

Кречун А.В. Вивчення біологічно активних сполук півників угорських та розробка субстанцій на їх основі. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – Фармація (22 – Охорона здоров'я), Національний фармацевтичний університет, Харків, 2020.

Дисертаційна робота присвячена комплексному фармакогностичному дослідженню сировини півників угорських та 5 сортів гібридних півників, виділенню індивідуальних речовин з півників угорських, одержанню та дослідженню лікарського рослинного засобу на основі сировини півників угорських, розробці МКЯ на лікарську рослинну сировину півників угорських.

За допомогою ТШХ, ПХ, ВЕТШХ та ВЕРХ у досліджуваній сировині півників було ідентифіковано сполуки ксантонової природи: мангіферин, ізомангіферин; похідні гідроксикоричної кислоти: кавова, *n*-кумарова, ферулова, хлорогенова, неохлорогенова, корична, гідроксикорична; флавоноїди: кверцетин, ізокверцетин, гіперозид; ізофлавоноїди: ононін, нігріцин, текторидин, текторигенін; 9 амінокислот. Методом ВЕТШХ встановлено вміст ксантонового глікозиду мангіферину у листях та кореневищах півників угорських, який склав 4,85 % і 2,47 % відповідно.

Спектрофотометричним методом встановлено кількісний вміст основних груп біологічно активних речовин – флавоноїдів, ізофлавоноїдів, ксантонів, гідроксикоричних кислот у сировині півників угорських та сортових півників. Встановлено, що в листях півників у більшій кількості накопичуються гідроксикоричні кислоти (1,14-4,2 %) та ксантони (0,33-2,47 %), вміст флавоноїдів у листі та кореневищі півників знаходиться в середніх значеннях 1,04-3,55 %. Вміст ізофлавоноїдів, в середньому, вищий у кореневищі півників та складає від 1,07 до 3,15 %. Методом ВЕРХ у кореневищі півників угорських ідентифіковано 7 сполук: мангіферин, текторидин, нігріцин-4'-*O*- β -*D*-глюкопіранозид, ірисктекторигенін В, нігріцин,

іригенін, 5,6-дигідрокси-7,8,3',5'-тетраметоксиізофлавіон та встановлено їх вміст.

Елементний склад сировини півників угорських та сортових півників встановлювали методом атомно-емісійної спектроскопії з дуговим збудженням. За кількісним вмістом елементів домінує калій (K), кальцій (Ca) і магній (Mg), більша кількість яких накопичуються у листі півників. Такі елементи як залізо (Fe), алюміній (Al), натрій (Na), стронцій (Sr), цинк (Zn) та кремній (Si) мають більший вміст у кореневищі півників.

Вперше хромато-мас-спектрометричним методом у листі та кореневищі півників угорських та сортових півників досліджено компонентний склад ефірної олії. Ефірна олія з листя півників угорських у порівнянні з сортовими півниками містить у досить невеликій кількості вуглеводень тритерпенового ряду сквален (1,62 %), алкани (докозан, трикозан, пентакозан, гептакозан, нонакозан – 5,62 %), вміст кетонів складає всього 1,71 %. Олія з кореневищ півників угорських має 0,37% сквалену, алканів 4,24 %. Карбонові кислоти складають 93,74 % від загального вмісту ефірної олії. Домінуючими є міристинова (40,71 %) і лінолева кислота (12,04 %).

Листя сортових півників містить сквален у кількості 5,44-18,87 %, геранілацетон 0,46-4,10 %. Домінуючими серед карбонових кислот є пальмітинова (11,44-21,70 %), пальмітоолеїнова (4,01-8,45 %), міристинова (3,56-6,98 %). Вміст карбонових кислот складає від 42,72 до 55,78 %. Терпени містяться у кількості від 19,5 до 30,22% від загального вмісту ефірної олії.

Вперше методом хромато-мас-спектрометрії проведений аналіз жирнокислотного складу кореневищ півників угорських. У кореневищі ідентифіковано 19 жирних кислот: насичених – 75,5 %, ненасичених – 24,5 %; у листі ідентифіковано 15 жирних кислот: насичених 63,03 %, 5 – ненасичених 36,97 %. Також встановлений компонентний вміст карбонових кислот: ідентифіковано 17 кислот у листі, 15 – у кореневищах півників угорських. Листя півників угорських містять 25,42 % насичених двоосновних кислот, 36,66 % - гідроксикислот, 4,96 % - фенолокіслот. Кореневища

містять: двоосновні насичені кислоти (25,35 %), фенолокислоти (4,4 %), гідроксикислоти (9,28 %). Серед аліфатичних карбонових кислот в листях та кореневищах півників угорських в найбільшій кількості містяться щавелева, яблунева і лимонна кислоти. Також встановлено вміст метоксибурштинової і суберинової кислот, характерних для даного виду.

Розроблено технологічні параметри одержання суми біологічно активних речовин у вигляді сухого екстракту з листя та кореневищ півників угорських. Оптимальними розчинниками для вилучення біологічно активних речовин є вода очищена та етанол (70 % об/об). Оптимальне співвідношення між сировиною і екстрагентом – 1:10. Повнота виділення біологічно активних речовин досягається при трикратній екстракції.

Вперше за допомогою методу колонкової хроматографії на силікагелі було виділено 18 речовин, структуру яких встановлено з використанням спектральних методів аналізу (¹H-ЯМР-спектроскопія, мас-спектрометрія, ІЧ- та УФ-спектроскопія). Серед ідентифікованих речовин ксантони (мангіферин, ізомангіферин), ізофлавоноїди (нігрицин, іригенін, текторидін, текторигенін, геністеїн, даїдзеїн, ононін, формононетин), похідні гідроксикоричної кислоти (хлорогенова, неохлорогенова, кавова, ферулова кислоти), флавоноїди (кверцетин, апігенін, ембінін, гіперозид).

Розроблений новий спосіб одержання мангіферину з листя півників угорських. Метод ґрунтується на поетапному очищенні рослинної сировини, екстракції, фільтрації, висушуванні та упарюванні. Спосіб здійснюють у кілька етапів з використанням хлороформу, води з додаванням оцтової кислоти (рН 5,0-5,5), етанолу (70 % об/об), сірчаної кислоти, бутанолу. Вихід цільового продукту складає 1,05 %.

Розроблено методики контролю якості сировини та сухих екстрактів півників угорських. Листя та сухий екстракт з листя півників стандартизували за кількісним вмістом суми ксантонів, кореневище та сухий екстракт кореневищ – суми ізофлавоноїдів та мангіферину. Визначено основні показники якості та технологічні параметри – втрата в масі при

висушувані (не більше 12 %) та загальна зола (не більше 10 %).

Проведено дослідження динаміки накопичення основних груп БАР в листі та кореневищі півників угорських впродовж вегетаційного періоду в різних місцях зростання на території України. Встановлено, що оптимальним часом для заготівлі сировини є весняна пора року.

Встановлено основні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки сировини півників угорських. Листя фрагментоване на шматки розміром 4-5 см завдовжки, 3-4 см шириною. Поверхня листка гладка, плоска, з видимим паралельним жилкуванням, кінці загострені. На зламі видні жилки світло – зеленого кольору, запах ароматний. Листова пластинка ізолатеральної будови. У порошку листя під мікроскопом у розчині *хлоралгідрату Р* виявляються: однорядна епідерма з рівномірно потовщеними оболонками клітин, на яких зустрічаються сосочковидні вирости; прозенхімні клітини верхньої та нижньої поверхні; гомогенний мезофіл; судинно-волокнисті пучки; продиховий апарат тетрацитного типу; колатеральні відкриті провідні пучки.

Фрагменти кореневища мають вигляд шматочків 2-5 см завдовжки та 2-4 см в діаметрі. На поверхні наявні рубці від стебел та чисельні корінці. Поверхня темно-коричнева, на зламі – коричнево-жовта. Текстура тверда, злам щільний. У порошку кореневище у розчині *хлоралгідрату Р* виявляються: одношарова епідерма з опробковілим верхнім шаром первинної кори; клітини корової паренхіми і центрального циліндру, заповнені крохмалюм; ендодерма з U-потовщеними клітинними оболонками; стилоїди і призматичні кристали. Кореневище має пучкову будову. Центрофлоемні судинно-волокнисті пучки розташовані хаотично.

Досліджено фармакологічну активність сухих екстрактів з листя та кореневища півників угорських. За результатами досліджень препарати віднесені до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини) за класифікацією К.К. Сидорова. Дослідження протизапальної активності екстрактів листя та кореневищ півників проводили у відповідності до

методичних рекомендацій «Доклінічні дослідження лікарських засобів». Найбільш виражену антиексудативну дію проявляє екстракт кореневищ півників угорських, одержаний етанолом (70 % об/об) у дозі 150 мг/кг, пригнічуючи запальний процес на 41,6 %. Анаболічна активність сухого екстракту кореневищ півників угорських більш виражена, ніж екстракт листя, проявляє помірний анаболічний ефект у дозі 150 мг/кг.

При дослідженні антимікробної активності сухих екстрактів півників угорських та сортових півників, одержаних екстракцією водою очищеною, встановлено, що всі досліджувані зразки володіють бактеріостатичною дією по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Basillus subtilis*, *Candida albicans* та слабкою дією по відношенню до *Proteus vulgaris* та *Pseudomonas aeruginosa*.

Антигерпетичну активність сухого екстракту з листя півників угорських, одержаного екстракцією водою очищеною, вивчали на штамі вірусу простого герпесу на культурі клітин Нер-2 (клітини епітеліальної карциноми гортані людини), які використовуються для виділення аденовірусів, а також вірусу простого герпесу. Антигерпетичну активність встановлювали за кількістю клітин з розчином сухого екстракту з листя півників угорських, що загинули під дією внесеного вірусу.

Сухий екстракт листя півників угорських у концентрації 100 мкг/мл проявляв найбільш виражену дію і викликав загибель у більш, ніж 27 % клітин вірусу.

Ключові слова: півники угорські, сортові півники, сировина, біологічно активні речовини, фармакологічна активність.

Список публікацій здобувача:

1. Mykhailenko O., Kovalyov V., Kovalyov S., Krechun A. Isoflavonoids from the rhizomes of *Iris hungarica* and antibacterial activity of the dry rhizomes extract. *Ars Pharmaceutica*. 2017. Vol. 58. № 1. P. 39–45. (Особистий внесок

- брала участь у проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних).
2. Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M., Kovalyov S. V., Krechun A. V. Biologically active compounds from the rhizomes of *Iris hungarica*. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2016. Т. 14, № 4 (56). С. 63–66. (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
 3. Kovalev V. M., Mykhailenko O. O., Krechun A. V., Osolodchenko T. P. Antimicrobial activity of extracts of *Iris hungarica* and *Iris sibirica*. *Анали Мечниковського Інституту*. 2017. № 2. С. 57–64. (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
 4. Kovalyov V. M., Krechun A. V., Mykhailenko O. O., Gryshyna O. V. The study of elemental composition of *Iris hungarica* and irises varieties. *Вісник фармації*. 2018. №. 4 (96). С. 9–15 (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, пробопідготовці, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
 5. Kovalyov V., Chetvernia S., Krechun A., Mykhailenko O. Establishment of the main technological parameters of iris raw material. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2019. Vol. 12. № 7. P. 3359–3364 (Особистий внесок – брала участь у проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
 6. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В., Орлова Т.Г. Скринінг накопичення біологічно активних речовин в ірисі угорському впродовж вегетаційного періоду. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12. № 2 (30). С. 135–140 (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації одержаних даних, оформленні статті).
 7. Керімова Г., Кречун А., Рибак В., Михайленко О., Ковальов В. Дослідження антиексудативної активності сухих екстрактів листя та

- кореневищ *Iris hungarica*. *Ukrainian Biopharmaceutical Journal*. 2019. № 4 (61). Р. 55–58. (Особистий внесок – брала участь у проведенні експерименту, пробопідготовці, оформленні статті).
8. Ковальов В.М., Кречун А.В., Михайленко О.О., Домарьов А.П. Спосіб одержання засобу з антигерпетичною, антиоксидантною та антимікробною активністю з листя півників угорських : пат. на корисну модель 135620 Україна. № u 2019 00863 ; заявл. 28.01.19 ; опубл. 10.07.19. Бюл. № 13. (Особистий внесок – брала участь у патентному пошуці, виконанні експерименту, оформленні патенту).
 9. Krechun A. V., Kovalev V. N., Mykhailenko O. O. Determination of quantitative composition of xanthones in the underground organs of *Iris sibirica* and *Iris hungarica*. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXII international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 23, 2015. Kh., 2015. Vol. 1. P. 80–81
 10. Krechun A. V., Mykhailenko O. A., Kovalev V. N. Research of quantitative value amount of γ – piron of *iris hungarica* and *iris sibirica* leaves. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 21, 2016. Kh., 2016. Vol. 1. P. 84–85.
 11. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Фенольні сполуки півників угорських та їх антибактеріальна активність. *Хімія природних сполук* : матеріали конф., 21–22 квіт. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 22–23.
 12. Krechun A. V. Perspectiveness of the use of some representatives of the genus *Iris* L. *Topical issues of new drugs development : abstracts of XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 20, 2017. Kh., 2017. Vol. 1. P. 85–86.
 13. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Перспективність створення антимікробного засобу на основі півників. *Ліки–людині* : матеріали I Міжнар. наук.–практ. конф., 30–31 берез. 2017 р. Харків, 2017. С. 186.

14. Кречун А. В., Михайленко О. А. Предварительное изучение биологически активных веществ некоторых сортов рода *Iris L.* методом хроматографии. *Актуальные вопросы современной медицины и фармации 2017* : материалы 69-й итоговой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, г. Витебск, ВГМУ, 19–20 апр. 2017 г. Витебск : ВГМУ, 2017. С. 199–200.
15. Krechun A. V., Mykhailenko O. O. Primary screening of the biologically active compounds of *Iris hungarica* Waldst. Et Kit. *Relevant issues of modern medicine: the experience of Poland and Ukraine* : International research and practice conference. Lublin, 2017. P. 117–120.
16. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Розробка методики одержання сухих екстрактів з листя та кореневищ сортових півників. *Актуальні питання медичної теорії та практики* : зб. матеріалів міжнар. наук.-практ. конф., м. Дніпро, 8–9 груд. 2017 р. Дніпро : Організація наукових медичних досліджень «Salutem», 2017. С. 113–114.
17. Krechun A., Kovalyov V., Mykhailenko O. Establishment of elemental composition of the leaves and rhizomes of *Iris hybrida* hort. “Indian Pow Wow” : The International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy practice is organized by the Faculty of Pharmacy of Lithuanian Health Sciences University in collaboration with Lithuanian Pharmaceutical Association and LSMU FF Alumni Association. Kaunas, 2017. P. 73–75.
18. Krechun A. V., Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M. Organic and hydrocinnamic acids of *Iris hungarica*. *Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации* : материалы респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Ташкент, 2016. С. 6–7.
19. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Встановлення основних технологічних показників сировини півників гібридних сортів «Mini Дупано» та «Indian Pow Wow». *Медична наука та практика XXI століття* : зб. тез наук. робіт учасників міжнар. наук.-практ. конф., м. Київ, 2–3 лют. 2018 р. Київ : «Київський медичний науковий центр», 2018. С. 104–107.

20. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М., Ковальов С. В. Хроматографічний аналіз амінокислот рослин родини Iridaceae. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доп. Всеукр. наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 80–річчю з дня народж. д–ра фармац. наук, проф. О. М. Гайдукевича, 12–13 квіт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 271.
21. Krechun A. V., Mykhailenko O. O. The use of thin–layer chromatography in analysis of xanthones of plant objects. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVI Міжнар. наук.–практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 10–12 квіт. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 49–50.
22. Кречун А. В., Михайленко О. О. До питання стандартизації сировини півників. *Управління якістю в фармації* : матеріали XII наук.–практ. конф., м. Харків, 18 трав. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 106–107.
23. Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов В. М. Макро– та мікроскопічний аналіз сировини півників угорських. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 20–й річниці заснування Дня фармац. працівника України, м. Харків, 19–20 верес. 2019 р. : у 2 т. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 224–226.
24. Кречун А. В., Михайленко О. О. Дослідження вмісту ізофлавоноїдів у сировині сортових півників. *Perspectives of science and education : Proceedings of the 11th International youth conference*. New York, 2019. С. 113–117.
25. Krechun A. V., Mykhailenko O. O., Kovalyov V. M. Determination of the xanthone glycoside mangiferin content in the rhizomes of *Iris hungarica* by HPLC method. *XIII International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds*. October 16–19. Shanghai, 2019. P. 127.
26. Krechun A., Mykhailenko O., Kovalyov V. Chemical compositions of the essential oil of Irises hybrid rhizomes. *Science and Practice 2019 : The 10th*

International Pharmaceutical Conference, Lithuanian University of Health Sciences, Faculty of Pharmacy. Kaunas, 2019. P. 48.

27.Кречун А. В., Михайленко О. О., Ковальов С. В. Оптимальні терміни заготівлі кореневищ іриса угорського (*Iris hungarica* Waldst. et Kit.) : інформ. лист № 374–2018. Вип. 47 з проблеми «Фармація». Київ, 2018. 4 с.

28.Михайленко О. О., Ковальов В. М., Буйдін Ю. В., Кречун А. В. Оптимальні умови вирощування лікарської та ефіроолійної рослинної сировини кореневищ сортових ірисів (*Iris hybrida*) в Україні : інформ. лист № 375–2018. Вип. 48 з проблеми «Фармація». Київ, 2018. 4 с.