

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Олефіренко Анна Олександрівна

УДК: 582.936.2:615.322:615.451.1:54.061/.062:615.281.9

ДИСЕРТАЦІЯ

**Фармакогностичне вивчення трави лізіантусу Рассела
(*Lisianthus russellianus* Hook.)**

226 – Фармація, промислова фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

А. О. Олефіренко

Науковий керівник Кисличенко Вікторія Сергіївна, доктор фармацевтичних наук,
професор

Харків – 2025

АНОТАЦІЯ

Олефіренко А. О. Фармакогностичне вивчення трави лізіантусу Рассела (*Lisianthus russellianus* Hook.). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» (22 – Охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2025.

Дисертаційна робота присвячена комплексному порівняльному фармакогностичному вивченню трави, стебел, листя, квіток лізіантусу Рассела трьох сортів (Alissa 2 White, Borealis Apricot та Mariachi 2 Blue), одержанню лікарського засобу, вивченню його хімічного складу, а також розробці параметрів стандартизації лікарської рослинної сировини та лікарського рослинного засобу.

Хімічними реакціями, хроматографією на папері (ПХ), у тонкому шарі сорбенту (ТШХ), вивчено склад біологічно активних речовин (БАР) трави, стебел, листя, квіток лізіантусу Рассела трьох сортів (Alissa 2 White, Borealis Apricot та Mariachi 2 Blue). У результаті проведеного аналізу у досліджуваній сировині виявлені амінокислоти (гліцин, аланін, треонін, лейцин, ізолейцин, валін, серин, аспарагінова кислота, лізин, тирозин, фенілаланін та пролін), полісахариди (арабіноза, галактоза, глюкоза, маноза та рамноза), органічні кислоти (аскорбінова, яблучна та бурштинова), гідроксикоричні кислоти (кофейна, хлорогенова та *n*-кумарова), флавоноїди (рутин, кемпферол і кверцетин), антоціани (дельфінідин-3-О-глікозид, ціанідин-3-О-глікозид, ціанідин-3,5-диглікозид та мальвідин-3-О-глікозид), поліфенольні сполуки (галова кислота), іридоїди (генціопікрозид та сверціамарин), стероїдні сполуки (β -ситостерин), сапоніни (урсолова кислота), хлорофіли та каротиноїди (β -каротин, зеаксантин та лютеїн).

Спектрофотометричним, титриметричним і гравіметричним методами у траві, стеблах, листях та квітках лізіантусу Рассела визначено вміст БАР. Переважаючий вміст амінокислот спостерігався у траві лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($3,92 \pm 0,14$ %). Для стебел, листя та квіток лізіантусу Рассела досліджуваних сортів спостерігалася така закономірність накопичення

амінокислот: стебла>листя>квітки. Встановлено, що переважаючий вміст полісахаридів спостерігався у траві лізіантусу Рассела сорту Mariachi 2 Blue ($9,13 \pm 0,44$ %). Для стебел, листя та квіток лізіантусу Рассела досліджуваних сортів полісахариди накопичувались у наступній послідовності: листя>квітки>стебла. Вміст суми органічних кислот переважав у траві лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($4,42 \pm 0,25$ %). Для стебел, листя та квіток лізіантусу Рассела спостерігалася така закономірність накопичення органічних кислот: листя>стебла>квітки. Кількісно аскорбінова кислота переважала у траві лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($62,71 \pm 3,12$ мг/100 г). Розподіл вмісту аскорбінової кислоти за органами рослини підпорядковувався такій самій закономірності як і при визначенні органічних кислот: листя>стебла>квітки. Максимальний вміст гідроксикоричних кислот спостерігався у траві лізіантусу Рассела сорту Mariachi 2 Blue ($0,83 \pm 0,04$ %). Для досліджуваних сортів розподіл вмісту гідроксикоричних кислот за органами рослини був однаковий та підпорядковувався такій послідовності: листя>квітки>стебла. Домінуючий вміст флавоноїдів визначений у траві лізіантусу Рассела сорту Mariachi 2 Blue ($1,76 \pm 0,01$ %). Для досліджуваних сортів розподіл вмісту флавоноїдів за органами рослини був однаковий та підпорядковувався такій закономірності: квітки>листя>стебла. Вміст антоціанів у досліджуваній сировині лізіантусу Рассела підпорядковувався наступній залежності: квітки>трава>листя>стебла. Переважаючий вміст антоціанів спостерігався у квітках лізіантусу Рассела сорту Mariachi 2 Blue ($8,63 \pm 0,41$ %). У квітках вміст антоціанів був у 1,28-1,67 рази вищий, ніж у траві та у 3,25-5,29 рази більший, ніж у листях. Для досліджуваної сировини рослини була відмічена така послідовність накопичення антоціанів: сорт Mariachi 2 Blue>сорт Borealis Apricot>сорт Alissa 2 White. Максимальний вміст танінів визначений у траві лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($3,69 \pm 0,18$ %). Для сортів Alissa 2 White та Mariachi 2 Blue розподіл вмісту танінів за органами рослини був однаковий та підпорядковувався такій закономірності: листя>квітки>стебла, для сорту Borealis Apricot – квітки>листя>стебла. Домінуючий вміст іридоїдів спостерігався у траві лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($2,71 \pm 0,22$ %). Для досліджуваних сортів розподіл вмісту іридоїдів

за органами рослини був однаковий та підпорядковувався такій послідовності: листя>квітки>стебла. Переважаючий вихід ефірної олії спостерігався у квітках лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($0,61 \pm 0,03$ %). Вміст ефірної олії у траві лізіантусу Рассела досліджуваних сортів був у майже двічі нижчий за квітки та підпорядковувався такій закономірності: сорт Borealis Apricot>сорт Alissa 2 White>сорт Mariachi 2 Blue. Для досліджуваних сортів лізіантусу Рассела розподіл вмісту тритерпенових сапонінів за органами рослини був однаковий та підпорядковувався такій послідовності: листя>трава>квітки>стебла. Максимальний вміст тритерпенових сапонінів у листях лізіантусу Рассела визначений у сорті Borealis Apricot ($1,12 \pm 0,05$ %). У всіх видах досліджуваної сировини за кількістю переважав хлорофіл а, вміст хлорофілу b та каротиноїдів був у двічі нижчий. Для досліджуваних сортів лізіантусу Рассела розподіл вмісту рослинних пігментів за органами рослини підпорядковувався такій закономірності: листя>трава>квітки~стебла.

Мінеральний склад трави, стебел, листя, квіток лізіантусу Рассела вивчали методом ААС. У сировині лізіантусу Рассела ідентифіковано та визначено вміст 19 мінеральних сполук – 6 макро-, 13 мікроелементів. За вмістом у траві лізіантусу Рассела досліджуваних сортів переважали калій, натрій, магній, кальцій, ферум, манган, цинк та алюміній. Для лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot розподіл вмісту мінеральних сполук за органами рослини підпорядковувався такій послідовності: стебла>листя>квітки. За вмістом у всіх органах переважав калій, у стеблах та листях – натрій. 3-поміж мікроелементів переважаючим у листях та квітках був ферум, у стеблах домінував алюміній. Вміст важких металів в усіх досліджуваних зразках сировини лізіантусу Рассела відповідав вимогам ДФУ 2.0 і не перевищував гранично допустимої концентрації для ЛРС.

Методом ВЕРХ у траві, стеблах, листях та квітках лізіантусу Рассела було ідентифіковано 18 амінокислот, з яких 7 було віднесено до незамінних. Найбільший вміст суми амінокислот було визначено у траві лізіантусу Рассела сорту Mariachi 2 Blue ($206,16 \pm 10,31$ мг%). В усіх досліджуваних сортах переважали за вмістом глютамінова та аспарагінова кислоти, лейцин, аланін, гліцин та пролін. Найбільший

вміст суми амінокислот було визначено у листях лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot (81,9 мг%), дещо менше – у квітках (66,69 мг%), а найменший вміст спостерігався у стеблах (36,27 мг%). В усіх досліджуваних органах переважали за вмістом глутамінова та аспарагінова кислоти, аланін, пролін, лейцин; у міnorній кількості містилися ГАМК, метіонін та цистин.

Методом ГХ/МС досліджено жирнокислотний склад трави, стебел, листя та квіток лізіантусу Рассела. У досліджуваній сировині ідентифіковано по 12 вільних жирних кислот – 6 насичених та 5 ненасичених. Встановлено, що у траві рослини досліджуваних сортів та листях сорту Borealis Apricot кількісно переважали насичені жирні кислоти. Найбільшу концентрацію у траві лізіантусу Рассела мали пальмітинова, лігноцеринова, лінолева, олеїнова, ліноленова та пальмітолеїнова кислоти. Стебла, листя та квітки лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot мали такий самий профіль жирних кислот як і трава рослини. Найбільшу концентрацію мали пальмітинова, лінолева, олеїнова та ліноленова кислоти.

Полісахаридний профіль трави лізіантусу Рассела досліджуваних сортів визначали методом ГХ/МС. Встановлено, що полісахаридний профіль трави лізіантусу Рассела досліджуваних сортів однорідний та складається із 7 сполук: 4 вільних цукрів та 5 цукрів після гідролізу. З-поміж вільних цукрів ідентифіковано манозу, глюкозу, фруктозу та сахарозу, з-поміж цукрів після кислотного гідролізу встановлено наявність рамнози, арабінози, манози, глюкози та галактози. За кількісним вмістом ідентифіковані сполуки варіювали незначно. У досліджуваній сировині домінувала глюкоза, яка утворилася після кислотного гідролізу, дещо менше її містилося у вільному стані. Мажоритарний її вміст спостерігався у траві лізіантусу сорту Borealis Apricot (27,36 мг/г та 14,89 мг/г відповідно).

Методом ВЕРХ встановлено, що трава лізіантусу Рассела досліджуваних сортів має однаковий профіль фенольних сполук, який розрізнявся тільки кількісно. Ідентифіковано 11 фенольних кислот та 9 флавоноїдів. У мажоритарних кількостях містилися хлорогенова та неохлорогенова кислоти, рутин та кверцетин.

Хімічний профіль летких сполук у квітках лізіантусу Рассела досліджуваних сортів аналізували методом ГХ/МС. У сорті Alissa 2 White ідентифіковано 18 сполук,

у сорті Borealis Apricot – 22 та у сорті Mariachi 2 Blue – 18. Кількісний вміст цих речовин переважав у квітках рослини сорту Borealis Apricot (466,32 мкг/г). У всіх досліджуваних сортах містилися 1-октен-3-ол, 3,7-диметил-1,6-октадієн-3-ол, β -метилбензенпропанол, (Z)-3-метил-2-(2-пентенил)-2-циклопентен-1-он, копаєн, (E)-1-(2,6,6-триметил-1,3-циклогексадієн-1-іл)-2-бутен-1-он, β -каріофілен, [s-E,E]-1-метил-5-метилен-8-(1-метилетил)-1,6-циклодекадієн, α -каріофілен, каріофілен оксид, α -кадінол, 6,10,14-триметил-2-пентадеканон. За вмістом домінували каріофілен оксид, 3,7-диметил-1,6-октадієн-3-ол, α - та β -каріофілен.

За результатами якісного та кількісного аналізу БАР було встановлено, що вміст аміно-, органічних та аскорбінової кислот, фенольних сполук та ефірної олії незначно переважав у сировині лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot. Тому, зважаючи на достатню сировинну базу, за перспективну сировину для створення нових лікарських засобів було обрано траву лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot або можна використовувати суміш досліджуваних сортів (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue) у співвідношенні 1:1:1.

Досліджено морфолого-анатомічну будову трави лізіантусу Рассела трьох сортів. Встановлено, що досліджувані сорти відрізняються тільки за морфологічними ознаками, відмінності анатомічної будови спостерігались лише у розмірі клітин епідерми листкової пластинки та стебла.

Для сировини лізіантусу Рассела визначено показники якості за вимогами ДФУ, вміст екстрактивних речовин при екстракції водою, етанолом різної концентрації, технологічні параметри та ряд факторів, які впливають на процес екстрагування (вид екстрагенту, співвідношення сировина – екстрагент, час екстрагування, ступінь подрібнення сировини тощо). Встановлено, що найкращим екстрагентом, який вилучав максимальну кількість екстрактивних речовин, був 70 % етанол.

З трави лізіантусу Рассела одержано густий екстракт, досліджено його якісний склад та визначено вміст БАР. Методом ААС у досліджуваному екстракті визначено вміст макро- та мікроелементів. Вміст важких металів знаходився у межах допустимої норми за вимогами ДФУ для лікарських рослинних екстрактів. У мажоритарних кількостях у досліджуваному екстракті містились калій, магній,

натрій, манган та цинк. Методом ВЕРХ визначено вміст амінокислот. У максимальних кількостях містилися лізин та глютамінова кислота. Методом ВЕРХ у одержаному екстракті ідентифіковано 8 вільних жирних кислот. Найбільшу концентрацію мали лінолева, бегенова та пальмітинова кислоти. Методом ПХ та ТШХ у досліджуваному екстракті було виявлено 3 гідроксикоричних кислоти (хлорогенову, кофейну та *n*-кумарову) і 3 флавоноїди (рутин, кемпферол та гіперозид). Методом абсорбційної спектрофотометрії у густому екстракті визначено вміст суми гідроксикоричних кислот (1,58 %), флавоноїдів (2,51 %) та танінів (1,42 %). Методом ВЕРХ у досліджуваному екстракті ідентифіковано 3 гідроксикоричні кислоти (хлорогенову, кофейну та неохлорогенову) та 2 флавоноїди (рутин та гіперозид). За вмістом переважали хлорогенова та кофейна кислоти, вміст флавоноїдів був дещо нижчий.

Для густого екстракту з трави лізіантусу Рассела вивчено гостру токсичність та фармакологічну активність. Встановлено, що за класифікацією К. К. Сидорова одержаний густий екстракт відноситься до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини). Методом «колодязів» та дисків встановлено, що він проявляє помірну антимікробну активність відносно усіх еталонних тест-штамів та декількох клінічних.

На підставі одержаних експериментальних даних, розроблено проєкти МКЯ «Лізіантусу Рассела трава» та «Лізіантусу Рассела трави екстракт густий». Запропоновано стандартизувати траву лізіантусу Рассела за морфолого-анатомічними діагностичними ознаками, показниками якості сировини, якісним складом фенольних сполук, кількісним вмістом гідроксикоричних кислот (не менше 0,6 %) та флавоноїдів (не менше 1,6 %). Густий екстракт з трави лізіантусу Рассела пропонується стандартизувати за якісним складом фенольних сполук та кількісним вмістом флавоноїдів (не менше 2,4 %).

Результати фармакогностичного дослідження лізіантусу Рассела впроваджено в науково-дослідну роботу споріднених кафедр закладів вищої освіти України.

Ключові слова: лізіантус Рассела, лікарська рослинна сировина, якісний аналіз, кількісне визначення, стандартизація, густий екстракт, антимікробна активність.

Список публікацій здобувача

1. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Морфолого-анатомічне дослідження трави лізіантусу Рассела. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2023. № 4. 50–56. DOI: 10.5281/zenodo.10257140 (*Особистий внесок* – проведено аналіз літературних джерел, участь у плануванні та проведенні експерименту, аналізі результатів дослідження та оформленні статті; Кисличенко В. С. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в узагальненні результатів дослідження, формулюванні висновків).
2. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Мінеральний склад лізіантусу Рассела трави та густого екстракту з неї, дослідження антимікробної активності. *Медична та клінічна хімія*. 2024. № (1). С. 74–80. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2024.i1.14599 (*Особистий внесок* – проведено аналіз літературних джерел, участь у обговоренні, узагальненні результатів дослідження та оформленні статті; Кисличенко В. С. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в узагальненні результатів дослідження, формулюванні висновків).
3. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Дослідження амінокислот стебел, листя та квіток лізіантусу Рассела. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2024. №1. С. 54–58. DOI: 10.5281/zenodo.10838856 (*Особистий внесок* – проведено аналіз літературних джерел, участь у обговоренні, узагальненні результатів дослідження та оформленні статті; Кисличенко В. С. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в узагальненні результатів дослідження, формулюванні висновків).
4. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Вивчення амінокислот трави лізіантусу Рассела. *Безперервний професійний розвиток фармацевтичних працівників: сучасний стан, проблеми та перспективи*: матеріали науково-практичної

- конференції з міжнародною участю, присвяченої 30-річчю заснування Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету (м. Харків, 1-2 листопада 2023 р.). Х. 2023. С.355-356.
5. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Фітохімічне вивчення трави лізіантусу Рассела. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології* : збірник наукових матеріалів III Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала, (м. Харків, 24 листопада 2023 р.). Х. 2023. С. 393-394.
 6. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Дослідження флавоноїдів лізіантусу Рассела. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали VI Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції (м. Харків, 12 квітня 2024 р.). Х.: НФаУ, 2024. С. 138.
 7. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С., Гончаров О. В. Дослідження фотосинтезуючих пігментів трави лізіантусу Рассела. *«Комплементарна/народна медицина, освіта, культура: від традиційних практик до клінічного дослідження»*, яка приурочена до 20-річчя асоціації і 22-річчя фахового науково-практичного видання – «Фітотерапія. Часопис»: матеріали наукової конференції з міжнародною участю (м. Київ, 13-14 червня 2024 р.). Київ, 2024. С. 209.
 8. Olefirenko A., Kyslychenko V., Iosypenko O. Study of the hydroxycinnamic acids of Russell's lisianthus herb. *Agrobiodiversity for improving the nutrition, health, quality of people life and nature: Book of Abstracts of the 6th International Scientific Conference* (Nitra, Poland, September 8th, 2024). Nitra: Slovak University of Agriculture in Nitra, 2024. P. 94.
 9. Олефіренко А., Кисличенко В., Іосипенко О. Визначення технологічних параметрів трави лізіантусу Рассела та одержання густого екстракту з неї. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення*

лікарських препаратів: матеріали X науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті завідувача кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків, доктора фармацевтичних наук, професора Тараса Андрійовича Грошового (м. Тернопіль, 17-18 жовтня 2024 р.). Тернопіль : ТНМУ, 2024. С. 83.

10. Олєфіренко А. О., Кисличенко В. С., Іосипенко О. О. Гостра токсичність та дослідження фенольних сполук густого екстракту з трави лізіантусу Рассела. *Science, technology and society: challenges and prospects for development in the modern world: proceedings of International scientific-practical conference* (Tampere, Finland, December 6, 2024). Tampere, Finland: Scholarly Publisher ICSSH, 2024. P. 71-72.

ANNOTATION

Olefirenko A. O. Pharmacognostic study of Russell's lisianthus (*Lisianthus russellianus* Hook.) herb. – Qualification scientific work on the rights of manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 226 «Pharmacy, Industrial Pharmacy» (22 – Health Care) – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2025.

The dissertation is devoted to a comprehensive comparative pharmacognostic study of the herb, stems, leaves, flowers of Russell's lisianthus of three varieties (*Alissa 2 White*, *Borealis Apricot* and *Mariachi 2 Blue*), obtaining of herbal remedies on its basis as well as standardization of plant raw material and obtained herbal remedies.

Chemical reactions, paper chromatography, thin layer sorbent chromatography (TLC), were used to study the composition of biologically active substances (BAS) in the herb, stems, leaves, flowers of Russell's lisianthus of three varieties (*Alissa 2 White*, *Borealis Apricot* and *Mariachi 2 Blue*). The analysis revealed the following amino acids (glycine, alanine, threonine, leucine, isoleucine, valine, serine, aspartic acid, lysine, tyrosine, phenylalanine and proline), polysaccharides (arabinose, galactose, glucose, mannose and rhamnose), organic acids (ascorbic, malic and succinic), hydroxycinnamic

acids (caffeic, chlorogenic and *n*-coumaric acids), flavonoids (rutin, kaempferol and quercetin), anthocyanins (delphinidin-3-O-glycoside, cyanidin-3-O-glycoside, cyanidin-3,5-diglycoside and malvidin-3-O-glycoside), polyphenolic compounds (gallic acid), iridoids (gentiopicroside and swerciamarin), steroidal compounds (β -sitosterol), saponins (ursolic acid), chlorophylls and carotenoids (β -carotene, zeaxanthin and lutein).

Spectrophotometric, titrimetric and gravimetric methods were used to determine the content of BAS in herb, stems, leaves and flowers of Russell's lisianthus. The predominant content of amino acids was observed in Russell's lisianthus herb of the variety Borealis Apricot (3.92 ± 0.14 %). The following pattern of amino acid accumulation was observed for the stems, leaves and flowers of Russell's lisianthus of the studied varieties: stems>leaves>flowers. It was found that the predominant content of polysaccharides was observed in the herb of Russell's lisianthus of Mariachi 2 Blue variety (9.13 ± 0.44 %). For stems, leaves and flowers of Russell's lisianthus of the studied varieties, the following pattern of polysaccharides accumulation was observed: leaves>flowers>stems. It was found that the content of the sum of organic acids prevailed in the herb of Russell's lisianthus of Borealis Apricot variety (4.42 ± 0.25 %). For stems, leaves and flowers of Russell's lisianthus, the following pattern of accumulation of organic acids was observed: leaves>stems>flowers. Quantitatively, ascorbic acid prevailed in the herb of Russell's lisianthus of Borealis Apricot variety (62.71 ± 3.12 mg/100 g). The distribution of ascorbic acid content by plant organs followed the same pattern as in the determination of organic acids: leaves>stems>flowers. The predominant content of hydroxycinnamic acids was observed in the grass of Russell's lisianthus of Mariachi 2 Blue variety (0.83 ± 0.04 %). For the studied varieties, the distribution of hydroxycinnamic acids content by plant organs was the same and followed the following sequence: leaves>flowers>stems. The predominant content of flavonoids was observed in the herb of Russell's lisianthus of Mariachi 2 Blue variety (1.76 ± 0.01 %). For the studied varieties, the distribution of flavonoid content by plant organs was the same and followed the following sequence: flowers>leaves>stems. The content of anthocyanins in the studied raw materials of Russell's lisianthus was subject to the following dependence: flowers>herb>leaves>stems. The predominant content of anthocyanins was observed in

the flowers of Russell's lisianthus of Mariachi 2 Blue variety (8.63 ± 0.41 %). In flowers, the content of anthocyanins was 1.28-1.67 times higher than in herb and 3.25-5.29 times higher than in leaves. The following sequence of anthocyanin accumulation was observed for the studied plant raw materials: Mariachi 2 Blue > Borealis Apricot > Alissa 2 White. The predominant content of tannins was observed in Russell's lisianthus herb of Borealis Apricot variety (3.69 ± 0.18 %). For the varieties Alissa 2 White and Mariachi 2 Blue, the distribution of tannin content by plant organs was the same and followed the following sequence: leaves > flowers > stems, for the variety Borealis Apricot - flowers > leaves > stems. The predominant content of iridoids was observed in Russell's lisianthus herb of Borealis Apricot variety (2.71 ± 0.22 %). For the studied varieties, the distribution of iridoids content by plant organs was the same and followed the following sequence: leaves > flowers > stems. The predominant yield of essential oil was observed in the flowers of Russell's lisianthus of Borealis Apricot variety (0.61 ± 0.03 %). The content of essential oil in the herb of Russell's lisianthus of the studied varieties was almost twice lower than in the flowers and was subject to the following sequence: Borealis Apricot > Alissa 2 White > Mariachi 2 Blue. For the studied varieties of Russell's lisianthus, the distribution of triterpene saponins content by plant organs was the same and followed the following sequence: leaves > herb > flowers > stems. The predominant content of triterpene saponins in the leaves of Russell's lisianthus was observed in the variety Borealis Apricot (1.12 ± 0.05 %). In all types of the studied plant raw materials, chlorophyll a prevailed in quantity, while the content of chlorophyll b and carotenoids was twice lower. For the studied varieties of Russell's lisianthus, the distribution of plant pigments by plant organs was subject to the following sequence: leaves > grass > flowers > stems.

The mineral composition of the herb, stems, leaves, and flowers of Russell's lisianthus was studied by the atomic absorption spectrographic method. The content of 19 mineral compounds (6 macro- and 13 microelements) was identified and determined in the plant raw material of Russell's lisianthus. The content of potassium, sodium, magnesium, calcium, ferric, manganese, zinc and aluminum in Russell's lisianthus herb of the studied varieties was dominated by potassium, sodium, magnesium, calcium,

manganese, zinc and aluminum. For Russell's lisianthus of Borealis Apricot variety, the distribution of mineral compounds in plant organs was in the following sequence: stems>leaves>flowers. Potassium prevailed in all organs, sodium in stems and leaves. Among the trace elements, the predominant one in the leaves and flowers was ferrous, while aluminum dominated in the stems. The content of heavy metals in all the studied samples of Russell's lisianthus plant raw materials met the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine 2.0 and did not exceed the maximum permissible concentration for the plant raw material.

By HPLC method, 18 amino acids were identified in the herb, stems, leaves and flowers of Russell's lisianthus, of which 7 were classified as essential. The highest content of the sum of amino acids was determined in the herb of Russell's lisianthus of Mariachi 2 Blue variety (206.16 ± 10.31 mg%). In all the studied varieties, glutamic and aspartic acids, leucine, alanine, glycine and proline prevailed in the content. The highest content of the sum of amino acids was determined in the leaves of Russell's lisianthus of Borealis Apricot variety (81.9 mg%), slightly less - in flowers (66.69 mg%), and the lowest content was observed in stems (36.27 mg%). Glutamic and aspartic acids, alanine, proline, leucine prevailed in all the studied organs; γ -aminobutyric acid, methionine and cysteine were contained in minor amounts.

The fatty acid composition of the herb, stems, leaves and flowers of Russell's lisianthus was studied by GC/MS. In the studied raw materials, 12 free fatty acids were identified - 6 saturated and 5 unsaturated. It was found that saturated fatty acids quantitatively prevailed in the herb of the studied varieties and leaves of Borealis Apricot. Palmitic, lignoceric, linoleic, oleic, linolenic and palmitoleic acids had the highest concentration in Russell's lisianthus herb. The stems, leaves and flowers of Russell's lisianthus of Borealis Apricot variety had the same fatty acid profile as the plant herb. The highest concentrations were of palmitic, linoleic, oleic and linolenic acids.

The polysaccharide profile of Russell's lisianthus herb of the studied varieties was determined by GC/MS. It was determined that the polysaccharide profile of Russell's lisianthus herb of the studied varieties is homogeneous and consists of 7 compounds: 4 free sugars and 5 sugars after hydrolysis. Among the free sugars, mannose, glucose,

fructose, and sucrose were identified; among the sugars after acid hydrolysis, the presence of rhamnose, arabinose, mannose, glucose, and galactose was found. The quantitative content of the identified compounds varied slightly. In the studied plant raw materials, glucose, which was formed after acid hydrolysis, dominated, with a slightly lower amount in the free state. Its majority content was observed in the herb of Russell's lisianthus of Borealis Apricot variety (27.36 mg/g and 14.89 mg/g, respectively).

The HPLC analysis revealed that Russell's lisianthus herb of the studied varieties has the same profile of phenolic compounds, which differed only in quantity. We identified 11 phenolic acids and 9 flavonoids. Chlorogenic and neochlorogenic acid, rutin, and quercetin were found in the majority amounts.

The chemical profile of volatile compounds in the flowers of Russell's lisianthus of the studied cultivars was analyzed by GC/MS. 18 compounds were identified in the variety Alissa 2 White, in the variety Borealis Apricot - 22 and in the variety Mariachi 2 Blue - 18. The quantitative content of these substances prevailed in the flowers of Borealis Apricot variety (466.32 µg/g). All the studied varieties contained 1-octen-3-ol, 3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol, β-methylbenzene propanol, (Z)-3-methyl-2-(2-pentenyl)-2-cyclopenten-1-one, copaene, (E)-1-(2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-2-butene-1-one, β-caryophyllene, [s-E,E]-1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-1,6-cyclodecadien, α-caryophyllene, caryophyllene oxide, α-cadinol, 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone. Caryophyllene oxide, 3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol, α- and β-caryophyllene dominated in terms of content.

According to the results of qualitative and quantitative analysis of the biologically active compounds, it was found that the content of amino, organic acids as well as the ascorbic acid, phenolic compounds and essential oil slightly prevailed in the plant raw materials of Russell's lisianthus of Borealis Apricot variety. Therefore, given the sufficient raw material base, Russell's lisianthus herb of Borealis Apricot variety was chosen as a promising raw material for the creation of new drugs or a mixture of the studied varieties (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue) in a ratio of 1:1:1.

The morphological and anatomical structure of Russell's lisianthus herb of three varieties was studied. It was found that the studied varieties differ only in morphological

features, differences in anatomical structure were observed only in the size of epidermal cells of the leaf blade and stem.

For the Russell's lisianthus raw material, the quality indicators according to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine, the content of extractives during extraction with water, ethanol of different concentrations, technological parameters, and a number of factors affecting the extraction process (type of extractant, raw material - extractant ratio, extraction time, degree of grinding of raw materials, etc.) It was found that the best extractant, which extracted the maximum amount of extractive substances, was 70 % ethanol

A thick extract was obtained from Russell's lisianthus herb, its qualitative composition was investigated, and the content of bioactive substances was determined. The content of macro- and microelements in the studied extract was determined by the atomic absorption spectrographic method. The content of heavy metals was within the permissible limits according to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine for medicinal plant extracts. Potassium, magnesium, sodium, manganese, and zinc were found in the majority amounts in the studied extract. The amino acids content was determined by HPLC. The maximum amounts of lysine and glutamic acid were found. The HPLC technique was used to identify 8 free fatty acids in the obtained extract. Linoleic, behenic, and palmitic acids had the highest concentrations. By the method of paper chromatography and TLC, 3 hydroxycinnamic acids (chlorogenic, caffeic, and *n*-coumaric) and 3 flavonoids (rutin, kaempferol, and hyperoside) were found in the studied extract. The content of the sum of hydroxycinnamic acids (1.58 %), flavonoids (2.51 %) and tannins (1.42 %) was determined in the thick extract by absorption spectrophotometry. The HPLC analysis identified 3 hydroxycinnamic acids (chlorogenic, caffeic, and neochlorogenic) and 2 flavonoids (rutin and hyperoside) in the studied extract. Chlorogenic and caffeic acids prevailed in content, while the content of flavonoids was slightly lower.

Acute toxicity and pharmacological activity were studied for the thick extract from the herb of Russell's lisianthus. It was found that, according to the classification of K. K. Sidorov, the obtained thick extract belongs to the V class of toxicity (practically non-

toxic substances). The method of "wells" and disks showed that it exhibits moderate antimicrobial activity against all reference test strains and several clinical ones.

Based on the experimental data obtained, the drafts of the quality control methods "Russell's lisianthus herb" and "Russell's lisianthus herb extract thick" were developed. It is proposed to standardize Russell's lisianthus herb by morphological and anatomical diagnostic features, raw material quality indicators, qualitative composition of phenolic compounds, quantitative content of hydroxycinnamic acids (at least 0.6%) and flavonoids (at least 1.6%). It is proposed to standardize the thick extract from Russell's lisianthus herb by the qualitative composition of phenolic compounds and the quantitative content of flavonoids (at least 2.4 %).

The results of the pharmacognostic study of Russell's lisianthus have been implemented in the research work of related departments of higher education institutions of Ukraine.

Key words: Russell's lisianthus, *Lisianthus russellianus* Hook., medicinal plant material, qualitative analysis, quantitative determination, standardization, thick extract, antimicrobial activity.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	20
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ 1 ЛІЗІАНТУС РАССЕЛА: СУЧАСНИЙ СТАН НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕНЬ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	27
1.1 Систематика, ботанічна характеристика та поширення рослин роду Лізіантус.....	27
1.2 Хімічний склад рослин роду Еустома.....	31
1.3 Фармакологічна активність, застосування рослин роду Лізіантус у традиційній медицині та народному господарстві	44
Висновки до розділу 1	46
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ	48
2.1. Об'єкти дослідження, реактиви, методи і прилади	48
2.2 Методики дослідження якісного складу хімічними реакціями, методами ПХ та ТШХ.....	50
2.3 Методики дослідження кількісного вмісту БАР.....	53
2.3.1 Аналіз БАР методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії.....	53
2.3.2 Аналіз БАР методом ВЕРХ.....	53
2.3.3 Аналіз БАР методом ГХ та ГХ/МС	54
2.3.4 Аналіз БАР методом гравіметрії	54
2.3.5 Аналіз БАР методом алкаліметрії	54
2.3.6 Аналіз БАР методом абсорбційної спектрофотометрії	54
2.3.7 Аналіз БАР методом перегонки з водяною парою	55
2.4 Методики визначення показників якості та технологічних показників сировини.....	56
2.5 Методики вивчення гострої токсичності та антимікробної активності	56
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БАР У ТРАВІ ЛІЗІАНТУСУ РАССЕЛА	59
3.1 Вивчення мінеральних сполук.....	59

	18
3.2 Вивчення нітрогеновмісних сполук (амінокислот та алкалоїдів).....	64
3.3 Вивчення жирнокислотного складу	73
3.4 Вивчення вуглеводів	78
3.5 Вивчення органічних кислот	81
3.6 Вивчення фенольних сполук.....	84
3.6.1 Вивчення гідроксикоричних кислот	85
3.6.2 Вивчення флавоноїдів	86
3.6.3 Вивчення складу фенольних кислот та флавоноїдів методом ВЕРХ.....	88
3.6.4 Вивчення антоціанів	92
3.6.5 Вивчення поліфенольних сполук	95
3.7 Вивчення іридоїдів.....	96
3.8 Вивчення ефірної олії	98
3.9 Вивчення тритерпенових сапонінів та стероїдних сполук	103
3.10 Вивчення хлорофілів та каротиноїдів.....	105
Висновки до розділу 3	107
РОЗДІЛ 4 МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ТРАВИ	
ЛІЗІАНТУСУ РАССЕЛА ТА ЇЇ СТАНДАРТИЗАЦІЯ	110
4.1 Встановлення діагностичних морфологічних ознак трави лізіантусу Рассела	110
4.2 Встановлення діагностичних анатомічних ознак трави лізіантусу Рассела	114
4.3 Встановлення діагностичних ознак подрібненої трави лізіантусу Рассела	118
4.4 Визначення показників якості трави лізіантусу Рассела	118
4.5 Розробка проекту МКЯ «Лізіантусу Рассела трава»	119
Висновки до розділу 4	122
РОЗДІЛ 5 РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ОДЕРЖАННЯ, СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТА	
ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ	
ЛІЗІАНТУСУ РАССЕЛА	124

5.1 Розробка технології одержання густого екстракту з трави лізіантусу Рассела	124
5.1.1 Визначення технологічних параметрів трави лізіантусу Рассела.....	124
5.1.2 Встановлення параметрів екстракції БАР та одержання густого екстракту з трави лізіантусу Рассела	125
5.2 Фітохімічне вивчення густого екстракту з трави лізіантусу Рассела.....	128
5.3 Стандартизація густого екстракту з трави лізіантусу Рассела.....	136
5.4 Дослідження фармакологічної активності густого екстракту з трави лізіантусу Рассела	138
5.4.1 Дослідження гострої токсичності	138
5.4.2 Дослідження антимікробної активності	139
Висновки до розділу 5	141
ВИСНОВКИ.....	144
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	147
ДОДАТКИ.....	163

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ABTS – 2,2'-азино-біс-(3-етилбензотіазолін-6-сульфонова) кислота;
DPPH – 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразил;
FRAP – ферум-відновлююча антиоксидантна сила;
GACP – Good Agriculture and Collection Practice;
Rf – фактор утримування (Retention factors);
pH – водневий показник (*pondus Hydrogenii*);
UDP-глюкоза – уридиндифосфат-глюкоза;
ААС – атомно-абсорбційного спектрографічний метод;
АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт;
БАР – біологічно активні речовини;
ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;
ГАМК – γ -аміномасляна кислота;
ГХ – газова хроматографія;
ГХ/МС – газова хроматографія з мас-спектрометрією;
ДУ – Державна установа;
ДФУ – Державна фармакопея України;
кДНК – комплементарна дезоксирибонуклеїнова кислота;
ЛРС – лікарська рослинна сировина;
МКЯ – методи контролю якості;
МОЗ – Міністерство охорони здоров'я;
ПХ – хроматографія на папері;
ТШХ – тонкошарова хроматографія;
УФ- – ультрафіолетовий;
ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Невпинне зростання інтересу до лікарських засобів рослинного походження як до офіційних препаратів та дієтичних добавок привертає увагу науковців всього світу щодо розширення їх асортименту за рахунок застосування культивованих рослин. До переваг яких відносяться можливості реалізації вимог Належної практики культивування та збирання вихідної сировини рослинного походження (англ. Good Agriculture and Collection Practice, GACP) та передбачення обсягів заготівлі сировини, тобто прогнозованість та плановість вирощування лікарських рослин [123]. Сучасне квітникарство дозволяє вирощувати рослини, батьківщиною яких є країни, розташовані в усіх куточках земної кулі, що зумовлює різноманітний хімічний склад лікарської рослинної сировини та різнобічну фармакологічну активність. В Україні й сьогодні функціонують декілька сотень садових центрів, теплиць, які пропонують великий асортимент декоративних рослин вітчизняної та іноземної селекції, а також є велика частка індивідуальних підприємств. Ціла низка декоративних рослин мають сорти, що дає широкі можливості для вибору найкращих для створення на їх основі лікарських засобів [67]. Актуальність проблеми зумовлена ще й несприятливою екологічною обстановкою у традиційних місцях заготівлі лікарської рослинної сировини в Україні, зменшенням природних запасів та порушенням природних фітоценозів багатьох лікарських рослин [13, 16].

Рослини родини Тирличеві (*Gentianaceae* Juss.) є цінними лікарськими, медоносними, кормовими та фарбувальними рослинами, деякі з них застосовуються в лікєро-горілчаному виробництві. Багато видів характеризуються високими декоративними властивостями і використовуються для групових посадок в альпінаріях та по берегах штучних водойм. Деякі з них у своєму природному вигляді можуть використовуватися як декоративні рослини. До таких рослин належить лізіантус Рассела або еустома великоквіткова, яка останні десятиліття набула популярності як декоративна рослина у ландшафтному озелененні та

флористиці. Літературні дані свідчать про наявність у рослині ксантонів, секоїридоїдів та флавоноїдів, завдяки яким можуть проявлятися жовчогінна, протизапальна, діуретична, фунгіцидна та антивірусна активності. Однак недостатнє фармакогностичне та фармакологічне вивчення рослини ускладнює її практичне використання у офіційній медицині.

Тому комплексне порівняльне фітохімічне вивчення лізіантусу Рассела є важливим етапом для створення на основі досліджуваної сировини лікарських засобів.

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

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946).

Мета і завдання дослідження

Метою роботи було комплексне порівняльне фармакогностичне вивчення трави, стебел, листя, квіток лізіантусу Рассела трьох сортів (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue), одержання лікарських рослинних засобів, стандартизація сировини та одержаних рослинних засобів.

Для досягнення цієї мети були поставлені такі завдання:

- провести аналіз та узагальнити сучасні дані літератури з питань ботанічної характеристики, географічного розповсюдження, хімічного складу і застосування в медицині та інших галузях народного господарства рослин роду Лізіантус;
- провести вивчення хімічного складу трави, стебел, листя, квіток лізіантусу Рассела трьох сортів;
- визначити кількісний вміст основних груп БАР у траві, стеблах, листях, квітках лізіантусу Рассела досліджуваних сортів та на підставі результатів проведеного хімічного аналізу вибрати перспективну сировину для одержання лікарського рослинного засобу;

- встановити основні діагностичні морфолого-анатомічні ознаки вибраної сировини та визначити показники якості для її стандартизації;
- визначити технологічні параметри вибраної сировини, одержати лікарський рослинний засіб на її основі;
- вивчити якісний склад та визначити кількісний вміст основних груп БАР у одержаному лікарському засобі та провести його стандартизацію;
- провести вивчення гострої токсичності та антимікробної активності одержаного лікарського засобу;
- розробити проекти МКЯ на лікарську рослинну сировину та одержаний лікарський засіб.

Об'єкт дослідження – комплексне порівняльне фармакогностичне вивчення трави, стебел, листя, квіток лізіантусу Рассела трьох сортів, лікарських рослинних засобів, одержаних з досліджуваної сировини.

Предмет дослідження – ідентифікація, визначення кількісного вмісту БАР у траві, стеблах, листях, квітках лізіантусу Рассела трьох сортів, розробка технології отримання густого екстракту та його стандартизація, вивчення гострої токсичності та антимікробної активності одержаного засобу.

Методи дослідження

Якісний склад та кількісний вміст БАР у траві лізіантусу Рассела проводили фармакопейними методами за допомогою хімічних реакцій ідентифікації, ПХ, ТШХ, ГХ, ГХ/МС, ВЕРХ, атомно-абсорбційним, спектрофотометричним, гравіметричним, титриметричним методами та методом перегонки з водяною парою. Морфологічні ознаки досліджували за допомогою збільшувальної апаратури та вимірних засобів. Анатомічну будову сировини встановлювали на препаратах з поверхні, поперечних перерізах за допомогою світлового мікроскопу та фотокамери. Фармакологічні дослідження проводили *in vitro*. Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням критерію Ст'юдента та однофакторного дисперсійного аналізу за ДФУ 2.0.

Наукова новизна отриманих результатів

Уперше проведено комплексне порівняльне фітохімічне дослідження трави, стебел, листя, квіток лізіантусу Рассела трьох сортів (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue). Встановлено наявність та визначено вміст мінеральних речовин, аміно-, органічних та жирних кислот, вуглеводів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, антоціанів, танінів, ефірної олії, іридоїдів, тритерпенових сапонінів, хлорофілів і каротиноїдів.

Проведено морфолого-анатомічне вивчення трави лізіантусу Рассела та визначено її діагностичні ознаки.

Встановлено параметри технологічного процесу отримання густого екстракту з трави лізіантусу Рассела.

Уперше одержано густий екстракт з трави лізіантусу Рассела, проведено його фітохімічне дослідження, встановлено гостру токсичність та доведено антимікробну активність. Для нього запропоновано параметри стандартизації.

Практичне значення отриманих результатів

За результатами проведених фармакогностичних досліджень розроблено та запропоновано проекти МКЯ «Лізіантусу Рассела трава» та «Лізіантусу Рассела трави екстракт густий».

Результати вивчення лізіантусу Рассела впроваджено у науково-дослідну роботу: лабораторії та клінічного відділу молекулярної імунофармакології ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України»; кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України; кафедри фармації факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України; кафедри хімії та фармації Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя.

Особистий внесок здобувача

Безпосередньо автором:

- здійснено інформаційний пошук та узагальнено сучасні дані наукової літератури щодо ботанічного опису, поширення, хімічного складу та застосування рослин роду Лізіантус;
- вивчено хімічний склад і визначено кількісний вміст БАР трави, стебел, листя, квіток
- вивчено морфолого-анатомічну будову трави лізіантусу Рассела, визначено її основні діагностичні ознаки;
- визначено параметри стандартизації сировини;
- розроблено технологію отримання густого екстракту з трави лізіантусу Рассела, обрано основні параметри контролю якості та проведено його стандартизацію;
- встановлено гостру токсичність та антимікробну активність густого екстракту з трави лізіантусу Рассела.

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з проф. Кисличенко В. С., доц. Гончаровим О.В., Іосипенко О.О. Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок. Постановка мети та завдань, обговорення результатів проведені разом із науковим керівником.

Апробація матеріалів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 30-річчю заснування Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету «Безперервний професійний розвиток фармацевтичних працівників: сучасний стан, проблеми та перспективи» (м. Харків, 1-2 листопада 2023 р.); III Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала, «Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології» (м. Харків, 24 листопада 2023 р.); VI Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та

стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (м. Харків, 12 квітня 2024 р.); науковій конференції з міжнародною участю «Комплементарна/народна медицина, освіта, культура: від традиційних практик до клінічного дослідження», яка приурочена до 20-річчя асоціації і 22-річчя фахового науково-практичного видання – «Фітотерапія. Часопис» (м. Київ, 13-14 червня 2024 р.); 6th International Scientific Conference «Agrobiodiversity for improving the nutrition, health, quality of people life and nature» (Nitra, Poland, September 8th, 2024); X науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій пам'яті завідувача кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків, доктора фармацевтичних наук, професора Тараса Андрійовича Грошового, «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 17-18 жовтня 2024 р.); International scientific-practical conference «Science, technology and society: challenges and prospects for development in the modern world» (Tampere, Finland, December 6, 2024).

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 177 сторінках друкованого тексту, складається із анотації, вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 3 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 140 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 30 таблицями та 29 рисунками. Список використаних джерел нараховує 158 найменування, з них 68 кирилицею та 90 латиницею.

РОЗДІЛ 1

ЛІЗІАНТУС РАССЕЛА: СУЧАСНИЙ СТАН НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕНЬ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Систематика, ботанічна характеристика та поширення рослин роду Лізіантус

Рід Лізіантус (*Lisianthus* L.) або еустома (*Eustoma* Salisb.) родини Тирличеві (*Gentianaceae* Juss.) включає два види:

- еустома мала (*Eustoma exaltatum* (L.) Salisb. ex G. Don),
- лізіантус Рассела (*Lisianthus russellianus* Hook.) або еустома Рассела (*Eustoma russellianum* (Hook.) G. Don) або еустома великоквіткова (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinnars) [87, 108, 143, 146, 151-152].

Однак, вважається, що ці два види можуть представляти різні екотипи одного виду, оскільки вони «взаємоплідні та дають плідне потомство» [137, 155].

Мексиканський вид еустома Берклі (*Eustoma barkleyi* Standl. ex Shinnars) розглядається як форма еустома малої – *Eustoma exaltatum* f. *Barkleyi* (Standl. ex Shinnars) B.L. Turner, f. nov. [153, 155].

Назва роду *Eustoma* походить від грецьких префіксу εὖ- (*eu-*) – «добре» та στόμα (*stóma*) – «ріт», тобто «(має) приємний рот», а *Lisianthus* походить від грецьких λισσός (*lissós*) – «гіркий» та ἄνθος (*ánthos*) – «квітка», отже означає «гірка квітка» [137, 155]. Видова назва – на честь Олександра Рассела, англійського лікаря, письменника та ботаніка XVIII століття. Інші назви – тирлич прерій (*prairie gentian*), техаський дзвіночок (*Texas bluebell*), ірландська, французька або японська троянда, троянда кохання, тюльпановий тирлич (*tulip gentian*) і навіть тирлич (*gentian*) [71, 144, 155].

Перші згадки про рослину під назвою *Gentiana exaltata* L. зустрічаються у 1762 р. у другому виданні «*Species plantarum*» Карла Ліннея, назву *Eustoma exaltatum* (L.) Salisb. вона отримала у 1806 р. завдяки британському ботаніку Річарду Ентоні Солсбері, який описав цей вид у книзі «*The Paradisus Londinensis*»

[155]. Назву *Lisianthus russellianus* Hook. еustoma набула у 1838 р. (журнал «Botanical Magazine») і зберігала до 1981 р., пізніше більш поширеною стала назва *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinnars [143].

Рослини роду Лізіантус природньо поширені на півдні Сполучених Штатів від Небраски до Луїзіани, у Мексиці, на Панамському перешийку, низинах річки Колорадо, на деяких островах Карибського басейну, а також на півночі Південної Америки, де ростуть на сухому ґрунті в порушених місцях і в соснових лісах (рис. 1.1) [100, 143].



Рис. 1.1 Ареал природного поширення лізіантусу Рассела [100]

Це одно- або багаторічні трав'янисті рослини до 80 см заввишки із простими, супротивними, яйцеподібними або лінійно-ланцетними листками сизо-зеленого кольору. Квітки на довгих квітконіжках, розташовуються в пухких, монохазіальних суцвіттях. Чашечка глибоко розділена, 5-членна, частки прямі, голі. Віночок глибоко дзвоникоподібний, пелюстки великі, прямі, голі, від фіолетового до лавандового, від рожевого до білого забарвлення. Тичинок 5 або 6, на зіві віночка; пильовики стрілоподібні, лінійні, жовті. Маточка пряма, гола; рильця широко дволопатеві, їх верхня поверхня густо та дрібно залозисто-опушена. Коробочки еліпсоїдні, двостулкові, голі. Насіння дрібне, численне, сітчасте, більш-менш кулясте [143, 155].

Лізіантус Рассела – однорічна і/або багаторічна прямостояча трав'яниста рослина з розеткою прикореневих листків. У природному середовищі вважається

дворічною рослиною, у країнах з теплим кліматом при садовому вирощуванні – однорічна, в прохолодному кліматі у кімнатному садівництві – близько 4-5 років, для відкритого ґрунту термін його життя скорочується до декількох років [4-5]. На перший рік дає розетку, яка після вдалої зимівлі формує одне квітконосне стебло та зацвітає наступного літа. Корені сильно розгалужені, тонкі. Стебло 3,0-6,0 мм у діаметрі, 40,0-50,0 см завдовжки, сіруватого кольору, розгалужене від середини. Розеткові та стеблові листки сидячі, супротивні, цілісні, овальні, ланцетні або видовжені, з 3 жилками, 2,0-8,0 см завдовжки, загострені до верхівки, сірувато-зеленого кольору. Центральна жилка листка сильно виділена. Квітконоси розташовані в пазухах верхніх листків. Квітки на довгих черешках до 10,0 см завдовжки, поодинокі або у волотях, близько 25-35 шт. на одній рослині. Чашечка видовжена, глибоко 5–6-роздільна, з кілеподібними частками 15-20 мм завдовжки, загострена, зрощена біля основи. Віночок п'яти- або шестилопатевий, дзвонико- або блюдцеподібний, вузько- або широколікоподібний, фіолетовий. Форма верхнього краю пелюстки буває вдавнена, пласка, округла або гостра. Частки віночка здебільшого 2,5-5,0 см завдовжки, 20,0-30,0 мм завширшки; частки чашечки переважно 1,5-2,5 см завдовжки. У середині квітки розташовано 5-6 ниткоподібних тичинок до 2,0 см завдовжки, пильовики видовжені, прямостоячі [2, 41, 64, 71, 98, 108-111, 143, 155]. Зав'язь однокамерна, біля основи знаходиться нектароносний диск [46]. Плід – овальна або еліпсоїдна коробочка 10,0-15,0 мм завдовжки, тупа, з одним або двома клапанами на довгому черешку. Насіння дрібне, кулясте, 0,04 мм у діаметрі, ямчасте, у сухому вигляді темно-коричневе, чорне або бліде [2, 41, 64, 71, 98, 108-111, 141]. Цвіте з липня по вересень. Зрізані квіти лізіантусу можуть стояти у вазі 2-3 тижні. До однієї з особливостей вирощування лізіантусу є розмноження лише з насіння [64].

Роботи із селекції лізіантусу розпочались у 1935 р. в Японії, де наприкінці 1950-х років вже було створено близько 15 сортів з блакитними, рожевими та білими квітками. Але лише наприкінці 1980-х років рослина набула популярності у флористів світу. У процесі інтродукції лізіантусу в Європі та Японії шляхом гібридизації, схрещувань та/або мутацій були отримані рослини з білими,

червоними, абрикосовими або двоколірними квітками, карликові (з довжиною стебла 20,0-30,0 см) та високорослі (з довжиною стебла 60,0-90,0 см), з поодинокими або махровими квітками (з двома або трьома рядами пелюсток) [4-5, 116, 121, 141]. Двоколірні сорти мають наступне забарвлення пелюсток: пляма на верхівці, контрастна смужка по краю пелюстки, градієнт, краплини та смужка посередині [43, 116, 150]. Високорослі сорти призначені для присадибного квітництва, а також зрізування, карликові – для кімнатного квітництва [4-5].

Залежно від забарвлення віночка було виділено кілька форм (f.) культивованих рослин [98, 143, 144, 155]:

- f. *grandiflorum* (Standley) Shinnars – синьо-фіолетові квітки з темним центром,
- f. *fisheri* (Standley) Shinnars – білі квітки,
- f. *bicolor* (Standley) Shinnars – білі квітки з фіолетовими прожилками,
- f. *roseum* (Standley) Shinnars – рожеві квітки,
- f. *fiaviflorum* (Cockerell) Shinnars – жовті квітки.

Найвідомішими виробниками сортів лізіантусу Рассела є компанії Global Flowers, Sakata, Taki, PanAmerican Seed і Goldsmith [116, 141]. Одним із промислових виробників лізіантусу Рассела в Україні є компанія «Сервіс Флора» (м. Запоріжжя), у невеликих обсягах в індивідуальних підприємствах його вирощують в Київській, Миколаївській, Одеській та інших областях [4-5, 62].

Еустома мала – переважно багаторічна рослина, яка дає додаткові пагони кожен сезон. Відрізняється від лізіантусу Рассела переважно яйцеподібними або яйцеподібно-ланцетними листками 6,0-15,0 мм завширшки, 12,0-70,0 мм завдовжки. Забарвлення віночка зазвичай світліше, ніж у лізіантусу Рассела, і більш плавно змінюється, переходячи до білого. Часточки віночка здебільшого 1,5-3,0 см завдовжки, 5,0-15,0 мм завширшки; часточки чашечки здебільшого 1,0-1,5 см завдовжки [143, 155]. Цвіте у червні-листопаді. Поширена на півдні США, Мексики, Британського Гондурасу та Вест-Індії, росте у вологих преріях або низинах, у більш-менш лужному чи засоленому ґрунті [143, 155].

Еустома Берклі має переважно ланцетні листки 2,0-6,0 мм завширшки, 10,0-90,0 мм завдовжки [143, 155]. Поширена у Мексиці.

Зовнішній вигляд рослин роду Лізіантус представлено на рис. 1.2.



Еустома мала

Лізіантус Рассела

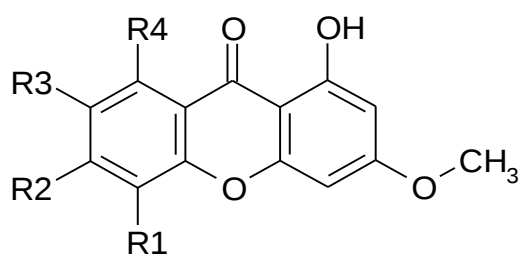
Еустома Берклі

Рис. 1.2 Зовнішній вигляд рослин роду Еустома

1.2 Хімічний склад рослин роду Еустома

Оскільки рослини роду Еустома поширилися світом порівняно недавно, їх хімічний склад поки вивчений недостатньо. Відомо, що рослина містить такі вторинні метаболіти, характерні для родини Тирличеві, як ксантони, секоїридоїди та флавоноїди [144].

З коренів лізіантусу Рассела, зібраних у Техасі, було виділено 6 похідних ксантону та встановлено структуру п'яти з них (рис. 1.3): 1-гідрокси-3,7-диметоксиксантон (рис. 1.3, I), 1-гідрокси-3,5-диметоксиксантон (рис. 1.3, II), 1-гідрокси-3,5,6,7-тетраметоксиксантон (рис. 1.3, III), 1-гідрокси-3,5,6,7,8-пентаметоксиксантон (еустомін) (рис. 1.3, IV) та 1-гідрокси-3,7,8-триметоксиксантон (рис. 1.3, V) [144, 149].



I $R1 = R2 = R4 = H, R3 = OCH_3$

II $R2 = R3 = R4 = H, R1 = OCH_3$

III $R1 = R2 = R3 = OCH_3, R4 = H$

IV $R1 = R2 = R3 = R4 = OCH_3$ (еустомін)

V $R1 = R2 = H, R3 = R4 = OCH_3$

Рис. 1.3 Структурні формули ксантонів, ідентифікованих у коренях лізіантусу Рассела

Окрім поширених у рослинах родини Тирличевих таких секоїридоїдних глікозидів як генціопікрозид, сверціамарин та сверозид, у надземній частині лізіантусу Рассела було ідентифіковано три нових: еustomозид, еustomорузид та еустозид (рис. 1.4) [70, 118, 130, 144, 156]. Еустозид містить у своїй молекулі хлор, що рідко зустрічається з-поміж іридоїдів.

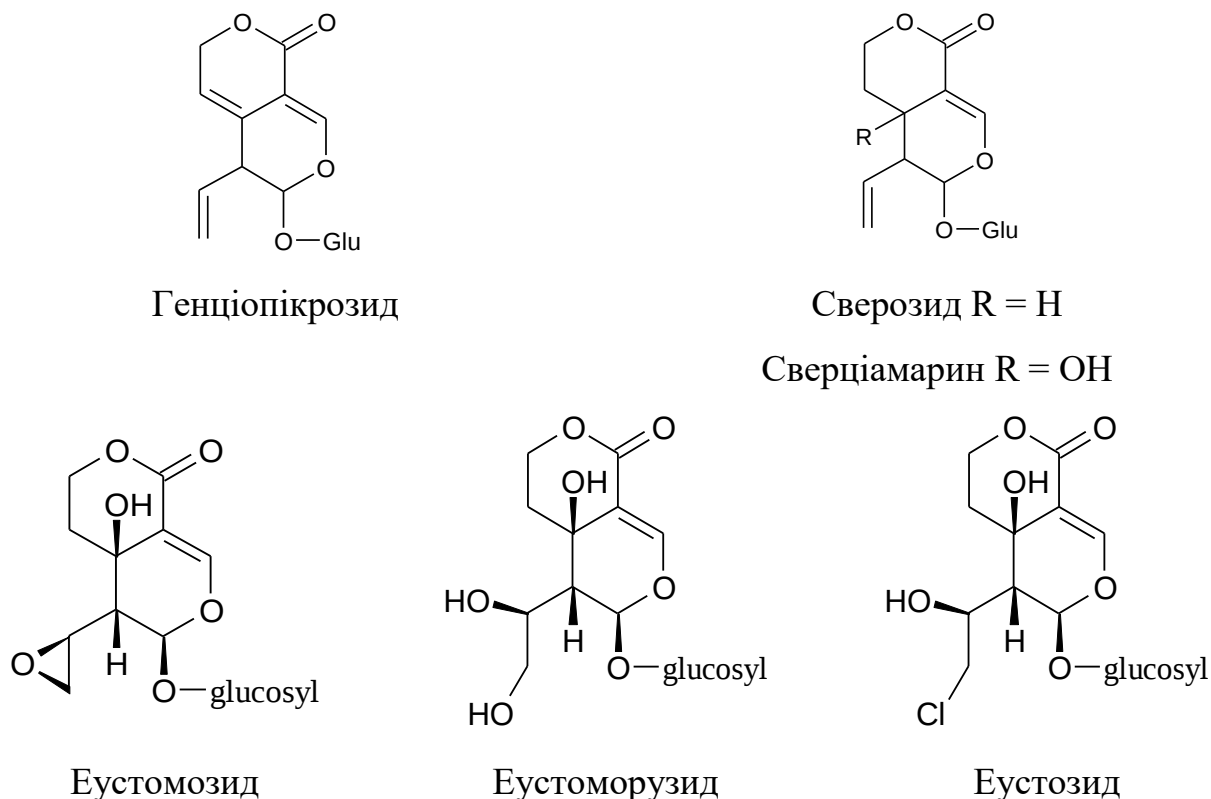


Рис. 1.4 Структурні формули секоїридоїдів, ідентифікованих у надземній частині лізіантусу Рассела

Також встановлено, що синтез секоїридоїдних глікозидів генціопікросиду і сверціамарину відбувається у коренях лізіантусу Рассела за колонізації арбускулярними мікоризними грибами родини *Rhizophagus* [145].

Польськими вченими з пелюсток квіток лізіантусу Рассела було виділено антоціанові глікозиди – похідні пеларгонідину, ціанідину та дельфінідину. Деякі з них ацильовані *n*-кумаровою або феруловою кислотою [79, 104, 144]. У пелюстках лізіантусу рожевого (сорт Момо по Міне) та фіолетового кольору (Murasaki по Hornare) було ідентифіковано похідні пеларгонідину (пеларгонідин-3-(*n*-кумаройл)рамнозил-галактозид-5-глюкозид, пеларгонідин-3-(ферулоїл)рамнозил-

галактозид-5-глюкозид, пеларгонідин-3-(рамнозил)галактозид-5-глюкозид, пеларгонідин-3-(*n*-кумароїл)галактозид-5-глюкозид, пеларгонідин-3-(ферулоїл)галактозид-5-глюкозид, пеларгонідин-3-галактозид-5-глюкозид) та дельфінідину (дельфінідин-(*n*-кумароїл)рамнозил-галактозид-5-глюкозид, дельфінідин-3-(рамнозил)галактозид-5-глюкозид, дельфінідин-3-(*n*-кумароїл)галактозид-5-глюкозид, дельфінідин-3-галактозид-5-глюкозид) [79, 104, 144]. Встановлено, що рожеві квітки сорту Мото но Міне містили лише глікозиди пеларгонідину, а фіолетові квітки сорту Murasaki no Honnari – дельфінідину [79, 104, 129, 144].

Спільними дослідженнями, проведеними вченими з Нідерландів та Данії, визначено локалізацію антоціанів у квіткових рослинах. Так, встановлено, що у квітках лізіантусу антоціани містяться у вакуолях (рис. 1.5) [78, 125, 129].

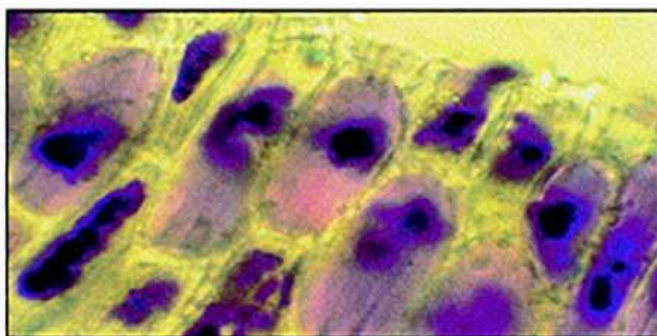


Рис. 1.5 Локалізація антоціанів у внутрішній епідермальній тканині пелюстки лізіантусу Рассела під електронним мікроскопом

Новозеландськими вченими було досліджено біосинтез флавоноїдних пігментів під час розвитку пелюсток у п'яти ліній лізіантусу (з фіолетовими, рожевими, ліловими та 2 видами білих (W42 і W84) квітками). Флавоноїдні пігменти були виявлені у великих кількостях на всіх стадіях розвитку пелюсток, але пік сягав безпосередньо перед розпусканням квітки. У забарвлених лініях лізіантусу антоціани спочатку були виявлені в квітках, що розкриваються, згодом їх кількість зростала. Жодна білоквіткова лінія не могла синтезувати антоціани. Встановлено, що активність біосинтетичних генів тісно корелює із вмістом флавоноїдів у пелюстках, причому синтез флавонолів відокремлений від синтезу антоціанів [103].

Китайськими вченими було досліджено механізм забарвлення двоколірних квіток (червоно-білих) лізіантусу Рассела. Було виявлено 5 антоціанів у верхніх пігментованих пелюстках на різних стадіях розвитку та 3 антоціани були ідентифіковані у слабо забарвленій частині пелюстки, яка розташована ближче до білої основи. За вмістом переважав пеларгонідин-3-глюкозид-5-(6-кумароїл) глюкозид. Також було досліджено вплив диференціально експресованих генів на біосинтез флавоноїдів у двоколірних квітках, що може бути використано при штучному регулюванні забарвлення квіток і виведенню нових сортів [115].

Японськими вченими було досліджено сезонну зміну забарвлення пелюсток 29 сортів лізіантусу [73, 74, 142, 154]. В експерименті брали участь сорти, поділені на чотири групи відповідно до основного фенотипу антоціанідину: на основі дельфінідину (фіолетова квітка), ціанідину (червонувато-фіолетова квітка), пеларгонідину (рожева квітка) і біла квітка. Встановлено, що яскравість та насиченість кольору залежить від співвідношення похідних дельфінідину та пеларгонідину [73, 74, 142, 154]. Вміст суми антоціанів у сортах лізіантусу із фіолетовим забарвленням пелюсток варіює у діапазоні 1,2-8,0 мг%, із червонувато-фіолетовим становить 2,4-3,0 мг%, із рожевим – 1,2-2,8 мг%. Вміст суми флавоноїдів у сортах лізіантусу із фіолетовим забарвленням пелюсток варіює у діапазоні 6,0-25,7 мг%, із червонувато-фіолетовим становить 10,2-12,0 мг%, із рожевим – 10,2-12,4 мг%, із білим – 1,1-12,5 мг%. Вміст суми антоціанів та флавоноїдів залежно від фази цвітіння (у середині періоду або наприкінці) варіює незначно [73, 74, 142].

Новозеландськими вченими за допомогою генної інженерії було досліджено залежність рівню антоціанів у квітках лізіантусу Рассела при введенні кДНК UDP-глюкоза:флавоноїд-3-О-глюкозилтрансферази з ротиків садових (*Antirrhinum majus* L.). Встановлено, що у пелюстках геннозмінених рослин спостерігаються значні рівні похідних 3-рутинозиду та 3-глюкозиду дельфінідину, завдяки тому, що галактоза в 3-О-положенні була частково замінена глюкозою під час синтезу антоціанів [76, 101, 105, 106, 124]. У нових антоціанів на основі дельфінідину,

отриманих за допомогою генної інженерії, *n*-кумароїл пов'язаний з 5-глюкозилем, а не з 3-глюкозилем [76, 105].

Продовжуючи дослідження, було встановлено, що у темно-фіолетових квітках лізіантусу, трансформованих кДНК UDP-глюкоза:флавоноїд-3-О-глюкозилтрансферази з ротиків садових, продукуються нові антоціанові пігменти: дельфінідин-3-О-β-D-(6-О-α-L-рамнопіранозилглюкопіранозид)-5-О-β-D-[6-Е-(*n*-кумароїл)глюкопіранозид], його Z-ізомер, аналогічні похідні ціанідину, дельфінідин-3-О-β-D-глюкопіранозид-5-О-β-D-(6-О-Е-(*n*-кумароїл(глюкопіранозид)), його Z-ізомер, аналогічні похідні ціанідину, на додаток до тих, що містяться в нетрансформованих контрольних рослинах. Спільними антоціановими пігментами, виявленими у квітках усіх кольорів, є кемпферол-3-О-β-D-[6-О-рамнопіранозил-4-О-Е-(*n*-кумароїл)галактопіранозид]-7-О-α-L-рамнопіранозид, його Z-ізомер, і аналогічні похідні ізорамнетину та мірицетину [124].

Показано, що різні композиції пігментів/копігментів пояснюють основні відмінності кольорів між білими, кремовими, рожевими, ліловими та фіолетовими квітками, але іншими факторами, залученими до стабілізації та тонкого налаштування кольорів, є концентрація пігменту, копігментація та контроль pH [82, 126].

Після генної трансформації у квітках лізіантусу Рассела також були ідентифіковані наступні антоціани: 3-галактозид-5-[6-(*n*-кумароїл)глюкозид] ціанідину, 3-[6-(рамнозил)галактозид]-5-[6-(*n*-кумароїл)глюкозид] ціанідину, 3-[6-(рамнозил)галактозид]-5-глюкозид дельфінідину, 3-галактозид-5-[6-(*n*-кумароїл)глюкозид] дельфінідину, 3-галактозид-5-[6-(*n*-кумароїл)глюкозид] Z дельфінідину, 3-[6-(рамнозил)глюкозид]-5-[6-(*n*-кумароїл)глюкозид] дельфінідину, 3-[6-(рамнозил)глюкозид]-5-[6-(*n*-кумароїл)глюкозид] Z дельфінідину, 3-[6-(рамнозил)галактозид]-5-[6-(ферулоїл)глюкозид] дельфінідину, 3-[6-(рамнозил)галактозид]-5-[6-(ферулоїл)глюкозид] Z дельфінідину, 3-галактозид-5-[6-(*n*-кумароїл)глюкозид] дельфінідину, 3-галактозид-5-[6-(*n*-кумароїл)глюкозид] Z дельфінідину, 3-глюкозид-5-[6-(*n*-кумароїл)глюкозид] дельфінідину [76, 105].

Продовжуючи дослідження, японськими вченими було досліджено залежність інтенсивності забарвлення пелюсток квіток лізіантусу Рассела від складу антоціанів за допомогою геномної полімеразної ланцюгової реакції з використанням специфічних праймерів на основі зазначеної послідовності гену флавоноїдної 3',5'-гідроксилази (F3'5'H). Встановлено, що лілове та червоно-фіолетове забарвлення пелюсток забезпечується переважаючим вмістом ціанідину з невеликою кількістю дельфінідину, фіолетове – накопиченням лише дельфінідину, рожево-червоне – домінуванням пеларгонідину та відсутністю дельфінідину. Співвідношення ціанідину, пеларгонідину та дельфінідину (у %) для лілових пелюсток становило 69,8:0:27,0, червоно-фіолетових – 70,3:23,9:4,5, фіолетових – 0:0:100,0, рожево-червоних – 20,7:79,3:0. Одержані дані щодо поліморфізму генів F3'5'H можна використовувати як ДНК-маркери для селекції сортів лізіантусу за кольором квітки [102].

Спільні дослідження науковців США, Канади, Мексики та Нової Зеландії показали, що у чорних (темно-фіолетових) пелюстках лізіантусу Рассела містяться антоціани (дельфінідин-3-О-рамнозил(1-6)галактозид і його 5-О-глюкозид) та флавоноїди (8-С-глюкозиди апігеніну й лютеоліну та їх 7-О-метилові ефіри) [89, 91].

Американськими дослідниками з рожевих квіток сорту Momo no Mine, фіолетових квіток сорту Murasaki no Hana та білих квіток сорту Kiri no Mine було виділено 11 похідних мірицетину, кемпферолу та ізорамнетину. За результатами аналізу УФ-спектрів встановлено, що вони були 3,7-заміщеними та 6 з них були ацильованими *n*-кумаровою, феруловою та кофейною кислотами. Ідентифіковано мірицетин 3-рамнозилгалактозид-7-рамнозид, кемпферол 3-(рамнозил)галактозид-7-рамнозид (рис. 1.6, I), кемпферол 3-(рамнозил)глюкозид-7-рамнозид, ізорамнетин 3-(рамнозил)галактозид-7-рамнозид, ізорамнетин 3-(рамнозил)глюкозид-7-рамнозид, мірицетин 3-(*n*-кумароїл)рамнозилгалактозид-7-рамнозид, кемпферол 3-(кафеоїл)(рамнозил)галактозид-7-рамнозид, кемпферол 3-*транс*-(*n*-кумароїл)(рамнозил)галактозид-7-рамнозид (рис. 1.6, II), кемпферол 3-(ферулоїл)(рамнозил)галактозид-7-рамнозид, ізорамнетин 3-(*n*-кумароїл)(рамно-

зил)галактозид-7-рамнозид, кемпферол 3-*цис*-(*n*-кумароїл)(рамнозил)галактозид-7-рамнозид. У рожевих квітках сорту Мото по Міне не було ідентифіковано мірицетин 3-рамнозилгалактозид-7-рамнозид. Якісний склад фіолетових квіток сорту Murasaki по Hornare та білих квіток сорту Kiri по Міне був однаковий та варіював лише кількісно. За вмістом у досліджуваних сортах лізіантусу переважали два глікозиди кемпферолу (рис. 1.6, сполуки I, II), їх вміст у білих, рожевих та фіолетових квітках варіював у межах 1906-4157 мкг/100 мг сухої сировини. Також встановлено, що вміст флавоноїдів у рожевих та фіолетових пелюстках варіював незначно та був у майже 2 рази вищий, ніж у білих пелюстках [104, 144].

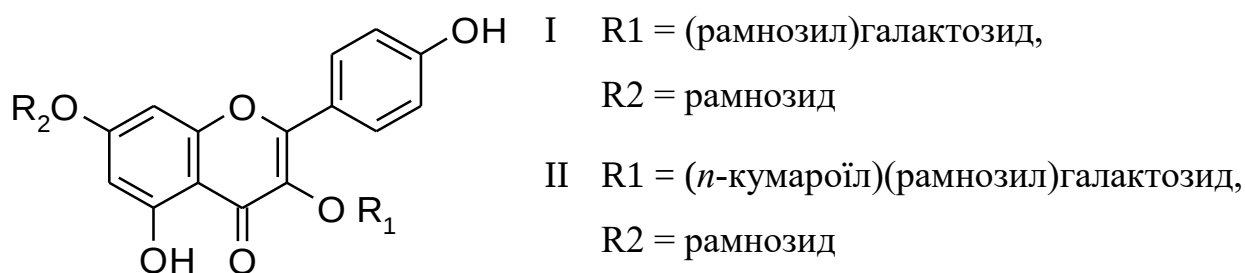


Рис. 1.6 Структурні формули флавоноїдів, ідентифікованих у квітках лізіантусу Рассела

Також встановлено, що при моделюванні забарвлення пелюсток *in vitro* флавоноїдними пігментами, сині кольори можуть бути утворені за допомогою 3-(*n*-кумароїл)рамнозилгалактозид-5-глікозиду дельфінідину та копігментів С-глікозилфлаону, таких як свертизин та ізоорієнтин, які містяться в інших представниках родини Тирличеві, що свідчить про перспективність спроб генної інженерії збільшити діапазон кольорів квіток лізіантусу Рассела [104].

У 2016 р. японські вчені встановили структуру 9 три- та тетраглікозидів флавоноїдів, виділених з квіток лізіантусу Рассела (рис. 1.7): кемпферол-3-О- α -L-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-(4-О-Е-*n*-кумароїл)- β -D-галактопіранозид-7-О- α -L-рамнопіранозид, кемпферол-3-О- β -робінобіозид-7-О- α -L-рамнопіранозид, кемпферол-3-О- β -робінобіозид, кемпферол-3-О- α -L-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-[α -L-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 6)]-(4-О-Е-*n*-кумароїл)- β -D-галактопіранозид-7-О- α -L-рамнопіранозид, кемпферол-7-О- α -L-рамнопіранозид, ізорамнетин-3-О- α -L-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 2)-

[α -L-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 6)]-(4-O-E-*p*-кумароїл)- β -D-галактопіранозид-7-O- α -L-рамнопіранозид, ізорамнетин-3-O- β -робінобіозид, кверцетин-3-O- β -робінобіозид та кемпферол-3-O- α -L-рамнопіранозил-(1 $\rightarrow$ 6)-(3-O-E-*n*-кумароїл)- β -D-галактопіранозид-7-O- α -L-рамнопіранозид, названий еустограндіфлозидом А (рис. 1.7) [70, 126].

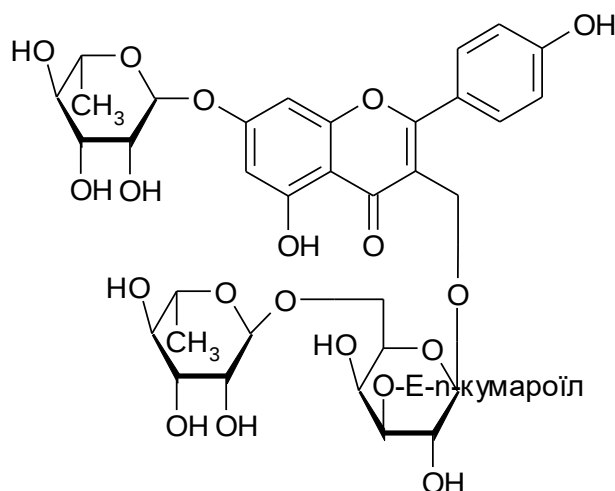


Рис. 1.7 Структурна формула еустограндіфлозиду А, ідентифікованого у квітках лізіантусу Рассела

Ізраїльськими вченими було проаналізовано вплив низької інтенсивності освітлення, типової для кімнатного квітникарства, на вміст антоціанів та флавоноїдів у пелюстках квіток лізіантусу Рассела. Встановлено, що при слабкому освітленні відбувається зниження вмісту цих БАР у пуп'янках зрізаних квіток та горщикових рослин [139].

Бразильські дослідники також вивчали вплив умов вирощування (у звичайних умовах освітлення теплиці, під світлорозсіювальною поліетиленовою плівкою та фотоселективними сітками синього та червоного кольорів із здатністю затінення 30 %) на вміст пігментів у різних сортах лізіантусу (Flare Deep Rose (рожевий), Echo Blue BL (фіолетовий) і Allemande White BI (білий)). Встановлено, що вміст хлорофілів а, b та каротиноїдів був вищий в усіх досліджуваних сортах за умови вирощування під червоною фотоселективною сіткою. Вміст антоціанів був вищий за умови вирощування під синьою фотоселективною сіткою. Отримані результати свідчать про те, що використання фотоселективних затінювальних сіток

у культурі лізіантусу змінює вміст досліджуваних пігментів з різною інтенсивністю залежно від сорту [72].

Сербськими вченими було проведено дослідження динаміки накопичення осмолітів (проліну та гліцинбетаїну), поліамінів (путресцину, спермідину, сперміну) і фенольних сполук у різних органах 11 сортів лізіантусу Рассела із різними термінами цвітіння [107]. Встановлено, що вміст цих сполук залежить від органу та генотипу рослини. Пелюстки лізіантусу сорту Rosita Green показали найвищий рівень фенолів і флавоноїдів, тоді як пелюстки лізіантусу сорту Rosita Blue Picote продемонстрували найвищі концентрації осмолітів. Виявилося, що поліаміни зконцентровані більше в пелюстках, ніж у листках. Середні значення вказують на високі рівні поліамінів у сортах Mariachi Carmine (вміст путресцину – 186,72 нмоль/г сухої сировини) і Mariachi Pink (вміст спермідину – 227,4 нмоль/г сухої сировини). Загальний вміст фенолів значно відрізнявся між різними сортами та органами: найвищий вміст був зафіксований у пелюстках сорту Rosita Green (14,3 мг/г у перерахунку на галову кислоту та суху сировину), найнижчий вміст був у листях сорту Mariachi Pink Picote (2,6 мг/г). У середньому у пелюстках рослини вміст фенольних сполук був майже у 3 рази вищий ніж у листях. Загальний вміст флавоноїдів також показав значні відмінності між сортами та органами: вміст флавоноїдів у листях був на 56 % нижчим, ніж у пелюстках. Найбільший вміст флавоноїдів (у перерахунку на кверцетин та суху сировину) зафіксовано в пелюстках сортів Croma Yellow (26,3 мг/г), Mariachi Blue (25,83 мг/г), Rosita Green (23,86 мг/г), найнижчий вміст – у листях сорту Rosita Blue Picote (2,9 мг/г) [107].

Японськими вченими у жовтих квітках лізіантусу Рассела виявлені каротиноїди: неоксантин, віолаксантин, лютеїн, зеаксантин і β -каротин [69].

Спільні дослідження науковців з Австралії та Японії показали наявність у сортах лізіантусу Рассела з білим забарвленням віночка (Azuma-no-yuki, Tsukushi-no-yuki, Piccolo-sa-snow) та блідо-жовтим (Azuma-no-shirabe, Halley Lime) наявність каротиноїдів, основними з яких були лютеїн, зеаксантин і β -каротин. Вміст каротиноїдів у білих і блідо-жовтих пелюстках був значно нижчим, ніж у листях [90]. Лютеїн, віолаксантин і β -каротин називають «хлоропластними

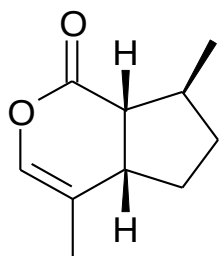
каротиноїдами», вони необхідні для фотосинтезу і незмінно містяться в листях більшості рослин. Квітки багатьох видів рослин насичено-жовтого забарвлення накопичують у собі «каротиноїди хромопластного типу», проте у блідо-жовтих пелюстках сортів лізіантусу Рассела каротиноїди хромопластного типу не були виявлені. Що свідчить про відсутність здатності синтезувати каротиноїди хромопластного типу та труднощі при селекції сортів із темно-жовтим забарвленням віночка [90].

Однак, японські вчені виявили сорт лізіантусу *Picotee*, жовте забарвлення пелюсток якого викликане наявністю каротиноїдів. Каротиноїди були ідентифіковані як *all-E*-неоксантин, *9'-Z*-неоксантин, віолаксантин, лютеїн, зеаксантин і β -каротин. Лютеїн становив приблизно 40 % від загальної кількості каротиноїдів. При дослідженні зелених бруньок фіолетово-жовтого сорту *Candy Marin* було встановлено, що профіль пігментів подібний до профілю пелюсток сорту *Picotee*, за винятком того, що зеаксантин був відсутній, також були виявлені хлорофіл а і хлорофіл b [69].

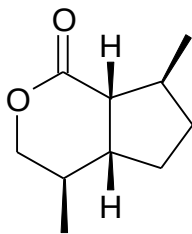
Японськими дослідниками у квітках лізіантусу Рассела ідентифіковані амінокислоти: аспарагінова та глютамінова кислоти, аспарагін, глютамін, серин, фенілаланін, гліцин, треонін, аланін, тирозин та валін [120].

Відомо, що лізіантус не має запаху, але є сорти, які мають слабкий запах. Японськими вченими було проаналізовано леткі компоненти квіток лізіантусу Рассела сорту *New Lination White*, яка має солодкуватий запах, та 12 інших сортів: *New Lination White*, *Candy Marine*, *Celebrity Pink*, *Celebrity Rich White*, *Dean*, *Maquia Pink*, *Orb Snow*, *Prima Lavender*, *Soiree Pink*, *Piccolosa Snow*, *Reina White*, *Rosina Type III Snow* та *Voyage Type II Blue*, які мають дуже слабкий запах. Сировину заговляли з горщиків квіток у теплиці (на відкритому повітрі), а також зі зрізаних квіток, зібраних з горщиків рослин (неушкоджених рослин), вирощених спочатку в теплиці, а потім у камері для вирощування (у приміщенні) в день цвітіння (день 0), на 1, 3 і 5 день після цвітіння. У квітках лізіантусу Рассела сорту *New Lination White* було виявлено 36 летких компонентів, включаючи 4 іридоїди (непеталактон, ізодигідронепеталактон, іридомірмецин і

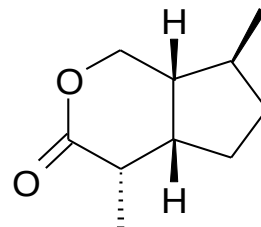
ізоіридомірмецин) та актинідин (рис. 1.8), які містяться в котячій м'яті та, як відомо, є сполуками, які викликають характерні реакції у котів [135]. Вміст ідентифікованих іридоїдів у квітках сорту New Lination White становив 0,6 %, 3,2 %, 0,9 % та 0,5 % відповідно [135].



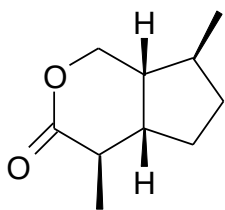
Непеталактон



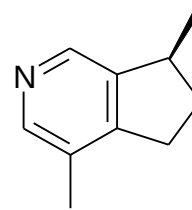
Ізодигідронепеталактон



Іридомірмецин



Ізоіридомірмецин



Актинідин

Рис. 1.8 Структурні формули іридоїдів, ідентифікованих у квітках лізіантусу Рассела

Основними леткими компонентами були сесквітерпени, а фенілпропаноїди, такі як евгенол, були ідентифіковані як компоненти із солодким запахом. Іридоїдні сполуки та актинідин були виявлені лише в квітках та відсутні в листях й стеблах. Крім того, іридоїдні сполуки були виявлені в усіх 12 аналізованих сортах. Приблизно 80 % виявлених компонентів становили сесквітерпени, за вмістом переважали α - і β -селініни, евідесма-3,11-дієн-2-он, β -елемен. Також були виявлені фенілпропаноїди із солодкуватим і пряним запахом – евгенол і метилевгенол [135].

Встановлено, що сила аромату рослин сорту New Lination White, вирощених в теплиці, зменшувалась протягом періоду дослідження, а для рослин, які росли в камері для вирощування, сила аромату збільшувалась. Склад летких компонентів, який випромінювали рослини, вирощені у теплиці та в камері для вирощування, сильно відрізнявся як за кількісно, так і якісно. Співвідношення фенілпропаноїдів,

відповідальних за солодкий запах сорту New Lination White, було вищим у зразках з теплиць, ніж у зразках з камери вирощування протягом всього періоду дослідження. З іншого боку, кількість терпеноїдів, включаючи іридоїдні сполуки, була вищою в горщикowych квітах і зрізаних квітах у камері вирощування, ніж у горщикowych квітах у теплиці. α -Селінен, основний леткий компонент, був виявлений у всіх органах (пелюстках, маточках, пиляках і нитках) квіток сорту New Lination White. Вміст каріофілену у маточках був в 143-359 разів більшим, ніж в інших органах, а кількість евгенолу в пиляках була в 4-21 разів більшою, ніж в інших органах. Похідне жирної кислоти цис-3-гексенол було виявлено в пелюстках, маточках і нитках, але не виявлено в непошкоджених квітках. Іридоїди були виявлені в усіх органах квітки, особливо в нитках і пелюстках. Актинідин не було виявлено в жодному квітковому органі, однак не всі леткі компоненти квітки, включаючи іридоїдні сполуки, були виявлені в листях та стеблах [135].

Квітки 12 досліджуваних сортів лізіантусу мали дуже слабкий трав'янистий або деревний запах. У результаті аналізу летких компонентів зрізаних квіток на п'ятий день після цвітіння сорти було розділено на три групи відповідно до їх домінуючих компонентів: β -мірцену (Candy Marine, Celebrity Rich White, Dean, Maquia Pink і Prima Lavender); сесквітерпенів, таких як α -селінен (Celebrity Pink, Orb Snow, Soiree Pink, Piccolosa Snow, Reina White і Rosina Type III Snow); каріофілену та вератролу (Voyage Type II Blue). Не було виявлено кореляції між морфологією квіток лізіантусу (кількість пелюсток, маса пелюсток, колір квітки) та якісним складом і кількісним вмістом летких компонентів. Іридоїди були виявлені в усіх 12 сортах [135].

Ізраїльські вчені провели експеримент щодо посилення аромату квіток лізіантусу Рассела сорту Royal Pink при трансформуванні геном *Clarkia breweri*, що кодує ацетилтрансферазу бензилового спирту та каталізує синтез леткої сполуки бензилацетату під регуляцією промотору CaMV35S. Зовнішнє надходження бензилового спирту збільшило у 5-7 разів продукування бензилацетату в окремих квітках і листках трансгенних рослин лізіантуса порівняно з нетрансформованими рослинами. У тканинах як контрольних, так і трансгенних рослин, які

підживлювали водою, бензилацетат не виявлено. При підживленні додатковими спиртовими сполуками (гексанолам, бензиловим, ізоаміловим, фенілетиловим і коричним спиртами) трансгенні саджанці лізіантусу, вирощені *in vitro*, виробляли значно вищі рівні ацетатів, ніж контрольні рослини. Ці результати демонструють можливість отримання залежних від субстрату ацетатів у трансгенних рослинах лізіантусу, що може призвести до індукції нових ароматів [84].

Продовжуючи дослідження щодо впливу субстрату, на якому вирощувалися квітки лізіантусу Рассела сорту Excalibur Pink (4 фенотипи – з рожевими або білими пелюстками та кількома або одним шарами пелюсток), на вміст летких сполук ізраїльські вчені встановили, що при живленні квіток за допомогою нечутливої до зворотного зв'язку ДАНР-синтази *Escherichia coli* і *Clarkia breweri* ацетилтрансферази бензилового спирту не відбулося істотного впливу на пігментний склад з-поміж фенотипів квіток, але збільшився рівень ароматичних летких бензоатів. З вмістом домінували бензальдегід, бензиловий спирт, фенілацетальдегід і 2-фенілетанол. Це свідчить про приховану здатність рослин лізіантусу продукувати широкий спектр ароматичних бензоїд-фенілпропаноїдів, враховуючи високі концентрації поживного субстрату [114].

Японськими та китайськими дослідниками у траві лізіантусу Рассела було ідентифіковано розчинні вуглеводи та досліджено зміни їх субклітинних концентрацій під час розкриття квітки. Були ідентифіковані глюкоза (у пелюстках 12,10 мг/г), фруктоза, сахароза (у пелюстках 11,83 мг/г), міоїнозит та d-борнезит, який за вмістом домінував у листях та стеблах (4,52 мг/г та 2,90 мг/г свіжої сировини відповідно). Під час розкриття квітки у пелюстках вміст глюкози та сахарози збільшувався, тоді як вміст d-борнезиту та міоїнозиту був майже постійним. Вміст фруктози та міоїнозиту у пелюстках був дуже низьким (0,35 мг/г свіжої сировини). Глюкоза, сахароза, міоїнозит і d-борнезит були виявлені в основному у вакуолях, хоча сахароза також була знайдена в цитоплазмі. У пелюстках розкритих квіток концентрації глюкози та сахарози у вакуолях збільшувалися до 60,0 і 53,0 мг/г свіжої сировини [113, 157].

При вирощенні лізіантусу Рассела сорту Mariachi Pink в культурі *in vitro* встановлено, що накопичення біомаси та вилучення поживних речовин збільшувалося із розвитком рослини. Етапом найбільшого накопичення біомаси та вилучення поживних речовин було формування квіткових бруньок (90–140 день). Загальна біомаса становила 4,97 г на рослину. Загальне вилучення мінеральних сполук в мг/г становило: N 2,4; P 0,46; K, 3,3; Ca 0,8; Mg, 1; Fe 0,017; Cu, 0,004; Zn 0,02; B, 0,009 і Mn, 0,014, тобто у порядку зменшення концентрації: $K > N > Mg > Ca > P > Zn > Fe > Mn > B > Cu$. У надземній частині накопичено більше біомаси та поживних речовин у порівнянні з коренями [132, 157].

1.3 Фармакологічна активність, застосування рослин роду Лізіантус у традиційній медицині та народному господарстві

Дані наукової літератури щодо фармакологічної активності рослин роду Лізіантус досить обмежені.

Корейські вчені дослідили антибактеріальну та протигрибкову активність ефірної олії лізіантусу Рассела. Ними встановлено, що досліджувана ефірна олія у дозах 0,1-1,0 мг/мл виявляє протигрибкову дію щодо штамів *Penicillium pinophilum*, *Chaetomium globosum* та *Aspergillus niger* (для якого мінімальна інгібуюча концентрація склала 0,005 мг/мл). Антимікробну активність досліджували методом колодязів проти десяти кишкових патогенних бактерій (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* і *Vibrio parahaemolyticus*). Найбільшу антибактеріальну дію ефірна олія лізіантусу Рассела виявляла щодо *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes* та *Vibrio parahaemolyticus*. Ці результати показують, що ефірну олію лізіантусу можна використовувати як антибіотик проти шкідливих бактерій, які викликають кишкові захворювання. [119].

Сербськими вченими було досліджено антиоксидантну активність 11 сортів лізіантусу Рассела із різними термінами цвітіння. Встановлено, що найвище

значення феруму, що зменшує антиоксидантну дію (FRAP), було зафіксовано у пелюстках сорту Rosita Green (30,9 мг/г у перерахунку на аскорбінову кислоту та суху сировину), тоді як найнижче значення було в листях сорту Mariachi Pink Picote (9,4 /г у перерахунку на аскорбінову кислоту та суху сировину). Здатність 2,2'-азино-біс-3-етилбензотіазолін-6-сульфонової кислоти (ABTS) поглинати радикали в пелюстках була приблизно в 2,1 рази вищою, ніж у листках. Найвища здатність поглинати радикали ABTS була зареєстрована в пелюстках сорту Rosita Green (244,8 мМ еквіваленту тролоксу на грам сухої сировини), тоді як найнижче значення було зафіксовано в листках сорту Mariachi Pink Picote (58,4 мМ еквіваленту тролоксу на грам сухої сировини). Найвищу здатність поглинати радикали 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу (DPPH) було зафіксовано в пелюстках сортів Mariachi Lavender (83,8 мМ еквіваленту тролоксу на грам сухої сировини) і Rosita Green (82,5 мМ еквіваленту тролоксу на грам сухої сировини), тоді як найнижче значення було у листях Rosane Brown. (13,9 мМ еквіваленту тролоксу на грам сухої сировини) [107].

Японськими вченими були виділені 4 іридоїди (непеталактон, ізодигідронепеталактон, іридомірмецин і ізоіридомірмецин) та актинідин, які викликають характерні реакції у котів [135]. Домашні кішки притискаються до квіток лізіантусу носом, нюхають їх, гризуть та облизують. Ці реакції на квіти лізіантусу нагадують їх характерні реакції на *Actinidia polygama* (Sieb. et Zucc.) Maxim. (срібляста лоза, мататабі) і *Nepeta cataria* L. (котяча м'ята) [135].

Крім декоративних властивостей, рослина може мати лікувальне значення завдяки наявності таких біологічно активних сполук, як секоіридоїди, флавоноїди та ксантони. Інтерес зосереджений на секоіридоїдах як гірких сполуках, що впливають на імунологічну систему. У цій групі сполук досліджували метаболіти гентіопікрозиду щодо їх протипухлинної та бактеріостатичної активності. Також приділяється увага фармакологічним властивостям флавоноїдів, а також антиамебним властивостям ксантонів [127, 144].

Тайванські дослідники на основі екстракту лізіантусу розробили продукт для догляду за шкірою (для покращення, кондиціонування та/або відновлення шкіри) [136].

У традиційній медицині лізіантус Рассела використовують як послаблювальний, протизапальний, заспокійливий засоби при лікуванні закрепів, лихоманки, туберкульозу, нервового виснаження, а також для підсилення апетиту при лікуванні анорексії [104, 133].

Індіанці додавали листя в різні напої, вважаючи, що це надає організму сил, енергії, бадьорості та гарного настрою [104, 133].

Завдяки своїй декоративності, великому різноманіттю сортів (на даний час їх відомо понад 60) та тривалому періоду цвітіння лізіантус Рассела широко використовується у квітникарстві та флористиці. Його висаджують у садках, теплицях, на клумбах, як кімнатну рослину. Завдяки тривалому періоду цвітіння (до трьох тижнів) при зрізуванні квітки лізіантусу використовують у флористиці для букетних композицій, прикрашання банкетних залів, оформлення урочистостей [133].

Висновки до розділу 1

Узагальнення відомостей наукової літератури щодо ботанічної характеристики, розповсюдження, хімічного складу та застосування рослин роду Лізіантус показало однобічність їх вивчення. Знайдені відомості вказують на те, що хімічний склад лізіантусу представлений ксантонами, секоїридоїдами та флавоноїдами. Аналіз робіт закордонних вчених щодо вмісту антоціанів показав варіабельність забарвлення віночка сортів лізіантусу Рассела залежно від умов вирощування. Проте, знайдена інформація носить переважно несистемний характер і лише частково висвітлює якісний склад та кількісний вміст деяких груп біологічно активних речовин (БАР) представників роду Лізіантус.

Не заважаючи на достатню сировинну базу, жоден вид цього роду не є офіційним в Україні та інших країнах світу. Необхідність комплексного

фармакогностичного дослідження лізіантусу Рассела для поглиблення знань щодо його хімічного складу, можливості стандартизації та застосування в медичній практиці висвітлює перспективу та актуальність подальших досліджень цієї рослини.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти дослідження, реактиви, методи і прилади

Об'єктами досліджень була трава лізіантусу Рассела 3 сортів (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue), заготовлених на початку цвітіння у Харківській та Київській областях у 2023 р. Заготівля сировини здійснювалась із дотриманням загальних правил заготівлі лікарської рослинної сировини «Трава», «Листя», «Квітки»; сушіння відбувалось повітряно-тіньовим способом. Для дослідження висушену сировину подрібнювали за допомогою лабораторного млина ЛЗМ-1 (Оліс, Україна) до розміру часток 3-4 мм.

Морфологічні ознаки вивчали на свіжих та висушених зразках рослини. Зовнішні ознаки визначали візуально та за допомогою лупи (x10). Діагностичне мікроскопічне дослідження проводили за методиками ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття 2.8.23 «Мікроскопічне дослідження лікарської рослинної сировини» [20]. Для цього використовували поперечні перерізи стебла та листка, нижню і верхню епідерму листової пластинки та пелюстки, які фіксували у суміші етанол – гліцерин – вода (у співвідношенні 1:1:1). Вивчення проводили за допомогою світлових мікроскопів «Ломо Мікмед-1» та «Granum» при збільшенні в 40-600 разів. Фотознімки робили за допомогою цифрової фотокамери «Digital camera for microscope DCM 300». Фотографії обробляли у комп'ютерній програмі «Adobe Photoshop CS3». Тип продихового апарату визначали за ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття 2.8.3 «Продихи та продиховий індекс» [20].

Реактиви і титровані розчини, які були використані для якісного та кількісного аналізу, готували відповідно до вимог ДФУ 2.1, розділ 4 «Реактиви» [18].

Експериментальні дослідження БАР трави лізіантусу Рассела проводили хроматографічними методами (ПХ, ТШХ, ВЕРХ, ГХ) та ААС.

Мінеральний склад сировини та густого екстракту вивчали на дифракційному спектрографі ДФС-8 (Асма-прибор, Україна) з трилінзовою системою освітлення щілин і дифракційною решіткою 600 штр/мм та мікрофотометрі МФ-1 з фіксацією на фотоплівку [49].

Амінокислотний склад сировини вивчали за допомогою амінокислотного аналізатора ААА Т-339М (Мікротехн, Чехія), обладнаному реєструючим фотоелементом, жирнокислотний – газового хроматографа «Селміхром-1» (Суми, Україна) з полум'яно-іонізаційним детектором.

Жирнокислотний склад сировини вивчали із використанням газової хромато-мас-спектрометричної системи Agilent 6890N (Agilent technologies, США) із мас-спектрометричним детектором 5973N, адаптованим для роботи з капілярними колонками в запрограмованому режимі, у поєднанні з комп'ютером.

Хроматографування моносахаридів та летких сполук здійснювали на газовому хроматографі Agilent 6890N (Agilent technologies, USA), обладнаному мас-детектором (модель 5973inert, Agilent technologies, USA).

Дослідження фенольних кислот та флавоноїдів вивчали на рідинному хроматографі Agilent 1260 Infinity HPLC System (Agilent technologies, USA), обладнаному діодноматричним детектором Shimadzu HPLC-system ser. 20 (Shimadzu, Japan).

Дослідження фенольних сполук здійснювали на рідинному хроматографі Prominence LC-20 (Shimadzu, Японія) з колонкою Supelcosil C18 (Merck, Німеччина).

Хроматографування аміно- та жирних кислот, фенольних сполук у густому екстракті проводили на рідинному хроматографі Waters e2695 Alliance з детектором 2998 PDA (Waters, Мілфорд, США), колонка ACE Super C18 (250 мм х 4,6 мм, 3 мкм) (АСТ, Абердин, Великобританія).

При дослідженні кількісного вмісту БАР методом абсорбційної спектрофотометрії спектри поглинання фіксували за допомогою спектрофотометра Optizen POP (Mecasys, Південна Корея) у кюветах із товщиною шару 10 мм.

Приготування мікробної суспензії штамів мікроорганізмів при визначенні антимікробної активності проводили на приладі Densi-La-Meter (Pliva-Lachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм).

Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за методиками ДФУ 2.0, Т. 1 (загальні статті 5.3 «Статистичний аналіз результатів біологічних випробувань та кількісних визначень» та 5.3.N.1 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту^N») [20] за допомогою програми Statistica 8 (StatSoft inc., США) та пакета статистичних функцій програми Microsoft Excel.

2.2 Методики дослідження якісного складу хімічними реакціями, методами ПХ та ТШХ

Для проведення хімічних реакцій та хроматографічних досліджень використовували витяги з трави лізіантусу Рассела (водні, 50 %, 70 % та 96 % етанольні витяги, водні витяги, підкислені хлористоводневою кислотою, хлороформні), одержані у співвідношенні сировина – екстрагент 1:10 при нагріванні зі зворотним холодильником на водяній бані тричі протягом 30 хв та наступним концентруванням під вакуумом.

Наявність БАР у сировині підтверджували хімічними реакціями ідентифікації [3, 36-37, 61]:

- полісахариди – осадова реакція з 96 % етанолом;
- вільні амінокислоти – кольоровою з 0,2 % розчином нінгідрину;
- алкалоїди – осадові реакції з реактивами Драгендорфа, Шейблера та Зонненштейна;
- флавоноїди – кольоровими (ціанідинова реакція в модифікації за Бріантом, з 10% етанольним розчином феруму (III) хлориду, 10 % етанольним розчином калію гідроксиду, 2 % етанольним розчином алюмінію хлориду, з реактивом Вільсона) та осадовою (з 2% етанольним розчином плюмбуму ацетату);
- антоціани – кольоровими (з 10 % кислотою хлористоводневою, з 10 % етанольним розчином натрію гідроксиду, з 10 % розчином кислоти щавлевої в

суміші ацетон-вода (1:1)) та осадовою (з 10 % етанольним розчином плюмбуму (II) ацетату основним);

- дубильні речовини – осадовими (з 1% розчином желатини, 1% розчином хініну хлориду, з бромною водою) та кольоровою (з 1% розчином з феруму (III) амонію сульфату);
- іридоїди – кольоровими (з реактивами Шталя та Трим-Хілла);
- стероїди – кольоровими (з реактивами Лібермана-Бурхарда та Розенгейма);
- сапоніни – реакція Фонтан–Кандела, осадовими (реакція з 10 % розчином плюмбуму ацетату, з розчином холестерину), кольоровими (реакції Лафона та Сальковського).

Методи ПХ та ТШХ здійснювали відповідно до вимог ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття 2.2.26 «Хроматографія на папері» та загальна стаття 2.2.27 «Тонкошарова хроматографія» [20].

Хроматографування проводили на папері Filtrak FN № 4 та пластинках з тонким шаром сорбенту фірми «Merck» (Німеччина) методами висхідної одно- та двовимірної хроматографії при температурі 20-25 °С у відповідних рухомих фазах, для приготування яких розчинники розраховували в об'ємних одиницях [3, 18-21, 26, 31, 36, 61, 63, 65, 138]:

- амінокислоти: *n*-бутанол – оцтова кислота льодяна – вода (4:1:2);
- полісахариди: вода – ацетонітрил (15:85);
- органічні кислоти: етилацетат – оцтова кислота льодяна – мурашина кислота – вода (100:11:11:25);
- гідроксикоричні кислоти: 2 % оцтова кислота; 15 % оцтова кислота;
- флавоноїди: *n*-бутанол – оцтова кислота льодяна – вода (4:1:2) – I напрямок, 15 % оцтова кислота – II напрямок; 2 % оцтова кислота; 5 % оцтова кислота;
- антоціани: мурашина кислота безводна – вода – *n*-бутанол (16:19:65); *n*-бутанол – оцтова кислота – вода (9:1:0,5);
- поліфеноли: *n*-бутанол – оцтова кислота льодяна – вода (4:1:2); 5 % оцтова кислота; 30 % оцтова кислота; 60 % оцтова кислота;
- іридоїди: вода – мурашина кислота безводна – етилацетат (4:8:88);

- стероїди: мурашина кислота безводна – циклогексан – етилацетат – толуол (0,9:3:6:24);
- сапоніни: хлороформ – оцтова кислота льодяна – вода (13:6:2);
- хлорофіли: хлороформ – етанол (6:3); толуєн – етилацетат – оцтова кислота льодяна (12:4:0,5);
- каротиноїди: гексан – ацетон (6:8); петролейний етер – бензол – етанол (10:10:80).

Ідентифікацію речовин на хроматограмах проводили за величиною R_f , забарвленням зон у денному світлі та флуоресценцією в УФ-світлі до та після проявлення детектуючими реактивами [3, 18-21, 31, 36, 61, 65, 138]:

- амінокислоти: 0,2 % етанольний розчин нінгідрину в спирті ізопропіловому;
- полісахариди: реактив аміногіпурової кислоти (етанольний розчин фталевої та аміногіпурової кислот);
- органічні кислоти: 0,05 % розчин 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію;
- гідроксикоричні кислоти: пари аміаку; 1 % етанольний розчин феруму (III) хлориду;
- флавоноїди: пари аміаку; 1 % етанольний розчин алюмінію (III) хлориду; 5 % етанольний розчин алюмінію (III) хлориду; 10 % етанольний розчин калію гідроксиду;
- поліфеноли: 1 % етанольний розчин феруму (III) хлориду;
- іридоїди: розчин анісового альдегіду;
- стероїди: розчин анісового альдегіду;
- сапоніни: розчин анісового альдегіду.

Для приготування розчинів порівняння використовували наступні ФСЗДФУ:

- амінокислоти (аланін, аспарагін, аспарагінова кислота, лейцин, триптофан, фенілаланін, метіонін, валін, серин, глютамінова кислота, треонін, лізин, гістидін, аргінін та цистеїн),
- полісахариди (арабіноза, галактоза, глюкоза, ксилоза, маноза, фруктоза та рамноза),

- органічні кислоти (яблучна, винна, лимонна, саліцилова, аскорбінова, бурштинова, бензойна та щавлева),
- гідроксикоричні кислоти (хлорогенова, кофейна, *p*-кумарова, ферулова),
- флавоноїди (рутин, кверцетин, лютеолін, кемпферол, гіперозид та апігенін),
- антоціани (мальвідин-3-О-глікозид, мальвідин-3,5-диглікозид, дельфінідин-3-О-глікозид, ціанідин-3-О-глікозид, ціанідин-3,5-диглікозид),
- поліфеноли (галова, елагова кислоти),
- іридоїди (генціопікрозид, сверціамарин),
- стероїди (β -ситостерин),
- сапоніни (урсолова кислота),
- каротиноїди (β -каротин, зеаксантин та лютеїн).

2.3 Методики дослідження кількісного вмісту БАР

2.3.1 Аналіз БАР методом атомно-абсорбційної спектrophотометрії

Якісний склад та кількісний вміст мінеральних елементів проводили на базі відділу аналітичної хімії ім. А.Б. Бланка ДНУ НТК «Інститут монокристалів НАН України» під керівництвом О. В. Гришиної за методикою [33, 49], узгодженою з положеннями ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття «Атомно-абсорбційна спектрометрія» (метод 1 – калібрувальної кривої) [20].

2.3.2 Аналіз БАР методом ВЕРХ

1. Амінокислотний склад сировини аналізували методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії за методикою, наведеною за посиланням [46, 94].

2. Дослідження сполук фенольної природи у ЛРС проводили методом ВЕРХ за методиками, наведеними за посиланням [8, 17], узгодженими із положеннями ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття «Рідинна хроматографія» [20].

3. Якісний склад та кількісний вміст аміно- та жирних кислот, фенольних сполук у густому екстракті визначали за методиками, наведеними за посиланням [17, 68, 95, 147].

2.3.3 Аналіз БАР методом ГХ та ГХ/МС

1. Якісний склад та кількісний вміст жирних кислот визначали за методикою, наведеною за посиланням [47, 96].

2. Дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту моносахаридів та летких сполук проводили за методикою, наведеною за посиланням [24-25, 28, 32].

2.3.4 Аналіз БАР методом гравіметрії

Визначення вмісту суми полісахаридів проводили за методикою ДФУ 2.0, Т. 3, монографія «Алтеї корені» [21, 28].

2.3.5 Аналіз БАР методом алкаліметрії

Вміст вільних органічних кислот визначали у перерахунку на яблучну кислоту за методикою ДФУ 2.1, монографія «Шипшини плоди^N» [18, 44, 55].

2.3.6 Аналіз БАР методом абсорбційної спектрофотометрії

1. Визначення суми вільних амінокислот проводили за довжини хвилі 573 нм у перерахунку на лейцин за методикою, наведеною за посиланням [34].

2. Визначення вмісту аскорбінової кислоти за довжини хвилі 520 нм за методикою ДФУ 2.0, Т. 3, монографія «Шипшина» [21, 55, 148].

3. Вміст гідроксикоричних кислот визначали за довжини хвилі 525 нм у перерахунку на хлорогенову кислоту за методикою ДФУ 2.0, Т. 3, монографія «Кропиви листя^N» [21, 60].

4. Визначення вмісту флавоноїдів проводили за довжини хвилі 425 нм у перерахунку на рутин за методикою ДФУ 2.1, монографія «Софори квітки» [18].

5. Вміст суми антоціанів визначали за довжини хвилі 528 нм у перерахунку на ціанідин-3-О-глюкозиду хлорид за методикою ДФУ 2.0, Т. 3 (монографія «Чорниці плоди свіжі») [7, 21, 23, 39].

6. Вміст суми поліфенольних сполук визначали за довжини хвилі 760 нм у перерахунку на пірогалол за методикою ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття 2.8.14 «Визначення танінів у лікарських засобах рослинного походження» [20, 57].

7. Кількісний вміст суми іридоїдів визначали за довжини хвилі 512 нм у перерахунку на гарпагіду ацетат за методикою, наведеною за посиланням [38].

8. Кількісний вміст суми тритерпенових сапонінів визначали за довжини хвилі 316 нм у перерахунку на урсолову кислоту за методикою, наведеною за посиланням [30, 36, 59].

9. Вміст хлорофілів та каротиноїдів визначали за довжини хвиль: для хлорофілу *a* – 665 нм, для хлорофілу *b* – 649 нм, каротиноїдів – 441 нм за методикою, наведеною за посиланням [6, 26, 35, 46, 58, 66].

2.3.7 Аналіз БАР методом перегонки з водяною парою

Визначення кількісного вмісту ефірної олії проводили методом перегонки з водяною парою у апараті Клевенджера за методикою ДФУ 2.6, загальна стаття 2.8.12 «Визначення вмісту ефірних олій в лікарській рослинній сировині» [19, 75].

2.4 Методики визначення показників якості та технологічних показників сировини

1. Відбір проб і пробопідготовку вихідної сировини проводили за методикою ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття 2.8.20 «Лікарська рослинна сировина: відбір проб і пробопідготовка» [18].

2. Втрату в масі при висушуванні визначали гравіметричним методом ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття 2.2.32 «Втрата в масі при висушуванні» [20].

3. Визначення вмісту золи загальної проводили гравіметричним методом за методикою ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття 2.4.16 «Загальна зола» [20].

4. Зола, нерозчинну в хлористоводневій кислоті, визначали за методикою ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття «Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті» [20].

5. Вміст екстрактивних речовин визначали гравіметричним методом за методикою ДФУ 2.0, Т. 3, монографія «Полин гіркий» [21].

6. Технологічні показники ЛРС (середній розмір часток, питому масу, об'ємну вагу, насипну масу, пористість, порізність шару, вільний об'єм шару, коефіцієнт поглинання екстрагенту) визначали за методиками, наведеними за посиланнями [12, 27, 29].

7. Визначення показників якості густого екстракту проводили за вимогами ДФУ 2.1, загальна монографія «Лікарської рослинної сировини екстракти» [15, 18, 56].

8. Визначення вмісту важких металів проводили за вимогами ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття 2.4.27 «Важкі метали у лікарській рослинній сировині та лікарських рослинних засобах» [20].

9. Мікробіологічну чистоту екстрактів визначали за методиками ДФУ 2.6, загальні статті 2.6.12 «Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів: визначення числа мікроорганізмів» і 2.6.13 «Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів: випробування на окремі види мікроорганізмів» [19] та ДФУ 2.1, загальна стаття «Лікарської рослинної сировини екстракти» [18].

2.5 Методики вивчення гострої токсичності та антимікробної активності

Визначення гострої токсичності досліджуваного екстракту проводили за методом Т. В. Пастушенко на базі ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» (м. Київ) за сприяння завідувача відділу медичної хімії, д. біол. н. О. Є. Ядловського та провідного інженера З. С. Суворової. У експерименті було задіяно 33 білі миші вагою 20-22 г. Попередньо екстракт позбавляли від етанолу шляхом нагрівання на водяній бані (сухий залишок складав 22 %), після чого об'єм відновлювали до вихідного дистильованою водою. 30 мишам екстракт вводили одноразово у дозах 0,1-5,0 мл/кг, 3 мишам – у дозі 5 г/кг внутрішньошлунково через зонд протягом 14 діб, оцінюючи загальний стан і виживаність через 30 хв, 1 год, 3 год, 6 год, 12 год, 24 год, 7 діб і 14 діб. Ефект оцінювали за співвідношенням «загибель тварин/кількість тварин у групі». Додатково враховували результати клінічних спостережень, що включали показники фізіологічного стану тварин: дихання; рухова активність, судоми, офтальмологічні симптоми, серцево-судинні симптоми, показники стану шлунково-кишкового тракту, стан шкіри [22, 42]. Рівень токсичності визначали за класифікацією К. К. Сидорова [22, 53].

Визначення антимікробної активності проводили на базі ДУ «Інститут мікробіології і імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» (м. Харків) за сприяння завідувачки лабораторії біохімії та біотехнології, к. біол. н., ст. н. сп. Т. П. Осолодченко. Дослідження *in vitro* методом дифузії в агар (методом «колодязів») на двох шарах щільного поживного середовища («голодне» незасіяне середовище та агар Мюллера-Хінтона/агар Сабуро), розлитого в чашки Петрі (діаметром 100 мм і висотою 15 мм), та методом дисків на еталонних (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885–653) та клінічних (*Streptococcus pneumoniae* 14, *Streptococcus pyogenes* 2432, *Staphylococcus aureus* 124, *Enterococcus faecalis* 42, *Klebsiella pneumoniae* 18, *Enterobacter cloacae* 17, *Acinetobacter baunani* 150, *Pseudomonas aeruginosa* 18, *Candida albicans* 69) тест-культурах мікроорганізмів проводили за методиками, наведеними за посиланнями [10, 22, 49]. Культури

мікроорганізмів було одержано з лабораторії медичної мікробіології з Музеєм мікроорганізмів ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України».

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БАР У ТРАВІ ЛІЗІАНТУСУ РАССЕЛА

Ваговим методом встановлено, що трава лізіантусу Рассела досліджуваних сортів (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue) у середньому складається зі стебел ($31,61 \pm 1,48$ %), листя ($37,34 \pm 1,67$ %) та квіток ($31,05 \pm 1,50$ %) від загальної маси рослини.

3.1 Вивчення мінеральних сполук

Мінеральні речовини у людському організмі виконують функції регулятора основних процесів життєдіяльності, стимулюють та нормалізують обмін речовин, запобігають виникненню хвороб, пов'язаних із дефіцитом окремих сполук. Однак, їх надмірні кількості можуть бути токсичними для людського організму [1]. Дослідження сировини лікарських рослин, які є перспективними для впровадження у медичну практику, є актуальним через те, що макро- та мікроелементи, що входять до складу рослини, впливають на прояв біологічної активності сумарних екстрактів, які одержують з них. Також, за вимогами ДФУ обов'язковим є визначення вмісту важких металів у ЛРС [20].

Зважаючи на вищенаведене, доцільно було провести дослідження мінерального складу трави лізіантусу Рассела трьох сортів. Якісний склад і кількісний вміст мінеральних сполук досліджували методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії за методикою, наведеною у п. 2.3.1. Результати дослідження наведені у табл. 3.1 [49].

У об'єктах дослідження встановлено наявність 19 мінеральних сполук, із яких 6 макро- (K, Ca, Mg, Na, P, Si) та 13 мікроелементів (Fe, Mn, Cu, Zn, Al, Pb, Sr, Ni, Mo, Co, Cd, As, Hg). До життєво необхідних (есенціальних) елементів відносяться всі макро- і деякі мікроелементи: Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Mo, до умовно необхідних – Si, Sr, Cd, Ni, Hg.

Вміст макро- і мікроелементів у траві лізіантусу Рассела

Назва елементу	Вміст елементу, мг/100 г (n=3, P<0,05)			
	грунт	сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
Макроелементи				
Калій (K)	1000,00±50,00	2607,00±130,35	2370,00±118,50	2061,90±103,10
Кальцій (Ca)	476,00±23,80	270,90±13,55	315,00±15,75	346,50±17,33
Магній (Mg)	249,00±12,45	402,90±20,15	395,00±19,75	264,65±13,23
Натрій (Na)	600,00±30,00	546,25±27,31	475,00±23,75	380,00±19,00
Фосфор (P)	199,00±9,95	105,84±5,29	126,00±6,30	132,30±6,62
Силіцій (Si)	4801,00±240,05	56,70±2,84	63,00±3,15	66,15±3,31
Мікроелементи				
Ферум (Fe)	486,00±24,30	9,60±0,48	8,00±0,40	8,16±0,41
Манган (Mn)	12,00±0,60	2,04±0,10	2,40±0,12	3,12±0,16
Купрум (Cu)	46,00±2,30	0,32±0,02	0,51±0,03	0,56±0,03
Цинк (Zn)	24,00±1,20	1,40±0,07	2,00±0,10	1,70±0,09
Алюміній (Al)	1089,00±54,45	2,30±0,12	2,00±0,10	2,20±0,11
Плюмбум (Pb)	0,60±0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Стронцій (Sr)	9,70±0,49	0,20±0,01	0,22±0,01	0,21±0,01
Нікол (Ni)	4,90±0,25	0,05±0,01	0,07±0,01	0,08±0,01
Молібден (Mo)	2,00±0,10	0,06±0,01	0,08±0,01	0,07±0,01
Кобальт (Co)	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Кадмій (Cd)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Арсен (As)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Меркурій (Hg)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

За результатами аналізу загальний вміст мінеральних сполук у траві лізіантусу Рассела сорту Alissa 2 White дорівнював 4005,56±200,28 мг/100 г, сорту

Borealis Apricot складав 3759,28 мг/100 г, сорту Mariachi 2 Blue – 3267,60±163,38 мг/100 г. За вмістом переважали макроелементи – 3989,59±199,48, 3744,00 та 3251,50±162,58 мг/100 г відповідно, вміст мікроелементів становив 15,97±0,80, 15,28 та 16,10±0,81 мг/100 г відповідно. Вміст мінеральних сполук у ґрунті становив 8999,20±449,96 мг/100 г, вміст макроелементів дорівнював 7325,00±366,25 мг/100 г, мікроелементів – 1674,20±83,71 мг/100 г.

Мажоритарними макроелементами у траві лізіантусу Рассела досліджуваних сортів були калій (2607,00±130,35, 2370,00±118,50 та 2061,90±103,10 мг/100 г відповідно) та натрій (546,25±27,31, 475,00±23,75 та 380,00±19,00 мг/100 г відповідно), вміст яких складав відповідно 63,04-63,10 % та 11,63-13,64 % від суми всіх визначених елементів. Дещо менше у досліджуваній сировині накопичувалось магнію (402,90±20,15, 395,00±19,75 та 264,65±13,23 мг/100 г відповідно) та кальцію (270,90±13,55, 315,00±15,75 та 346,50±17,33 мг/100 г відповідно), що дорівнювало відповідно 8,10-10,51 % та 6,76-10,60 % від суми всіх визначених елементів.

З-поміж мікроелементів домінували ферум (9,60±0,48, 8,00±0,40 та 8,16±0,41 мг/100 г відповідно), манган (2,04±0,10, 2,40±0,12 та 3,12±0,16 мг/100 г відповідно), цинк (1,40±0,07, 2,00±0,10 та 1,70±0,09 мг/100 г відповідно) та алюміній (2,30±0,12, 2,00±0,10 та 2,20±0,11 мг/100 г відповідно). Їх частка від загального вмісту мінералів складала 0,21-0,24 %, 0,05-0,10 %, 0,03-0,05 % та 0,05-0,07 % відповідно.

Для виявлених мінеральних речовин встановлено таку закономірність накопичення у траві лізіантусу досліджуваних сортів:

Alissa 2 White – K>Na>Mg>Ca>P>Si>Fe>Al>Mn>Zn>Cu>Sr>Mo>Ni>Co>Pb>Cd>As>Hg,

Borealis Apricot – K>Na>Mg>Ca>P>Si>Fe>Mn>Zn>Al>Cu>Sr>Mo>Ni>Co>Pb>Cd>As>Hg,

Mariachi 2 Blue – K>Na>Ca>Mg>P>Si>Fe>Mn>Al>Zn>Cu>Sr>Ni>Mo>Co>Pb>Cd>As>Hg.

Встановлено, що за послідовністю накопичення мінеральних речовин досліджувані сорти варіювали незначно.

Відомо, що рослини поглинають з ґрунту та інших субстратів мінеральні сполуки, потрібні у певний час для розвитку генеративних та вегетативних органів [11, 14]. Порівнюючи вміст мінералів у ґрунті та досліджуваній сировині, встановлено, що вміст калію та магнію у траві лізіантусу майже у 1,5-2 рази вищий, ніж у ґрунті. За вмістом більшості елементів досліджувана сировина значно поступається ґрунту.

Розподіл макро- та мікроелементів між органами рослини теж відіграє важливу роль у процесах життєдіяльності рослини. Відомо, що найбільша концентрація купруму спостерігається у кореневій системі та листях, цинк розподіляється по всіх органах рослини, але при надмірному вмісті в ґрунті найбільша його концентрація спостерігається в кореневій системі. Вміст феруму в кореневій системі значно вищий, ніж у пагонах. У рослину катіони марганцю надходять через кореневу систему та розподіляються по всіх органах рослини неоднорідно, що залежить від фази вегетації та вмісту їх у ґрунті []. У зв'язку з цим було цікавим дослідити розподіл мінеральних сполук між вегетативними та генеративними органами лізіантусу Рассела на прикладі сорту Borealis Apricot. Результати дослідження наведено у табл. 3.2.

Таблиця 3.2

**Вміст макро- і мікроелементів у стеблах, листях та квітках лізіантусу
Рассела сорту Borealis Apricot**

Назва елементу	Вміст елементу, мг/100 г (n=3, P<0,05)		
	стебла	листя	квітки
1	2	3	4
Макроелементи			
Калій (K)	948,00±47,40	790,00±39,50	663,60±33,18
Кальцій (Ca)	157,50±7,88	105,00±5,25	55,13±2,76
Магній (Mg)	158,00±7,90	131,67±6,58	110,60±5,53
Натрій (Na)	285,00±14,25	158,33±7,92	33,25±1,66

1	2	3	4
Фосфор (P)	63,00±3,15	42,00±2,10	22,05±1,10
Силіцій (Si)	3,15±0,16	21,00±1,05	40,79±2,04
Мікроелементи			
Ферум (Fe)	0,53±0,03	2,67±0,13	5,04±0,25
Манган (Mn)	0,24±0,01	0,80±0,04	1,43±0,07
Купрум (Cu)	0,05±0,01	0,17±0,01	0,30±0,02
Цинк (Zn)	0,33±0,02	0,67±0,03	1,05±0,05
Алюміній (Al)	1,00±0,05	0,67±0,03	0,35±0,02
Плюмбум (Pb)	<0,03	<0,03	<0,03
Стронцій (Sr)	0,11±0,01	0,07±0,01	0,04±0,01
Нікол (Ni)	0,01±0,01	0,02±0,01	0,04±0,01
Молібден (Mo)	0,04±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01
Кобальт (Co)	<0,03	<0,03	<0,03
Кадмій (Cd)	<0,01	<0,01	<0,01
Арсен (As)	<0,01	<0,01	<0,01
Меркурій (Hg)	<0,01	<0,01	<0,01

Загальний вміст мінеральних сполук у сировині лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot складав: у стеблах – 1616,98±80,85 мг/100 г, листях – 1253,09±62,65 мг/100 г, квітках – 933,67±46,68 мг/100 г. Їх вміст у стеблах був на 74,48 % вищий ніж у квітках та на 29,38 % вищий ніж у листях, вміст у листях був на 34,86 % вищий ніж у квітках рослини. За вмістом переважали макроелементи – 1614,65±80,73, 1248,00±62,40 та 925,42±46,27 мг/100 г відповідно, вміст мікроелементів становив 2,33±0,12, 5,09±0,25 та 8,25±0,41 мг/100 г відповідно.

Мажоритарним макроелементом у досліджуваній сировині був калій (948,00±47,40, 790,00±39,50 та 663,60±33,18 мг/100 г відповідно). Натрій за вмістом переважав у стеблах та листях (285,00±14,25 та 158,33±7,92 мг/100 г відповідно).

З-поміж мікроелементів переважаючим у листях та квітках був ферум ($2,67 \pm 0,13$ та $5,04 \pm 0,25$ мг/100 г відповідно), у стеблах домінував алюміній ($1,00 \pm 0,05$ мг/100 г).

Для виявлених мінеральних речовин встановлено таку закономірність накопичення:

стебла – $K > Na > Mg > Ca > P > Si > Al > Fe > Zn > Mn > Sr > Cu > Mo > Ni > Co > Pb > Cd > As > Hg$,
 листя – $K > Na > Mg > Ca > P > Si > Fe > Mn > Al > Zn > Cu > Sr > Mo > Ni > Co > Pb > Cd > As > Hg$,
 квітки – $K > Mg > Ca > Si > Na > P > Fe > Mn > Zn > Al > Cu > Sr > Ni > Mo > Co > Pb > Cd > As > Hg$.

Встановлено, що за послідовністю накопичення мінеральних речовин стебла та листки варіюють незначно.

Встановлено, що у траві лізіантусу Рассела досліджуваних сортів вміст мікроелементів плюмбуму, кобальту, кадмію, арсену і меркурію знаходився за межами можливостей визначення приладу. Таки чином, вміст важких металів у досліджуваних сировині не перевищував гранично допустимих концентрацій для лікарської рослинної сировини, встановлених ДФУ [20].

3.2 Вивчення нітрогеновмісних сполук (амінокислот та алкалоїдів)

Амінокислоти є необхідними поживними речовинами у життєдіяльності рослин. Наприклад, гліцин сприяє збільшенню вмісту хлорофілу, підвищує активність ферментів, сприяє посиленню фотосинтезу. У поєднанні з мінеральними речовинами вони можуть надавати макро- та мікроелементам більш сприятливої для засвоєння форми. Також, рослини є джерелом незамінних амінокислот (лейцину, ізолейцину, метіоніну, фенілаланіну, аргініну, гістидину, триптофану, валіну, треоніну і лізину), які не синтезуються в організмі людини, а надходять з їжею [86, 87, 97]. Збалансований склад амінокислот може завадити виникненню багатьох хвороб цивілізації (діабету, безсоння, ожиріння та артрити). Вільні амінокислоти необхідні для вторинного метаболізму рослин і біосинтезу фенольних сполук та глюкозинолатів, які відіграють важливу функцію у взаємодії навколишнього середовища та здоров'я людини прямо чи опосередковано [86, 87, 97].

Виявлення амінокислот проводили із застосуванням хімічної реакції з 0,2 % етанольним розчином нінгідрину. Поява фіолетово-синього забарвлення реакційної суміші свідчила про наявність амінокислот у витягах з трави лізіантусу Рассела досліджуваних сортів [45, 51].

Ідентифікували амінокислоти методом ПХ за пунктом 2.2. На хроматограмах у денному світлі амінокислоти проявлялися у вигляді зон адсорбції різної інтенсивності та відтінків фіолетово-синього забарвлення після обробки свіжоприготованим 0,2 % етанольним розчином нінгідрину в спирті ізопропіловому з наступним нагрівом у сушильній шафі. Пролін проявлявся у вигляді зони жовтого кольору. Зони ідентифікованих амінокислот за забарвленням і розташуванням відповідали зонам стандартних зразків амінокислот.

В результаті хроматографічного дослідження у траві лізіантусу Рассела досліджуваних сортів (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue) було ідентифіковано по 12 вільних амінокислот, з-поміж яких присутні аліфатичні, ароматичні та гетероциклічні. З-поміж аліфатичних амінокислот виявлені моноаміномонокарбонові (гліцин, аланін, треонін, лейцин, ізолейцин, валін, серин), моноамінодикарбонова (аспарагінова кислота) та діаміномонокарбонова (лізин). Ароматичні амінокислоти представлені тирозином і фенілаланіном. Ідентифікована одна гетероциклічна амінокислота – пролін. 6 з ідентифікованих амінокислот є незамінними: треонін, лейцин, ізолейцин, валін, лізин, фенілаланін [45].

Кількісний вміст амінокислот досліджували методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою, наведеною у п. 2.3.6. Результати дослідження наведені у табл. 3.3 [45].

Переважаючий вміст амінокислот спостерігався у траві лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($3,92 \pm 0,14$ %), дещо менше – у сорті Alissa 2 White ($3,71 \pm 0,18$ %), мінімальна кількість – у сорті Mariachi 2 Blue ($3,47 \pm 0,17$ %). Для стебел, листя та квіток лізіантусу Рассела досліджуваних сортів спостерігалася така закономірність накопичення амінокислот: стебла > листя > квітки.

Вміст амінокислот у траві лізіантусу Рассела

Назва сировини	Вміст групи БАР, мг/100 г (n=5, P<0,05)		
	сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
Трава	3,71±0,18	3,92±0,14	3,47±0,17
Стебла	3,56±0,17	3,71±0,13	3,23±0,15
Листя	2,61±0,12	2,83±0,12	2,19±0,11
Квітки	2,44±0,11	2,46±0,08	2,17±0,10

Більш детальний амінокислотний скринінг досліджуваних сортів лізіантусу Рассела було проведено методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії за методикою, наведеною у п. 2.3.3. Результати дослідження наведені у табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Вміст амінокислот у траві лізіантусу Рассела

Назва амінокис- лоти	Вміст амінокислот у досліджуваній сировині у перерахунку на абсолютно суху сировину (n=3, P<0,05)					
	сорт Alissa 2 White		сорт Borealis Apricot		сорт Mariachi 2 Blue	
	мг%	% від загальної суми	мг%	% від загальної суми	мг%	% від загальної суми
1	2	3	4	5	6	7
Гідроксимоноамінокарбонові кислоти						
Серин	10,79±0,54	5,51	9,81±0,49	4,83	4,14	4,14
Треонін*	8,88±0,44	4,54	10,33±0,52	5,08	5,51	5,51
Моноаміномонокарбонові кислоти						
Гліцин	13,99±0,70	7,15	12,17±0,61	5,98	9,73±0,49	4,72
Аланін	15,50±0,77	7,91	18,45±0,92	9,07	19,37±0,97	9,40

1	2	3	4	5	6	7
Валін*	6,67±0,33	3,41	7,41±0,37	3,65	7,78±0,39	3,78
Лейцин*	15,75±0,79	8,04	13,12±0,66	6,45	13,39±0,67	6,49
Ізолейцин*	2,93±0,15	1,49	3,44±0,17	1,69	4,48±0,22	2,17
Моноамінодикарбонові кислоти						
Аспарагінова кислота	15,72±0,79	8,03	22,45±1,12	11,04	19,08±0,95	9,26
Глутамінова кислота	52,95±2,65	27,05	46,05±2,30	22,64	50,65±2,53	24,57
γ-Аміномасляна кислота (ГАМК)	2,07±0,10	1,06	1,80±0,09	0,89	1,98±0,10	0,96
Діаміномонокарбонові кислоти						
Аргінін	6,26±0,31	3,20	8,94±0,45	4,40	9,84±0,49	4,77
Лізин*	5,98±0,30	3,05	7,47±0,37	3,67	6,72±0,34	3,26
Сульфурвмісні кислоти						
Цистин	1,88±0,09	0,96	2,21±0,11	1,09	2,87±0,14	1,39
Метіонін*	1,51±0,08	0,77	2,44±0,12	1,20	2,69±0,13	1,30
Ароматичні кислоти						
Тирозин	6,81±0,34	3,48	5,92±0,30	2,91	6,51±0,33	3,16
Фенілаланін*	11,56±0,58	5,91	10,05±0,50	4,94	11,06±0,55	5,36
Гетероциклічні кислоти						
Гістидин	3,37±0,17	1,72	4,82±0,24	2,37	5,30±0,26	2,57
Пролін	13,16±0,66	6,72	16,46±0,82	8,09	14,81±0,74	7,18
Сума незамінних амінокислот	53,28±2,66	27,21	54,27±2,71	26,69	57,48±2,87	27,88
Сума замінних амінокислот	142,51±7,13	72,79	149,07±7,45	73,31	148,69±7,43	72,12
Сума амінокислот	195,79±9,79	100,00	203,35±10,17	100,00	206,16±10,31	100,00

Примітка. * – незамінні амінокислоти.

У траві лізіантусу Рассела сортів Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue та стеблах, листях та квітках лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot було ідентифіковано по 18 амінокислот. Їх профіль є однорідним за складом: 7 незамінних амінокислот (лізин, треонін, валін, метіонін, фенілаланін, ізолейцин і лейцин), 3 напівзамінних (аргінін, тирозин, гістидин) та 8 замінних (аспарагінова, глютамінова кислоти та γ -аміномасляна кислота (ГАМК), серин, гліцин, аланін, пролін і цистин) [46].

Найбільший вміст суми амінокислот було визначено у траві лізіантусу Рассела сорту Mariachi 2 Blue ($206,16 \pm 10,31$ мг%), дещо менше їх містилося у сорті Borealis Apricot ($203,35 \pm 10,17$ мг%), найменший вміст спостерігався у сорті Alissa 2 White ($195,79 \pm 9,79$ мг%).

Амінокислоти у траві досліджуваних сортів лізіантусу Рассела можна було розташувати у наступній послідовності за зменшенням їхнього вмісту:

Alissa 2 White – глютамінова кислота>лейцин>аспарагінова кислота>аланін>гліцин>пролін>фенілаланін>серин>треонін>тирозин>валін>аргінін>лізин>гістидин>ізолейцин>ГАМК>цистин>метіонін,

Borealis Apricot – глютамінова кислота>аспарагінова кислота>аланін>пролін>лейцин>гліцин>треонін>фенілаланін>серин>аргінін>лізин>валін>тирозин>гістидин>ізолейцин>метіонін>цистин>ГАМК,

Mariachi 2 Blue – глютамінова кислота>аланін>аспарагінова кислота>пролін>лейцин>треонін>фенілаланін>аргінін>гліцин>серин>валін>лізин>тирозин>гістидин>ізолейцин>цистин>метіонін> ГАМК.

Встановлено, що в усіх досліджуваних сортах послідовність амінокислот, які мали найбільший вміст, незначно, але відрізнялася – переважали за вмістом глютамінова та аспарагінова кислоти, лейцин, аланін, гліцин та пролін; у мінорній кількості містилися ГАМК, метіонін, цистин та ізолейцин.

Слід відмітити, що в усіх досліджуваних сортах за вмістом домінували замінні амінокислоти, які виконують в організмі різноманітні функції та відіграють не меншу фізіологічну роль, ніж незамінні. Наприклад, глютамінова кислота – єдина з амінокислот, яка підтримує дихання клітин мозку [86, 87, 97]. Її вміст у сорті

Alissa 2 White становив 27,05 %, сорти Borealis Apricot – 22,64 % та у сорти Mariachi 2 Blue – 24,57 % від загальної суми амінокислот.

Найбільше значення для організму людини представляють незамінні амінокислоти. Їх вміст у сорти Alissa 2 White становив 22,90 %, у сорти Borealis Apricot – 26,69 % та у сорти Mariachi 2 Blue – 27,88 % від загальної суми амінокислот. З-поміж незамінних амінокислот у мажоритарній кількості містилися лейцин, фенілаланін, та треонін, у незначній кількості – ізолейцин та метіонін. Співвідношення суми незамінних до суми замінних амінокислот у досліджуваних сортах лізіантусу Рассела становило 1/2,67, 1/2,75 та 1/2,59 відповідно (рис. 3.1).

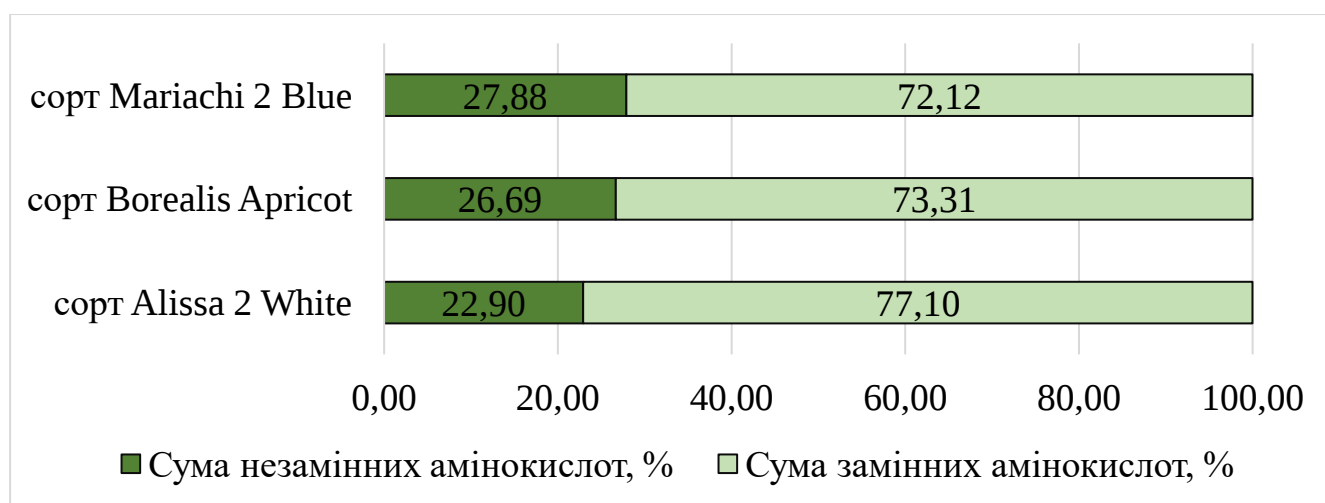


Рис. 3.1 Розподіл незамінних та замінних амінокислот (% від суми) у траві лізіантусу Рассела сортів Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue

Результати дослідження профіля амінокислот у стеблах, листях та квітках лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot наведені у табл. 3.5 [46].

Найбільший вміст суми амінокислот було визначено у листях лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot (81,9 мг%), дещо менше – у квітках (66,69 мг%), а найменший вміст спостерігався у стеблах (36,27 мг%) [46].

Ідентифіковані амінокислоти можна було розташувати у наступній послідовності за зменшенням їхнього вмісту в досліджуваній сировині:

стебла – глутамінова кислота>аланін>аспарагінова кислота>пролін>треонін>фенілаланін>гліцин>серин>лізин>лейцин>гістидин>валін>аргінін>тирозин>ізолейцин>ГАМК>метіонін>цистин,

листя – глутамінова кислота>аспарагінова кислота>пролін>лейцин>гліцин>аланін>фенілаланін>серин>треонін>аргінін>лізин>валін>тирозин>гістидин>ізолейцин>метіонін>цистин>ГАМК,

квітки – глутамінова кислота>аспарагінова кислота>аланін>пролін>лейцин>аргінін>гліцин>валін>лізин>фенілаланін>серин>треонін>тирозин>гістидин>ізолейцин>метіонін>цистин>ГАМК.

Таблиця 3.5

**Вміст амінокислот у стеблах, листях та квітках лізіантусу Рассела сорту
Borealis Apricot**

Назва амінокислоти	Вміст амінокислот у досліджуваній сировині у перерахунку на абсолютно суху сировину (n=3, P<0,05)					
	стебла		листя		квітки	
	мг%	% від загальної суми	мг%	% від загальної суми	мг%	% від загальної суми
1	2	3	4	5	6	7
Гідроксимоноамінокарбонові кислоти						
Серин	1,54±0,07	4,25	4,81±0,24	5,87	2,57±0,12	3,85
Треонін*	2,41±0,12	6,64	4,58±0,22	5,59	2,40±0,12	3,60
Моноаміномонокарбонові кислоти						
Гліцин	1,57±0,07	4,33	5,94±0,27	7,25	3,55±0,16	5,32
Аланін	5,67±0,25	15,63	5,28±0,26	6,45	5,82±0,29	8,73
Валін*	0,63±0,03	1,74	2,63±0,12	3,21	3,48±0,17	5,22
Лейцин*	0,82±0,04	2,26	6,22±0,30	7,59	4,89±0,23	7,33
Ізолейцин*	0,51±0,02	1,41	1,72±0,08	2,10	0,90±0,04	1,35
Моноамінодикарбонові кислоти						
Аспарагінова кислота	3,27±0,16	9,02	8,87±0,44	10,83	8,27±0,41	12,40
Глутамінова кислота	12,25±0,61	33,77	15,20±0,76	18,56	14,41±0,72	21,61
ГАМК	0,29±0,01	0,80	0,82±0,04	1,00	0,53±0,01	0,79

1	2	3	4	5	6	7
Діаміномонокарбонові кислоти						
Аргінін	0,61±0,03	1,68	3,87±0,18	4,73	3,65±0,17	5,47
Лізин*	0,92±0,04	2,54	3,12±0,15	3,81	2,75±0,11	4,12
Сульфурвмісні кислоти						
Цистин	0,09±0,01	0,25	1,15±0,05	1,40	0,77±0,03	1,15
Метіонін*	0,13±0,01	0,36	1,28±0,06	1,56	0,81±0,04	1,21
Ароматичні кислоти						
Тирозин	0,54±0,02	1,49	2,48±0,12	3,03	2,36±0,11	3,54
Фенілаланін*	1,66±0,07	4,58	4,82±0,23	5,89	2,66±0,12	3,99
Гетероциклічні кислоти						
Гістидин	0,81±0,04	2,23	2,31±0,11	2,82	1,26±0,06	1,89
Пролін	2,55±0,12	7,03	6,80±0,33	8,30	5,61±0,28	8,41
Сума незамінних амінокислот	7,08	19,52	24,37	29,76	17,89	26,83
Сума замінних амінокислот	29,19	80,48	57,53	70,24	48,8	73,17
Сума амінокислот	36,27	100,00	81,9	100,00	66,69	100,00

Примітка. * – незамінні амінокислоти.

Встановлено, що в усіх досліджуваних органах послідовність амінокислот, які мали найбільший вміст, незначно, але відрізнялася – переважали за вмістом глутамінова та аспарагінова кислоти, аланін, пролін, лейцин; у мінорній кількості містилися ГАМК, метіонін та цистин [46].

Слід відмітити, що в усіх досліджуваних органах також домінували замінні амінокислоти. Вміст глютамінової кислоти у стеблах становив 33,77 %, листях – 18,56 % та у квітках – 21,61 % від загальної суми амінокислот.

Вміст незамінних амінокислот у стеблах лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot дорівнював 19,52 %, у листях – 24,37 % та у квітках – 26,83 % від загальної суми амінокислот. З-поміж незамінних амінокислот у мажоритарній кількості містилися лейцин, фенілаланін, лізин та валін, у незначній кількості – валін, ізолейцин та метіонін [46].

Співвідношення суми незамінних до суми замінних амінокислот у листях та квітках лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot становило 1/2,36 та 1/2,73 відповідно, для стебел воно було значно меншим – 1/4,12 (рис. 3.2). Це свідчило про те, що листя та квітки лізіантусу можуть бути додатковим джерелом незамінних амінокислот, які представляють інтерес для організму людини.

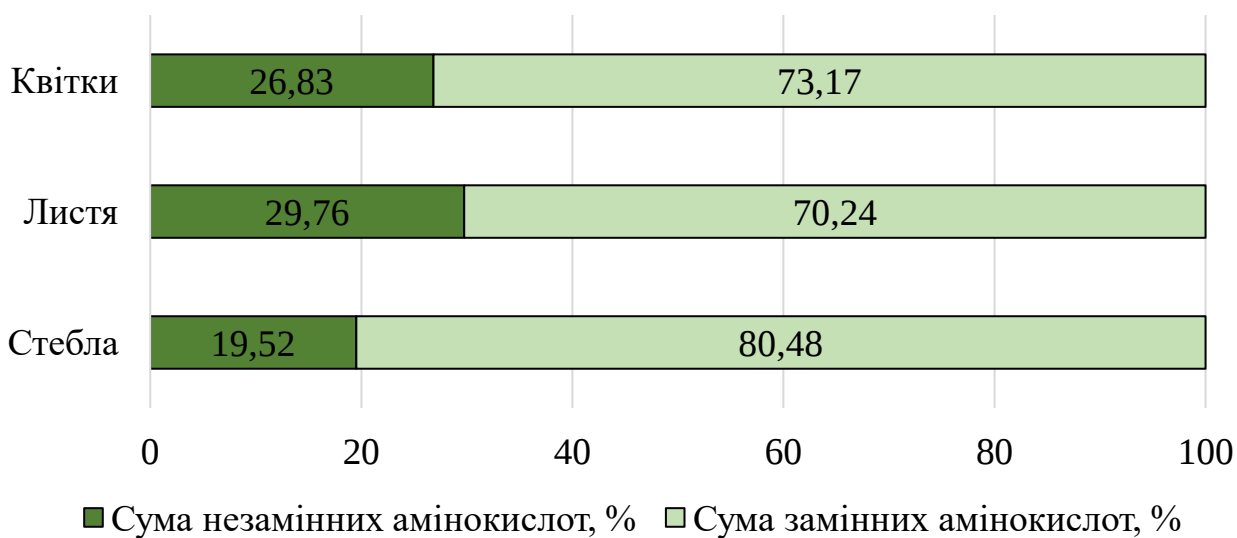


Рис. 3.2 Розподіл незамінних та замінних амінокислот (% від суми) у стеблах, листях та квітках лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot

Виявлення алкалоїдів проводили із застосуванням хімічних реакцій. Негативний результат реакцій з реактивами Драгендорфа, Шейблера та Зонненштейна (не спостерігалось випадання осадів або помутніння реакційної суміші) свідчив про відсутність алкалоїдів у витягах з трави лізіантусу Рассела досліджуваних сортів [51].

3.3 Вивчення жирнокислотного складу

Відомо, що жири необхідні у життєдіяльності людського організму через їх фізіологічну роль у функціонуванні нервової системи та транспортуванні жиророзчинних вітамінів (А, D, Е та К). Ненасичені жирні кислоти (ω -3 і ω -6) знижують ризик виникнення серцево-судинних захворювань [85, 93, 128]. У контексті створення нового лікарського рослинного засобу важливим було проаналізувати жирнокислотний профіль трави лізіантусу Рассела.

Детальний жирнокислотний скринінг досліджуваних сортів лізіантусу Рассела було проведено методом ГХ/МС метилових естерів жирних кислот за методикою, наведеною у п. 2.3.3. Результати дослідження наведені у табл. 3.6. На рис. 3.3 наведена газова хроматограма метилових естерів жирних кислот трави лізіантусу Рассела на прикладі сорту Borealis Apricot [47].

Таблиця 3.6

Вміст жирних кислот у траві лізіантусу Рассела

Назва жирної кислоти	Хімічне позначення кислоти	Вміст кислоти у перерахунку на абсолютно суху сировину, % до суми (n=3, P<0,05)		
		сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
1	2	3	4	5
Міристинова	C 14:0	0,43±0,02	0,50±0,03	0,53±0,03
Міристолеїнова	C 14:1	0,29±0,01	0,26±0,01	0,22±0,01
Пальмітинова	C 16:0	18,57±0,93	21,85±1,09	26,22±1,31
Пальмітолеїнова	C 16:1	2,70±0,14	2,25±0,11	1,91±0,10
Стеаринова	C 18:0	3,00±0,15	3,53±0,18	4,06±0,20
Олеїнова	C 18:1	8,97±0,45	6,90±0,35	5,87±0,29
Лінолева	C 18:2	19,89±0,99	23,40±1,17	24,57±1,23
Ліноленова	C 18:3	4,54±0,23	4,32±0,22	3,67±0,18

1	2	3	4	5
Арахінова	C 20:0	1,39±0,07	1,64±0,08	1,23±0,06
«—»	—	17,37±0,87	13,90±0,70	12,36±0,62
Бегенова	C 22:0	2,50±0,12	2,94±0,15	2,70±0,14
Лігноцеринова	C 24:0	20,36±1,02	18,51±0,93	16,66±0,83
Вміст ненасичених жирних кислот		36,38±1,82	37,13±1,86	36,24±1,81
Вміст насичених жирних кислот		46,25±2,31	48,97±2,45	51,40±2,57
Вміст суми неідентифікованих компонентів		17,37±0,87	13,90±0,70	12,36±0,62
Разом		100,00	100,00	100,00

Примітка. «—» – неідентифіковані компоненти.

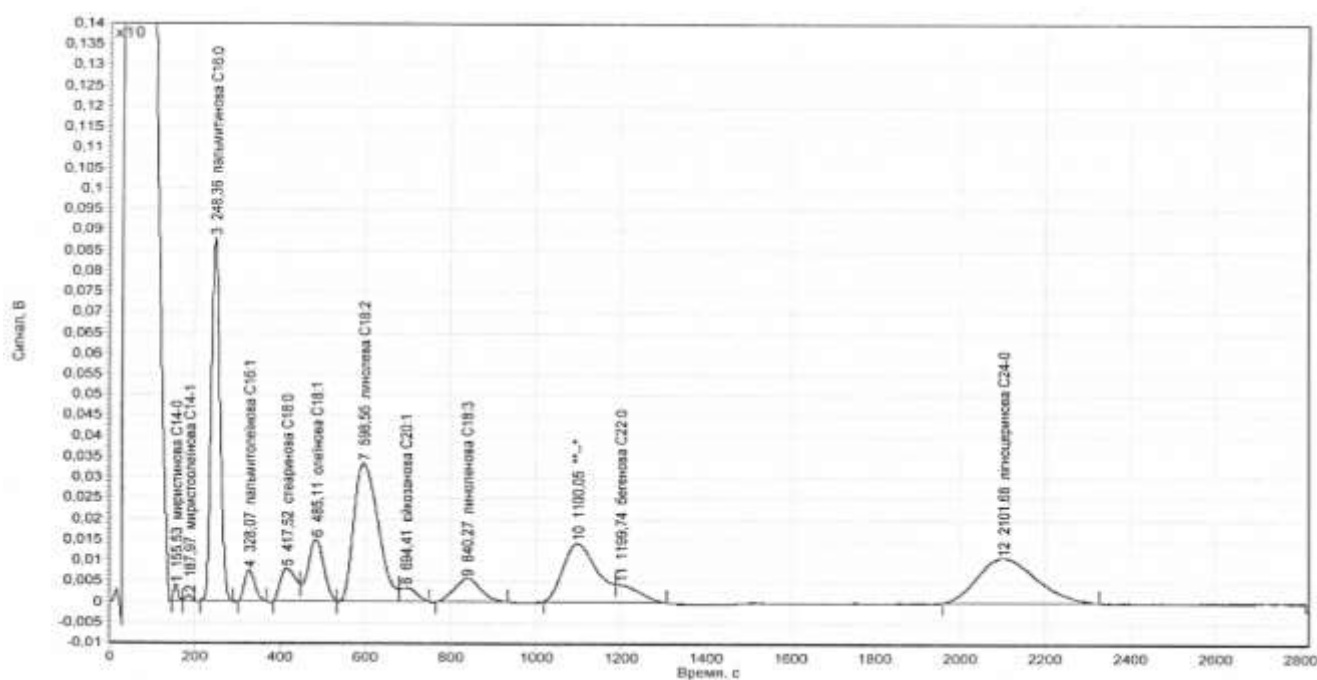


Рис. 3.3 Газова хроматограма метилових естерів жирних кислот трави лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot

Як видно з наведених даних, в результаті проведеного хроматографічного дослідження у траві лізіантусу Рассела досліджуваних сортів ідентифіковано по 12 вільних жирних кислот – 6 насичених та 5 ненасичених жирних кислот. Один із

досить значних піків на хроматограмі ідентифікувати не вдалося через відсутність відповідного стандарту [47].

Сума насичених жирних кислот у траві лізіантусу Рассела сорту Alissa 2 White становила $46,25 \pm 2,31$ %, сорту Borealis Apricot – $48,97 \pm 2,45$ %, сорту Mariachi 2 Blue – $51,40 \pm 2,57$. Вміст ненасичених жирних кислот становив $36,38 \pm 1,82$ %, $37,13 \pm 1,86$ % та $36,24 \pm 1,81$ % відповідно. Вміст насичених жирних кислот у майже 1,3 рази переважав вміст ненасичених.

Найбільшу концентрацію з-поміж насичених жирних кислот мала пальмітинова кислота, вміст якої становив $18,57 \pm 0,93$ %, $21,85 \pm 1,09$ % та $26,22 \pm 1,31$ % у досліджуваних сортах Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue. Дещо менший вміст мала лігноцеринова кислота, вміст якої становив $20,36 \pm 1,02$ %, $18,51 \pm 0,93$ % та $16,66 \pm 0,83$ % відповідно від вмісту всіх жирних кислот. Вміст стеаринової, бегенової та арахінової кислот коливався у діапазоні 1,23-4,06 %. Мінорним компонентом була міристинова кислота, її вміст варіював у діапазоні 0,43-0,53 %. Слід зазначити, що вміст мажоритарної пальмітинової кислоти становив 40,16-51,0 % від суми насичених жирних кислот, ідентифікованих у траві лізіантусу Рассела.

Аналіз даних, наведених у табл. 3.6, щодо кількісного вмісту ненасичених жирних кислот показав, що пріоритет належав лінолевій кислоті, вміст якої становив $19,89 \pm 0,99$ %, $23,40 \pm 1,17$ % та $24,57 \pm 1,23$ %. До домінуючих за вмістом жирних кислот також відносилися олеїнова, ліноленова та пальмітолеїнова кислоти, вміст яких варіював у діапазоні 5,87-8,97 %, 3,67-4,54 % та 1,91-2,70 % відповідно. Слід також зазначити, що вміст переважаючої лінолевої кислоти становив 54,67-67,80 % від суми ідентифікованих ненасичених жирних кислот. Мінорним компонентом була міристолеїнова кислота, вміст якої варіював у діапазоні 0,22-0,29 %.

Відомо, що на загальну кількість жирних кислот, їх компонентний склад та співвідношення значною мірою впливають фактори навколишнього середовища або умови вирощування [85]. Так, накопиченню поліненасичених жирних кислот сприяють зниження температури, дефіцит нітрогену, фосфору або купруму в

середовищі культивування, а також низька інтенсивність освітлення. Більша кількість насичених і мононенасичених жирних кислот синтезується при сильному освітленні [85].

Результати скринінгу жирних кислот у стеблах, листях та квітках лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot наведені у табл. 3.7.

Таблиця 3.7

Вміст жирних кислот у стеблах, листях та квітках лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot

Назва жирної кислоти	Хімічне позначення кислоти	Вміст кислоти у досліджуваній сировині у перерахунку на абсолютно суху сировину, % до суми (n=3, P<0,05)		
		стебла	листя	квітки
Міристинова	C 14:0	1,68±0,08	2,96±0,15	4,92±0,25
Міристолеїнова	C 14:1	0,54±0,03	0,47±0,02	0,17±0,01
Пальмітинова	C 16:0	16,90±0,84	35,15±1,76	24,49±1,22
Пальмітолеїнова	C 16:1	0,95±0,05	2,42±0,12	1,45±0,07
Стеаринова	C 18:0	3,18±0,16	4,74±0,24	4,40±0,22
Олеїнова	C 18:1	21,74±1,09	7,40±0,37	18,28±0,91
Лінолева	C 18:2	46,82±2,34	20,42±1,02	23,85±1,19
Ліноленова	C 18:3	6,95±0,35	13,46±0,67	16,51±0,83
Арахінова	C 20:0	0,05±0,01	5,62±0,28	2,53±0,13
«—»	—	0,18±0,01	3,16±0,16	0,68±0,03
Бегенова	C 22:0	0,79±0,04	3,54±0,18	1,60±0,08
Лігноцеринова	C 24:0	0,24±0,01	0,69±0,03	1,11±0,06
Вміст ненасичених жирних кислот		76,99±3,85	44,16±2,21	60,26±3,01
Вміст насичених жирних кислот		22,83±1,14	52,69±2,63	39,05±1,95
Вміст суми неідентифікованих компонентів		0,18±0,01	3,16±0,16	0,68±0,03
Разом		100,00	100,00	100,00

Примітка. «—» – неідентифіковані компоненти.

Як видно з даних табл. 3.7, стебла, листя та квітки лізіантусу Рассела сорту *Borealis Apricot* мали такий самий профіль жирних кислот як і трава рослини.

Сума насичених жирних кислот у стеблах лізіантусу Рассела становила $22,83 \pm 1,14$ %, листях – $52,69 \pm 2,63$ % та квітках – $39,05 \pm 1,95$ % від вмісту всіх жирних кислот. Вміст ненасичених кислот дорівнював $76,99 \pm 3,85$ %, $44,16 \pm 2,21$ % та $60,26 \pm 3,01$ % відповідно.

У стеблах та квітках рослини спостерігалось переважання ненасичених жирних кислот над насиченими (у 3,37 та 1,54 рази відповідно). Вміст насичених жирних кислот у листях у 1,19 рази переважав вміст ненасичених.

Найбільшу концентрацію з-поміж насичених жирних кислот мала пальмітинова кислота, вміст якої становив $16,90 \pm 0,84$ %, $35,15 \pm 1,76$ % та $24,49 \pm 1,22$ % від вмісту всіх жирних кислот у досліджуваних органах лізіантусу Рассела. Значно менший вміст мали міристинова, стеаринова, арахінова та бегенова кислоти, вміст яких варіював у діапазоні 1,68-4,92 %, 3,18-4,74 %, 0,05-5,62 % та 0,49-3,54 % відповідно. Мінорним компонентом була лігноцеринова кислота, її вміст дорівнював 0,24-1,11 %. Слід зазначити, що вміст мажоритарної пальмітинової кислоти становив у досліджуваних органах рослини 62,71-74,02 % від суми ідентифікованих насичених жирних кислот.

З-поміж ненасичених жирних кислот пріоритет належав лінолевій кислоті, вміст якої у стеблах становив $46,82 \pm 2,34$ %, у листях – $20,42 \pm 1,02$ % та квітках – $23,85 \pm 1,19$ %. Також, до домінуючих за вмістом жирних кислот відносилися олеїнова та ліноленова кислоти, вміст яких варіював у діапазоні 7,40-21,74 % та 6,95-16,51 % відповідно. Слід також зазначити, що вміст переважаючої лінолевої кислоти становив 39,58-60,81 % від суми ненасичених жирних кислот. Мінорними компонентами були міристолеїнова та пальмітолеїнова кислоти, вміст якої варіював у діапазоні 0,17-0,54 % та 0,95-2,42 %.

Встановлено, що за вмістом у стеблах лізіантусу Рассела сорту *Borealis Apricot* переважають міристолеїнова, олеїнова та ліолева кислоти, у листях – пальмітинова, пальмітолеїнова, стеаринова, арахінова та бегенова, у квітках – міристинова, ліноленова та лігноцеринова кислоти.

3.4 Вивчення вуглеводів

Фармакологічні властивості, які виявляють рослинні полісахариди (відхаркувальна, болетамувальна, послаблююча, гіпоглікемічна, протипухлинна, імуномодулювальна, гіпохолестеринемічна, протизапальна, протівірусна, протимікробна, тонізувальна, анаболічна, противиразкова, ранозагоювальна), є перспективними для розробки нових лікарських рослинних засобів [140]. Саме тому нами було проведено дослідження полісахаридів у траві лізіантусу Рассела.

Для виявлення полісахаридів у досліджуваній сировині була проведена осадова реакція з 96 % етанолом. Наявність БАР підтверджувала поява пластинчастих згустків при додаванні до водних витягів сировини трикратної кількості 96 % етанолу. При відстоюванні випадав осад світло-коричневого кольору у витягах з квіток та стебел, коричневого кольору – у витягах з листях та трави усіх трьох сортів [51].

Ідентифікували полісахариди методом ТШХ за пунктом 2.2 (методика ДФУ 2.0, Т. 3, монографія «Подорожника яйцеподібного насіння [21])). На хроматограмах у денному світлі моноцукри проявлялися у вигляді зон адсорбції різної інтенсивності та відтінків жовтого забарвлення (гексози – глюкоза, галактоза, фруктоза, маноза та рамноза) після обробки реактивом аміногіпурової кислоти з наступним нагрівом у сушильній шафі. Пентози (арабіноза, ксилоза) проявлялися у вигляді зони помаранчево-рожевого кольору. Зони ідентифікованих сполук за забарвленням і розташуванням відповідали зонам стандартних зразків моноцукрів.

В результаті хроматографічного дослідження у траві лізіантусу Рассела досліджуваних сортів (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue) було ідентифіковано по 5 моноцукрів – арабінозу, галактозу, глюкозу, манозу та рамнозу.

Кількісний вміст полісахаридів досліджували методом гравіметрії за методикою, наведеною у п. 2.3.4. Результати дослідження наведені у табл. 3.8.

Вміст полісахаридів у траві лізіантусу Рассела

Назва сировини	Вміст групи БАР у перерахунку на абсолютно суху сировину, % (n=5, P<0,05)		
	сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
Трава	7,12±0,32	8,44±0,41	9,13±0,44
Стебла	3,44±0,16	2,11±0,11	2,68±0,12
Листя	8,17±0,40	9,93±0,42	7,98±0,35
Квітки	5,16±0,24	4,84±0,22	5,87±0,27

Встановлено, що переважаючий вміст полісахаридів спостерігався у траві лізіантусу Рассела сорту Mariachi 2 Blue (9,13±0,44 %), дещо менше – у сорті Borealis Apricot (8,44±0,41%), мінімальна кількість – у сорті Alissa 2 White (7,12±0,32 %).

Для стебел, листя та квіток лізіантусу Рассела досліджуваних сортів спостерігалася така закономірність накопичення полісахаридів: листя>квітки>стебла. У листях вміст полісахаридів був найбільшим – майже у 2,5-3,0 рази вищий, ніж у стеблах та у 1,5-2,0 рази більший, ніж у квітках.

Полісахаридний профіль трави лізіантусу Рассела досліджуваних сортів визначали методом ГХ/МС за методикою, наведеною у п. 2.3.3. Результати дослідження наведені у табл. 3.9. На рис. 3.4-3.5 наведені газові хроматограми вільних цукрів та цукрів після кислотного гідролізу трави лізіантусу Рассела на прикладі сорту Borealis Apricot.

Встановлено, що полісахаридний профіль трави лізіантусу Рассела досліджуваних сортів однорідний та складається із 7 сполук: 4 вільних цукрів та 5 цукрів після гідролізу. З-поміж вільних цукрів ідентифіковано моноцукри манозу, глюкозу, фруктозу та дицукор сахарозу, з-поміж цукрів після кислотного гідролізу встановлено наявність рамнози, арабінози, манози, глюкози та галактози. За

кількісним вмістом ідентифіковані сполуки у траві лізіантусу Рассела досліджуваних сортів варіювали незначно.

Таблиця 3.9

Вміст цукрів у траві лізіантусу Рассела

Час утриму вання, хв	Назва сполуки	Вміст цукрів у перерахунку на абсолютно суху сировину, мг/г (n=3, P<0,05)					
		сорт Alissa 2 White		сорт Borealis Apricot		сорт Mariachi 2 Blue	
		вільних	після гідролізу	вільних	після гідролізу	вільних	після гідролізу
8,51	Рамноза	—	0,82±0,03	—	0,86±0,04	—	0,76±0,03
9,03	Арабіноза	—	0,29±0,01	—	0,32±0,01	—	0,44±0,02
15,15	Маноза	7,11±0,34	0,62±0,03	6,99±0,31	0,57±0,02	7,25±0,34	0,68±0,03
15,53	Глюкоза	14,56±0,72	26,79±1,31	14,89±0,74	27,36±1,36	13,69±0,66	26,31±1,03
15,99	Галактоза	—	3,81±0,19	—	4,02±0,20	—	3,98±0,12
21,74	Фруктоза	1,53±0,07	—	1,63±0,08	—	1,72±0,08	—
34,05	Сахароза	46,09±2,30	—	45,69±2,20	—	44,23±2,21	—



Рис. 3.4 ГХ/МС-хроматограма вільних цукрів трави лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot

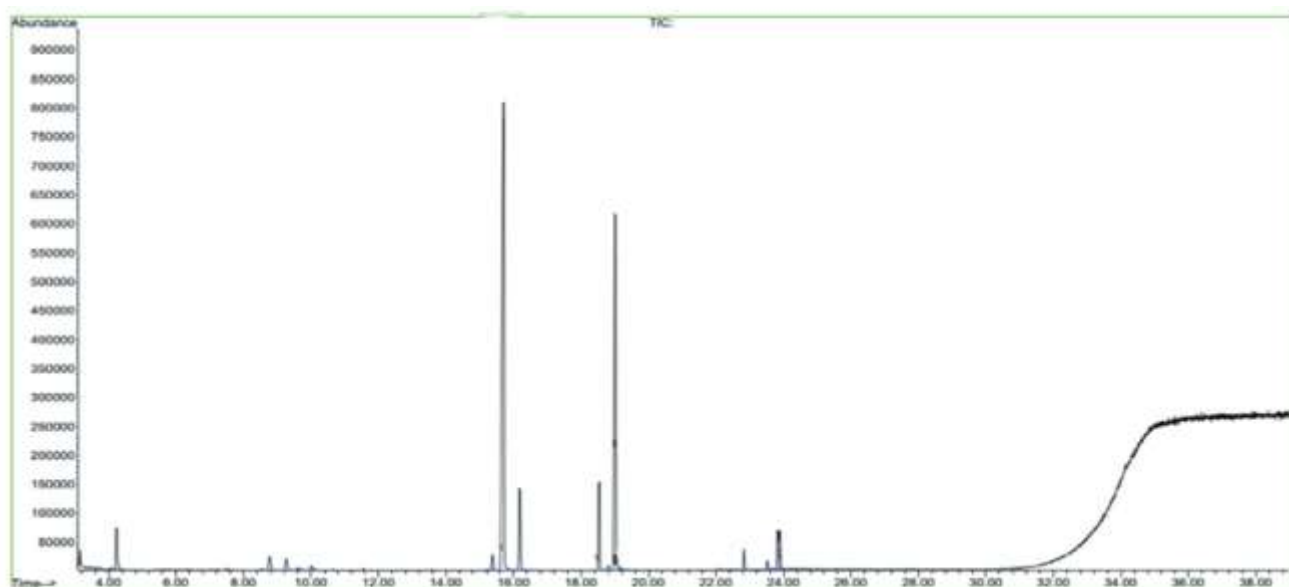


Рис. 3.5 ГХ/МС-хроматограма цукрів після кислотного гідролізу трави лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot

У досліджуваній сировині домінувала глюкоза, яка утворилася після кислотного гідролізу. Мажоритарний її вміст спостерігався у траві лізіантусу сорту Borealis Apricot (27,36 мг/г), дещо менше – у сортах Alissa 2 White (26,79 мг/г) та Mariachi 2 Blue (26,31 мг/г). У вільному стані вміст глюкози також переважав у сорті Borealis Apricot (14,89 мг/г), у сортах Alissa 2 White та Mariachi 2 Blue її вміст був незначно нижчий – 14,56 мг/г та 13,69 мг/г відповідно. Вміст сахарози у досліджуваних сортах варіював незначно і становив у сорті Alissa 2 White 46,09 мг/г, у сорті Borealis Apricot – 45,69 мг/г та у сорті Mariachi 2 Blue – 44,23 мг/г.

3.5 Вивчення органічних кислот

Органічні кислоти – величезна група БАР, які присутня в усіх рослинах. Вони відіграють важливу роль у фізіології рослин, а також у регулюванні рН і органолептичних властивостях. Відомо, що представники цього класу сполук можуть проявляти різну фармакологічну дію, а саме антиоксидантну, протизапальну, протипухлинну, гепатопротекторну, нейропротекторну, антимікробну, імуномодулювальну тощо [83, 88, 99]. Аскорбінова кислота,

посилюючи окислювально-відновні процеси в тканинах, відіграє важливу роль у бар'єрній функції шкіри, сприяє регенерації при різних пошкодженнях; знижує меланогенез в епідермісі, діє на стінки капілярів, стимулюючи синтез проколагену і перетворюючи його на колаген; сприяє утилізації глюкози, знижує проникність тканин, гальмує гідролітичні реакції, що відіграє важливу роль у регенерації опіків [83, 99, 148]. Вивчення цього класу сполук допоможе зрозуміти фармакологічні ефекти досліджуваної ЛРС.

Органічні кислоти ідентифікували методом ПХ згідно п. 2.2 у денному світлі за відповідним розташуванням зон адсорбції у порівнянні зі стандартними зразками органічних кислот та жовтим забарвленням зон адсорбції на синьому фоні після обробки хроматограм детектуючим реактивом – 0,05 % розчином 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію.

В результаті хроматографічного дослідження у траві лізіантусу Рассела досліджуваних сортів (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue) було ідентифіковано по 3 кислоти: аскорбінова, яблучна та бурштинова.

Кількісний вміст органічних кислот досліджували методом алкаліметричного титрування за методикою, наведеною у п. 2.3.5. Результати дослідження наведені у табл. 3.10.

Таблиця 3.10

Вміст органічних кислот у траві лізіантусу Рассела

Назва сировини	Вміст групи БАР у перерахунку на яблучну кислоту та абсолютно суху сировину, % (n=5, P<0,05)		
	сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
Трава	4,11±0,25	4,42±0,25	3,42±0,15
Стебла	1,74±0,08	1,94±0,09	1,59±0,07
Листя	2,56±0,12	2,32±0,15	2,24±0,11
Квітки	1,31±0,11	1,04±0,06	1,12±0,10

Встановлено, що вміст суми органічних кислот переважав у траві лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($4,42 \pm 0,25$ %), дещо менший – у сорті Alissa 2 White ($4,11 \pm 0,25$ %), мінімальна кількість була визначена у сорті Mariachi 2 Blue ($3,42 \pm 0,15$ %).

Для стебел, листя та квіток лізіантусу Рассела спостерігалася така закономірність накопичення органічних кислот: листя > стебла > квітки. У листях вміст органічних кислот був найбільшим – майже у 1,15-1,5 рази вищий, ніж у стеблах та у майже 2,0 рази більший, ніж у квітках. У листях рослини сорту Alissa 2 White вміст даного класу БАР був найбільшим – $2,56 \pm 0,12$ %, вміст у сортах Borealis Apricot та Mariachi 2 Blue був дещо нижчим – $2,32 \pm 0,15$ % та $2,24 \pm 0,11$ % відповідно. У стеблах та квітках досліджуваних сортів вміст органічних кислот варіював у діапазоні 1,59-1,94 % та 1,04-1,31 % відповідно.

Для виявлення аскорбінової кислоти у досліджуваній сировині була проведена кольорова реакція з розчином 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію. Наявність БАР у досліджуваній сировині підтверджувала поява рожевого забарвлення реакційної суміші [51].

Кількісний вміст аскорбінової кислоти досліджували методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою, наведеною у п. 2.3.6. Результати дослідження наведені у табл. 3.11.

Таблиця 3.11

Вміст аскорбінової кислоти у траві лізіантусу Рассела

Назва сировини	Вміст групи БАР у перерахунку на абсолютно суху сировину, мг/100 г (n=5, P<0,05)		
	сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
Трава	$55,32 \pm 2,74$	$62,71 \pm 3,12$	$60,46 \pm 3,01$
Стебла	$30,11 \pm 1,50$	$31,12 \pm 1,11$	$32,67 \pm 1,61$
Листя	$42,63 \pm 2,13$	$44,69 \pm 2,21$	$39,55 \pm 1,85$
Квітки	$25,16 \pm 1,21$	$28,21 \pm 1,34$	$24,72 \pm 1,23$

Дані табл. 3.11 свідчать про те, що у досліджуваній сировині у порівнянні із вмістом суми органічних кислот спостерігався незначний вміст аскорбінової кислоти. Кількісно аскорбінова кислота переважала у траві лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($62,71 \pm 3,12$ мг/100 г), незначно менше її було у сорті Mariachi 2 Blue ($60,46 \pm 3,01$ мг/100 г), мінімальна кількість визначена у сорті Alissa 2 White ($55,32 \pm 2,74$ мг/100 г).

Розподіл вмісту аскорбінової кислоти за органами рослини підпорядковувався такій самій закономірності як і при визначенні органічних кислот: листя>стебла>квітки. Мажоритарний вміст аскорбінової кислоти спостерігався у листях лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($44,69 \pm 2,21$ мг/100 г), дещо менше – у сорті Alissa 2 White ($42,63 \pm 2,13$ мг/100 г), мінімальна кількість була визначена у сорті Mariachi 2 Blue ($39,55 \pm 1,85$ мг/100 г). Для квіток рослини була відмічена така сама послідовність накопичення аскорбінової кислоти: сорт Borealis Apricot>сорт Alissa 2 White>сорт Mariachi 2 Blue.

Встановлено, що вміст аскорбінової кислоти у стеблах лізіантусу Рассела досліджуваних сортів відрізнявся незначно – $30,11$ - $31,12$ мг/100 г та підпорядковувався такій закономірності: сорт Mariachi 2 Blue>сорт Borealis Apricot>сорт Alissa 2 White.

3.6 Вивчення фенольних сполук

Фенольні сполуки є унікальними метаболітами вищих рослин. Фенольним сполукам властивий широкий спектр біологічної дії, насамперед потужна антиоксидантна, радикалозв'язувальна, капіляророзміцнювальна, антибактеріальна, протівірусна, протизапальна, імуностимулювальна, гіпоазотемічна, антибластомна та комплексоутворювальна активності [3, 9, 147]. Високий вміст фенольних сполук у рослинах, універсальне поширення та багато корисних властивостей висувають цю групу БАР на перший план при вивченні нових рослинних джерел для створення на їх основі лікарських засобів.

3.6.1 Вивчення гідроксикоричних кислот

Гідроксикоричні кислоти досліджували методом ПХ згідно п. 2.2. Ідентифікацію речовин проводили у порівнянні зі стандартними зразками гідроксикоричних кислот (хлорогенової, кофейної, *n*-кумарової, ферулової кислот) за флуоресценцією зон в УФ-світлі та величиною R_f на хроматограмі. Кислоти ідентифікували за блакитною або жовтою флуоресценцією зон адсорбції в УФ-світлі, яка посилювалася при обробці хроматограми детектуючим реактивом.

У результаті проведених досліджень у траві кожного з досліджуваних сортів лізіантусу Рассела виявлено не менше 5 гідроксикоричних кислот, які в УФ-світлі мали блакитне забарвлення різної інтенсивності, що посилювалося після обробки хроматограм парами аміаку. При порівнянні R_f виявлених сполук та стандартних зразків гідроксикоричних кислот були ідентифіковані кофейна, хлорогенова та *n*-кумарова кислоти. При порівняльному аналізі інтенсивності флуоресценції плям виявлено, що найбільш яскравим світінням характеризується пляма, ідентифікована як хлорогенова кислота [134].

Кількісний вміст гідроксикоричних кислот досліджували методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою, наведеною у п. 2.3.6. Результати дослідження наведені у табл. 3.12.

Таблиця 3.12

Вміст гідроксикоричних кислот у траві лізіантусу Рассела

Назва сировини	Вміст групи БАР у перерахунку на хлорогенову кислоту та абсолютно суху сировину, % (n=5, P<0,05)		
	сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
Трава	0,74±0,03	0,69±0,02	0,83±0,04
Стебла	0,70±0,03	0,62±0,03	0,59±0,03
Листя	2,10±0,10	2,40±0,11	2,20 ±0,11
Квітки	1,80±0,07	2,12±0,09	1,96±0,06

Переважаючий вміст гідроксикоричних кислот спостерігався у траві лізіантусу Рассела сорту Mariachi 2 Blue ($0,83 \pm 0,04$ %), дещо менше – у сорті Alissa 2 White ($0,74 \pm 0,03$ %), мінімальна кількість визначена у сорті Borealis Apricot ($0,69 \pm 0,02$ %) [134].

Для досліджуваних сортів розподіл вмісту гідроксикоричних кислот за органами рослини був однаковий та підпорядковувався такій послідовності: листя>квітки>стебла. У листях вміст гідроксикоричних кислот був у 1,13-1,16 рази вищий, ніж у квітках та у 3,0-3,87 рази більший, ніж у стеблах.

Мажоритарний вміст гідроксикоричних кислот спостерігався у листях лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($2,40 \pm 0,11$ %), дещо менше – у сорті Mariachi 2 Blue ($2,20 \pm 0,11$ %), мінімальна кількість була визначена у сорті Alissa 2 White ($2,10 \pm 0,10$ %), тобто спостерігалась така закономірність накопичення: сорт Borealis Apricot>сорт Mariachi 2 Blue>сорт Alissa 2 White.

Для квіток рослини була відмічена така сама послідовність накопичення гідроксикоричних кислот: сорт Borealis Apricot>сорт Mariachi 2 Blue>сорт Alissa 2 White.

Вміст гідроксикоричних кислот у стеблах лізіантусу Рассела досліджуваних сортів варіював незначно – 0,59-0,70 % та підпорядковувався такій закономірності: сорт Borealis Apricot>сорт Alissa 2 White >сорт Mariachi 2 Blue.

3.6.2 Вивчення флавоноїдів

Одними з найпоширеніших рослинних метаболітів є флавоноїди. Завдяки високій біологічній активності ці сполуки знаходять широке застосування у медицині при лікуванні захворювань різної етіології. Вони виявляють антиканцерогенну, антиалергійну, протівірусну, противиразкову, кардіотонічну, протизапальну дію тощо [3, 105].

Наявність флавоноїдів визначали за допомогою кольорових (ціанідинаова реакція в модифікації за Бріантом, з 10 % етанольним розчином феруму (III) хлориду, 10 % етанольним розчином калію гідроксиду, 2 % етанольним розчином

алюмінію хлориду, з борно-лимонним реактивом) та осадової (з 2 % етанольним розчином плюмбуму ацетату) реакцій. Позитивний результат реакцій ідентифікації свідчив про наявність у досліджуваній сировині речовин флавоноїдної природи переважно у глікозидній формі (ціанідинова реакція в модифікації за Бріантом) [51].

Ідентифікацію флавоноїдів проводили методом ТШХ згідно п. 2.2. У результаті хроматографування спостерігали зони жовтого та коричневого забарвлення різної інтенсивності, що посилювалося після обробки хроматограм парами аміаку. При порівнянні R_f виявлених сполук та стандартних зразків флавоноїдів у сировині лізіантусу Рассела усіх досліджуваних сортів було виявлено не менше 8 сполук флавоноїдної природи, з яких ідентифіковано по 3 сполуки – рутин, кемпферол і кверцетин [48].

Кількісний вміст флавоноїдів досліджували методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою, наведеною у п. 2.3.6. Результати дослідження наведені у табл. 3.13.

Переважаючий вміст флавоноїдів спостерігався у траві лізіантусу Рассела сорту Mariachi 2 Blue ($1,76 \pm 0,01\%$), дещо менше – у сорті Alissa 2 White ($1,71 \pm 0,01\%$), мінімальна кількість визначена у сорті Borealis Apricot ($1,69 \pm 0,01\%$) [48].

Таблиця 3.13

Вміст флавоноїдів у траві лізіантусу Рассела

Назва сировини	Вміст групи БАР у перерахунку на рутин та абсолютно суху сировину, % (n=5, P<0,05)		
	сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
Трава	$1,71 \pm 0,01$	$1,69 \pm 0,01$	$1,76 \pm 0,01$
Стебла	$0,42 \pm 0,01$	$0,39 \pm 0,01$	$0,33 \pm 0,01$
Листя	$1,22 \pm 0,01$	$1,49 \pm 0,01$	$1,29 \pm 0,01$
Квітки	$1,37 \pm 0,02$	$1,62 \pm 0,02$	$1,44 \pm 0,01$

Для досліджуваних сортів розподіл вмісту флавоноїдів за органами рослини був однаковий та підпорядковувався такій послідовності: квітки>листя>стебла. У квітках вміст флавоноїдів був у 1,08-1,12 рази вищий, ніж у листях та у 3,26-4,36 рази більший, ніж у стеблах.

Максимальна кількість флавоноїдів містилася у квітках лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($1,62 \pm 0,02$ %), дещо менше – у сорті Mariachi 2 Blue ($1,44 \pm 0,01$ %), мінімальна кількість була визначена у сорті Alissa 2 White ($1,37 \pm 0,02$ %). Переважаючий вміст флавоноїдів у листях рослини спостерігався у сорті Borealis Apricot ($1,49 \pm 0,01$ %), дещо менше – у сорті Mariachi 2 Blue ($1,29 \pm 0,01$ %), мінімальна кількість була визначена у сорті Alissa 2 White ($1,22 \pm 0,01$ %). Для квіток та листя рослини була відмічена така послідовність накопичення флавоноїдів: сорт Borealis Apricot>сорт Mariachi 2 Blue>сорт Alissa 2 White.

Вміст флавоноїдів у стеблах лізіантусу Рассела досліджуваних сортів варіював незначно – 0,33-0,42 % та підпорядковувався такій закономірності: сорт Alissa 2 White >сорт Borealis Apricot>сорт Mariachi 2 Blue.

Встановлено, що незалежно від сорту вміст флавоноїдів у досліджуваній сировині лізіантусу Рассела підпорядковувався наступній залежності: трава>квітки>листя>стебла [48].

3.6.3 Вивчення складу фенольних кислот та флавоноїдів методом ВЕРХ

Хімічний профіль фенольних сполук у траві лізіантусу Рассела досліджуваних сортів аналізували методом ВЕРХ за методикою, наведеною у п. 2.3.2.

Результати дослідження наведені у табл. 3.14. На рис. 3.6 наведена ВЕРХ-хроматограма фенольних сполук трави лізіантусу Рассела на прикладі сорту Borealis Apricot.

Вміст фенольних сполук у траві лізіантусу Рассела

Час утриму- вання, хв	Назва сполуки	Вміст фенольних сполук у перерахунку на абсолютно суху сировину, мкг/г (n=3, P<0,05)		
		сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
1	2	3	4	5
2,91	<i>n</i> -Катехова кислота	21,44±1,07	52,52±2,63	13,64±0,68
3,37	—	н/в	н/в	н/в
3,53	—	н/в	н/в	н/в
3,68	Рутин	1791,37±89,57	1911,28±95,56	1574,36±78,72
3,91	Кафтарова кислота	97,32±4,87	123,11±6,16	135,17±6,76
4,49	Ізокверцитрин	176,54±8,83	220,43±11,02	232,19±11,61
5,02	Кверцетин-3-О- глюкозид	1039,12±51,96	916,73±45,84	817,69±40,88
6,02	<i>n</i> -Кумарова кислота	81,93±4,10	70,91±3,55	75,37±3,77
9,47	Ферулова кислота	201,50±10,08	236,25±11,81	218,20±10,91
11,18	Галова кислота	466,59±23,33	561,53±28,08	536,11±26,81
13,93	Бузкова кислота	61,02±3,05	63,12±3,16	57,87±2,89
14,61	Гіперозид	129,13±6,46	134,84±6,74	132,94±6,65
15,92	Лютеолін	169,85±8,49	152,54±7,63	117,33±5,87
16,48	Лютеолін-7,3'- диглюкозид	202,34±10,12	220,43±11,02	198,36±9,92
17,42	Кверцетин	1080,01±54,00	1387,13±69,36	1301,55±65,08
18,36	Протокатехова кислота	139,32±6,97	179,21±8,96	148,61±7,43
18,84	Кемпферол	680,94±34,05	743,41±37,17	649,33±32,47
19,15	Хлорогенова кислота	3798,21±189,91	4298,44±214,92	4091,52±204,58

1	2	3	4	5
19,84	Неохлорогенова кислота	1136,17±56,81	1041,34±52,07	1019,43±50,97
21,34	<i>n</i> -Гідроксибензой- на кислота	266,26±13,31	273,96±13,70	253,37±12,67
22,28	Кофейна кислота	423,52±21,18	475,42±23,77	455,24±22,76
25,48	Лютеолін-7-О-β-D- глюкопіранозид	402,19±20,11	482,64±24,13	439,44±21,97
Сума фенольних кислот		6693,28±334,66	7375,81±368,79	7004,53±350,23
Сума флавоноїдів		5671,49±283,57	6169,43±308,47	5463,19±273,16
Разом фенольних сполук		12364,77±618,24	13545,24±677,26	12467,72±623,3 9

Примітки:

1. — — не ідентифіковані сполуки,
2. н/в – не визначено.

mAU

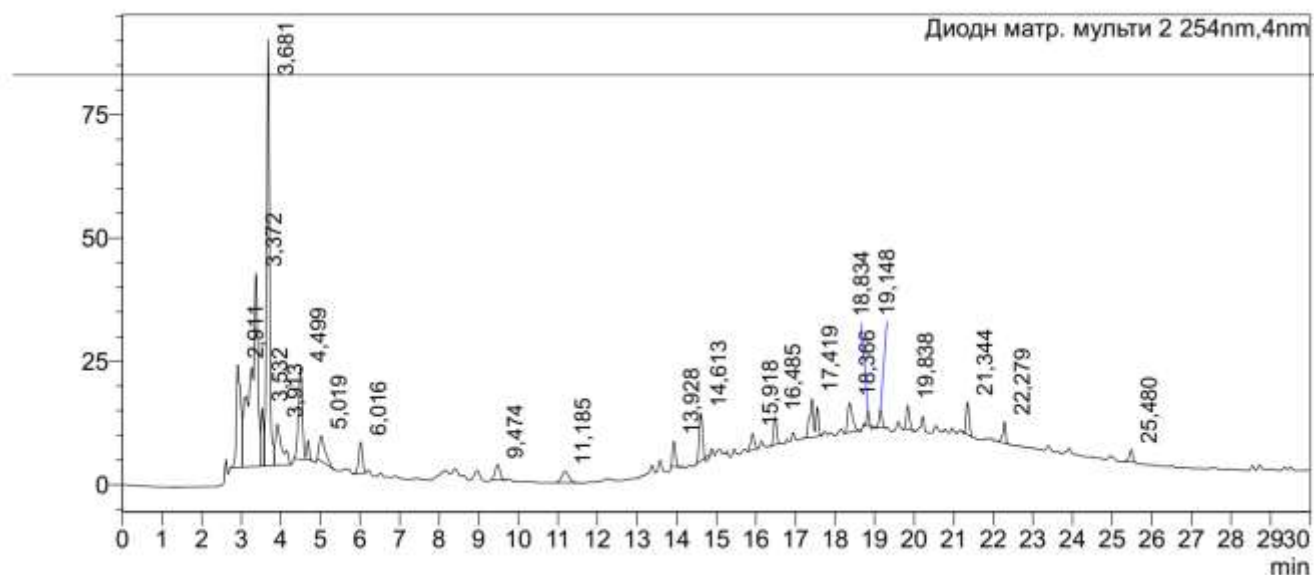


Рис. 3.6 ВЕРХ-хроматограма фенольних сполук трави лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot

Встановлено, що трава лізіантусу Рассела досліджуваних сортів має однаковий профіль фенольних сполук, який розрізнявся тільки кількісно. З-поміж виявлених 22 сполук ідентифіковано 11 фенольних кислот (*n*-катехова, кафтарова, *n*-кумарова, ферулова, галова, бузкова, протокатехова, хлорогенова, неохлорогенова, *n*-гідроксибензойна та кофейна) та 9 флавоноїдів (рутин, ізокверцитрин, кверцетин-3-О-глюкозид, гіперозид, лютеолін, лютеолін-7,3'-диглюкозид, кверцетин, кемпферол та лютеолін-7-О- β -D-глюкопіранозид). Два із досить значних піків на хроматограмі ідентифікувати не вдалося через відсутність відповідних стандартів.

Максимальна сума ідентифікованих фенольних сполук спостерігалася у траві лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($13545,24 \pm 677,26$ мкг/г), у сортах Alissa 2 White та Mariachi 2 Blue вона була незначно нижче ($12364,77 \pm 618,24$ мкг/г та $12467,72 \pm 623,39$ мкг/г відповідно). За вмістом у досліджуваній сировині переважала сума фенольних кислот: домінуюча кількість її була визначена у сорті Borealis Apricot ($7375,81 \pm 368,79$ мкг/г), дещо менше – у сорті Alissa 2 White ($6693,28 \pm 334,66$ мкг/г) та мінімальна – у сорті Mariachi 2 Blue ($7004,53 \pm 350,23$ мкг/г). Вміст суми фенольних кислот становив 54,13-56,18 % від суми усіх ідентифікованих речовин. Переважаючий вміст флавоноїдів спостерігався у траві лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($6169,43 \pm 308,47$ мкг/г), у сортах Alissa 2 White та Mariachi 2 Blue він був дещо нижче ($5671,49 \pm 283,57$ мкг/г та $5463,19 \pm 273,16$ мкг/г відповідно).

З-поміж ідентифікованих фенольних кислот у досліджуваній сировині у мажоритарних кількостях містилися хлорогенова та неохлорогенова кислоти, на які припадало 30,72-32,82 % та 7,69-9,19 % від суми усіх ідентифікованих речовин (56,75-58,41 % від суми фенольних кислот). У мінімальних кількостях визначені *n*-катехова, бузкова та *n*-кумарова кислоти, їх вміст у сировині менше 1,0 %.

З-поміж флавоноїдів у переважаючих кількостях містилися рутин та кверцетин, на які припадало 14,11-14,49 % та 8,73-10,44 % від суми усіх ідентифікованих речовин (28,82-31,59 % та 19,04-23,82 % від суми флавоноїдів). Незначно нижчий вміст кверцетин-3-О-глюкозиду – 6,56-8,40 % від суми усіх

ідентифікованих речовин (14,86-18,32 % від суми флавоноїдів). У мінорних кількостях визначені гіперозид, лютеолін, ізокверцитрин та лютеолін-7,3'-диглюкозид, їх вміст у сировині коливається у діапазоні 0,94-1,64 % від суми усіх ідентифікованих речовин.

3.6.4 Вивчення антоціанів

Антоціани – це клас фенольних сполук, які обумовлюють синє, фіолетове, червоне забарвлення квіток, плодів та інших частин рослини. Вони виявляють потужну антиоксидантну, спазмолітичну, протизапальну, адаптогенну, стимулюючу, сечогінну, бактерицидну, антиалергійну, капілярозміцнювальну активність тощо [40, 76, 80, 92, 158]. Також науково доведене на експериментальних моделях *in vitro* та *in vivo*, так і в клінічних та епідеміологічних дослідженнях інгібування антоціанами різних форм раку, метаболічних, серцево-судинних та нейродегенеративних захворювань [80]. Антоціани сприяють зниженню рівня холестерину в крові; підвищенню гостроти зору, нормалізації внутрішньоочного тиску; зміцненні імунітету і захисних функцій організму [40, 76, 80, 92, 158].

Усвідомлення потенціалу антоціанів як власне пігментів, а також як компонентів функціонального харчування, що сприяють попередженню та зниженню ризику розвитку хронічних захворювань, дає підставу більш детального їх вивчення.

Наявність антоціанів визначали за допомогою хімічних реакцій, що базуються на здатності антоціанів змінювати забарвлення залежно від кислотності середовища (при рН 6,7-8 – синє, синьо-зелене, при рН 9 – зелене, понад рН 10 – жовте) [3, 36]. Яскраво-червоне забарвлення реакційної суміші при проведенні реакції з 10 % хлористоводневою кислотою, синьо-зелене забарвлення реакційної суміші при проведенні реакції з 10 % етанольним розчином натрію гідроксиду, посилення яскраво-червоного забарвлення реакційної суміші при проведенні реакції з 10 % розчином кислоти щавлевої в суміші ацетон-вода (1:1), утворення

аморфного осаду синьо-зеленого кольору, яке пояснюється накладенням кольорів: флаволи, флавоноли (яскраво-жовтий) і антоціани (синій), при проведенні реакції з 10 % етанольним розчином плюмбуму (II) ацетату основним свідчать про наявність антоціанів у траві лізіантусу Рассела усіх досліджуваних сортів, окрім квіток сорту Alissa 2 White.

Ідентифікацію антоціанів проводили методом ТШХ згідно п. 2.2. У результаті хроматографування спостерігали зони рожевого, фіолетово-рожевого та фіолетового забарвлення різної інтенсивності, які після обробки хроматограми парами аміаку набували синього забарвлення. При порівнянні R_f виявлених сполук та стандартних зразків антоціанів у траві, стеблах та листях лізіантусу Рассела усіх досліджуваних сортів було виявлено не менше 3 сполук, з яких ідентифіковано по 2 сполуки – дельфінідин-3-О-глікозид та ціанідин-3-О-глікозид. У квітках лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot було виявлено не менше 3 сполук, з яких ідентифіковано 2 сполуки – мальвідин-3-О-глікозид та ціанідин-3-О-глікозид, у сорті Mariachi 2 Blue було виявлено не менше 4 сполук, з яких ідентифіковано 3 сполуки – дельфінідин-3-О-глікозид, ціанідин-3-О-глікозид, ціанідин-3,5-диглікозид. У квітках сорту Alissa 2 White антоціанів не виявлено.

Для квіток лізіантусу Рассела сорту Mariachi 2 Blue було проведено дослідження із впливу кислотності на забарвлення реакційної суміші. Встановлено, що колір екстракту квіток лізіантусу Рассела при рН нижче 3,2 набуває червоного забарвлення, при рН від 3,2 до 5,2 забарвлення розчину змінюється з фіолетового на синій, при рН від 5,2 до 8,2 набуває блакитного забарвлення, а при рН від 8,2 до 10, 2 колір змінюється зі світло-блакитного на темно-зелений.

Кількісний вміст антоціанів досліджували методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою, наведеною у п. 2.3.6. Результати дослідження наведені у табл. 3.15.

Вміст антоціанів у траві лізіантусу Рассела

Назва сировини	Вміст групи БАР у перерахунку на ціанідин-3-О-глюкозиду хлорид та абсолютно суху сировину, % (n=5, P<0,05)		
	сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
Трава	1,31±0,06	3,08±0,15	5,17±0,25
Стебла	0,57±0,02	0,89±0,04	1,17±0,05
Листя	1,04±0,04	1,21±0,06	1,63±0,07
Квітки	сліди	3,93±0,17	8,63±0,41

Встановлено, що незалежно від сорту вміст антоціанів у досліджуваній сировині лізіантусу Рассела підпорядковувався наступній залежності: квітки>трава>листя>стебла.

Переважаючий вміст антоціанів спостерігався у квітках лізіантусу Рассела сорту Mariachi 2 Blue (8,63±0,41 %), дещо менше – у сорті Borealis Apricot (3,93±0,17 %).

Максимальна кількість антоціанів у траві лізіантусу Рассела містилася у сорті Mariachi 2 Blue (5,17±0,25 %), дещо менше – у сорті Borealis Apricot (3,08±0,15 %), мінімальна кількість була визначена у сорті Alissa 2 White (1,31±0,06 %).

У квітках вміст антоціанів був у 1,28-1,67 рази вищий, ніж у траві та у 3,25-5,29 рази більший, ніж у листях.

Переважаючий вміст антоціанів у листях рослини спостерігався також у сорті Mariachi 2 Blue (1,63±0,07 %), дещо менше – у сорті Borealis Apricot (1,21±0,06 %), мінімальна кількість була визначена у сорті Alissa 2 White (1,04±0,04 %). Вміст антоціанів у стеблах лізіантусу Рассела досліджуваних сортів варіював у діапазоні 0,57-1,17 %.

Для досліджуваної сировини рослини була відмічена така послідовність накопичення антоціанів: сорт Mariachi 2 Blue>сорт Borealis Apricot>сорт Alissa 2 White.

3.6.5 Вивчення поліфенольних сполук

Поліфеноли та їх похідні широко поширені в природі і практично є обов'язковими компонентами багатьох рослин. Спектр біологічної дії поліфенолів і дубильних речовин надзвичайно широкий – вони мають антимікробні, протизапальні, протигрибкові, антигістамінні, антиканцерогенні, антимутагенні, протинабрякові властивості, стабілізують клітинні мембрани [3, 81]. Висока фізіологічна активність і низька токсичність цих сполук роблять їх особливо важливими для фармацевтичної, косметичної та харчової промисловості.

Дубильні речовини виявляли за допомогою хімічних реакцій. Позитивний результат реакцій (утворення осаду) з 1% розчином желатини, 1% розчином хініну хлориду, з бромною водою свідчив про наявність цієї групи БАР у досліджуваній сировині. У результаті реакції з феруму (III) амонію сульфату виявлено дубильні речовини переважно конденсованої групи, про що свідчить чорно-зелене забарвлення реакційної суміші [51].

Ідентифікацію поліфенольних сполук проводили методом ПХ згідно п. 2.2. У результаті хроматографування спостерігали зони жовтого, коричневого та блакитного забарвлення різної інтенсивності, що змінювала забарвлення після обробки хроматограм 1 % етанольним розчином феруму (III) хлориду. При порівнянні R_f виявлених сполук та стандартних зразків поліфенольних сполук у сировині лізіантусу Рассела усіх досліджуваних сортів було виявлено не менше 18 сполук фенольної природи, з яких ідентифікована тільки галова кислота.

Кількісний вміст танінів досліджували методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою, наведеною у п. 2.3.6. Результати дослідження наведені у табл. 3.16.

Переважаючий вміст танінів спостерігався у траві лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($3,69 \pm 0,18$ %), дещо менше – у сорті Mariachi 2 Blue ($3,53 \pm 0,16$ %), мінімальна кількість визначена у сорті Alissa 2 White ($3,35 \pm 0,15$ %).

Вміст танінів у траві лізіантусу Рассела

Назва сировини	Вміст групи БАР у перерахунку на пірогалол та абсолютно суху сировину, % (n=5, P<0,05)		
	сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
Трава	3,35±0,15	3,69±0,18	3,53±0,16
Стебла	1,29±0,05	1,14±0,05	1,56±0,08
Листя	2,48±0,11	2,33±0,11	2,32±0,11
Квітки	2,23±0,11	2,67±0,13	2,13±0,10

Для сортів Alissa 2 White та Mariachi 2 Blue розподіл вмісту танінів за органами рослини був однаковий та підпорядковувався такій послідовності: листя>квітки>стебла, для сорту Borealis Apricot – квітки>листя> стебла.

Максимальна кількість танінів у листях лізіантусу Рассела містилася у сорті Alissa 2 White (2,48±0,11 %), дещо менше – у сортах Borealis Apricot та Mariachi 2 Blue (2,33±0,11 % та 2,32±0,11 % відповідно). У листях вміст танінів був незначно вищий, ніж у квітках, та майже удвічі більший, ніж у стеблах.

Переважаючий вміст танінів у квітках рослини спостерігався у сорті Borealis Apricot (2,67±0,13 %), дещо менше – у сорті Alissa 2 White (2,23±0,11 %), мінімальна кількість була визначена у сорті Mariachi 2 Blue (2,13±0,10 %).

Вміст танінів у стеблах лізіантусу Рассела досліджуваних сортів варіював незначно – 1,14-1,56 % та підпорядковувався такій закономірності: сорт Mariachi 2 Blue>сорт Alissa 2 White>сорт Borealis Apricot.

3.7 Вивчення іридоїдів

Іридоїди – це клас БАР, які широко поширений у рослинному світі. В останні роки завдяки прогресу фітохімічних досліджень було підтверджено їх

нейропротекторну, гепатопротекторну, протизапальну, протипухлинну, гіпоглікемічну та гіполіпідемічну активність [3, 77, 117].

Іридоїди виявляли за допомогою хімічних реакцій. Позитивний результат реакцій з реактивом Шталя (синє забарвлення реакційної суміші) та з реактивом Трим-Хілла (блакитне забарвлення з наступним випадінням фіолетово-чорного осаду) свідчив про наявність цієї групи БАР у досліджуваній сировині [51].

Ідентифікацію іридоїдів проводили методом ТШХ згідно п. 2.2. У результаті хроматографування спостерігали зони коричневого, синього і синьо-бузкового забарвлення різної інтенсивності, які посилюються після обробки хроматограм детектуючим реактивом. При порівнянні R_f виявлених сполук та стандартних зразків іридоїдів у сировині лізіантусу Рассела усіх досліджуваних сортів було виявлено не менше 5 сполук, з яких ідентифіковані генціопікрозид та сверціамарин.

Кількісний вміст іридоїдів досліджували методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою, наведеною у п. 2.3.6. Результати дослідження наведені у табл. 3.17.

Таблиця 3.17

Вміст іридоїдів у траві лізіантусу Рассела

Назва сировини	Вміст групи БАР у перерахунку на гарпагіду ацетат та абсолютно суху сировину, % (n=5, P<0,05)		
	сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
Трава	1,98±0,09	2,71±0,22	2,57±0,12
Стебла	0,46±0,02	0,59±0,03	0,34±0,02
Листя	1,79±0,08	2,11±0,10	2,05±0,11
Квітки	1,48±0,07	1,71±0,07	1,14±0,05

Переважаючий вміст іридоїдів спостерігався у траві лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot (2,71±0,22 %), дещо менше – у сорті Mariachi 2 Blue (2,57±0,12 %), мінімальна кількість визначена у сорті Alissa 2 White (1,98±0,09 %).

Для досліджуваних сортів розподіл вмісту іридоїдів за органами рослини був однаковий та підпорядковувався такій послідовності: листя>квітки>стебла.

Максимальна кількість іридоїдів у листях лізіантусу Рассела містилася у сорті Borealis Apricot та Mariachi 2 Blue ($2,11 \pm 0,10$ % та $2,05 \pm 0,11$ % відповідно), дещо менше – у сорті Alissa 2 White ($1,79 \pm 0,08$ %). У листях вміст іридоїдів був вищий у 1,21-1,80 разів, ніж у квітках, та майже у 2,90-3,35 рази більший, ніж у стеблах.

Переважаючий вміст іридоїдів у квітках рослини спостерігався також у сорті Borealis Apricot ($1,71 \pm 0,07$ %), дещо менше – у сорті Alissa 2 White ($1,48 \pm 0,07$ %), мінімальна кількість була визначена у сорті Mariachi 2 Blue ($1,14 \pm 0,05$ %).

Вміст іридоїдів у стеблах лізіантусу Рассела досліджуваних сортів варіював незначно – 0,34-0,59 % та підпорядковувався такій закономірності: сорт Borealis Apricot>сорт Alissa 2 White>сорт Mariachi 2 Blue.

3.8 Вивчення ефірної олії

Ефірні олії – це вторинні метаболіти рослин, які мають широкий спектр фармакологічної активності, а саме антибактеріальну, протигрибкову, антипротозойну, протипухлинну, антимуtagenну, заспокійливу, антиостеопоротичну, антиоксидантну, протизапальну, гепатозахисну, спазмолітичну та відхаркувальну тощо [131].

Визначення кількісного вмісту ефірної олії у траві та квітках лізіантусу Рассела проводили методом перегонки з водяною парою за методикою, наведеною у п. 2.3.6. Перегонку проводили протягом 2 години. Результати дослідження наведені у табл. 3.18.

Одержана ефірна олія – прозора масляниста рідина світло-жовтого (трава всіх сортів та квіток сорту Alissa 2 White) або світло-рожевого (квітки сортів Borealis Apricot та Mariachi 2 Blue) кольору, запах не сильний, специфічний, смак пекучий.

Переважаючий вихід ефірної олії спостерігався у квітках лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($0,61 \pm 0,03$ %), дещо менше – у сорті Alissa 2 White ($0,54 \pm 0,02$ %), мінімальна кількість визначена у сорті Mariachi 2 Blue ($0,45 \pm 0,02$ %). Вміст ефірної олії у траві лізіантусу Рассела досліджуваних сортів був у майже двічі нижчий за квітки та варіював у діапазоні 0,17-0,30 %, він підпорядковувався такій послідовності накопичення: сорт Borealis Apricot > сорт Alissa 2 White > сорт Mariachi 2 Blue.

Таблиця 3.18

Вміст ефірної олії у траві та квітках лізіантусу Рассела

Назва сировини	Вміст групи БАР у перерахунку на абсолютно суху сировину, % (n=5, P<0,05)		
	сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
Трава	$0,21 \pm 0,01$	$0,30 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,01$
Квітки	$0,54 \pm 0,02$	$0,61 \pm 0,03$	$0,45 \pm 0,02$

З метою розширення відомостей щодо хімічного складу нових рослинних джерел біологічно активних сполук, ми провели комплексне дослідження летких сполук лізіантусу Рассела. Леткі сполуки містять велику кількість різних за складом органічних сполук, переважну масу яких становлять речовини ізопреноїдної структури – моно- та сесквітерпени, кисневмісні ароматичні сполуки: спирти, альдегіди, кислоти, етери, лактони, а також вуглеводні та деякі гетероциклічні сполуки [3, 131].

Хімічний профіль летких сполук у квітках лізіантусу Рассела досліджуваних сортів аналізували методом ГХ/МС за методикою, наведеною у п. 2.3.3. Результати дослідження наведені у табл. 3.19. На рис. 3.7 наведена ГХ/МС-хроматограма летких сполук квіток лізіантусу Рассела на прикладі сорту Borealis Apricot.

Аналіз даних табл. 3.19 показав, що профіль летких сполук у квітках лізіантусу Рассела неоднорідний та складається із 23 сполук: у сорті Alissa 2 White ідентифіковано 18 сполук, у сорті Borealis Apricot – 22 та у сорті Mariachi 2 Blue – 18.

Вміст летких сполук у квітках лізіантусу Рассела

Час утриму- вання, хв	Назва сполуки	Вміст летких сполук у перерахунку на абсолютно суху сировину, мкг/г (n=3, P<0,05)		
		сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
1	2	3	4	5
5,68	1-Октен-3-ол	14,61±0,33	12,45±0,26	12,56±0,25
5,98	3-Октанол	4,44±0,19	6,57±0,23	—
8,04	3,7-Диметил-1,6- октадієн-3-ол	32,41±1,64	38,45±1,75	34,09±1,28
10,16	β-Метилбензенпропанол	6,24±0,23	6,79±0,12	5,42±0,17
12,11	(Z)-3-Метил-2-(2-пенте- нил)-2-циклопентен-1-он	13,01±0,62	15,51±0,71	13,78±0,68
13,48	[s-E,E]-1-Метил-5- метилен-8-(1-метиле- тил)-1,6-циклодекадієн	—	4,22±0,18	5,36±0,21
13,56	Копаєн	9,41±0,39	7,84±0,38	11,25±0,53
13,68	(E)-1-(2,6,6-Триметил- 1,3-циклогексадієн-1-іл)- 2-бутен-1-он	5,51±0,22	4,30±0,19	5,41±0,21
13,75	[1S-(1-α-,3a-α-,3b-β-,6a- β-,6b-α-)]-Декагідро-3a- метил-6-метилен-1-(1- метилетил)-циклобута- [1,2:3,4]дициклопентен	15,35±0,72	10,38±0,47	—
14,23	1-Етил-3,5- диметилбензен	3,06±0,15	3,14±0,16	—

1	2	3	4	5
14,41	β -Каріофілен	20,11 $\pm$ 1,02	30,19 $\pm$ 1,50	24,70 $\pm$ 1,21
14,55	1H-[3aS-(3a- α -,3b- β -,4- β -,7- α -,7aS*)]-Октагідро-7-метил-3-метилен-4-(1-метилетил)-циклопента[1,3]циклопропа[1,2]бензен	–	7,05 $\pm$ 0,26	4,71 $\pm$ 0,21
14,83	[s-E,E]-1-Метил-5-метилен-8-(1-метилетил)-1,6-циклодекадієн	2,79 $\pm$ 0,11	2,67 $\pm$ 0,12	2,05 $\pm$ 0,10
15,01	α -Каріофілен	31,79 $\pm$ 1,15	34,33 $\pm$ 1,71	36,24 $\pm$ 1,13
16,19	(1S-цис)-1,2,3,5,6,8a-Гексагідро-4,7-диметил-1-(1-метилетил)-нафтален	–	6,33 $\pm$ 0,23	5,16 $\pm$ 0,24
16,80	Неролідол-2	5,70 $\pm$ 0,22	7,32 $\pm$ 0,35	–
17,17	(–)-Спатуленол	–	10,51 $\pm$ 0,51	9,36 $\pm$ 0,49
17,28	Каріофілен оксид	161,22 $\pm$ 8,03	177,12 $\pm$ 1,54	162,39 $\pm$ 7,26
17,71	<i>o</i> -Мент-8-єн	–	6,27 $\pm$ 0,31	2,28 $\pm$ 0,11
18,06	3,4-Диметил-3-циклогексен-1-карбоксальдегід	21,50 $\pm$ 1,03	38,51 $\pm$ 1,26	–
18,17	(+)- <i>enl</i> -Біциклосесквіфеландрен	15,30 $\pm$ 0,71	–	19,22 $\pm$ 0,88
18,40	α -Кадінол	15,15 $\pm$ 0,70	20,46 $\pm$ 1,03	17,84 $\pm$ 0,66
21,17	6,10,14-Триметил-2-пентадеканон	12,88 $\pm$ 0,55	15,91 $\pm$ 0,52	17,65 $\pm$ 0,65

Примітка. – – не ідентифіковані сполуки.

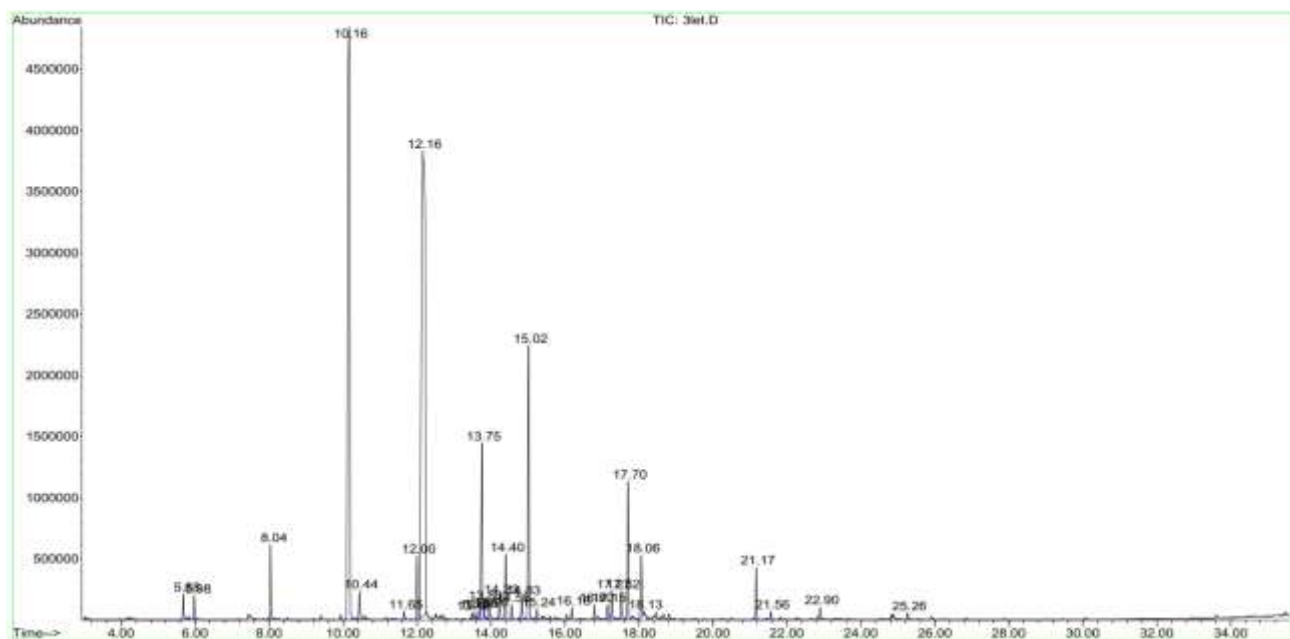


Рис. 3.7 ГХ/МС-хроматограма летких сполук квіток лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot

Кількісний вміст цих речовин переважав у квітках рослини сорту Borealis Apricot та становив 466,32 мкг/г. Дещо менший вміст летких сполук спостерігався у квітках лізіантусу Рассела сортів Alissa 2 White та Mariachi 2 Blue – 390,48 мкг/г та 389,47 мкг/г відповідно.

У всіх досліджуваних сортах містилися 1-октен-3-ол, 3,7-диметил-1,6-октадієн-3-ол, β -метилбензенпропанол, (Z)-3-метил-2-(2-пентенил)-2-циклопентен-1-он, копаєн, (E)-1-(2,6,6-триметил-1,3-циклогексادیєн-1-іл)-2-бутен-1-он, β -каріофілен, [s-E,E]-1-метил-5-метилен-8-(1-метилетил)-1,6-циклодекадієн, α -каріофілен, каріофілен оксид, α -кадінол, 6,10,14-триметил-2-пентадеканон.

Мажоритарний вміст був визначений для каріофілен оксиду, його вміст у досліджуваних сортах дорівнював $161,22 \pm 8,03$ мкг/г, $177,12 \pm 1,54$ мкг/г та $162,39 \pm 7,26$ мкг/г відповідно. На його частку припадало 37,98-41,70 % від суми ідентифікованих сполук.

Також домінуючими сполуками були 3,7-диметил-1,6-октадієн-3-ол ($32,41 \pm 1,64$ мкг/г, $38,45 \pm 1,75$ мкг/г та $34,09 \pm 1,28$ мкг/г відповідно), α -каріофілен ($31,79 \pm 1,15$ мкг/г, $34,33 \pm 1,71$ мкг/г та $36,24 \pm 1,13$ мкг/г відповідно), β -каріофілен ($20,11 \pm 1,02$ мкг/г, $30,19 \pm 1,50$ мкг/г та $24,70 \pm 1,21$ мкг/г відповідно).

У мінімальних кількостях винайдено 1-етил-3,5-диметилбензен ($3,06 \pm 0,15$ мкг/г та $3,14 \pm 0,16$ мкг/г відповідно) та [s-E,E]-1-метил-5-метилен-8-(1-метилетил)-1,6-циклодекадієн ($2,79 \pm 0,11$ мкг/г, $2,67 \pm 0,12$ мкг/г та $2,05 \pm 0,10$ мкг/г відповідно).

3.9 Вивчення тритерпенових сапонінів та стероїдних сполук

Стероїди належать до класу БАР, що проявляють протизапальну, протипухлинну та атеросклеротичну дію, перешкоджаючи засвоєнню екзогенного холестеролу, що надійшов з їжею, та ендогенного холестеролу, який потрапив у кишечник із жовчу [3, 31].

Стероїдні сполуки виявляли за допомогою хімічних реакцій. Позитивний результат реакцій Лібермана-Бурхарда (поява спочатку червоного, потім блакитного і нарешті зеленого забарвлення реакційної суміші) та Розенгейма (поява рожевого, а потім лілового забарвлення) свідчив про наявність цієї групи БАР у досліджуваній сировині.

Ідентифікацію стероїдних сполук проводили методом ТШХ згідно п. 2.2. У результаті хроматографування спостерігали зони рожево-фіолетового забарвлення різної інтенсивності, яке посилюється після обробки хроматограм детектуючим реактивом. При порівнянні R_f виявлених сполук та стандартних зразків стероїдних сполук у траві лізіантусу Рассела усіх досліджуваних сортів було виявлено не менше 5 сполук, у листі – не менше 4 сполук, у стеблах – не менше 3 сполук, у квітках – не менше 3 сполук, з яких ідентифікований β -ситостерин.

Широкий спектр біологічної дії сапонінів базується на їх здатності модифікувати структурно-функціональні властивості клітинних мембран. Більшість з них проявляють гемолітичну, сечогінну, проносну, цитотоксичну, гіпотензивну, протизапальну, антимікробну, антивірусну, антиалергійну, гормоноподібну активність, підсилюють секреторну діяльність залоз, регулюють водно-сольовий обмін [3].

Сапоніни виявляли за допомогою хімічних реакцій. Позитивний результат реакцій (помутніння реакційної суміші та утворення осаду) з баритовою водою та

розчином плюмбуму ацетату, а також реакцій Лафона та Сальковського (забарвлення реакційної суміші у синьо-зелений та жовтогарячий колір) свідчив про наявність цієї групи БАР у досліджуваній сировині [51]. Результат реакції Фонтан–Кандела свідчив про переважно тритерпенову природу сапонінів.

Ідентифікацію тритерпенових сполук проводили методом ТШХ згідно п. 2.2. У результаті хроматографування спостерігали зони малинового забарвлення різної інтенсивності, які змінювали колір на синій після обробки хроматограм детектуючим реактивом. При порівнянні R_f виявлених сполук та стандартних зразків тритерпенових сапонінів у сировині лізіантусу Рассела усіх досліджуваних сортів було виявлено не менше 4 сполук, з яких ідентифікована урсолова кислота.

Кількісний вміст тритерпенових сапонінів досліджували методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою, наведеною у п. 2.3.6. Результати дослідження наведені у табл. 3.20.

Таблиця 3.20

Вміст тритерпенових сапонінів у траві лізіантусу Рассела

Назва сировини	Вміст групи БАР у перерахунку на урсолову кислоту та абсолютно суху сировину, % (n=5, P<0,05)		
	сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
Трава	0,85±0,01	0,79±0,03	0,67±0,03
Стебла	0,37±0,01	0,24±0,01	0,28±0,01
Листя	1,04±0,05	1,12±0,05	1,07±0,05
Квітки	0,34±0,01	0,40±0,02	0,36±0,01

Для досліджуваних сортів лізіантусу Рассела розподіл вмісту тритерпенових сапонінів за органами рослини був однаковий та підпорядковувався такій послідовності: листя>трава>квітки>стебла.

Переважаючий вміст тритерпенових сапонінів у листях лізіантусу Рассела спостерігався у сорті Borealis Apricot (1,12±0,05 %), дещо менше – у сорті Mariachi

2 Blue ($1,07 \pm 0,05$ %), мінімальна кількість визначена у сорті Alissa 2 White ($1,04 \pm 0,05$ %).

Максимальна кількість тритерпенових сапонінів у траві лізіантусу Рассела містилася у сорті Alissa 2 White та Borealis Apricot ($0,85 \pm 0,01$ % та $0,79 \pm 0,03$ % відповідно), дещо менше – у сорті Mariachi 2 Blue ($0,67 \pm 0,03$ %). У листях вміст БАР був вищий у 1,22-1,60 разів, ніж у траві, та майже у 2,80-4,67 рази більший, ніж у квітках та стеблах.

У квітках та стеблах вміст тритерпенових сапонінів варіював незначно – $0,34-0,40$ % і $0,24-0,37$ % відповідно. У квітках рослини спостерігалась така закономірність накопичення тритерпенових сапонінів: сорт Borealis Apricot > сорт Mariachi 2 Blue > сорт Alissa 2 White, у стеблах – сорт Alissa 2 White > сорт Mariachi 2 Blue > сорт Borealis Apricot.

3.10 Вивчення хлорофілів та каротиноїдів

Фотосинтезуючі рослинні пігменти (хлорофіли та каротиноїди) мають антибактеріальну, протизапальну, протипухлинну, ранозагоювальну та антиоксидантну активність. Хлорофіли використовують при інтоксикації організму, при лікуванні анемії, вони нормалізують артеріальний тиск [3, 37]. Каротиноїди мають протизапальну, ранозагоювальну, протиракову, імуностимулювальну та антиоксидантну дію [3, 37]. Тому доцільним було провести дослідження цих речовин.

Ідентифікацію рослинних пігментів проводили методом ТШХ згідно п. 2.2. Хлорофіли ідентифікували за характерним темно-зеленим забарвленням у видимому світлі та за яскраво-червоною флуоресценцією в УФ-світлі. Локалізацію каротиноїдів на хроматограмах визначали за характерним жовтим забарвленням у видимому світлі та за коричневою флуоресценцією в УФ-світлі, після обробки детектуючим реактивом – за рожево-фіолетовим забарвленням [52]. Хроматографічними методами у досліджуваній сировині виявлено по 2 хлорофіли. При порівнянні R_f виявлених сполук та стандартних зразків каротиноїдів у

сировині лізіантусу Рассела усіх досліджуваних сортів було виявлено не менше 5 сполук, з яких ідентифіковані 3 – β -каротин, зеаксантин та лютеїн.

Кількісний вміст рослинних пігментів досліджували методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою, наведеною у п. 2.3.6. Результати дослідження наведені у табл. 3.21.

Таблиця 3.21

Вміст рослинних пігментів у траві лізіантусу Рассела

Назва сировини	Вміст групи БАР у перерахунку на абсолютно суху сировину, мг/г (n=5, P<0,05)		
	сорт Alissa 2 White	сорт Borealis Apricot	сорт Mariachi 2 Blue
1	2	3	4
Хлорофіл а			
Трава	1,92±0,07	1,52±0,03	1,69±0,05
Стебла	0,37±0,01	0,45±0,02	0,61±0,02
Листя	2,12±0,08	2,73±0,12	2,54±0,12
Квітки	0,35±0,01	0,32±0,01	0,40±0,02
Хлорофіл b			
Трава	1,05±0,04	0,97±0,01	1,16±0,03
Стебла	0,15±0,02	0,28±0,01	0,31±0,01
Листя	1,33±0,06	1,66±0,08	1,28±0,05
Квітки	0,19±0,01	0,18±0,01	0,21±0,01
Каротиноїди			
Трава	0,52±0,01	0,37±0,01	0,63±0,02
Стебла	0,12±0,02	0,29±0,01	0,19±0,01
Листя	1,15±0,04	1,42±0,02	1,57±0,02
Квітки	0,16±0,01	0,18±0,01	0,14±0,01

У всіх видах досліджуваної сировини кількісно переважав хлорофіл а, вміст хлорофілу b та каротиноїдів був у двічі нижчий.

Для досліджуваних сортів лізіантусу Рассела розподіл вмісту рослинних пігментів за органами рослини підпорядковувався такій послідовності: листя>трава>квітки≈стебла.

Переважаючий вміст хлорофілу а спостерігався у листях лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($2,73 \pm 0,12$ мг/г), дещо менше – у сорті Mariachi 2 Blue ($2,54 \pm 0,12$ мг/г), мінімальна кількість визначена у сорті Alissa 2 White ($2,12 \pm 0,08$ мг/г).

Максимальна кількість хлорофілу b визначена у листях лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot ($1,66 \pm 0,08$ мг/г), дещо менше – у сорті Alissa 2 White ($1,28 \pm 0,05$ мг/г), мінімальна кількість – у сорті Mariachi 2 Blue ($1,28 \pm 0,05$ мг/г).

Мажоритарний вміст каротиноїдів визначено у листях лізіантусу Рассела сорту Mariachi 2 Blue ($1,57 \pm 0,02$ мг/г), дещо менше – у сорті Borealis Apricot ($1,42 \pm 0,02$ мг/г), мінімальна кількість – у сорті Alissa 2 White ($1,15 \pm 0,04$ мг/г).

Вміст хлорофілу а, хлорофілу b та каротиноїдів у траві рослини усіх досліджуваних сортів був у 1,3 рази нижчий, ніж у листях, а у стеблах та квітках – нижчий майже у 6 разів.

Висновки до розділу 3

1. За допомогою хімічних реакцій, хроматографічних методів аналізу у траві лізіантусу Рассела 3-х сортів (Alissa 2 White, Borealis Apricot та Mariachi 2 Blue) виявлені: вуглеводи, вільні амінокислоти, органічні та гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, антоціани, дубильні речовини, іридоїди, стероїдні сполуки, тритерпенові сапоніни, хлорофіли та каротиноїди.

2. У досліджуваній сировині визначено кількісний вміст полісахаридів, аміно-, органічних та аскорбінової кислот, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, антоціанів, дубильних речовин, іридоїдів, ефірної олії, тритерпенових сапонінів та рослинних пігментів. Методом ААС у досліджуваній сировині було виявлено та визначено кількісний вміст 19 мікро- та макроелементів. Методом ГХ/МС було ідентифіковано та визначено кількісний вміст 12 жирних кислот, 7 цукрів, 23

летких компонентів. Методом ВЕРХ було виявлено та визначено кількісний вміст 18 амінокислот, 11 фенольних кислот та 9 флавоноїдів.

3. За результатами визначення кількісного вмісту БАР у досліджуваній сировині було встановлено, що вміст аміно-, органічних та аскорбінової кислот, фенольних сполук та ефірної олії незначно переважав у траві лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot. Тому цей сорт був обраний для подальшої стандартизації та одержання лікарських рослинних засобів, або можна використовувати суміш досліджуваних сортів (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue) у співвідношенні 1:1:1.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Мінеральний склад лізіантусу Рассела трави та густого екстракту з неї, дослідження антимікробної активності. *Медицина та клінічна хімія*. 2024. № (1). С. 74–80. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2024.i1.14599 (*Особистий внесок* – проведено аналіз літературних джерел, участь у обговоренні, узагальненні результатів дослідження та оформленні статті; Кисличенко В. С. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в узагальненні результатів дослідження, формулюванні висновків).
2. Олефіренко А.О., Кисличенко В.С. Дослідження амінокислот стебел, листя та квіток лізіантусу Рассела. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2024. №1. С. 54-58. DOI: 10.5281/zenodo.10838856 (*Особистий внесок* – проведено аналіз літературних джерел, участь у обговоренні, узагальненні результатів дослідження та оформленні статті; Кисличенко В. С. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в узагальненні результатів дослідження, формулюванні висновків).
3. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Вивчення амінокислот трави лізіантусу Рассела. *Безперервний професійний розвиток фармацевтичних працівників: сучасний стан, проблеми та перспективи*: матеріали науково-практичної

- конференції з міжнародною участю, присвяченої 30-річчю заснування Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету (м. Харків, 1-2 листопада 2023 р.). Х. 2023. С.355-356.
4. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Фітохімічне вивчення трави лізіантусу Рассела. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології* : збірник наукових матеріалів III Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала, (м. Харків, 24 листопада 2023 р.). Х. 2023. С. 393-394.
 5. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Дослідження флавоноїдів лізіантусу Рассела. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали VI Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції (м. Харків, 12 квітня 2024 р.). Х.: НФаУ, 2024. С. 138.
 6. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С., Гончаров О. В. Дослідження фотосинтезуючих пігментів трави лізіантусу Рассела. *«Комплементарна/народна медицина, освіта, культура: від традиційних практик до клінічного дослідження»*, яка приурочена до 20-річчя асоціації і 22-річчя фахового науково-практичного видання – «Фітотерапія. Часопис»: матеріали наукової конференції з міжнародною участю (м. Київ, 13-14 червня 2024 р.). Київ, 2024. С. 209.
 7. Olefirenko A., Kyslychenko V., Iosypenko O. Study of the hydroxycinnamic acids of Russell's lisianthus herb. *Agrobiodiversity for improving the nutrition, health, quality of people life and nature: Book of Abstracts of the 6th International Scientific Conference* (Nitra, Poland, September 8th, 2024). Nitra: Slovak University of Agriculture in Nitra, 2024. P. 94.

РОЗДІЛ 4

МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ТРАВИ ЛІЗІАНТУСУ РАССЕЛА ТА ЇЇ СТАНДАРТИЗАЦІЯ

4.1 Встановлення діагностичних морфологічних ознак трави лізіантусу Рассела

Не подрібнена трава лізіантусу Рассела складається із цілих листків, стебел та квіток.

За вимогами «Методики проведення експертизи сортів рослин групи декоративних на відмінність, однорідність і стабільність» відмінні морфологічні ознаки досліджуваних сортів лізіантусу Рассела наведені у табл. 4.1 [43, 150]. Зовнішній вигляд цілих та подрібнених стебел, листків та квіток представлено на рис. 4.1-4.3.

Стебло – трав'янисте, прямостояче, до 100 см завдовжки, без опушення, починаючи з середини від нього розгалужуються довгі квітконоси (табл. 4.1, рис. 4.1). Воно циліндричної форми, у поперечному перерізі округле, зеленого кольору, злегка потовщене у вузлах [50].

Листки безчерешкові, сидячі, супротивні, прості, голі, від 2,5 до 10 см завдовжки та від 1,5 до 4,5 см завширшки (табл. 4.1, рис. 4.2). Лінійні параметри листових пластинок спочатку плавно зростають від нижніх до середніх, потім також плавно знижуються від середніх до верхніх. Листкова пластинка нижніх листків яйцеподібної форми, верхніх – лінійно-ланцетної. Край листової пластинки цільний, верхівка – загостреної форми. Чітко проглядається опукла основна жилка. Тип жилкування – дугоподібний. Колір листової пластинки з верхнього боку голубувато-зелений, нижнього – зелений із сизуватим відтінком. Запах при розтиранні без особливостей [50].

Квітки великі, двостатеві, правильні, актиноморфні, на довгих тонких квітконіжках, вузько- або широколікоподібна, махрові (до 18 пелюсток), від 5,0 до 9,0 см у діаметрі (табл. 4.1, рис. 4.3). Квітколоже пласке. Оцвітина подвійна,

складається з чашечки та віночка. Чашечка глибока, лійкоподібна, чашолистків 5, зеленого кольору, зростаються лише біля основи. Віночок у бутонах скручений. Пелюстки 2,0-6,5 см завдовжки, овальної, майже округлої форми, розширені вгорі, зрілі тільки основою, розташовані колами. Форма верхнього краю пелюстки пласка, без війок по краю. На одному пагоні розташовано від 11 до 32 квіток, які розкриваються по черзі. Забарвлення віночка відповідає досліджуваному сорту рослини. Гінецей ценокарпний, складається з двох плодолистків, що утворюють верхню одногніздну зав'язь. Зав'язь однокамерна, біля основи знаходиться нектароносний диск. Стовпчик маточки тонкий, циліндричний, гладенький, приймочка – дволопатева. Тичинок 3-4, вони вільні, однакові за довжиною (андроцей односильний), розташовані кільчасто. Тичинкові нитки прямі, не розгалужені, не опушені, тонкі, циліндричні, довжиною 1 см. Пиляки нерухомі, складаються з двох половин, з'єднаних в'язальцем, тетраспорангіатні, темно-жовтого забарвлення [50].

Таблиця 4.1

Відмінні морфологічні ознаки сортів лізіантусу Рассела

Ознаки	Alissa 2 White	Borealis Apricot	Mariachi 2 Blue
Зовнішній вигляд			
Рослина: за висотою	80,0-90,0 см	80,0-90,0 см	76,0-96,0 см
Стебло: за товщиною	середнє	середнє	середнє
Стебло: кількість вузлів	мала	середня	середня
Стебло: за довжиною	довге	довге	довге

Ознаки	Alissa 2 White	Borealis Apricot	Mariachi 2 Blue
Стебло: інтенсивність зеленого забарвлення	слабка	помірна	сильна
Стебло: кількість гілочок основного стебла	середня	велика	велика
Стебло: положення гілочок	у середній і верхній частині	вздовж всього стебла	вздовж всього стебла
Листок: положення відносно стебла	напівпони́кле	горизонтальне	напівпряме
Листок: за довжиною	7,5-10,0 см	7,5-10,0 см	8,0-9,0 см
Листок: за шириною	2,5-3,0 см	3,0-4,0 см	4,0-4,5 см
Листок: форма	ланцетна	широкояйцепо- дібна	яйцеподібна
Листок: восковий наліт	відсутній або дуже слабкий	відсутній або дуже слабкий	відсутній або дуже слабкий
Листок: інтенсивність зеленого забарвлення верхнього боку (не враховуючи наліт)	слабка	помірна	сильна
Квіткові бруньки: кількість	середня	велика	велика
Квітка: за типом	повна	повна	повна
Віночок: кількість пелюсток	14	18	16
Квітка: діаметр	8,5-9,0 см	7,5-8,0 см	5,0-7,0 см
Квітка: форма	вузьколі́йко- подібна	широколі́йко- подібна	широколі́йко- подібна
Пелюстка: за довжиною	3,5-4,0 см	5,5-6,0 см	5,5-6,0 см

Ознаки	Alissa 2 White	Borealis Apricot	Mariachi 2 Blue
Пелюстка: за шириною	2,5-3,0 см	3,5-5,0 см	4,5-5,5 см
Пелюстка: форма верхнього краю	плоска	плоска	плоска
Пелюстка: хвилястість краю	помірна	помірна	слабка
Пелюстка: війки по краю	дуже слабкі	дуже слабкі	відсутні або дуже слабкі
Пелюстка: кількість кольорів	1	1	1
Пелюстка: забарвлення верхнього боку	кремово-білий	абрикосовий	насичений фіолетовий
Пелюстка: основне забарвлення нижнього боку	кремово-білий	абрикосовий	насичений фіолетовий
Пелюстка: забарвлення основи	зелене	коричнєве	фіолетове
Чашечка: за довжиною	середня	середня	середня
Чашечка: антоціанове забарвлення	відсутнє	відсутнє	відсутнє
Квітконіжка: за довжиною	довга	довга	довга
Маточка: форма	тип I	тип I	тип I
Час початку цвітіння	ранній	середній	середній

В результаті проведеного аналізу встановлено, що досліджувані сорти лізіантусу Рассела за морфологічними ознаками, окрім забарвлення віночка, варіюють незначно.



А



Б

Рис. 4.1 Зовнішній вигляд сухих стебел лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot: А – цілих, Б – подрібнених



А



Б

Рис. 4.2 Зовнішній вигляд сухих листків лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot: А – цілих, Б – подрібнених



А



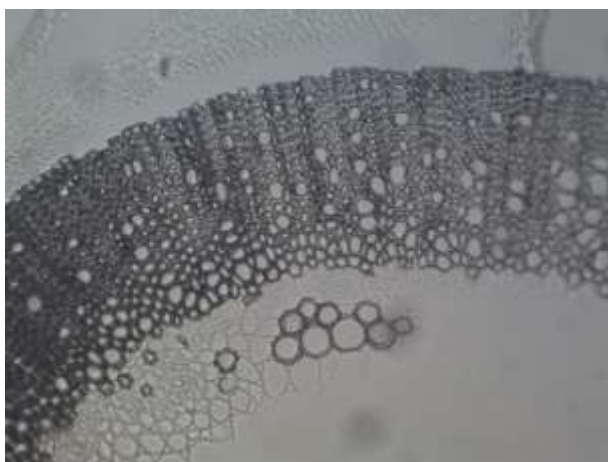
Б

Рис. 4.3 Зовнішній вигляд сухих квіток лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot: А – цілих, Б – подрібнених

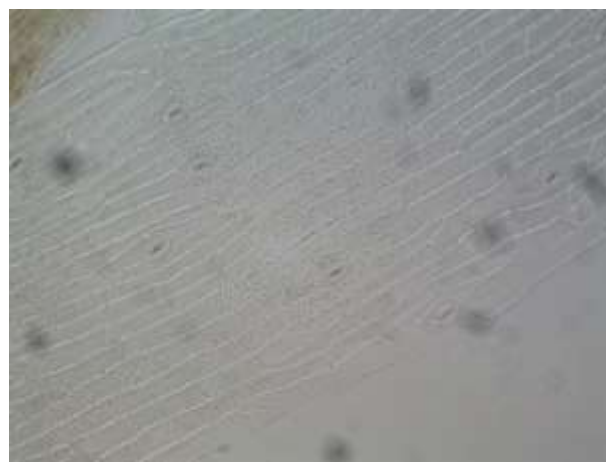
4.2 Встановлення діагностичних анатомічних ознак трави лізіантусу Рассела

Стебло. В обрісі поперечний зріз стебла округлий (рис. 4.4). Епідермальні клітини з тонкими оболонками і клиноподібними радіальними стінками. Продихи

зустрічаються зрідка, за типом пара- або аномоцитні. Анатомічна будова центрального циліндра безпучкова. На зрізах під епідермою добре виражені кільця складових первинної флоєми: 2-3 шари пластинчастої коленхіми з хлоропластами, великоклітинна коленхіматозна паренхіма (2-4 шари), що переходить у запасаючу паренхіму, і шар ендодерми із чотирикутних клітин. Кільце вторинної флоєми центрального циліндру, відмежоване від кори ендодермою, а від ксилеми – камбієм, складає 5-7 шарів вузькопросвітних ситоподібних трубок. Ксилема неоднорідна: безпосередньо під камбієм знаходиться опорно-провідний комплекс із трахеїд і лібриформу. У молодих стеблах кільце більш вузьке (7-9 шарів клітин), а у потовщених – багат шарове і переходить у розсіяно судинну частину. Серцевина у серединній частині через деякий час руйнується [50].



А



Б

Рис. 4.4 Анатомічна структура стебла лізіантусу Рассела: А – фрагмент поперечного зрізу, Б – фрагмент зовнішньої епідерми

Листкова пластинка. Анатомічну будову розглянуто на прикладі листової пластинки середнього листка (рис. 4.5). Епідерма листка з обох сторін складається з глибокозвивистих клітин із рівномірно потовщеними стінками, дрібніших за розміром на нижньому боці. Звивистість на нижній епідермі виражена сильнішою мірою, ніж на верхній. Клітини епідерми щільно прилягають одна до одної. Клітини епідерми верхнього боку з округлими клітинами із бурим вмістом. Продихи амфістоматичні, великі, овальні, оточені 3-4 навколопродиховими клітинами епідерми. Продихові щілини направлені в різні боки. Тип продихового

апарату – аномоцитний (клітини навколо продихів не відрізняються від базисних). Головна жилка видається знизу і заглиблена зверху. Із нижньої сторони над провідними пучками розміщено декілька шарів коленхіми, що переходить у коленхіматозну паренхіму. Над жилками епідерма без продихів [50].



А



Б



В

Рис. 4.5 Анатомічна структура листка лізіантусу Рассела: А – фрагмент верхньої епідерми, Б – фрагмент нижньої епідерми, В – фрагмент центральної жилки

Квітка. Клітини верхньої та нижньої епідерми пелюстки квітки видовженої, практично прямокутної форми (рис. 4.6). Вони мають прямі та слабкозвивисті стінки по краях і у верхній частині пелюстки, у основи пелюстки стінки клітин рівні та витягнуті по довжині пелюстки. Продихи зустрічаються дуже рідко. Жовто-брунатний пилок округлої форми. Клітини чашолистка витягнуті по його довжині,

прямокутні та прямокутно-веретеноподібні з прямими і слабкозвивистими стінками [50, 122].



А



Б



В

Рис. 4.6 Анатомічна структура квітки лізіантусу Рассела: А – фрагмент верхньої (зовнішньої) епідерми пелюстки квітки, Б – фрагмент нижньої (внутрішньої) епідерми пелюстки квітки, В – пилок

В результаті проведеного дослідження становлено, що за анатомічними ознаками сорти лізіантусу Рассела, що вивчалися, варіюють незначно. Основні відмінності спостерігались лише у розмірі клітин епідерми листкової пластинки та стебла.

4.3 Встановлення діагностичних ознак подрібненої трави лізіантусу Рассела

Подрібнена сировина складається зі шматочків листків, стебел, квіток різної форми. Запах слабкий.

Анатомічні ознаки, що спостерігалися, подібні до ознак цільної сировини (у мікропрепаратах листя, стебел та квіток).

Порошкова сировина. Мікропрепарати порошкової сировини під мікроскопом являють собою суміш: уривків епідерми листкової пластинки з клітинами із прямими та слабкозвивистими стінками, із продихами аномоцитного типу, оточеними 3-4 навколопродиховими клітинами; уривків стебла з клітинами епідерми прямокутної та прямокутно-веретеноподібної форми, із продихами пара- або аномоцитного типу, оточеними 3-4 навколопродиховими клітинами; уривків пелюстки з клітинами епідерми зі слабкозвивистими або рівними стінками із продихами аномоцитного типу, оточеними 3-4 навколопродиховими клітинами або без них; пилок округлої форми; уривків чашолистка із витягнутими клітинами зі слабкозвивистими або прямими стінками, з овальними продихами аномоцитного типу, оточеними 3-4 навколопродиховими клітинами або без них [50].

4.4 Визначення показників якості трави лізіантусу Рассела

Результати визначення показників якості (втрати в масі при висушуванні, вміст золи загальної та золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті) трави лізіантусу Рассела наведені у табл. 4.2.

Встановлено, що трава лізіантусу сорту Alissa 2 White мала вищі показники втрати в масі при висушуванні сировини ($9,81 \pm 0,44$ %), ніж сорти Borealis Apricot та Mariachi 2 Blue ($9,34 \pm 0,42$ % та $9,55 \pm 0,47$ % відповідно).

Вміст золи загальної та золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті, у досліджуваних сортах варіював незначно.

Показники якості трави лізіантусу Рассела досліджуваних сортів

Показник якості	Значення показника, % (n=5, P < 0,05)		
	Alissa 2 White	Borealis Apricot	Mariachi 2 Blue
Втрата в масі при висушуванні сировини	9,81±0,44	9,34±0,42	9,55±0,47
Зола загальна	8,29±0,39	8,35±0,44	8,44±0,36
Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті	0,19±0,01	0,23±0,01	0,22±0,01

4.5 Розробка проекту МКЯ «Лізіантусу Рассела трава»

За результатами проведених фітохімічних досліджень трави лізіантусу Рассела, нами запропоновано методики встановлення тотожності сировини за ідентифікацією основних речовин (фенольних сполук) та визначення їх вмісту (гідроксикоричних кислот та флавоноїдів). Зважаючи на домінуючий вміст БАР за перспективну сировину нами був обраний сорт Borealis Apricot або можна використовувати суміш досліджуваних сортів у співвідношенні 1:1:1 (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue).

ЛІЗІАНТУСУ РАССЕЛА ТРАВА

Lisianthi russellianusii herba

Цілі або фрагментовані, висушені, зібрані під час цвітіння надземні частини *Lisianthus russellianus* Hook. сорту Borealis Apricot.

Вміст:

– *гідроксикоричні кислоти*: не менше 0,6 % у перерахунку на хлорогенову кислоту (C₁₆H₁₈O₉; М.м. 354,30) і суху сировину;

– *флавоноїди*: не менше 1,6 % у перерахунку на рутин (C₂₇H₃₀O₁₆; М.м. 611,0) і суху сировину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Ідентифікація А. Цілі або фрагментовані частини стебел, листків та квіток. Стебло трав'янисте, без опушення, прямостояче, циліндричної форми, у поперечному перерізі округле. Листки сидячі, прості, цілокраї, яйцеподібної або лінійно-ланцетної форми, із загостреною верхівкою. Чітко проглядається випукла основна жилка. Квітки двостатеві, правильні, актиноморфні, з подвійною оцвітиною, на довгих тонких квітконіжках, з п'ятьма зеленими зрослими лише біля основи чашолистками. Віночок в бутонах скручений. Пелюстки овальної, майже округлої форми, зрослі тільки основою, абрикосового кольору.

Ідентифікація В. Клітини епідерми стебла прямокутної та прямокутно-веретеноподібної форми, з продихами пара- або аномоцитного типу, оточеними 3-4 навколопродиховими клітинами. Епідерма листової пластинки з обох боків складається з щільно прилягаючих між собою глибокозвивистих клітин із рівномірно потовщеними стінками, дрібніших за розміром на нижньому боці. Продихи аномоцитного типу розташовані на верхній та на нижній епідермі. Клітини верхньої епідерми пелюстки квітки видовжені. Продихи зустрічаються дуже рідко. Клітини чашолистка витягнуті, зі слабкозвивистими або прямими стінками, з овальними продихами аномоцитного типу, оточеними 3-4 навколопродиховими клітинами або без них. Пилок округлої форми.

Ідентифікація С. *Тонкошарова хроматографія.*

Фенольні сполуки. Ідентифікацію фенольних сполук проводили методом ТШХ за методикою ДФУ 2.0, Т. 3, монографія «Липи квітки» [21].

Випробовуваний розчин: До 1 г здрібненої на порошок трави лізіантусу Рассела додають 10 мл *етанолу Р*, нагрівають на водяній бані зі зворотнім холодильником протягом 15 хв, охолоджують і фільтрують. Одержаний фільтрат упарюють насухо на водяній бані при температурі 60 °С, залишок розчиняють у 2 мл *етанолу Р*.

Розчини порівняння: 1 мг *ФСЗ ДФУ* рутину та 1 мг *ФСЗ ДФУ* хлорогенової кислоти розчиняють у 10 мл *етанолу Р*.

Рухома фаза: мурашина кислота R – оцтова кислота льодяна R – вода R – етилацетат R (11:11:27:100).

Об'єм проб: 10 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: при температурі 100-105 °C протягом 5 хв.

Виявлення: теплу пластинку обприскують розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового етеру R у метанолі R. Переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: на хроматограмі випробовуваного розчину у середній частині виявляється зона хлорогенової кислоти, із блакитно флюоресценцію, у нижній частині – зона рутину із жовтогарячою флюоресценцію. Також можуть виявлятися інші зони зі слабшою флюоресценцією фіолетового, синього, блакитного або жовтого кольору. На рис. 4.7 наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння.

Верхня частина пластинки	
хлорогенова кислота: блакитна флюоресціююча зона рутин: жовтогаряча флюоресціююча зона	блакитна флюоресціююча зона
	фіолетова флюоресціююча зона блакитна флюоресціююча зона фіолетова флюоресціююча зона
	жовтогаряча флюоресціююча зона жовта флюоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробуваний розчин

Рис. 4.7 Схема ТШХ виявлення фенольних сполук у траві лізіантусу Рассела

ВИПРОБУВАННЯ

Втрата в масі при висушуванні. Не більше 10,0 %.

Загальна зола. Не більше 9,0 %.

Зола, нерозчинна у хлористоводневій кислоті. Не більше 0,3 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Сума гідроксикоричних кислот. Визначення кількісного вмісту проводять за методикою ДФУ 2.0, Т. 3, монографія «Кропиви листя^N» [21].

Кількісний вміст гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту у траві лізіантусу Рассела має бути не менше 0,6 %.

Сума флавоноїдів. Вміст суми флавоноїдів визначають за методикою ДФУ 2.1, монографія «Софори квітки» [18].

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин у траві лізіантусу Рассела має бути не менше 1,6 %.

Висновки до розділу 4

1. Вперше вивчено морфолого-анатомічну будову трави лізіантусу Рассела трьох сортів (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue). Встановлено, що досліджувані сорти відрізняються тільки за морфологічними ознаками, відмінності анатомічної будови спостерігались лише у розмірі клітин епідерми листової пластинки та стебла. Стебло трав'янисте, без опушення, прямостояче, циліндричної форми, у поперечному перерізі округле. Листя сидяче, просте, цілокрає, яйцеподібної або лінійно-ланцетної форми, із загостреною верхівкою. Чітко проглядається випукла основна жилка. Квітки двостатеві, правильні, актиноморфні, з подвійною оцвітиною, на довгих тонких квітконіжках, з п'ятьма зеленими зрослими лише біля основи чашолистками. Віночок в бутонах скручений. Пелюстки овальної, майже округлої форми, зрослі тільки основою. Забарвлення віночка варіює залежно від сорту. Характерною анатомічною ознакою трави лізіантусу Рассела є сукупність продихів аномоцитного типу, оточених 3-4 навколопродиховими

клітинами, на верхній і нижній епідермі листової пластинки та чашолистка, продихів пара- або аномоцитного типу – на поверхні стебла.

2. Встановлено основні показники якості трави лізіантусу Рассела (втрату в масі при висушуванні, вміст золи загальної та золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті).
3. Зважаючи на домінуючий вміст БАР за перспективну сировину був обраний сорт Borealis Apricot або можна використовувати суміш досліджуваних сортів у співвідношенні 1:1:1 (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue).
4. Розроблений проєкт МКЯ «Лізіантусу Рассела трава».

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Морфолого-анатомічне дослідження трави лізіантусу Рассела. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2023. № 4. 50–56. DOI: 10.5281/zenodo.10257140 (*Особистий внесок* – проведено аналіз літературних джерел, участь у плануванні та проведенні експерименту, аналізі результатів дослідження та оформленні статті; Кисличенко В. С. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в узагальненні результатів дослідження, формулюванні висновків).

РОЗДІЛ 5

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ОДЕРЖАННЯ, СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ЛІЗІАНТУСУ РАССЕЛА

5.1 Розробка технології одержання густого екстракту з трави лізіантусу Рассела

Розробка технології одержання лікарського рослинного засобу полягає в дослідженні динаміки вилучення та визначенні виходу діючих груп БАР у процесі екстрагування сировини, які залежать від технологічних властивостей ЛРС та методики проведення процесу вилучення. Це обумовлює необхідність встановлення фізико-хімічних та технологічних характеристик ЛРС, особливо для нової, раніше не досліджуваної, у процесі розробки оптимальної технології одержання лікарського рослинного засобу. До них належать технологічні показники (питома маса, об'ємна вага, насипна маса, пористість, порізність шару, вільний об'єм шару, коефіцієнт поглинання екстрагенту) та ряд факторів, що впливають на процес екстрагування (вид екстрагенту, співвідношення сировина – екстрагент, час екстрагування, ступінь подрібнення сировини тощо).

5.1.1 Визначення технологічних параметрів трави лізіантусу Рассела

Для визначення норм витрати ЛРС та урахування їх у технологічному процесі одержання лікарського рослинного засобу для трави лізіантусу Рассела сорту *Borealis Apricot* були визначені наступні технологічні показники: питома маса, об'ємна вага, насипна маса, пористість, порізність шару, вільний об'єм шару, коефіцієнт поглинання екстрагенту [54]. Результати дослідження наведені у табл. 5.1.

Визначення технологічних параметрів у траві лізіантусу Рассела

Технологічні параметри	Значення параметра
Питома маса, г/см ³	1,36±0,06
Об'ємна вага, г/см ³	0,59±0,03
Насипна маса, г/см ³	0,32±0,01
Пористість	0,55±0,02
Порізність	0,71±0,03
Вільний об'єм шару	0,79±0,04
Коефіцієнт поглинання екстрагенту, мл/г:	
- вода очищена	5,27±0,16
- 20 % етанол	5,44±0,11
- 40 % етанол	5,11±0,18
- 60 % етанол	4,47±0,12
- 70 % етанол	4,21±0,13
- 80 % етанол	4,05±0,19
- 90 % етанол	3,86±0,15

Визначені технологічні параметри трави лізіантусу Рассела було використано для розрахунків технологічного процесу виробництва густого екстракту та для визначення оптимальних параметрів екстрагування БАР із досліджуваної сировини.

5.1.2 Встановлення параметрів екстракції БАР та одержання густого екстракту з трави лізіантусу Рассела

Для визначення оптимального екстрагенту використовували воду очищену та етанол різної концентрації. Аналізували вихід екстрактивних речовин. Результати дослідження наведені на рис. 5.1.

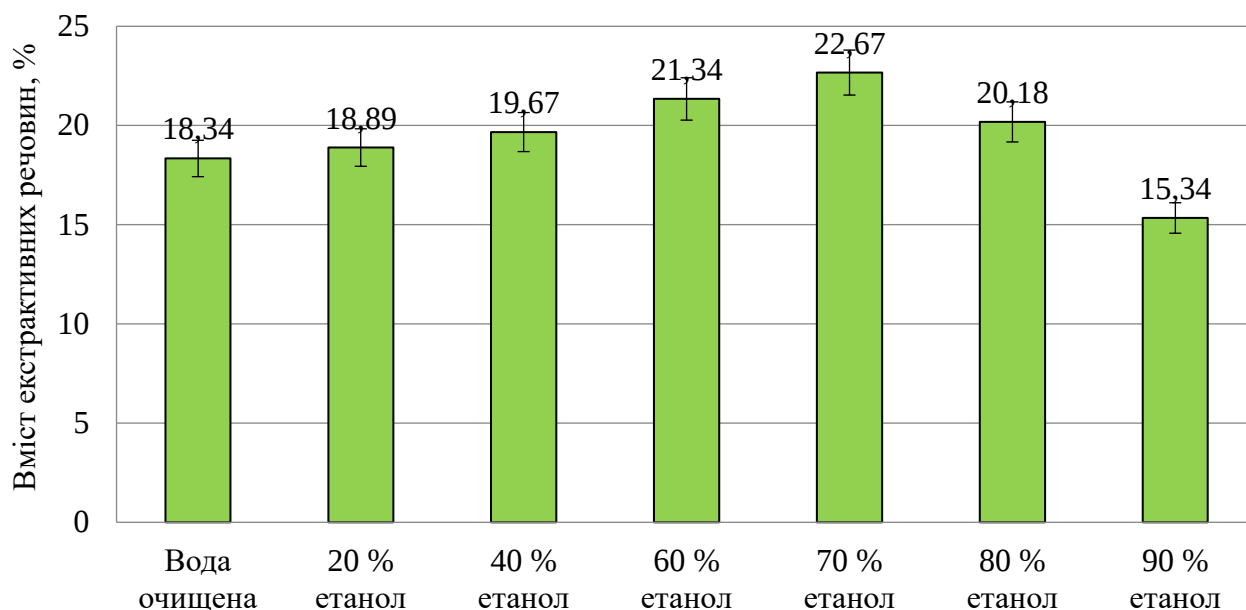


Рис. 5.1 Результати визначення оптимального екстрагенту

Встановлено, що оптимальним екстрагентом був 70 % етанол, який вилучав максимальну кількість екстрактивних речовин (22,67 %).

Залежність виходу БАР від співвідношення сировина – екстрагент визначали при використанні оптимального екстрагенту – 70 % етанолу. Результати дослідження наведені на рис. 5.2.

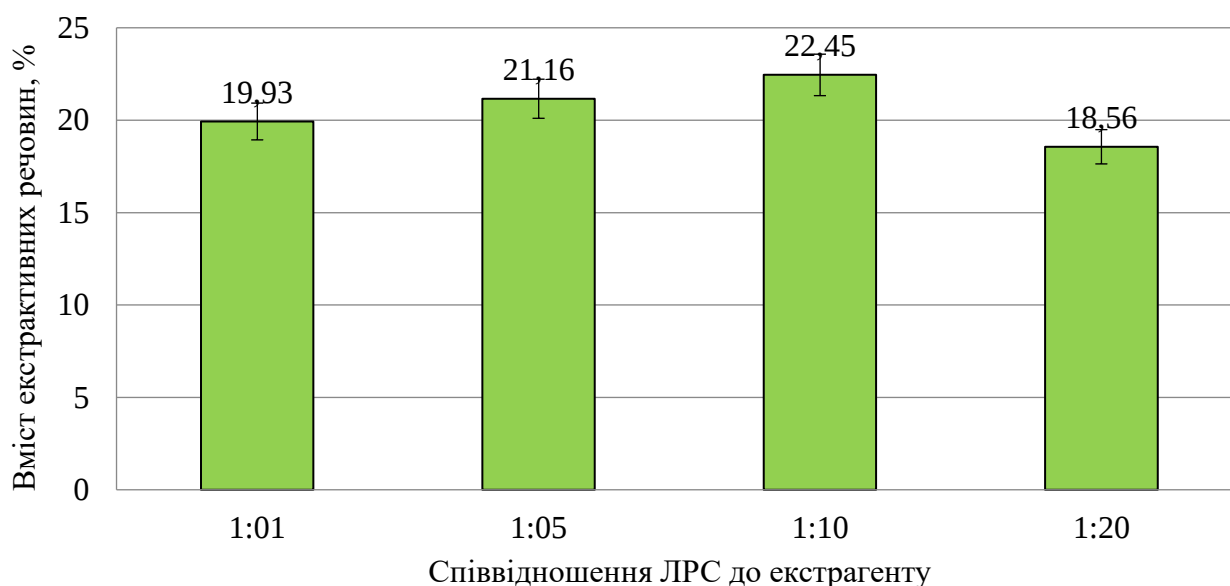


Рис. 5.2 Залежність виходу БАР від співвідношення ЛРС – екстрагент

Встановлено, що оптимальне співвідношення сировина – екстрагент, яке вилучало максимальну кількість екстрактивних речовин (22,45 %), становило 1:10.

Залежність виходу БАР від тривалості екстракції визначали при використанні як екстрагенту 70 % етанолу та співвідношенні сировина – екстрагент 1:10. Результати дослідження наведені на рис. 5.3.

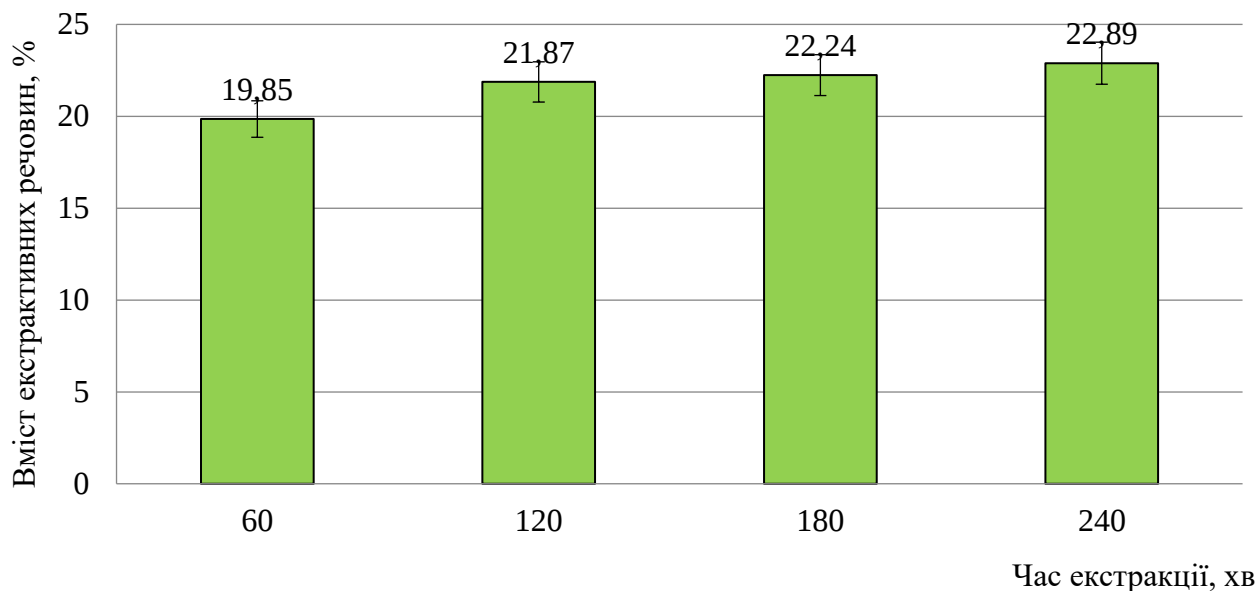


Рис. 5.3 Залежність виходу БАР від часу екстракції

Встановлено, що максимальна кількість екстрактивних речовин (22,89 %) досягається при загальній екстракції 4 години (240 хв).

Залежність виходу БАР від ступеня подрібнення сировини визначали при використанні як екстрагенту 70 % етанолу та співвідношенні сировина – екстрагент 1:10. Результати дослідження наведені на рис. 5.4.

Встановлено, що максимальна кількість екстрактивних речовин (23,02 %) вилучається при використанні ЛРС, подрібненої до розміру часток 5-7 мм.

Таким чином, для одержання густого екстракту з трави лізіантусу Рассела використовували метод трикратної дрібної мацерації з наступними параметрами: екстрагент – 70 % етанол, співвідношення сировина – екстрагент 1:10, загальна тривалість екстракції – 4 години.

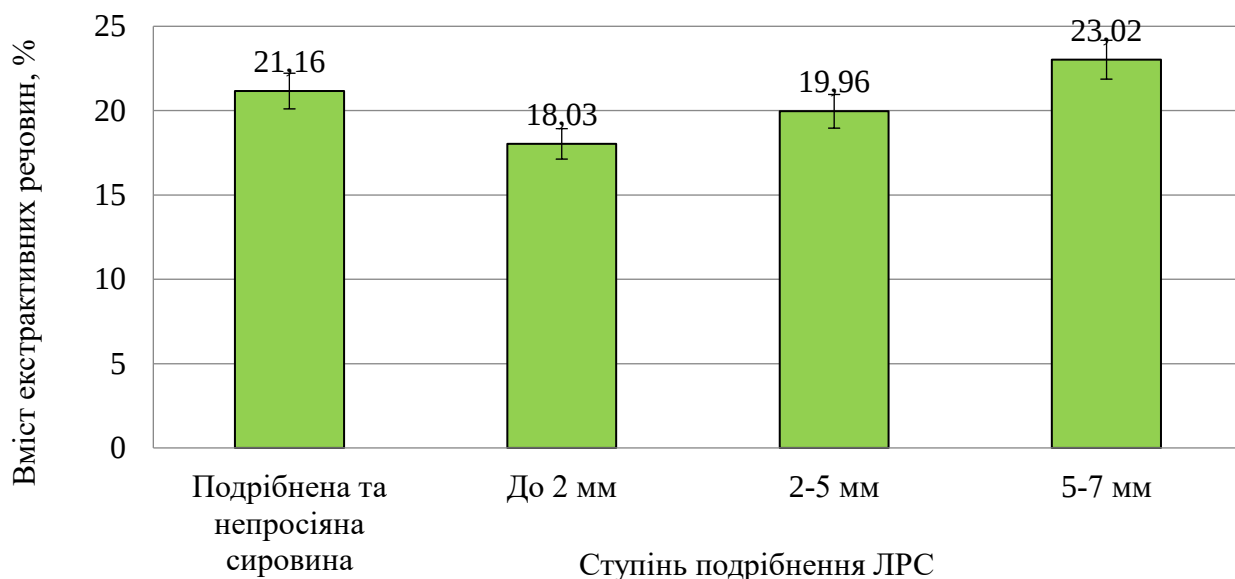


Рис. 5.4 Залежність виходу БАР від ступеня подрібнення ЛРС

Технологічний процес здійснювали наступним чином: враховуючи коефіцієнт поглинання екстрагенту (4,21 для 70 % етанолу), 100,0 г трави лізіантусу Рассела заливали 921,0 мл 70 % етанолу. Тривалість екстракції становила 2 год. Одержаний екстракт охолоджували і фільтрували. Операцію повторювали ще двічі, беручи кожного разу по 250 мл 70 % етанолу, тривалість екстракції – 1 год. Одержані екстракти об'єднували і концентрували під вакуумом. Вихід готового продукту складав не менше 22,0 % від маси повітряно-сухої трави лізіантусу Рассела [54].

Густий екстракт з трави лізіантусу Рассела – густа в'язка маса зеленувато-коричневого кольору із слабким специфічним запахом [49]. Він легко розчинний у воді, 40 % та 50 % етанолі, бутанолі та малорозчинний у 96 % етанолі, гексані, петролейному етері та етилацетаті.

5.2 Фітохімічне вивчення густого екстракту з трави лізіантусу Рассела

Одним із важливих критеріїв безпеки лікарських рослинних засобів є вміст важких металів [15, 20, 56, 112]. Відповідно до вимог ДФУ в одержаному густому

екстракті з трави лізіантусу Рассела було визначено вміст важких металів, а також інші мінеральні сполуки. Результати аналізу наведено у табл. 5.2.

Таблиця 5.2

Вміст макро- і мікроелементів у густому екстракті з трави лізіантусу Рассела

Назва елементу	Кількісний вміст, мг/100 г (n=3, P<0,05)
Макроелементи	
Калій (K)	4670,00±233,33
Кальцій (Ca)	27,00±1,73
Магній (Mg)	612,20±30,22
Натрій (Na)	504,57±25,19
Фосфор (P)	31,05±1,95
Силіцій (Si)	6,10±0,31
Мікроелементи	
Ферум (Fe)	1,55±0,07
Манган (Mn)	3,60±0,17
Купрум (Cu)	1,25±0,11
Цинк (Zn)	3,31±0,16
Алюміній (Al)	0,24±0,01
Плюмбум (Pb)	<0,03
Стронцій (Sr)	0,49±0,02
Нікол (Ni)	0,30±0,01
Молібден (Mo)	0,04±0,01
Кобальт (Co)	<0,03
Кадмій (Cd)	<0,01
Арсен (As)	<0,01
Меркурій (Hg)	<0,01

Як видно з даних табл. 5.2, у густому екстракті з трави лізіантусу Рассела загальний вміст мінеральних сполук дорівнював 5861,70 мг/100 г. За вмістом

переважали макроелементи – 5850,92 мг/100 г, вміст мікроелементів становив 10,78 мг/100 г.

З-поміж макроелементів у мажоритарних кількостях містились калій ($4670,00 \pm 233,33$ мг/100 г), магній ($612,20 \pm 30,22$ мг/100 г) та натрій ($504,57 \pm 25,19$ мг/100 г), вміст яких становив відповідно 79,67 %, 10,44 % та 8,61 % по відношенню до суми всіх визначених елементів. Значно менше у досліджуваному екстракті накопичувались фосфор ($31,05 \pm 1,95$ мг/100 г) та кальцій ($27,00 \pm 1,73$ мг/100 г), що дорівнювало відповідно 0,53 % та 0,46 % по відношенню до суми всіх визначених елементів.

З-поміж мікроелементів домінували манган ($3,60 \pm 0,17$ мг/100 г) та цинк ($3,31 \pm 0,16$ мг/100 г). Їх частка від загального вмісту мінералів складала по 0,06 %.

Для виявлених мінеральних сполук встановлено таку закономірність накопичення: $K > Mg > Na > P > Ca > Si > Mn > Zn > Fe > Cu > Sr > Ni > Al > Mo > Co > Cd > As > Hg$.

При порівняльному аналізі вмісту мінеральних сполук у траві лізіантусу Рассела (п. 3.1) та густому екстракті з неї виявлено ряд елементів, які добре вилучаються з сировини даним екстрагентом (їх вміст у екстракті перевищує вихідну сировину у 1,5-4 рази): K, Mg, Na, Mn, Cu, Zn, Sr, Ni. За вмістом більшості елементів густий екстракт поступався досліджуваній траві.

У густому екстракті з трави лізіантусу Рассела вміст мікроелементів кобальту, кадмію, арсену і ртуті знаходився за межами можливостей визначення приладу. Встановлено, що вміст важких металів у досліджуваному екстракті не перевищував гранично допустимих концентрацій, встановлених ДФУ [20].

Амінокислотний склад густого екстракту з трави лізіантусу Рассела було досліджено методом ВЕРХ за методикою, наведеною у п. 2.3.2. Результати аналізу наведено у табл. 5.3.

Як видно з даних табл. 5.3, у густому екстракті з трави лізіантусу Рассела за вмістом домінували незамінні амінокислоти (157,46 мг/100 г), дещо менше містилося замінних амінокислот (132,04 мг/100 г).

Амінокислоти за зменшенням їхнього вмісту в досліджуваному екстракті можна розташувати у наступній послідовності: лізин>глутамінова кислота>фенілаланін>аланін>лейцин>треонін>метіонін>гліцин>аспарагінова кислота>пролін>валін>ізолейцин>серин.

Таблиця 5.3

Вміст амінокислот у густому екстракті з трави лізіантусу Рассела

Назва амінокислоти	Кількісний вміст, мг/100 г (n=3, P<0,05)
Аланін	11,47±0,51
Гліцин	8,59±0,38
Валін*	5,76±0,26
Лейцин*	11,02±0,54
Ізолейцин*	3,23±0,15
Пролін	6,74±0,30
Серин	1,02±0,01
Треонін*	9,68±0,44
Фенілаланін*	11,90±0,53
Аспарагінова кислота	7,28±0,32
Глутамінова кислота	96,94±4,12
Лізин*	107,09±5,01
Гістидин	—
Тирозин	—
Метіонін*	8,78±0,41
Сума незамінних амінокислот	157,46
Сума замінних амінокислот	132,04
Сума амінокислот	269,44

Примітки:

1. * – незамінні амінокислоти,
2. «—» – амінокислота не ідентифікована.

Встановлено, що домінуючими були лізин ($107,09 \pm 5,01$ мг%) та глютамінова кислота ($96,94 \pm 4,12$ мг/100 г), значно нижчий вміст визначений для аланіну та лейцину ($11,90 \pm 0,53$ мг/100 г та $11,02 \pm 0,54$ мг/100 г відповідно). У міnorних кількостях містився серин ($1,02 \pm 0,01$ мг/100 г).

При порівняльному аналізі вмісту амінокислот у траві лізіантусу Рассела (п. 3.2) та густому екстракті з неї виявлено переважання глютамінової кислоти. За вмістом більшості амінокислот густий екстракт поступався досліджуваній траві лізіантусу Рассела.

Жирнокислотний склад густого екстракту з трави лізіантусу Рассела було досліджено методом ВЕРХ за методикою, наведеною у п. 2.3.2. Результати аналізу наведено у табл. 5.4 та рис. 5.5.

Таблиця 5.4

Вміст жирних кислот у густому екстракті з трави лізіантусу Рассела

Час утримування, хв	Назва жирної кислоти	Хімічне позначення кислоти	Кількісний вміст, мкг/мл ($n=3$, $P<0,05$)
36,96	Пальмітинова	C 16:0	$60,21 \pm 3,01$
39,4	Гептадеканова	C 17:0	$12,25 \pm 0,61$
40,72	<i>цис</i> -10-Гептадеканова	C 17:1	$22,43 \pm 1,12$
41,33	Стеаринова	C 18:0	$8,18 \pm 0,41$
42,86	Олеїнова	C 18:1	$8,65 \pm 0,43$
45,03	Лінолева	C 18:2	$112,54 \pm 5,63$
46,94	α -Ліноленова	C 18:3	$6,55 \pm 0,33$
48,97	Бегенова	C 22:0	$70,88 \pm 3,54$
Вміст ненасичених жирних кислот			$150,17 \pm 7,51$
Вміст насичених жирних кислот			$151,52 \pm 7,58$

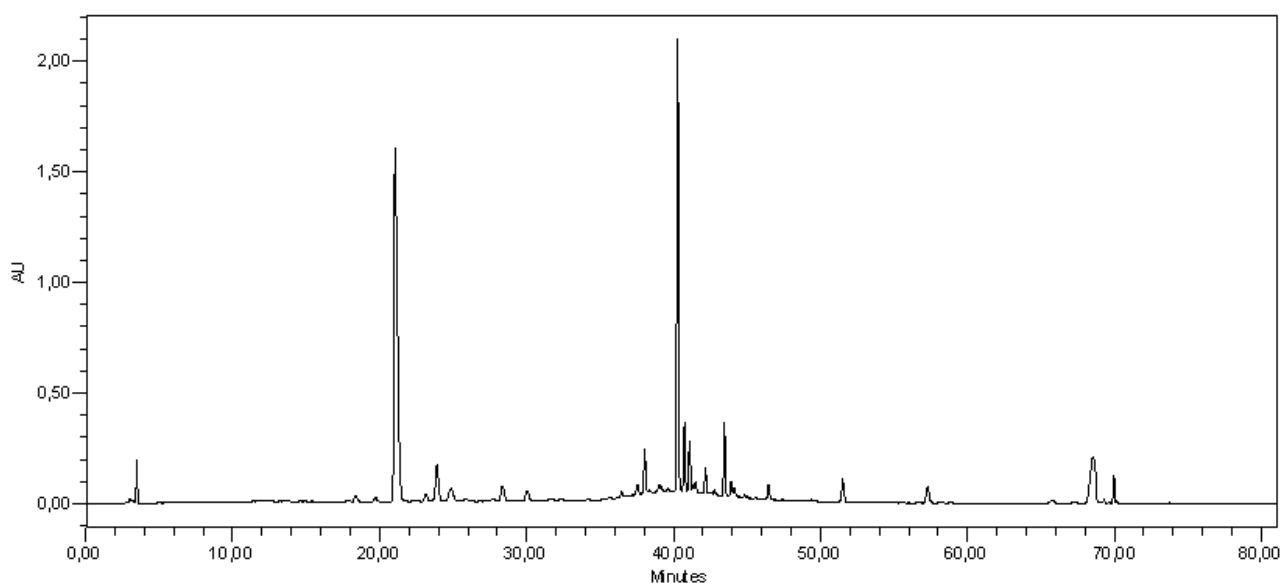


Рис. 5.5 ВЕРХ-хроматограма жирних кислот густого екстракту з трави лізіантусу Рассела

Як видно з даних табл. 5.4, у густому екстракті з трави лізіантусу Рассела ідентифіковано 8 вільних жирних кислот – 4 насичених та 4 ненасичених. Сума насичених жирних кислот становила $151,52 \pm 7,58$ мкг/мл, вміст ненасичених був дещо менший – $150,17 \pm 7,51$ мкг/мл.

Найбільшу концентрацію з-поміж насичених жирних кислот мали бегенова ($70,88 \pm 3,54$ мкг/мл) та пальмітинова ($60,21 \pm 3,01$ мкг/мл) кислоти. У міnorних кількостях містилися гептадеканова ($12,25 \pm 0,61$ мкг/мл) та стеаринова кислоти ($8,18 \pm 0,41$ мкг/мл). Слід зазначити, що на вміст мажоритарних бегенової та пальмітинової кислот припадає 47 % та 40 % відповідно від суми насичених жирних кислот, ідентифікованих у густому екстракті.

З-поміж ненасичених жирних кислот пріоритет належав лінолевій кислоті, вміст якої становив $112,54 \pm 5,63$ мкг/мл, що становило 75 % від суми ненасичених жирних кислот. Значно менше містилося *цис*-10-гептадеканової, олеїнової та α -ліноленової кислот, вміст яких дорівнював $22,43 \pm 1,12$ мкг/мл, $8,65 \pm 0,43$ мкг/мл та $6,55 \pm 0,33$ мкг/мл відповідно.

При порівняльному аналізі вмісту жирних кислот у траві лізіантусу Рассела (п. 3.3) та густому екстракті з неї виявлено переважання пальмітинової кислоти.

Також, не зважаючи на переважання у траві лізіантусу Рассела та густому екстракті з неї насичених жирних кислот, вміст поліненасиченої лінолевої кислоти був також значний (23,40 % у траві та 37,30 % у екстракті) порівняно з іншими жирними кислотами.

Фенольні сполуки у густому екстракті з трави лізіантусу Рассела виявляли методами ПХ та ТШХ.

Гідроксикоричні кислоти виявляли за блакитною флуоресценцією в УФ-світлі у порівнянні із ФСЗ ДФУ. На хроматограмах до та після обробки детектуючими реактивами проявлялося не менше 3 сполук, які відповідали хлорогеновій, кофейній та *n*-кумаровій кислотам [53].

При виявленні флавоноїдів на хроматограмах проявлялось не менше 3 зон, які за флуоресценцією в УФ-світлі до та після обробки детектуючими реактивами відповідали зонам рутину, кемпферолу та гіперозиду.

Вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та танінів у густому екстракті з трави лізіантусу Рассела визначали методом абсорбційної спектрофотометрії, використовуючи методики, які наведені у п. 2.3.6. Результати кількісного визначення представлені в табл. 5.5 [53].

Таблиця 5.5

Вміст фенольних сполук у густому екстракті з трави лізіантусу Рассела

Назва БАР	Кількісний вміст, % (n=5, P<0,05)
Сума гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту	1,58±0,07
Сума флавоноїдів у перерахунку на рутин	2,51±0,11
Сума танінів у перерахунку на пірогалол	1,42±0,36

Склад фенольних сполук густого екстракту з трави лізіантусу Рассела було досліджено також методом ВЕРХ за методикою, наведеною у п. 2.3.2. Результати аналізу наведено у табл. 5.6 та на рис. 5.6.

Вміст фенольних сполук у густому екстракті з трави лізіантусу Рассела

Час утримування, хв	Назва сполуки	Кількісний вміст, мг/100 г (n=3, P<0,05)
19,34	Хлорогенова кислота	2979,62±148,98
20,95	Кофейна кислота	2891,62±144,58
21,57	Рутин	2307,58±115,38
40,02	Неохлорогенова кислота	1302,71±65,14
41,32	Гіперозид	2279,79±113,99

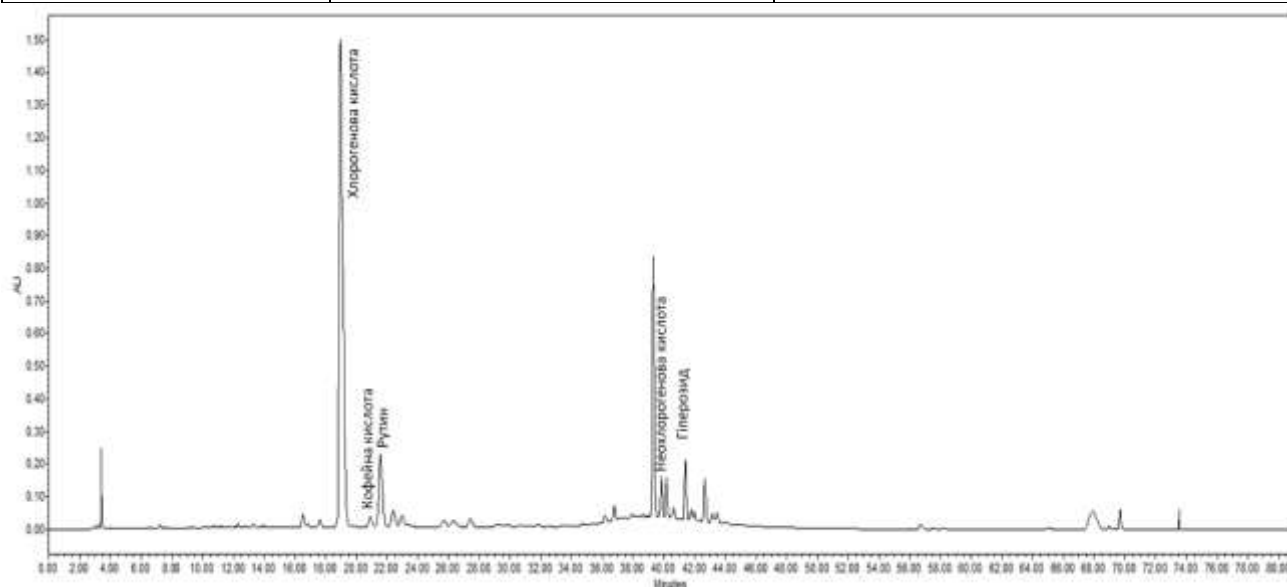


Рис. 5.6 ВЕРХ-хроматограма фенольних сполук густого екстракту з трави лізіантусу Рассела

У результаті проведеного дослідження у густому екстракті ідентифіковано 5 сполук: 3 гідроксикоричні кислоти (хлорогенову, кофейну та неохлорогенову) та 2 флавоноїди (рутин та гіперозид). За вмістом переважали хлорогенова (2979,62±148,98 мг/100 г) та кофейна (2891,62±144,58 мг/100 г) кислоти, вміст флавоноїдів був дещо нижчий (2307,58±115,38 мг/100 г та 2279,79±113,99 мг/100 г відповідно). Неохлорогенова кислота містилася у мінорній кількості (1302,71±65,14 мг/100 г).

5.3 Стандартизація густого екстракту з трави лізіантусу Рассела

ЛІЗІАНТУСУ РАССЕЛА ТРАВИ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ

Lisianthi russellianusii herbae extractum spissum

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Густа в'язка маса зеленувато-коричневого кольору із слабким специфічним запахом.

Розчинність. Легко розчинний у воді *P*, етанолі (40 % об/об) *P*, етанолі (50 % об/об) *P*, бутанолі та малорозчинний у етанолі (96 % об/об) *P*, гексані, петролейному етері та етилацетаті.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Хімічні реакції.

1,0 г густого екстракту з трави лізіантусу Рассела у 10 мл води *P*. До 1 мл отриманого розчину додають декілька крапель розчину феруму (III) хлориду. Утворюється чорно-зелене забарвлення, яке свідчить про наявність фенольних сполук.

Тонкошарова хроматографія.

Ідентифікацію фенольних сполук проводили методом ТШХ за методикою ДФУ 2.0, Т. 3, монографія «Бобівника трилистого листя» [21].

Випробовуваний розчин: 0,01 г густого екстракту з трави лізіантусу Рассела розчиняють у 10 мл етанолу (50 % об/об) *P*.

Розчини порівняння: 1 мг ФСЗ ДФУ рутину та 1 мг ФСЗ ДФУ хлорогенової кислоти розчиняють у 10 мл етанолу *P*.

Рухома фаза: мурашина кислота *P* – оцтова кислота льодяна *P* – вода *P* – етилацетат *P* (11:11:27:100).

Об'єм проб: 10 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: при температурі 100-105 °С.

Результати: на хроматограмі виявлялися зони хлорогенової кислоти, яка мала блакитну флюоресценцію, та рутину, яка мала жовтогарячу флюоресценцію.

Також можуть виявлятися інші зони зі слабшою флюоресценцією фіолетового, блакитного або жовтого кольору. На рис. 5.7 наведено послідовність зон на хроматограмах випробуваного розчину та розчину порівняння.

Верхня частина пластинки	
хлорогенова кислота: блакитна флуоресціююча зона рутин: жовтогаряча флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона фіолетова флуоресціююча зона блакитна флуоресціююча зона фіолетова флуоресціююча зона блакитна флуоресціююча зона жовтогаряча флуоресціююча зона жовта флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробуваний розчин

Рис. 5.7 Схема ТШХ виявлення фенольних сполук у густому екстракті з трави лізіантусу Рассела

ВИПРОБУВАННЯ

Втрата в масі при висушуванні. Не більше 25,0 %.

Втрату в масі при висушуванні визначають за методикою, наведеною в ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття 2.2.32 «Втрата в масі при висушуванні» [20].

Важкі метали. Не більше 0,01 %.

Визначення вмісту важких металів проводять за методикою, наведеною в ДФУ 2.0, Т. 1, загальна стаття 2.4.27 «Важкі метали у лікарській рослинній сировині та лікарських рослинних засобах» [20].

Мікробіологічна чистота. В 1 г екстракту допускається наявність не більше 1000 бактерій і 100 дріжджових та пліснявих грибів (у сумі).

Не допускається наявність бактерій *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus aureus*, бактерій роду *Salmonella*.

Визначення мікробіологічної чистоти проводять за методиками, наведеними в ДФУ 2.6, загальні статті 2.6.12 «Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів: визначення числа мікроорганізмів» і 2.6.13 «Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів: випробування на окремі види мікроорганізмів» [19], та ДФУ 2.1, загальна монографія «Лікарської рослинної сировини екстракти» [18].

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Сума флавоноїдів

Вихідний розчин. 0,1 г (точна наважка) густого екстракту з трави лізіантусу Рассела поміщають у мірну колбу ємністю 25 мл, розчиняють у 10 мл *етанолу* (70 % об/об) *P* і доводять об'єм розчину до позначки тим самим розчинником.

Операцію продовжують за методикою ДФУ 2.1, монографія «Софори квітки» [18], починаючи зі слів «*Випробовуваний розчин.* 10,0 мл випробовуваного розчину доводять...».

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин у густому екстракті з трави лізіантусу Рассела повинен бути не менше 2,4 %.

5.4 Дослідження фармакологічної активності густого екстракту з трави лізіантусу Рассела

5.4.1 Дослідження гострої токсичності

Для визначення ступеня безпечності густого екстракту з трави лізіантусу Рассела було визначено його гостру токсичність, зокрема LD₅₀.

Визначення гострої токсичності досліджуваного екстракту проводили за методом Т. В. Пастушенко [22] на 33 білих мишах вагою 20-22 г. Попередньо

екстракт позбавляли від етанолу шляхом нагрівання на водяній бані (сухий залишок складав 22,0 %), після чого об'єм відновлювали до вихідного водою очищеною. 30 мишам екстракт вводили одноразово у дозах 0,1-5,0 мл/кг, 3 мишам – у дозі 5,0 г/кг внутрішньошлунково через зонд. Термін спостереження за тваринами становив 2 тижні. Оцінку загального стану (дихання, рухова активність, судоми, офтальмологічні симптоми, серцево-судинні симптоми, показники стану шлунково-кишкового тракту, стан шкіри тощо) і співвідношення «загибель тварин/кількість тварин у групі» проводили через 30 хв, 1 год, 3 год, 6 год, 12 год, 24 год, 7 діб і 14 діб [53].

В результаті проведеного експерименту встановлено, що при визначенні гострої токсичності густого екстракту з трави лізіантусу Рассела симптомів інтоксикації та загибелі тварин не спостерігалось, отже встановити LD₅₀ не вдалось. Протягом 30 хв після введення тваринам максимальної досліджуваної дози екстракту (5 г/кг) спостерігалось незначне зниження їх рухової активності, обумовлене значним об'ємом рідини, введеної у шлунок. Змін у поведінці, зовнішньому вигляді, стані шкірних покривів та шерсті, слизових оболонок, масі тіла впродовж наступних 14 днів не спостерігалось. Це вказує на відсутність значимої токсичної дії густого екстракту з трави лізіантусу Рассела у даній дозі [53].

Отже, досліджуваний екстракт попередньо може бути віднесений за класифікацією К. К. Сидорова до практично нетоксичних речовин (V клас токсичності).

5.4.2 Дослідження антимікробної активності

Результати вивчення антимікробної активності густого екстракту з трави лізіантусу Рассела наведено в табл. 5.7.

Як видно з даних табл. 5.7, методом «колодязів» встановлено, що густий екстракт трави лізіантусу Рассела має помірний ступінь чутливості (зона затримки росту діаметром 15-25 мм) до усіх еталонних тест-штамів та декількох клінічних – *Streptococcus pneumoniae* 14, *Streptococcus pyogenes* 2432, *Staphylococcus aureus*

124, *Klebsiella pneumoniae* 18. Низька чутливість досліджуваного екстракту проявляється по відношенню до клінічних штамів – *Enterococcus faecalis* 42, *Enterobacter cloacae* 17, *Acinetobacter baunani* 150, *Pseudomonas aeruginosa* 18 та *Candida albicans* 69 [49].

Таблиця 5.7

Антимікробна активність густого екстракту з трави лізіантусу Рассела щодо еталонних та клінічних штамів мікроорганізмів

Назва штаму мікроорганізму	Діаметри зон затримки росту ($M \pm m$), мм до зразків ($n=3$, $P<0,05$)	
	Методом «колодязів»	Методом дисків
Еталонні штами мікроорганізмів		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	21,00 $\pm$ 1,05	17,66 $\pm$ 0,88
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	20,00 $\pm$ 1,00	16,33 $\pm$ 0,82
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	18,33 $\pm$ 0,92	15,66 $\pm$ 0,78
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	21,66 $\pm$ 1,08	17,33 $\pm$ 0,87
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	17,66 $\pm$ 0,88	15,33 $\pm$ 0,77
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	15,66 $\pm$ 0,78	11,66 $\pm$ 0,58
Клінічні штами мікроорганізмів		
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 14	16,66 $\pm$ 0,83	12,33 $\pm$ 0,62
<i>Streptococcus pyogenes</i> 2432	16,33 $\pm$ 0,82	12,00 $\pm$ 0,60
<i>Staphylococcus aureus</i> 124	17,00 $\pm$ 0,85	12,33 $\pm$ 0,62
<i>Enterococcus faecalis</i> 42	14,66 $\pm$ 0,73	10,66 $\pm$ 0,53
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 18	15,66 $\pm$ 0,78	11,66 $\pm$ 0,58
<i>Enterobacter cloacae</i> 17	14,66 $\pm$ 0,73	10,66 $\pm$ 0,53
<i>Acinetobacter baunani</i> 150	13,66 $\pm$ 0,68	9,33 $\pm$ 0,47
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 18	13,66 $\pm$ 0,68	9,33 $\pm$ 0,47
<i>Candida albicans</i> 69	13,33 $\pm$ 0,67	8,33 $\pm$ 0,42

Результати, одержані методом дисків, показують, що досліджуваний екстракт має високу чутливість (зона затримки росту діаметром >15 мм) до *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, помірну чутливість (9-14 мм) до усіх інших використовуваних тест-штамів, окрім *Candida albicans* 69 [49].

Таким чином, проведене вивчення антимікробної активності густого екстракту з трави лізіантусу Рассела свідчить про перспективність його подальшого використання як самостійного засобу або АФІ при створенні лікарських засобів рослинного походження.

Висновки до розділу 5

1. Для розробки технології одержання густого екстракту з трави лізіантусу Рассела визначені технологічні показники сировини (питома маса, об'ємна вага, насипна маса, пористість, порізність шару, вільний об'єм шару, коефіцієнт поглинання екстрагенту) та ряд факторів, які впливають на процес екстрагування (вид екстрагенту, співвідношення сировина – екстрагент, час екстрагування, ступінь подрібнення сировини тощо).

2. На основі проведеного дослідження запропоновано технологію одержання густого екстракту з трави лізіантусу Рассела та вивчено його хімічний склад. Методом ААС у досліджуваному екстракті визначено вміст макро- та мікроелементів. Вміст важких металів знаходився у межах допустимої норми за вимогами ДФУ для лікарських рослинних екстрактів. Амінокислотний склад густого екстракту з трави лізіантусу Рассела було досліджено методом ВЕРХ. За вмістом переважали незамінні амінокислоти (157,46 мг/100 г). У мажоритарних кількостях містилися лізин ($107,09 \pm 5,01$ мг/100 г) та глютамінова кислота ($96,94 \pm 4,12$ мг/100 г). Методом ВЕРХ було досліджено жирнокислотний склад густого екстракту з трави лізіантусу Рассела. Ідентифіковано 8 вільних жирних кислот – 4 насичених та 4 ненасичених. Найбільшу концентрацію мали лінолева

(112,54±5,63 мкг/мл), бегенова (70,88±3,54 мкг/мл) та пальмітинова (60,21±3,01 мкг/мл) кислоти. На вміст лінолевої кислоти припадало 37,30 % загальної суми жирних кислот. Методом ПХ та ТШХ у досліджуваному екстракті було виявлено не менше 6 сполук фенольної природи: 3 гідроксикоричних кислоти (хлорогенову, кофейну та *n*-кумарову) і 3 флавоноїди (рутин, кемпферол та гіперозид). Методом абсорбційної спектрофотометрії у густому екстракті з трави лізіантусу Рассела визначено вміст суми гідроксикоричних кислот (1,58 %), флавоноїдів (2,51 %) та танінів (1,42 %). Методом ВЕРХ у густому екстракті ідентифіковано 5 фенольних сполук: 3 гідроксикоричні кислоти (хлорогенову, кофейну та неохлорогенову) та 2 флавоноїди (рутин та гіперозид). За вмістом переважали хлорогенова (2979,62±148,98 мг/100 г) та кофейна (2891,62±144,58 мг/100 г) кислоти, вміст флавоноїдів був дещо нижчий (2307,58±115,38 мг/100 г та 2279,79±113,99 мг/100 г відповідно).

3. Для густого екстракту з трави лізіантусу Рассела запропоновані параметри стандартизації: опис, розчинність, реакції ідентифікації фенольних сполук, виявлення хлорогенової кислоти та рутину методом ТШХ, втрата в масі при висушуванні, вміст важких металів, мікробіологічна чистота, вміст флавоноїдів (не менше 2,4 %).

4. Для одержаного екстракту проведено визначення гострої токсичності. Встановлено, що за класифікацією К. К. Сидорова він відноситься до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини). У досліджах *in vitro* методом «колодязів» та дисків проведено антимікробний скринінг досліджуваного екстракту. Встановлено, що він проявляє помірну антимікробну активність відносно усіх еталонних тест-штамів та декількох клінічних.

5. За результатами проведених досліджень розроблений проєкт МКЯ «Лізіантусу Рассела трави екстракт густий».

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Мінеральний склад лізіантусу Рассела трави та густого екстракту з неї, дослідження антимікробної активності. *Медична та клінічна хімія*. 2024. № (1). С. 74–80. DOI: 10.11603/mcsh.2410-681X.2024.i1.14599 (*Особистий внесок* – проведено аналіз літературних джерел, участь у обговоренні, узагальненні результатів дослідження та оформленні статті; Кисличенко В. С. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в узагальненні результатів дослідження, формулюванні висновків).
2. Олефіренко А., Кисличенко В., Іосипенко О. Визначення технологічних параметрів трави лізіантусу Рассела та одержання густого екстракту з неї. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали X науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті завідувача кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків, доктора фармацевтичних наук, професора Тараса Андрійовича Грошового (м. Тернопіль, 17-18 жовтня 2024 р.). Тернопіль : ТНМУ, 2024. С. 83.
3. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С., Іосипенко О. О. Гостра токсичність та дослідження фенольних сполук густого екстракту з трави лізіантусу Рассела. *Science, technology and society: challenges and prospects for development in the modern world: proceedings of International scientific-practical conference* (Tampere, Finland, December 6, 2024). Tampere, Finland: Scholarly Publisher ICSSH, 2024. P. 71-72.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено практичні результати вирішення наукової задачі, яка полягає у комплексному порівняльному фармакогностичному вивченні трави, стебел, листя, квіток лізіантусу Рассела 3-х сортів (*Alissa 2 White*, *Borealis Apricot* та *Mariachi 2 Blue*), одержанні лікарського засобу, вивченні його хімічного складу, а також розробці параметрів стандартизації лікарської рослинної сировини та лікарського рослинного засобу.

1. Проведено узагальнення джерел літератури для встановлення актуальності дослідження сировини лізіантусу Рассела як перспективної лікарської рослинної сировини.

2. За допомогою хімічних реакцій та хроматографічних методів аналізу у траві, стеблах, листях, квітках лізіантусу Рассела 3-х сортів встановлено наявність таких груп БАР: вуглеводів, вільних аміно-, органічних та гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, антоціанів, дубильних речовини (конденсованої групи), іридоїдів, ефірної олії, стероїдних та тритерпенових сполук, хлорофілів та каротиноїдів, мінеральних речовин та встановлено їх кількісний вміст із застосуванням гравіметричного, титриметричного та спектрофотометричного методів аналізу.

Методом ААС у досліджуваній сировині було виявлено та визначено кількісний вміст 19 мікро- та макроелементів. За результатами аналізу загальний вміст мінеральних сполук у траві лізіантусу Рассела сорту *Alissa 2 White* дорівнював $4005,56 \pm 200,28$ мг/100 г, сорту *Borealis Apricot* складав $3759,28$ мг/100 г, сорту *Mariachi 2 Blue* – $3267,60 \pm 163,38$ мг/100 г. За вмістом переважали калій, натрій, ферум, манган, цинк та алюміній. Вміст важких металів у досліджуваній сировині не перевищував гранично допустимих концентрацій для лікарської рослинної сировини, встановлених ДФУ.

Методом ГХ/МС було ідентифіковано та визначено кількісний вміст 12 жирних кислот, 7 цукрів, 23 летких компонентів. Найбільшу концентрацію з-поміж жирних кислот мали пальмітинова, лігноцеринова, лінолева, олеїнова, ліноленова

та пальмітолеїнова кислоти. У досліджуваній сировині з-поміж цукрів домінувала глюкоза, яка утворилася після кислотного гідролізу. З поміж летких сполук мажоритарний вміст був визначений для каріофілен оксиду, 3,7-диметил-1,6-октадієн-3-олу, α -каріофілену та β -каріофілену.

Методом ВЕРХ було виявлено та визначено кількісний вміст 18 амінокислот, 11 фенольних кислот та 9 флавоноїдів. Встановлено, що в усіх досліджуваних сортах послідовність амінокислот, які мали найбільший вміст, незначно, але відрізнялася – переважали за вмістом глутамінова та аспарагінова кислоти, лейцин, аланін, гліцин та пролін; у мінорній кількості містилися ГАМК, метіонін, цистин та ізолейцин. З-поміж ідентифікованих фенольних кислот у досліджуваній сировині у мажоритарних кількостях містилися хлорогенова та неохлорогенова кислоти. З-поміж флавоноїдів у переважаючих кількостях містяться рутин та кверцетин.

3. Встановлені морфолого-анатомічні ознаки трави лізіантусу Рассела трьох сортів (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue). Встановлено, що досліджувані сорти відрізняються тільки за морфологічними ознаками, відмінності анатомічної будови спостерігались лише у розмірі клітин епідерми листкової пластинки та стебла. Одержані дані були використані при розробці розділів «Ідентифікація А» та «Ідентифікація В» проєкту МКЯ «Лізіантусу Рассела трава».

4. Встановлено основні показники якості трави лізіантусу Рассела (втрату в масі при висушуванні, вміст золи загальної та золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті). Розроблений проєкт МКЯ «Лізіантусу Рассела трава».

5. На основі проведеного комплексу фітохімічних досліджень та зважаючи на достатню сировинну базу за перспективну сировину для створення нових лікарських засобів було обрано траву лізіантусу Рассела сорту Borealis Apricot або можна використовувати суміш досліджуваних сортів у співвідношенні 1:1:1 (Alissa 2 White, Borealis Apricot, Mariachi 2 Blue). Розроблено технологію одержання густого екстракту з трави лізіантусу Рассела та проведено його фітохімічне вивчення. Методом ААС досліджено мінеральний склад одержаного екстракту та встановлено, що вміст важких металів був в межах норм ДФУ для

лікарських рослинних екстрактів. Амінокислотний склад густого екстракту з трави лізіантусу Рассела було досліджено методом ВЕРХ. За вмістом переважали незамінні амінокислоти (157,46 мг/100 г). У мажоритарних кількостях містилися лізин та глютамінова кислота. Методом ВЕРХ було досліджено жирнокислотний склад одержаного екстракту. Ідентифіковано 8 вільних жирних кислот – 4 насичених та 4 ненасичених. Найбільшу концентрацію мали лінолева, бегенова та пальмітинова кислоти. Методом ПХ та ТШХ у досліджуваному екстракті було виявлено не менше 6 сполук фенольної природи: 3 гідроксикоричних кислоти (хлорогенову, кофейну та *n*-кумарову) і 3 флавоноїди (рутин, кемпферол та гіперозид). Методом абсорбційної спектрофотометрії у густому екстракті з трави лізіантусу Рассела визначено вміст суми гідроксикоричних кислот (1,58 %), флавоноїдів (2,51 %) та танінів (1,42 %). Методом ВЕРХ у густому екстракті ідентифіковано 5 фенольних сполук: 3 гідроксикоричні кислоти (хлорогенову, кофейну та неохлорогенову) та 2 флавоноїди (рутин та гіперозид). За вмістом переважали хлорогенова та кофейна кислоти, вміст флавоноїдів був дещо нижчий. Запропоновано проєкт МКЯ «Лізіантусу Рассела трави екстракт густий». Пропонується стандартизувати одержаний екстракт за вмістом флавоноїдів (не менше 2,4 %).

8. Встановлено, що густий екстракт з трави лізіантусу Рассела за класифікацією К.К. Сидорова належить до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини). Фармакологічну активність одержаного екстракту вивчали методом *in vitro*. За результатами антимікробного скринінгу методом «колодязів» та дисків встановлено, що він проявляє помірну антимікробну активність відносно усіх еталонних тест-штамів та декількох клінічних.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Амонс С. Е., Яковець Л. А. Вплив важких металів на основні фізіологічні процеси зернових та зернобобових культур. *Сільське господарство та лісівництво*. 2023. № 3 (30). С. 211–227.
2. Ануфрієва С. В. Лизиантус (еustoma). Енциклопедія рослин садових та кімнатних: Довідкове видання. Донецьк: ТОВ «Глорія Трейд», 2013. 147 с.
3. Биологически активные вещества растений: выделение, разделение, анализ / Г. Д. Бердимуратова и др. Алматы: Атамұра, 2006. 438 с.
4. Вдовенко С. А. Вирощування роду *Eustoma* L. у відкритому ґрунті. *Лісове та садово–паркове господарство*. 2023. № 30. С. 162–174.
5. Вдовенко С. А., Матусяк М. В., Данилюк Б. М. Перспективи вирощування рослин роду *Eustoma* L. в закритому ґрунті. *Лісове та садово–паркове господарство*. 2023. № 31. С. 168–178.
6. Вивчення хлорофілів та каротиноїдів листя сансев'єри гіацинтової (*Sansevieria hyacinthoides*) / В. В. Вельма, В. С. Кисличенко, С. В. Вельма, А. І. Попик. *Український біофармацевтичний журнал*. 2021. № 1 (66). С. 62–65.
7. Визначення вмісту антоціанів і танінів у аронії чорноплідної плодах / О. В. Криворучко та ін. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, № 1. С. 71–75.
8. Визначення поліфенольних сполук трави чебрецю блошиного (*Thymus pulegioides* L.) / Я. М. Стешенко, О. В. Мазулін, Г. В. Мазулін, Т. В. Опрошанська. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 2. С. 33–38.
9. Войцехівська О. В., Ситар О. В., Таран Н. Ю. Фенольні сполуки: різноманіття, біологічна активність, перспективи застосування. *Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія*. 2015. Вип. 1 (34). С. 104–119.
10. Волянський Ю. Л., Гриценко І. С., Широбоков В. П. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: метод. рек. МОЗ України. К. : ДФЦ МОЗ України, 2004. 38 с.

11. Вторинні метаболіти та їх роль у системах адаптації і захисту рослин: монографія / М. Д. Мельничук, А. Ф. Ліханов, Т. М. Коваленко, А. А. Клюваденко. Вінниця: ВНАУ, ТОВ «Друк», 2022. 192 с.
12. Гарна С. В., Ветров П. П., Георгіянц В. А. Взаємозв'язок основних технологічних параметрів рослинної сировини. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. № 1 (8) С. 54–57.
13. Глущенко Л., Мінарченко В. Збирання лікарської рослинної сировини, як засіб збереження традицій природокористування. *Екологічна безпека та збалансоване природокористування в агропромисловому виробництві* : матеріали Міжнар. наук.–практ. конф. (м. Київ, 6–7 липня 2023 р.). Київ. 2023. Ч. 1. С. 126–130.
14. Горобець А. О. Вітаміни і мікроелементи як специфічні регулятори фізіологічних та метаболічних процесів в організмі дітей та підлітків. *Перинатологія і педіатрія*. 2019. № 4 (80). С. 75–92.
15. Григорчук І., Гарліцька Н., Качур О. Експериментальне обґрунтування безпечності густого екстракту з трави цинії витонченої. *Universum*. 2024. № 6. С. 240–245.
16. Двірна Т. С., Мінарченко В. М., Тимченко І. А. Вплив кліматичних змін на лікарські рослини. *Planta+*. *Наука, практика та освіта*: матеріали IV Наук.–практ. конф. з міжнар. участю, до 20–річчя кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (м. Київ, 20 лютого 2023 р.). Київ: Паливода А. В., 2023. Т. 1. С. 230–233.
17. Дейнека А. С., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту фенольних сполук методом ВЕРХ у квітках целозії гребінчастої. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2022. № 3. С. 28–31.
18. Державна фармакопея України // ДП «Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів». 2–е вид. Доп. 1. Х. : Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів, 2016. 360 с.

19. Державна фармакопея України // ДП «Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів». 2–е вид. Доп. 6. Х. : Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів, 2023. 424 с.
20. Державна фармакопея України: у 3 т. // ДП «Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів». 2–е вид. Х. : Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів, 2015. Т. 1. 1130 с.
21. Державна Фармакопея України: у 3 т. // ДП «Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів». 2–ге вид. Х. : Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів, 2014. Т. 3. 732 с.
22. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. реком. / за ред. О. В. Стефанова. К. : Авіцена, 2001. 528 с.
23. Дослідження антоціанів жимолості блакитної плодів / І. С. Бурлака, В. С. Кисличенко, З. І. Омельченко, В. В. Король. *Медична та клінічна хімія*. 2021. Т. 23, № 1. С. 75–79.
24. Дослідження вуглеводів кореневищ і коренів та трави родовика лікарського (*Sanguisorba officinalis* L.) / С. М. Марчишин, В. В. Кудря, І. С. Дахим, О. В. Зарічанська. *Медична та клінічна хімія*. 2018. № 20 (1). С. 93–99.
25. Дослідження вуглеводневого складу у підземних органах пирію повзучого / Т. Момот, І. Дахим, С. Марчишин, Л. Слободянюк. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2024. № 1. С. 27–31.
26. Дуюн І. Ф., Марчишин С. М. Визначення вмісту каротиноїдів у деревію пагорбового та деревію подового суцвіттях. *Медична та клінічна хімія*. 2022. Т. 24. №1. С. 58-62.
27. Екстракція рослинної сировини: Навчальний посібник / Ю. І. Сидоров, І. І. Губицька, Р. Т. Конечна, В. П. Новіков. Львів: Видавництво Львівської політехніки, 2008. 336 с.
28. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С. Дослідження вмісту вуглеводів у сировині деяких видів роду *Elsholtzia* Willd. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2022. № 1. С. 85-89.

29. Зоценко Л. О., Кисличенко В. С., Панасенко О. І. Дослідження технологічних параметрів сировини трави Ельшольції Стаунтона та трави Ельшольції в'ійчастої для одержання екстрактів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2020. Т. 14, № 4. С. 245–250.
30. Изучение тритерпеновых соединений в побегах *Crataegus alma-atensis* Pojark / Н. Б. К. Жалалова, Н. В. Кудашкина, С. Р. Хасанова, Ан. Д. Мураталиева. *Известия Национальной академии наук Кыргызской Республики*. 2023. № 7. С. 125–128.
31. Ідентифікація та визначення кількісного вмісту стероїдних сполук у сировині рогозу вузьколистого / Є. О. Довгаль, І. Г. Гур'єва, В. С. Кисличенко, І. О. Журавель. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2016. № 3(3). С. 4–7.
32. Іосипенко О. О., Кисличенко В. С. Вивчення моносахаридного складу листя кабачків методом ГХ/МС та визначення їх антимікробної активності. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2022. № 3. С. 32-37.
33. Іосипенко О. О., Кисличенко В. С., Омельченко З. І. Мінеральний склад листя кабачків. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, № 2 (30). С. 148–152.
34. Кисличенко О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту суми амінокислот у сировині моркви посівної сортів «Яскрава», «Нантська Харківська», «Оленка», «Комет» та «Афалон». *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 1. С. 41–45.
35. Колісник Ю. С., Кисличенко В. С., Кузнецова В. Ю. Пігменти трави грициків звичайних (*Capsella bursa-pastoris*). *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 1. С. 75-77.
36. Корулькин Д. Ю., Музычкина Р. А. Лабораторный практикум по химии и технологии природных соединений. Алматы: ЦДК Глобус, 2016. 90 с.
37. Красильникова Л. А., Авксентьева О. А., Жмурко В. В. Биохимия растений : учеб. пособ. Х. : ХНУ им. В. Н. Каразина, 2011. 200 с.
38. Крутських, А. А., Кисличенко В. С., Омельченко З. І. Дослідження іридоїдів льонку звичайного трави. *Фітотерапія. Часопис*. 2016. № 3. С. 56–58.

39. Кузнєцова В. Ю., Кисличенко В. С., Суцук Н. А. Дослідження антоціанів лушпиння цибулі ріпчастої. *Медична та клінічна хімія*. 2018. № 1. С. 66–70.
40. Кузьмак І. П. Антоціани й антоціанідини як компоненти функціонального харчування: біохімія та вплив на здоров'я людини (огляд літератури). *Медична та клінічна хімія*. 2021. Т. 23. № 4. С. 111–124.
41. Лізіантус (еustoma). В кн. : Енциклопедія рослин садових та кімнатних : довідкове видання / уклад. С. В. Ануфрієва. Донецьк : Глорія Трейд, 2013. С. 147.
42. Марчишин С. М., Слободянюк Л. В., Івасюк І. М. Дослідження гострої токсичності сухих екстрактів смикавця їстівного (чуфи) трави та бульб. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. № 14(1). С. 64-67.
43. Методика проведення експертизи сортів рослин групи декоративних на відмінність, однорідність і стабільність / Український інститут експертизи сортів рослин. Ред. Ткачик С. О., укл. Костенко Н. П., Гринів С. М. та ін. 3–ге вид., випр. і доп. Вінниця, 2023. 1154 с.
44. Новосел О. М., Кисличенко В. С. Порівняльний аналіз органічних кислот у груші звичайної листі сортів Лимонка, Лісова красуня та Ноябрська. *Медицина і фармація на службі у практичній косметології: від науки до практики* : матеріали міжнар. наук.–практ. конф. (м. Харків, 10 берез. 2021 р.). Харків : НФаУ, 2021. С. 147–150.
45. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Вивчення амінокислот трави лізіантусу Рассела. *Безперервний професійний розвиток фармацевтичних працівників: сучасний стан, проблеми та перспективи*: матеріали наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 30–річчю заснування Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету (м. Харків, 1–2 листопада 2023 р.). Х. 2023. С. 355–356.
46. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Дослідження амінокислот стебел, листя та квіток лізіантусу Рассела. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2024. № 1. С. 54–58.

47. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Дослідження жирнокислотного складу трави лізіантусу Рассела. *Одеський медичний журнал*. 2024. № 6. С. 92-95.
48. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Дослідження флавоноїдів лізіантусу Рассела. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали VI Міжнар. наук.–практ. інтернет–конф. (м. Харків, 12 квітня 2024 р.). Х. : НФаУ, 2024. С. 138.
49. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Мінеральний склад лізіантусу Рассела трави та густого екстракту з неї, дослідження антимікробної активності. *Медична та клінічна хімія*. 2024. № (1). С. 74–80.
50. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Морфолого–анатомічне дослідження трави лізіантусу Рассела. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2023. № 4. 50–56.
51. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Фітохімічне вивчення трави лізіантусу Рассела. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології* : збірник наукових матеріалів III Міжнар. наук.–практ. конф., присвяченої 100–річчю з Дня народження Д. П. Сала, (м. Харків, 24 листопада 2023 р.). Х. 2023. С. 393–394.
52. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С., Гончаров О. В. Дослідження фотосинтезуючих пігментів трави лізіантусу Рассела. *«Комплементарна/народна медицина, освіта, культура: від традиційних практик до клінічного дослідження»*, яка приурочена до 20–річчя асоціації і 22–річчя фахового науково–практичного видання – «Фітотерапія. Часопис»: матеріали наук. конф. з міжнар. участю (м. Київ, 13–14 червня 2024 р.). Київ, 2024. С. 209.
53. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С., Іосипенко О. О. Гостра токсичність та дослідження фенольних сполук густого екстракту з трави лізіантусу Рассела. *Science, technology and society: challenges and prospects for development in the modern world: proceedings of International scientific–practical conference* (Tampere, Finland, December 6, 2024). Tampere: Scholarly Publisher ICSSH, 2024. P. 71–72.

54. Олєфіренко А., Кисличенко В., Іосипенко О. Визначення технологічних параметрів трави лізіантусу Рассела та одержання густого екстракту з неї. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали Х наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої пам'яті завідувача кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків, доктора фармацевтичних наук, професора Тараса Андрійовича Грошового (м. Тернопіль, 17–18 жовтня 2024 р.). Тернопіль : ТНМУ, 2024. С. 83.
55. Определение аскорбиновой кислоты и органических кислот в желудочных сборах различных производителей Украины / В. С. Кисличенко, А. И. Федосов, А. А. Кисличенко, Е. Н. Новосел. *Фармацевтический журнал* (Узбекистан). 2015. № 2. С. 12–15.
56. Опрошанська Т. В., Хворост О. П. Розробка технології отримання густих екстрактів кореня та листя лопуха великого. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*. 2012. Вип. 1. С. 355-359.
57. Пінкевич В. О., Журавель І. О. Визначення вмісту танінів у сировині матіоли дворогої (*Matthiola bicornis* (Sibth. & Sm.) DC.) сортів Цариця ночі та Вечірній аромат. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2022. № 1. С. 70-72.
58. Пінкевич В. О., Журавель І. О., Осолодченко Т. П. Дослідження фотосинтезувальних пігментів сировини матіоли дворогої (*Matthiola bicornis* (Sibth. & Sm.) DC.) та антимікробної активності екстрактів на її основі. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2021. № 3. С. 69-72.
59. Поліщук Ю. М., Процька В. В., Бурда Н. Є. Виявлення сапонінів у сировині ліхнісу корончатого. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (м. Харків, 2 квітня 2021 р.). Х. : НФаУ, 2021. С. 161.
60. Порівняльний аналіз гідроксикоричних кислот артишоку, що вирощений в Україні та Франції / А. І. Федосов та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2017. Т. 10, № 1 (23). С. 49–53.

61. Практикум по фармакогнозии: учеб. пособие для студ. вузов / В. Н. Ковалев и др. Х. : Золотые страницы, 2003. 640 с.
62. Ринок квітів та декоративних рослин в Україні. Повний звіт / К. Мелашенко та ін. К., 2019. 217 с.
63. Саррай Д., Журавель І. О., Горяча Л. М. Ідентифікація амінокислот у *Mirabilis jalapa* L. листі. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали III міжнар. наук.-практ. internet-конф. (м. Харків, 26-28 листопада 2018 р.). Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 190–191.
64. Слепцов Ю. В., Якубенко В. Д. Квітникарство закритого ґрунту: навчальний посібник. Вінниця: ТОВ «Нілан ЛТД», 2014. 300 с.
65. Сравнительное изучение биологически активных веществ *Ledum palustre* L. и некоторых видов рода *Rhododendron* L. семейства *Ericaceae* / Т. Н. Гонтовая и др. *Наука и инновация* (Узбекистан). 2020. № 4. С. 102-106.
66. Фуклева Л. А. Визначення вмісту каротиноїдів у рослинній сировині *Thymus vulgaris* L. *Modern scientific researches*. 2021. № 16, Ч. 1. С. 90-93.
67. Хворост О. П., Скребцова К. С., Опрошанська Т. В. Перспективи використання декоративних рослин в якості джерел лікарської сировини. *Planta+. Наука, практика та освіта*: матеріали V Наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, професорки Ніни Павлівни Максютіної (до 100–річчя від дня народження) (м. Київ, 28–29 січня 2025 р.). Київ: Паливода А. В., 2025. Т. 1. С. 181–182.
68. Хімічний склад поліфенольних сполук у траві деревію подового (*Achillea micranthoides* Klok.) / І. Ф. Дуюн, О. В. Мазулін, Г. В. Мазулін, Т. В. Опрошанська. *Фармацевтичний журнал*. 2020. Т. 75, № 1. С. 80-87.
69. A carotenoid–derived yellow eustoma screened under blue and ultraviolet lights / M. Nakayama et al. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 2006. Vol. 75 (2). P. 161–165.
70. A new flavonol triglycoside from *Eustoma grandiflorum* / N. Abe et al. *Natural Product Communications*. 2016. Vol. 11 (7). P. 963–964.

71. A newly emerging potential cut flower of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) in Tamil Nadu: a review / M. Kumaresan, M. Rajaselvam, K. Nadhiya Devi, S. S. Vasanthkumar. *Ecology Environment and Conservation*. 2024. Vol. 30. P. 790–795.
72. Almeida J., Calaboni C., Rodrigues P. Pigments in flower stems of lisianthus under different photoselective shade nets. *Ornamental Horticulture*. 2021. Vol. 27. P. 535–543.
73. An evaluation of some japanese lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) varieties grown in Bangladesh / A. J. Uddin et al. *The Agriculturists*. 2013. Vol. 11 (01). P. 56–60.
74. Analysis of light and sucrose potencies on petal coloration and pigmentation of lisianthus cultivars (*in vitro*) / A. F. M. J. Uddin et al. *Scientia Horticulturae*. 2001. Vol. 89. P. 73–82.
75. Analysis of the essential oils in leaves and rhizomes with roots of *Angelica archangelica* growing in Ukraine / L. Slobodianiuk et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2024. Vol. 3 (49). P. 63–69.
76. Andersen O. M., Jordheim M. The anthocyanins. In: Andersen O. M., Markham K. R. (Eds.). *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2006. P. 452–471.
77. Andrzejewska–Golec E. The occurrence of iridoids in plants. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 2014 Vol. 64. P. 181–186.
78. Anthocyanic vacuolar inclusions: from biosynthesis to storage and possible applications / K. Buhrman et al. *Front. Chem*. 2022. Vol. 10. P. 913324.
79. Anthocyanin pigmentation of lisianthus flower petals / M. Oren–Shamir, L. Shaked–Sachray, A. Nissim–Levi, R. Ecker. *Plant Science*. 1999. Vol. 140 (1). P. 81–86.
80. Anthocyanins as functional food components / R. S. Yudina et al. *Vavilovskii zhurnal genet selektsii*. 2021. Vol. 25 (2). P. 178–189.
81. Antifungal activity and mechanism of action of tannic acid against *Penicillium digitatum* / C. Zhu et al. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 2019. Vol. 107. P. 46–50.
82. Antisense flavonol synthase alters copigmentation and flower color in lisianthus / K. Nielsen et al. *Molecular Breeding*. 2002. Vol. 9. P. 217–229.

83. Application of metabolomics: Focus on the quantification of organic acids in healthy adults / D. Tsoukalas et al. *International journal of molecular medicine*. 2017. Vol. 40 (1). P. 112–120.
84. Aranovich D., Lewinsohn E., Zaccai M. Post-harvest enhancement of aroma in transgenic lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) using the *Clarkia breweri* benzyl alcohol acetyltransferase (BEAT) gene. *Postharvest Biology and Technology*. 2007. Vol. 43 (2). P. 255–260.
85. Azimova Sh. S., Glushenkova A. I., Vinogradova V. I. Lipids, lipophilic components and essential oils from plant sources. NY: Springer, 2011. 992 p.
86. Baqir H. A. Al-R., Zeboon N., Al-Behadili A. The role and importance of amino acids within plants : a review. *Plant Archives*. 2019. Vol. 19. P. 1402–1410.
87. Bijan D. Garden Plants Taxonomy. Volume 2: Angiosperms (Eudicots). Switzerland: Springer Nature. 2023. 1493 p.
88. Biologically active compounds of plants: structure-related antioxidant, microbiological and cytotoxic activity of selected carboxylic acids / B. Godlewska-Żyłkiewicz et al. *Materials*. 2020. Vol. 13 (19). P. 1–37.
89. Black flower coloration in wild *Lisianthus nigrescens*: its chemistry and ecological consequences / K. R. Markham et al. *Z. Naturforsch.* 2004. Vol. 59c. P. 625–630.
90. Carotenoid accumulations and carotenogenic gene expressions in the petals of *Eustoma grandiflorum* / H. Liu et al. *Plant. Breed.* 2013. Vol. 132. P. 417–422.
91. Cell wall sited flavonoids in lisianthus flower petals / K. R. Markham, K. G. Ryan, K. S. Gould, G. K. Rickards. *Phytochemistry*. 2000. Vol. 54 (7). P. 681–687.
92. Colored phytonutrients: role and applications in the functional foods of anthocyanins / A. Calderaro et al. In: Nabavi S. M., Suntar I., Barreca D., Khan H. (Eds.). *Phytonutrients in Food: From Traditional to Rational Usage*. Woodhead Publ., 2020. P. 177–195.
93. Conjugated linoleic acid: potential health benefits as a functional food ingredient / J. Kim, Y. Kim, Y. Kim, Y. Park. *Annual review of food science and technology*. 2016. Vol. 7. P. 221–244.

94. Determination of amino acids of some plants from *Gentianaceae* family / L. Budniak et al. *Pharmacia*. 2021. Vol. 68 (2). P. 441–448.
95. Determination of the fatty acids composition of refined sunflower oil and possibility of its changing during storage period / L. Savchenko et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2020. Vol. 5 (27). P. 37–42.
96. Determination of composition of fatty acids in *Saponaria officinalis* / L. I. Budniak et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2021. Vol. 1 (29). P. 25–30.
97. Differential distribution of amino acids in plants / V. Kumar et al. *Amino Acids*. 2017. Vol. 49. P. 821–869.
98. Dorothy B. M. 100 Texas Wildflowers. Western National Parks Association, 1993. 72 p.
99. Drincovich M. F., Voll L. M., Maurino V. G. Editorial: on the diversity of roles of organic acids. *Front Plant Sci*. 2016. Vol. 7. P. 1592.
100. *Eustoma* Salisb. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:330227-2> (дата звернення 18.02.2025).
101. Expression of an *Antirrhinum majus* UDP–glucose:flavonoid–3–O–glucosyltransferase transgene alters flavonoid glycosylation and acylation in lisianthus (*Eustoma grandiflorum* Grise.) / K. E. Schwinn et al. *Plant Sci*. 1997. Vol. 125. P. 53–61.
102. Flavonoid 3',5'–hydroxylase (*F3'5'H*) gene polymorphisms co–segregate with variation in anthocyanin composition in the flower petals of lisianthus [*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.] / Y. Takatori et al. *The Horticulture Journal*. 2022. Vol. 91 (2). P. 229–239.
103. Flavonoid biosynthesis in flower petals of five lines of lisianthus (*Eustoma grandiflorum* Grise.) / K. M. Davies et al. *Plant Sci*. 1993. Vol. 95. P. 67–77.
104. Flavonoids from *Eustoma grandiflorum* flower petals / S. Asen, R. J. Griesbach, K. H. Norris, B. A. Leonhardt. *Phytochemistry*. 1986. Vol. 25 (11). P. 2509–2513.
105. Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications / Ed. Ø. M. Andersen, Kenneth R. Markham. Boca Raton : CRC Press, 2006. 1212 p.

106. Flower pattern stability in genetically modified lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) under commercial growing conditions / J. M. Bradley, S. R. Rains, J. L. Manson, K. M. Davies. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.* 2000. Vol. 28. P. 175-184.
107. Genotype and organ-specific variability in antioxidant capacities as well as polyamine and osmolyte levels in eleven lisianthus (*Eustoma grandiflorum* Raf.) cultivars with different flowering periods / V. Vuksanović et al. *Horticulturae*. 2024. Vol. 10. P. 1193.
108. *Gentianaceae*: systematics and natural history / eds. L. Struwe, V. A. Albert. Cambridge University Press, 2002. 664 p.
109. Halevy A. H. Handbook of flowering. CRC Press, 1989. Vol. VI. 776 p.
110. Harbaugh B. K. Lisianthus. In: Anderson N. O. (eds) Flower Breeding and Genetics. Dordrecht: Springer, 2007. P. 645–664.
111. Harbaugh B. K., Bell M. L., Liang R. Evaluation of forty-seven cultivars of lisianthus as cut flowers. *HortTechnology*. 2000. Vol. 10 (4). P. 812–815.
112. Health risks from consumption of medicinal plant dietary supplements / M. Ćwieląg–Drabek et al. *Food Sci Nutr*. 2020. Vol. 8 (7). P. 3535–3544.
113. Identification of soluble carbohydrates and subcellular concentration in petals during flower opening in *Eustoma grandiflorum* / R. Norikoshi et al. *The Japanese Society for Horticultural Science*. 2016. Vol. 85 (3). P. 238–247.
114. Increased substrate availability reveals the potential of scentless lisianthus flowers in producing fragrant benzenoid–phenylpropanoids / F. Fang et al. *Physiol. Plant*. 2021. Vol. 172. P. 19–28.
115. Integrated metabolome and transcriptome analysis of anthocyanin accumulation during the color formation of bicolor flowers in *Eustoma grandiflorum* / Y. Fan et al. *Scientia Horticulturae*. 2023. Vol. 314. P. 111952.
116. Interspecific hybridization advances in the genus *Eustoma* / R. Barba–Gonzalez et al. *Acta Horticulturae*, 2015. Vol. 1097. P. 93–100.
117. Iridoids: Research Advances in Their Phytochemistry, Biological Activities, and Pharmacokinetics / C. Wang et al. *Molecules*. 2020. Vol. 25 (2). P. 287.

118. Jensen S. R., Schripsema J. Chemotaxonomy and pharmacology of *Gentianaceae*. In: Struwe L., Albert V. (Eds.). *Gentianaceae – Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, 2002. Chapter 6. P. 573–631.
119. Ji K., Kim D. K., Kim Y. T. Antimicrobial and antifungal activities of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) essential oil. *Journal of Life Science*. 2017. Vol. 27 (4). P. 430–434.
120. Kawabata S., Chujo W. Analysis of nitrogen and amino acid contents in cut and potted flowers of *Eustoma grandiflorum*. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 2008. Vol. 77 (2). P. 192–198.
121. Kawabata S., Yokoo M., Nii K. Quantitative analysis of corolla shapes and petal contours in single-flower cultivars of lisianthus. *Scientia Horticulturae*. 2009. Vol. 121 (2). P. 206–212.
122. Kawakatsu K., Fukuta N. Anatomical analysis of inflorescence development in *Eustoma grandiflorum*. *Japan International Research Center for Agricultural Sciences*. 2012. Vol. 46 (3). P. 269–275.
123. Lubbe A., Verpoorte R. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Industrial Crops and Products*. 2011. Vol. 34 (1). P. 785–801.
124. Markham K. R. Novel anthocyanins produced in petals of genetically transformed lisianthus. *Phytochemistry*. 1996. Vol. 42 (4). P. 1035–1038.
125. Markham K. R., Gould K. S., Ryan K. G. Cytoplasmic accumulation of flavonoids in flower petals and its relevance to yellow flower colouration. *Phytochemistry*. 2001. Vol. 58 (3). P. 403–413.
126. Markham K. R., Ofman D. J. Lisianthus flavonoid pigments and factors influencing their expression in flower colour. *Phytochemistry*. 1993. Vol. 34 (3). P. 679–685.
127. Medicinal and aromatic plants / ed. Y. S. Bajaj. Springer, 1993. Vol. V. 409 p.
128. Mercola J., D'Adamo C. R. Linoleic acid: a narrative review of the effects of increased intake in the standard american diet and associations with chronic disease. *Nutrients*. 2023. Vol. 15 (14). P. 1–21.

129. Młodzińska E. Biochemical and morphological determination of flower color in *Gentianaceae*. The *Gentianaceae* – Volume 1: Characterization and Ecology. Berlin, Heidelberg: Springer, 2014. P. 201–218.
130. Monoterpene glucosides in *Eustoma grandiflorum* roots promote hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi / T. Tominaga et al. *Plant physiology*. 2023. Vol. 193. P. 2677–2690.
131. Nandikatti V. L., Nagasree Poorna K., Krishna Kumar M. M. Pharmacological activities of essential oils from some flowers, plants and aromatic seeds – A review. *Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*. 2024. Vol. 11. P. 72–81.
132. Nutritional extraction lisianthus (*Eustoma grandiflorum* [Raf.] Shinn) cv. Mariachi Pink / A. M. Castillo–González, E. Avitia–García, L. A. Valdez–Aguilar, J. Velázquez–Maldonado. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 2017. Vol. 8 (2). P. 345–354.
133. Ohkawa K., Sasaki E. *Eustoma* (lisianthus) – its past, present, and future. *Acta Hortic*. 1999. Vol. 482 (61). P. 423–428.
134. Olefirenko A., Kyslychenko V., Iosypenko O. Study of the hydroxycinnamic acids of Russell's lisianthus herb. *Agrobiodiversity for improving the nutrition, health, quality of people life and nature: Book of Abstracts of the 6th International Scientific Conference* (Nitra, Poland, September 8th, 2024). Nitra: Slovak University of Agriculture in Nitra, 2024. P. 94.
135. Oyama–Okubo N., Fukuta N. Lisianthus flowers emitted volatile components including iridoids and actinidine which attract cats. *The Horticulture Journal*. 2024. Vol. 93 (3). P. 282–293.
136. Patent TW201609182A (Taiwan). Use of *Eustoma grandiflorum* extract [Электронный ресурс] / G. M. Yang et al. Опубл. 16.03.2016. Режим доступа <https://patents.google.com/patent/TW201609182A/en> (дата звернення 25.12.2024).
137. Perkins J. Monographische übersicht der arten der gattung *Lisianthus*. *Bot. Jahrb.* 1902. Vol. 31. P. 489–494.

138. Phytochemical study of *Salvia grandiflora* and *Salvia officinalis* leaves for establishing prospects for use in medical and pharmaceutical practice / M. Myha et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2020. Vol. 1 (23). P. 23–28.
139. Reduced petal pigmentation in lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) flowers under low light conditions is associated with decreased Expression of anthocyanin biosynthesis genes / S. Meir et al. *Acta Horticulturae*. 2010. Vol. 877. P. 1735–1744.
140. Role of polysaccharides in food, digestion, and health / A. Lovegrove et al. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2017. Vol. 57 (2). P. 237–253.
141. Rosales E. J. M. Lisianthus algunos aspectos de manejo y fisiología: monografía. México: Universidad Autónoma del Estado de México, 2016. 47 p.
142. Seasonal variation in pigmentation and anthocyanidin phenetics in commercial *Eustoma* flowers / A. J. Uddin et al. *Scientia Horticulturae*. 2004. Vol. 100 (1–4). P. 103–115.
143. Shinnors L. H. Synopsis of the genus *Eustoma* (*Gentianaceae*). *Southwest Naturalist*. 1957. Vol. 2. P. 38–43.
144. Skrzypczak L., Wesołowska M., Budsianowski J. *Eustoma grandiflorum* Shinn. (Texas Bluebell): callus culture, micropropagation, and the production of gentiopicoside and other secondary metabolites. In: Bajaj Y. P. S. (eds). Medicinal and aromatic plants. V. Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 24. Berlin, Heidelberg: Springer, 1993. P. 192–201.
145. Straube H. Rooted in chemistry: 2 secoiridoid glucosides promoting fungal symbiosis *Plant Physiology*. 2023. Vol. 193 (4). P. 2257–2259.
146. Struwe L., Albert V. A. *Gentianaceae*. Systematics and Natural History. Cambridge University Press, 2002. 663 p.
147. Study of phenolic compounds of umbellate wintergreen herb and their influence on biochemical indicators of blood and urine in the rat model of chronic kidney disease / O. Kovregin et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2024. Vol. 4 (50). P. 44–52.
148. Study of the ascorbic acid accumulation in *Thymus* L. genus species of Ukraine flora / O. V. Mazulin, Ya. M. Steshenko, L. A. Fukleva, G. V. Mazulin. *Актуальні*

- питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, №2 (45). С. 131-136.
149. Sullivan G., Stiles F. D., Rosler K.–H. A. Phytochemical investigation of xanthonenes of *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1977. Vol. 66 (6). P. 828–831.
 150. Test Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability of *Eustoma* (*Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn.) (TG/197/1, UPOV). Geneva, 2002. 23 p.
 151. The families and genera of vascular plants / ed. K. Kubitzki. Springer, 2018. Vol. XV: Flowering plants, Eudicots – *Apiales*, *Gentianales* (except *Rubiaceae*). 474 p.
 152. The *Gentianaceae* / eds. J. J. Rybczyński, M. R. Davey, A. Mikuła. Heidelberg: Springer, 2015. Vol. 1: Characterization and ecology. 342 p.
 153. The Plant List [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=Eustoma> (дата звернення 18.02.2025).
 154. The relationship between characteristics of optical image under UV light and flavonoid content in acyanic petals of *Eustoma grandiflorum* / N. Fukuta et al. *Hort. Res.* 2005. Vol. 4. P. 147–151.
 155. Turner B. L. Taxonomic overview of *Eustoma* (*Gentianaceae*). *Phytologia*. 2014. Vol. 96. P. 7–11.
 156. Uesato S., Hashimoto T., Inouye H. Three new secoiridoid glucosides from *Eustoma russellianum*. *Phytochemistry*. 1979. Vol. 18 (12). P. 1981–1986.
 157. Wu X., Wang L., Roh M. S. Changes in soluble and non–cellulosic carbohydrates composition and calcium content during stem tip cuttings propagation and production of *Eustoma grandiflorum*. *Scientia Horticulturae*. 2021. Vol. 288. P. 110216.
 158. Zhu F. Anthocyanins in cereals: composition and health effects. *Food Res. Int.* 2018. Vol. 109. P. 232–249.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Морфолого-анатомічне дослідження трави лізіантусу Рассела. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2023. № 4. 50–56. DOI: 10.5281/zenodo.10257140 (*Особистий внесок* – проведено аналіз літературних джерел, участь у плануванні та проведенні експерименту, аналізі результатів дослідження та оформленні статті; Кисличенко В. С. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в узагальненні результатів дослідження, формулюванні висновків).
2. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Мінеральний склад лізіантусу Рассела трави та густого екстракту з неї, дослідження антимікробної активності. *Медична та клінічна хімія*. 2024. № (1). С. 74–80. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2024.i1.14599 (*Особистий внесок* – проведено аналіз літературних джерел, участь у обговоренні, узагальненні результатів дослідження та оформленні статті; Кисличенко В. С. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в узагальненні результатів дослідження, формулюванні висновків).
3. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Дослідження амінокислот стебел, листя та квіток лізіантусу Рассела. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2024. №1. С. 54–58. DOI: 10.5281/zenodo.10838856 (*Особистий внесок* – проведено аналіз літературних джерел, участь у обговоренні, узагальненні результатів дослідження та оформленні статті; Кисличенко В. С. – формулювання цілей та задач дослідження, допомога в узагальненні результатів дослідження, формулюванні висновків).
4. Олефіренко А.О., Кисличенко В.С. Вивчення амінокислот трави лізіантусу Рассела. *Безперервний професійний розвиток фармацевтичних працівників: сучасний стан, проблеми та перспективи*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 30-річчю заснування Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного

- фармацевтичного університету (м. Харків, 1-2 листопада 2023 р.). Х. 2023. С.355-356.
5. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Фітохімічне вивчення трави лізіантусу Рассела. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології* : збірник наукових матеріалів III Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала, (м. Харків, 24 листопада 2023 р.). Х. 2023. С. 393-394.
 6. Олефіренко А.О., Кисличенко В.С. Дослідження флавоноїдів лізіантусу Рассела. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали VI Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції (м. Харків, 12 квітня 2024 р.). Х.: НФаУ, 2024. С. 138.
 7. Олефіренко А.О., Кисличенко В.С., Гончаров О.В. Дослідження фотосинтезуючих пігментів трави лізіантусу Рассела. *«Комплементарна/народна медицина, освіта, культура: від традиційних практик до клінічного дослідження»*, яка приурочена до 20-річчя асоціації і 22-річчя фахового науково-практичного видання – «Фітотерапія. Часопис»: матеріали наукової конференції з міжнародною участю (м. Київ, 13-14 червня 2024 р.). Київ, 2024. С. 209.
 8. Olefirenko A., Kyslychenko V., Iosypenko O. Study of the hydroxycinnamic acids of Russell's lisianthus herb. *Agrobiodiversity for improving the nutrition, health, quality of people life and nature: Book of Abstracts of the 6th International Scientific Conference* (Nitra, Poland, September 8th, 2024). Nitra: Slovak University of Agriculture in Nitra, 2024. P. 94.
 9. Олефіренко А., Кисличенко В., Іосипенко О. Визначення технологічних параметрів трави лізіантусу Рассела та одержання густого екстракту з неї. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали X науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті завідувача кафедри управління та

економіки фармації з технологією ліків, доктора фармацевтичних наук, професора Тараса Андрійовича Грошового (м. Тернопіль, 17-18 жовтня 2024 р.). Тернопіль : ТНМУ, 2024. С. 83.

10. Олефіренко А. О., Кисличенко В. С., Іосипенко О. О. Гостра токсичність та дослідження фенольних сполук густого екстракту з трави лізіантусу Рассела. *Science, technology and society: challenges and prospects for development in the modern world: proceedings of International scientific-practical conference* (Tampere, Finland, December 6, 2024). Tampere, Finland: Scholarly Publisher ICSSH, 2024. P. 71-72.

Продовж. дод. А

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 30-річчю заснування Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету «Безперервний професійний розвиток фармацевтичних працівників: сучасний стан, проблеми та перспективи» (м. Харків, 1-2 листопада 2023 р., форма участі – публікація тез);
2. III Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала, «Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології» (м. Харків, 24 листопада 2023 р., форма участі – публікація тез);
3. VI Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (м. Харків, 12 квітня 2024 р., форма участі – публікація тез);
4. науковій конференції з міжнародною участю «Комплементарна/народна медицина, освіта, культура: від традиційних практик до клінічного дослідження», яка приурочена до 20-річчя асоціації і 22-річчя фахового науково-практичного видання – «Фітотерапія. Часопис» (м. Київ, 13-14 червня 2024 р., форма участі – публікація тез);
5. 6th International Scientific Conference «Agrobiodiversity for improving the nutrition, health, quality of people life and nature» (Nitra, Poland, September 8th, 2024, форма участі – публікація тез);
6. X науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій пам'яті завідувача кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків, доктора фармацевтичних наук, професора Тараса Андрійовича Грошового, «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення

лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 17-18 жовтня 2024 р., форма участі – публікація тез);

7. International scientific-practical conference «Science, technology and society: challenges and prospects for development in the modern world» (Tampere, Finland, December 6, 2024, форма участі – публікація тез).

Додаток Б

ПРОЄКТ

Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного
фармацевтичного
університету, професор
Інна ВЛАДИМИРОВА
«24» квітня 2024 р.



Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Lisianthi russellianusii herba

Лізіантусу Рассела трава

Лікарська сировина у мішках з тканини або льно-джуто-кенафних

Продовж. дод. Б

УПАКОВКА

Здрібнену сировину упаковують у мішки з тканини за ГОСТ 30090-93 або льно-джуто-кенафні за ГОСТ 30090-93 не більше 25 кг нетто.

МАРКУВАННЯ

На етикетці українською мовою вказують «Україна», «Розробка НФаУ, м. Харків», його товарний знак і адресу, назву сировини латинською, українською мовами, масу сировини нетто при вологості 10 %, умови зберігання, номер партії, термін придатності.

ТРАНСПОРТУВАННЯ

Відповідно до ГОСТ 17768-90.

ЗБЕРІГАННЯ

Відповідно до ГОСТ 6077-80 і ГОСТ 17768-90. У сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Антимікробний засіб.

**Завідувачка кафедри фармакогнозії
та нутриціології,**

доктор фармацевтичних наук,

професор

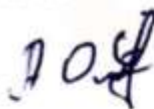


Вікторія КИСЛИЧЕНКО

«23» квітня 2024 р.

Аспірант кафедри фармакогнозії та

нутриціології



Анна ОЛЕФІРЕНКО

«23» квітня 2024 р.

Продовж. дод. Б

ПРОЄКТ

Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного
фармацевтичного
університету, професор



Інна ВЛАДИМИРОВА

«24» квітня 2024 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Lisianthi russellianusii herbae extractum spissum

Лізіантусу Рассела трави екстракт густий

Продовж. дод. Б

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ*Сума флавоноїдів*

Вихідний розчин. 0,1 г (точна наважка) густого екстракту з трави лізіантусу Рассела поміщають у мірну колбу ємністю 25 мл, розчиняють у 10 мл *етанолу (70 % об/об) Р* і доводять об'єм розчину до позначки тим самим розчинником.

Операцію продовжують за методикою ДФУ 2.1, монографія «Софори квітки», починаючи зі слів «*Випробовуваний розчин.* 10,0 мл випробовуваного розчину доводять...».

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин повинен бути не менше 2,4 %.

УПАКОВКА

Екстракт упаковують у флакони.

МАРКУВАННЯ

На етикетці українською мовою вказують «Україна», «Розробка НФаУ, м. Харків», його товарний знак і адресу, назву екстракту латинською та українською мовами, масу екстракту, умови зберігання, номер партії, термін придатності.

ЗБЕРІГАННЯ

Зберігати в оригінальній упаковці при температурі не вище 25 °С у сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Антимікробний засіб.

**Завідувачка кафедри фармакогнозії
та нутриціології,**

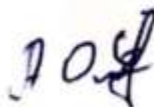
**доктор фармацевтичних наук,
професор**



Вікторія КИСЛИЧЕНКО

«23» квітня 2024 р.

**Аспірант кафедри фармакогнозії та
нутриціології**



Анна ОЛЕФІРЕНКО

«23» квітня 2024 р.

Додаток В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова НАМН України»
 д.мед.н., професор Мінухін В.В.
 09 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати дослідження мінерального складу та антимікробної активності трави лізіантусу Рассела.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії та нутриціології, 61002, м. Харків, вул. Григорія Сковороди, 53. Аспірант Олефіренко А.О.
3. **Джерела інформації:** Олефіренко, А. О., Кисличенко В. С. Мінеральний склад лізіантусу Рассела трави та густого екстракту з неї, дослідження антимікробної активності. *Медицина та клінічна хімія*. 2024. № (1). С. 74–80. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681x.2024.i1.14599>
4. **Де впроваджено:** лабораторія та клінічний відділ молекулярної імунофармакології ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України».
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
7. **Строки впровадження:** 2024-2025 рр.

Затверджено на засіданні лабораторії протокол № 6 від 09.09.2024

Завідувач лабораторії та клінічного відділу молекулярної імунофармакології ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України», доктор фармацевтичних наук, професор

 А.В. Мартинов

Продовж. дод. В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи та інновацій
 Національного медичного університету
 імені О.О. Богомольця
 д.мед.н., професор Земсков С.В.
 «14» 1 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати дослідження морфолого-анатомічної будови трави лізіантусу Рассела.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії та нутриціології, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. Аспірант Олефіренко А.О.
3. **Джерела інформації:** Олефіренко А.О., Кисличенко В.С. Морфолого-анатомічне дослідження трави лізіантусу Рассела. *Анали Мечниковського Інституту*. 2023. № 4. С. 50–56. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10257140>
4. **Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань морфолого-анатомічної будови лікарської рослинної сировини.
7. **Строки впровадження:** 2023-2024 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 13 від 24.01.2024

Завідувачка кафедри фармакогнозії та ботаніки
 Національного медичного університету
 імені О.О. Богомольця,
 доктор біологічних наук, професор



В.М. Мінарченко

Продовж. дод. В

«Затверджую»

Проректор закладу вищої освіти з
наукової роботи Тернопільського
національного медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор біологічних наук, професор
І. М. КЛІНЦЬ 25 січня 2024 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати дослідження морфолого-анатомічної будови трави Лізіантусу Рассела.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії та нутриціології, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. Аспірант Олефіренко А. О.
3. **Джерела інформації:** Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Морфолого-анатомічне дослідження трави Лізіантусу Рассела. *Анали Мечниковського Інституту*. 2023. № 4. С. 50–56. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10257140>
4. **Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань морфолого-анатомічної будови лікарської рослинної сировини.
7. **Строки впровадження:** 2023-2024 навчальний рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 1 від 23 січня 2024 р.

Завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,
доктор фармацевтичних наук, професор

С. М. Марчишин

Продовж. дод. В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Тернопільського національного медичного
університету імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України



д.біол.н., професор Кліш І.М.
_____ 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозицій для впровадження:** результати дослідження амінокислот у траві лізіантусу Рассела.
- 2. Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії та нутриціології, 61002, м. Харків, вул. Григорія Сковороди, 53. Аспірант Олефіренко А.О.
- 3. Джерела інформації:** Олефіренко А.О., Кисличенко В.С. Дослідження амінокислот стебел, листя та квіток лізіантусу Рассела. *Аннали Мечниковського Інституту*. 2024. №1. С. 54-58. DOI: 10.5281/zenodo.10838856
- 4. Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу кафедри фармації факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.
- 5. Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
- 7. Строки впровадження:** 2024-2025 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 8 від 30.09

Завідувачка кафедри фармації факультету
післядипломної освіти
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,
доктор біологічних наук, професор

Л.С. Фіра

Продовж. дод. В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи та міжнародних зв'язків
Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя

д.фіз.-мат.н., проф. Мельничук О.В.



09 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** результати дослідження мінеральних сполук у траві лізіантусу Рассела.
- 2. Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії та нутриціології, 61002, м. Харків, вул. Григорія Сковороди, 53. Аспірант Олефіренко А.О.
- 3. Джерела інформації:** Олефіренко А. О., Кисличенко В. С. Мінеральний склад лізіантусу Рассела трави та густого екстракту з неї, дослідження антимікробної активності. *Медицина та клінічна хімія*. 2024. № (1). С. 74–80. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681x.2024.i1.14599>
- 4. Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу кафедри хімії та фармації Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя.
- 5. Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
- 7. Строки впровадження:** 2024-2025 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри хімії та фармації протокол № 3 від 19.09.2024 р.

Завідувач кафедри хімії та фармації
Ніжинського державного університету
імені Миколи Гоголя,
доктор хімічних наук, професор

Володимир СУХОВСЬВ