузнецова В. Ю. Мінеральний склад коренеплодів та плодів пастернаку посівного (*Pastinaca sativa* L.). *Медична та клінічна хімія*. 2017. Т. 19, № 2. С. 101–104 (Особистий внесок – брала участь в обробці результатів, підготовці статті).

3. Шиморова Ю. Є., Кисличенко В. С., Кузнецова В. Ю., Сущук Н. А. Дослідження леткої фракції коренеплодів пастернаку посівного (*Pastinaca sativa* L.). *Фітотерапія. Часопис*. 2017. № 4. С. 34–37 (Особистий внесок – брала участь в обробці результатів, написанні статті).

4. Kuznietsova V. Yu., Shimorova Y. E., Boyko N. N., Pisarev D. I., Zhilyakova E. T., Novikov O. O. HPLC analysis of hydro-ethanolic extracts from *Pastinaca sativa* L. fruits. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2017. Vol. 8 (6). P. 705–712 (Особистий внесок – брала участь у підготовці зразків сировини, обробці результатів, написанні статті).

5. Бойко Н. Н., Писарев Д. И., Жилякова Е. Т., Новиков О. О., Кузнецова В. Ю., Шиморова Ю. Е. Изучение фармакогностических и технологических параметров плодов *Pastinaca sativa* L. *Вестник фармации*. 2017. №3 (77). С. 58–62 (Особистий внесок – брала участь в узагальненні одержаних результатів, написанні статті).

6. Шиморова Ю. Е., Кисличенко В. С., Горячая Л. Н. Изучение аминокислотного состава пастернака посевного (*Pastinaca sativa* L.). *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 38. С. 42–45 (Особистий внесок – брала участь у підготовці зразків сировини, обробці результатів, написанні статті).

7. Шиморова Ю. Є., Кисличенко В. С. Протизапальний засіб на основі пастернаку посівного: пат. 139957 України: МПК А61К 9/08, А61К 36/00, А61Р 29/00. № u201910054 ; заявл. 27.09.2019 ; опубл. 27.01.2020. Бюл. № 2/2020 (Особистий внесок – брала участь у патентному пошуку, одержанні лікарського рослинного засобу, оформленні патенту).

8. Шиморова Ю. Е., Кисличенко В. С., Кузнецова В. Ю. *Pastinaca sativa* – перспективы фитохимического изучения и использования в медицине. *Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации*: материалы республиканской научно-практической конференции с международным участием, г. Ташкент, 17-18 ноября 2016 г. Ташкент, 2016. С. 121–122.

9. Шиморова Ю. Е., Кисличенко В. С., Кузнецова В. Ю. Исследование фитостеролов корнеплодов пастернака посевного (*Pastinaca sativa* L.). *Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 69-й итоговой научн.-практич. конф. студентов и молодых ученых*, г. Витебск, 19-20 апреля 2017 г. Витебск: ВГМУ, 2017. С. 700–702.

10. Шиморова Ю. Е., Кисличенко В. С., Кузнецова В. Ю. Изучение гидроксикоричных кислот корнеплодов *Pastinaca sativa* L. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2017: сборник тезисов докладов LXXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых*, г. Минск, 17-19 апреля 2017 г. Минск: БГМУ, 2017. С. 1566.

11. Шиморова Ю. Е., Кисличенко В. С., Кузнецова В. Ю. Изучение органических кислот корнеплодов *Pastinaca sativa* L. *Підготовка спеціалістів фармації в рамках концепції «Навчання протягом життя (Life Long Learning)»: наука, освіта, практика: матеріали I наук.-практ. інтернет-конференції з міжнар. участю*, м. Харків, 16-17 травня 2017 р. Х. : НФаУ, 2017. С. 290.

12. Шиморова Ю. Є., Кисличенко В. С., Горяча Л. М. Визначення вмісту екстрактивних речовин в траві пастернаку посівного. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: матеріали I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф.*, м. Харків, 5 квітня 2018 р. Х. : НФаУ, 2018. С. 144.

13. Шиморова Ю. Є., Кисличенко В. С., Горяча Л. М. Визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у сировині пастернаку посівного. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій: тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. уч., присвяч. 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича*, м. Харків, 12-13 квітня 2018 р. Х., 2018. С. 311.

14. Шиморова Ю. Є., Кисличенко В. С., Горяча Л. М. Визначення вмісту екстрактивних речовин в коренеплодах пастернаку посівного (*Pastinaca sativa* L.). *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку*: матеріали ІІ наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. уч., м. Харків, 27 квітня 2018 р. Х., 2018. С. 184.

15. Шиморова Ю. Є., Кисличенко В. С., Горяча Л. М. Визначення кількісного вмісту полісахаридів у сировині пастернаку посівного. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. уч., м. Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р. Тернопіль: «Укрмедкнига», 2018. С. 55–56.

16. Шиморова Ю. Є., Кисличенко В. С., Горяча Л. М. Дослідження каротиноїдів у пастернаку посівного траві. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція*: тези доповідей ІІІ Наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. уч., м. Харків, 18 жовтня 2018 р. Х. : НФаУ, 2018. С. 267.

17. Shimorova Y. E., Kyslychenko V. S., Horiacha L. M. The study of chlorophylls in *Pastinaca sativa* L. «*Science and practice 2018*»: 9th International Pharmaceutical Conference, Kaunas, 9 November 2018. Kaunas, 2018. P. 96.

18. Шиморова Ю. Є., Кисличенко В. С., Горяча Л. М. Результати визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у пастернаку посівного траві екстракті густому. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали ІІ Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 11 березня 2020 р. Х. : НФаУ, 2020. С. 197.