

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я  
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ  
О.О.БОГОМОЛЬЦЯ  
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

Кафедра фармакогнозії та ботаніки

**КВАЛІФІКАЦІЙНА ВИПУСКНА РОБОТА**

На тему: Фармакогностичне дослідження *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Nyl.

Виконав: здобувач вищої освіти 5 курсу, групи 98Ф1Б  
напряму підготовки (спеціальності)

226 «Фармація, промислова фармація»  
освітньої програми фармація  
Вербицька І.Є.

Керівник: к. фарм. н., доцент Підченко В.Т.

Рецензент: к. фарм. н., доцент Шумейко М.В.

**Київ – 2023 рік**

## ЗМІСТ

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	8
1.1. Ботанічна характеристика <i>Elsholtzia ciliata</i> (Thunb.) Nyl	8
1.2. Поширення та застосування рослин роду <i>Elsholtzia</i>	9
1.3. Хімічний склад	10
1.4. Фармакологічна активність	13
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	23
2.1. Об'єкти дослідження	23
2.2. Макроскопічне дослідження	23
2.3. Мікроскопічне дослідження	23
2.4. Визначення вмісту полісахаридів	23
2.5. Визначення поліфенольних сполук методом Фоліна-Чекальтеу	24
2.5.1. Отримання метанольного екстракту	24
2.5.2. Побудова калібрувального графіку	24
2.6. Ідентифікація основних груп БАР в сировині	25
2.7. Статистична обробка отриманих результатів	25
РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ	27
3.1. Макроскопічне дослідження	27
3.2. Мікроскопічне дослідження	29
3.3. Ідентифікація БАР в листі <i>Elsholtzia ciliata</i>	33
3.3.1. Полісахариди	34
3.3.2. Флавоноїди	34
3.3.3. Дубильні речовини	35
3.4. Кількісне визначення суми полісахаридів в листі <i>Elsholtzia ciliata</i>	35

3.5. Кількісне визначення суми поліфенольних сполук у листі <i>Elsholtzia ciliata</i>	36
Висновки	37
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	40
SUMMARY	47

## СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АФК – активні форми кисню

БАР – біологічно активні речовини

ДФУ – Державна Фармакопея України

ЛРС – лікарська рослинна сировина

МІК – мінімальна інгібуюча концентрація

СМ – світлова мікроскопія

JXR – Jiangxiangru

DPRH – 1,1-дифеніл-2-пікрилгідрозил

MCM – *Mosla chinensis* Maxim

## ВСТУП

### Актуальність

Протягом декількох тисячоліть рослини є джерелом ліків. Кілька традиційних медичних систем, таких як традиційна китайська медицина, індійська аюрведична, давньогрецька та римська медицини, зробили значний внесок у розвиток природної медицини [7]. На сьогоднішній день традиційна китайська медицина є однією з небагатьох стародавніх лікарських систем, які збереглися досі. Вона досі залишається популярною завдяки своїй доступності, ефективності, та меншій кількості описаних побічних ефектів. Однак нечіткі ефекти, низька доказовість ефективності та відмінності із сучасною медичною системою обмежують її глобальне використання.

*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Nyl. (родина *Lamiaceae*) — це рослина, яка широко використовується в традиційній китайській медицині як антибактеріальний та протизапальний засіб [42]. Цей вид широко поширений у Китаї, Індії, Кореї, Монголії, Японії, а в Європі та Північній Америці він був інтродукований та культивований [24, 28]. Протягом декількох тисяч років у народній медицині Китаю ця рослина використовувалась для лікування ряду захворювань, таких як застуда, лихоманка, діарея, дизентерія, розлади травлення, блювота, інсульты та набряки [24]. Сучасними дослідженнями встановлено, що *Elsholtzia ciliata* проявляє антимікробну, антиоксидантну, антиноцицептивну, протизапальну, жарознижувальну, седативну та протипухлинну активність [5, 11, 15, 16, 25, 26, 35]. Найбільш дослідженою є антимікробна активність ефірної олії цієї рослини [5, 6, 15, 25, 42]. Основними хімічними сполуками *Elsholtzia ciliata* є леткі компоненти олії, флавоноїди, стероїди та тритерпени [9, 23, 38, 42, 53].

В Україні *Elsholtzia ciliata* є інтродукованим видом, зустрічається і у дикорослому виді, зокрема на Закарпатті та на Поліссі. В той же час вона не використовується у офіційній медицині.

**Мета дослідження**

Провести морфологічне дослідження, а також фітохімічний аналіз листя *Elsholtzia ciliata* для встановлення основних діагностичних ознак лікарської рослинної сировини, а також визначення якісного і кількісного вмісту різних груп біологічно активних речовин.

**Завдання дослідження:**

- Провести макроскопічний аналіз і визначити основні видоспецифічні ознаки *Elsholtzia ciliata*, зібраної на території України;
- Методами мікроскопічного аналізу встановити основні морфологічні особливості будови листя *Elsholtzia ciliata*
- Ідентифікувати основні групи БАР в листі *Elsholtzia ciliata*
- Визначити кількісний вміст суми полісахаридів та поліфенольних сполук у досліджуваній сировині

**Предмет дослідження:**

Фітохімічне дослідження листя *Elsholtzia ciliata*

**Об'єкт дослідження:**

Листя *Elsholtzia ciliata*

**Методи дослідження:**

Макроскопічний і мікроскопічний аналіз морфології проводили використовуючи світлову мікроскопію (СМ).

Ідентифікацію основних груп БАР проводили за загальновідомими реакціями [1-3]. Кількісний вміст суми полісахаридів визначали гравіметричним методом. Суму поліфенольних сполук в сировині визначали спектрофотометрично.

### **Новизна та значення одержаних результатів**

Проведений макро- і мікроскопічний аналіз морфологічної будови дикорослої *Elsholtzia ciliata*. Методами фітохімічного аналізу в листі *Elsholtzia ciliata* ідентифіковані полісахариди, флавоноїди та дубильні речовини. Вперше встановлений кількісний вміст суми полісахаридів та поліфенольних сполук у листі *Elsholtzia ciliata*. Отримані результати можуть бути використані при викладанні дисциплін «фармакогнозія» та «фармацевтична ботаніка» у вищих навчальних закладах медичного та фармацевтичного профілю України, а також при подальшому дослідженні *Elsholtzia ciliata*, як перспективного джерела БАР та при стандартизації сировини листя.

### **Апробація результатів дослідження**

Результати роботи апробовані на круглих столах, організованих кафедрою фармакогнозії та ботаніки НМУ ім. О.О. Богомольця.

### **Структура роботи**

Загальна кількість сторінок – 48, кількість розділів – 3, кількість використаних джерел – 54.

# РОЗДІЛ І.

## ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Ботанічна характеристика *Elsholtzia ciliata*.

Систематичне положення виду *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Nyl.  
(ельшольція війчаста, бджоляна трава війчаста) [48]:

Царство – Рослини (Plantae)

Відділ – Покритонасінні (Magnoliophyta)

Клас – Дводольні (Magnoliopsida)

Порядок – Губоцвіті (Lamiales)

Родина – Глухокропикові (*Lamiaceae*)

Рід – Ельшольція (*Elsholtzia*)

Вид – Ельшольція війчаста (*Elsholtzia ciliata*)



Рис. 1.1. *Elsholtzia ciliata* у природі



## 1.2. Поширення та застосування рослин роду *Elsholtzia*

*Elsholtzia* — рід, який включає принаймні 33 види, що належать до родини *Lamiaceae*. Вони були широко поширені і застосовувалися в Східній Азії, Африці, Північній Америці та країнах Європи протягом століть (рис.1.1). Рослини роду *Elsholtzia* — це переважно ароматичні рослини, які здавна використовувались в народній медицині у вигляді трав'яних чаїв та додавались до їжі, спецій, напоїв, використовувались в парфумерії, косметиці, ароматерапії та при виробництві меду [24, 48].

У народній медицині рослини роду використовувалися в Китаї для лікування застуди, головного болю, фарингіту, лихоманки, діареї, розладу травлення, ревматичного артриту, нефриту та нікталопії [24]. Ще одне важливе застосування рослин — відновлення ґрунту, забрудненого важкими металами. Все більше дослідницьких робіт зосереджено на функції роду для відновлення ґрунту. Найбільш відомий з *E. splendens* (*E. haichowensis*), який є рослиною-акумулятором Cu, широко поширеним у відходах видобутку Cu та забрудненому Cu ґрунті в Китаї [47].

У Китаї поширені щонайменше 33 види рослин цього роду [24]. А більшість ельшолцій живе на висоті від 1000 до 3000 метрів. *E. splendens* поширена на висоті від 200 до 300 метрів. *E. cephalantha*, *E. strobilifera* і *E. eriostachya* ростуть на висоті від 3000 до 4000 метрів.

*Elsholtzia* зазвичай зростає на горбистих луках, пустирях, лісах, хащах або долинах у теплій місцевості. *E. Saxatilis* росте в скелястих ущелинах. *E. saxatilis* відрізняється від інших рослин *Elsholtzia* тим, що цей вид поширений на північному сході Азії, де значно холодніше порівняно з Південною Азією. *E. communis* і *E. argyi* культивуються в провінції Юньнань (Китай) і В'єтнамі (рис.1.3.). За винятком двох згаданих видів, більшість інших рослин роду є дикорослими [24].

*Elsholtzia ciliata* — трав'яниста рослина заввишки 30-50 см з товстим листям, овальним листком, зростаючими ворсинками і коричневими

довгастими ягодоподібним насінням. Квітка рожева і зазвичай містить 3–4 маточки, у яких нижня частка нижча за верхню [48].

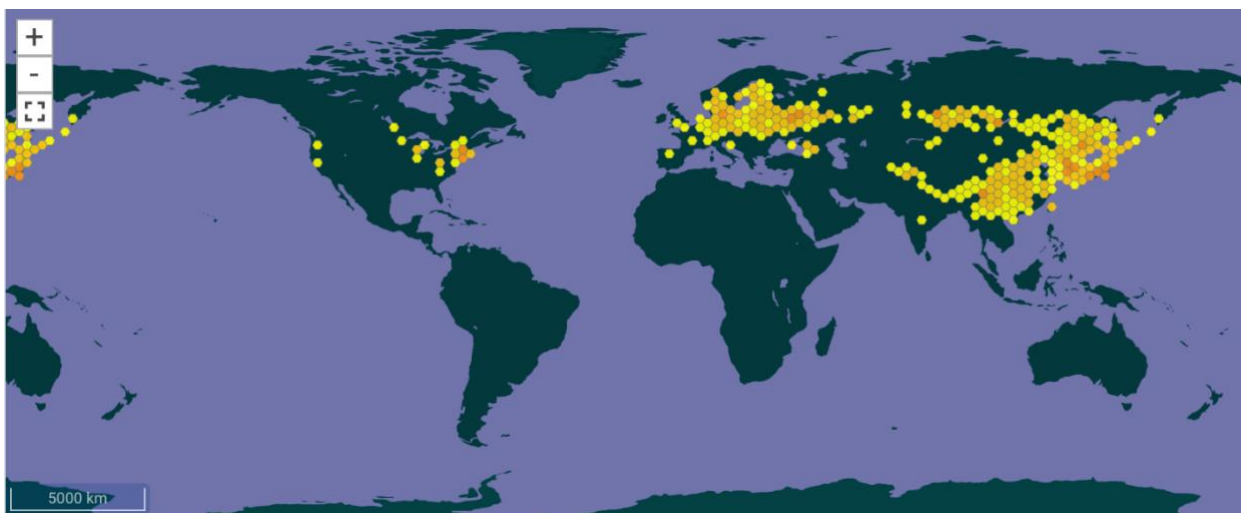


Рис.1.2. Карта поширення *Elsholtzia ciliata* [10]

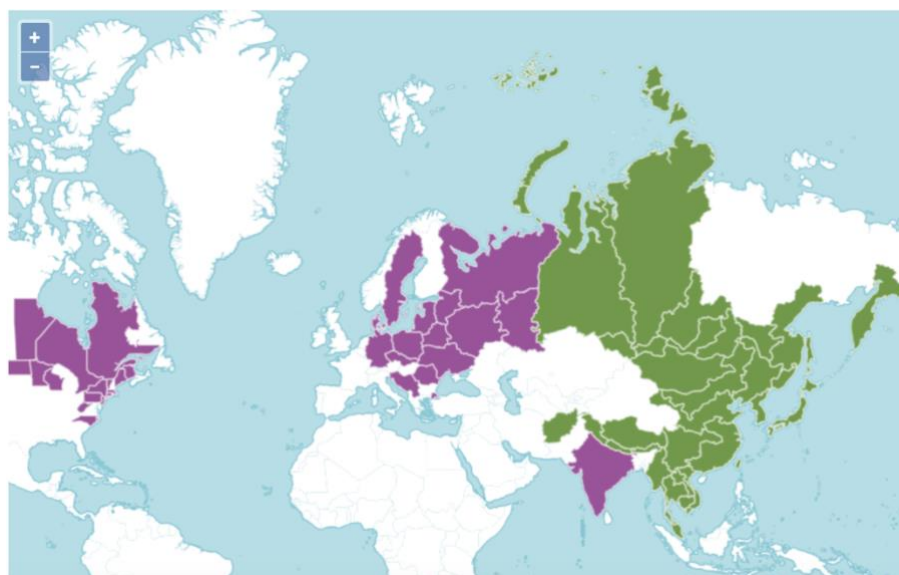


Рис. 1.3. Ареал поширення роду *Elsholtzia* Willd.: зелений – природній, фіолетовий – культивується [34]

У клінічному застосуванні традиційної китайської медицини надземні частини *Mosla chinensis* Maxim (MCM) і *Mosla chinensis* Maxim cv. Jiangxiangru (JXR) використовуються як *E. ciliata*. MCM здебільшого дикорослі, а JXR є культивовані, який часто плутають з *Elsholtzia splendens* [20]. Вважається, що JXR має очевидні морфологічні відмінності від MCM. Висота рослини JXR може досягати 25-66 см. Стебло має сіре, біле кучеряве опушення. Листова

пластинка від широколанцетної до ланцетної, а край листя явно зазубрений. Приквітки оберненояйцевидні і яйцеподібні. Частки чашечки трикутно-ланцетної форми. В основі коронкової трубки є волосяне кільце. Горіхи жовтувато-коричневі, майже круглі, з легкою різьбленою поверхнею, сітчасті та приплюснуті всередині. Рослини МСМ коротші. Стебло обернено ворсисте. Листова пластинка від лінійної до лінійної ланцетної форми, край листя пилчастий, малопомітний. Приквітки яйцеподібні округлі. Частки чашечки шилоподібні. Волосистого кільця біля основи корони немає. Горішки майже кулясті, коричневі, з глибокою різьбою на поверхні, нерівні по вічку. Тому JXR слід зазначити як самостійний сорт [17, 24].

Має низькі вимоги до середовища зростання, короткий цикл росту, період цвітіння з липня по жовтень, збирання врожаю влітку та восени [48].

### 1.3. Хімічний склад

Попередні фітохімічні дослідження показали, що флавоноїди є основними інгредієнтами роду *Elsholtzia*. Фенілпропаноїди, терпеноїди, фітостероли та глікозиди також є основними хімічними складовими цього роду [24, 33, 38, 43, 53]. Слід зазначити, що дослідники відмічають, що хімічний склад *Elsholtzia ciliata* залежить від місця зростання рослини.

#### *Флавоноїди*

До теперішнього часу існує 68 сполук із загальною формулою C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, виділених з *Elsholtzia*, включаючи флавоноїди та їх глікозиди. Їх кількість і вміст є найбільшими серед усіх вторинних метаболітів роду.

Встановлено, що 30 сполук, виділених з *Elsholtzia* є флавонами, у яких кілька гідроксильних, метоксильних і глікозильних груп пов'язані з материнським ядром. Кисневі функціональні групи найчастіше приєднані до положень C-5 і C-7 у флавонах.

Також були виділені 14 флавонолів. Більшість з них є 3-О-флавоноловими глікозидами, що пов'язані з різноманітними глікозильними групами, наприклад глюкопіранозилом, галактозилом або рамнопіранозилом [44].

Окрім цього були виділені вісім флаванонів, один флаванол, 4 лінійних фуранокумарини, а також три лігнаноліди [31, 33, 38].

### *Терпеноїди*

Наявність тритерпеноїдів також характерні для цього роду. Тритерпени олеананового типу були виділені переважно з надземної частини *E. bodinieri*. Три тритерпени урсанового типу, включаючи урсолову кислоту, корозолову кислоту і 2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,19 $\alpha$ -тригідроксіур-12-ен-28-ову кислоту, виділили з *E. rugulosa*, *E. ciliata* та *E. bodinieri* [24, 53].

Два незвичайних 18,19-секоурсанових глікопіранозиди, бодініозиди А і В, були виділені з рослини *E. bodinier* [38]. Це перші глікозиди секоурсанового типу, виділені з родини *Lamiaceae*.

Також були виділені п'ять дитерпеноїдів з *E. bodinier* [53]. Лудонгін 5, тетрациклічний каурановий дитерпеноїд, з'єднаний  $\gamma$ -лактоном у положеннях С6-С19 проявляє значний антибактеріальний ефект [11]. Сандаракопімар-15-ен-8 $\beta$ ,12 $\beta$ -діол, трициклічний пімарановий дитерпеноїд, був вперше виділений з *Elsholtzia* [21]. Дитерпеноїд абіетанового типу, (+)-хінокіол, є другорядним дитерпеноїдом, що зустрічається в рослинах. Його інгібуюча та деактивуюча дія щодо *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa* привертає увагу дослідників [32].

Два глікопіранозиди хардвікової кислоти вперше були описані у *E. bodinieri* як два нових дитерпеноїди клеродану. Три сесквітерпенових глікопіранозиди евдесманового типу, було отримано з кори кореня *E. bodinieri* [24]. До теперішнього часу лише три сполуки, що містять атоми азоту були повідомлені з роду, всі з *E. rugulosa*.

### *Ефірні олії.*

Рослини *Elsholtzia* в цілому є ароматичними травами, оскільки вони містять велику кількість фітонцидів. Багато вчених-фітохіміків і фармакологів цікавляться леткими компонентами та їх біологічною активністю. В дослідженнях встановлено, що леткі сполуки сильно пригнічують центральну нервову систему та виявляють значний болезаспокійливий ефект [45]. Ефірні олії також демонструють антибактеріальну дію [21, 25, 32, 36, 42].

Загалом майже 600 летких компонентів було ідентифіковано з 21 виду *Elsholtzia*. Серед них широко поширені  $\alpha$ -пінен,  $\beta$ -пінен, ацетофенон, каріофіленоксид, карвакрол, бензальдегід,  $\beta$ -каріофілен, 1,8-цинеол,  $\alpha$ -фелландрен і  $\alpha$ -терпінеол. Зокрема,  $\alpha$ -пінен і  $\beta$ -пінен є найбільш важливими двома, які були виявлені та ідентифіковані у 15 видів роду [21, 25, 32, 36, 42, 54]. Ацетофенон, каріофіленоксид, карвакрол, бензальдегід,  $\beta$ -каріофілен,  $\alpha$ -фелландрен і  $\alpha$ -терпінеол також широко розповсюджені серед рослин даного роду. Було встановлено, що основними сполуками, отриманими з ефірної олії *Elsholtzia ciliata* є гідроельшольцикетон і ельшольцикетон [9].

Примітно, що вид сировини, умови вирощування, час збирання, методи екстракції та методи аналізу досліджуваних рослин відіграють вплив на вміст летких сполук [24]. Наприклад, вміст  $\alpha$ -пінену в *E. blanda* становив до 4,84% у провінції Юньнань, а у у провінції Сичуань, Китай цей показник складав до 1,43% [5]. В інших дослідженнях показано, що вміст летких сполук *E. stauntonii* залежав від різних методів екстракції [24].

### **1.4. Фармакологічна активність**

У традиційній китайській медицині *E. ciliata* в основному використовується для лікування застуди, лихоманки, головного болю, болю в животі, блювоти та діареї, набряків та поганого сечовипускання. Сучасні

фармакологічні дослідження показують, що *E. ciliata* проявляє антиоксидантну, протизапальну, антимікробну, інсектицидну, протівірусну, гіпополіпідемічну, гіпоглікемічну, аналгетичну, протиаритмічну, протипухлинну, антиацетилхолінергасну та імунорегуляторну дію.

#### *Антиоксидантна активність*

Оксидативний стрес відноситься до стану дисбалансу між окислювальним і антиоксидантним ефектами *in vivo*. Це негативний ефект, спричинений вільними радикалами в організмі, і вважається важливим фактором старіння та хвороб. Повідомлялося, що ефірна олія *E. ciliata* може збільшувати активність каталази у мозку мишей на 26,94%, що може призводити до розкладання перекису водню для зменшення окисного стресу [54]. В етанольному екстракті *E. ciliata* є фенольна речовина осмундацетон. В експерименті DPPH значення IC<sub>50</sub> осмундацетону становило 7,88 ± 0,02 мкМ, що вказує на певну антиоксидантну здатність. Інгібуючу дію осмундатацетону на індукований глутаматом окислювальний стрес у клітинах HT22 вивчали методом активних форм кисню (АФК). Результати показали, що осмундацетон значно знижує накопичення АФК і може використовуватися як потенційний антиоксидант [33]. Вивчаючи вплив метанольного екстракту *E. ciliata* на мишачі макрофаги J774A.1, оцінка антиоксидантної активності показала, що всі досліджувані сполуки (лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид, лютеолін і 5,6,4'-тригідрокси-7,3'-диметоксифлавоп) проявляли значний вплив на вивільнення АФК під час оксидативного стресу при найвищій концентрації [30].

Різні вчені вивчали різні полярні екстракти *E. ciliata*. Результати експерименту з поглинання вільних радикалів, показали, що екстракт *E. ciliata* проявляє певну здатність поглинати 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразил (DPPH) і 2,2'-азинобіс (3-етилбензотіазолін)-6-сульфокислота) (ABTS), зі значеннями IC<sub>50</sub> 495,80 ± 17,16 та 73,59 ± 3,18 мг/мл [10]. Така антиоксидантна здатність

може бути пов'язана з неполярними флавоноїдами та фенолами, що містяться в *E. ciliata*.

Різні частини *E. ciliata* проявляють різну антиоксидантну активність. У досліджах було показано, що етанольний екстракт з квіток *E. ciliata*, листя та цілої рослини найбільше містив у своєму складі феноли і флавоноїди, які і проявляють найсильнішу антиоксидантну активність. Результати досліджень показали, що етанольний екстракт квіток *E. ciliata* мав найвищу антиоксидантну активність. Вміст глікозидів кверцетину, фенольних кислот, та загальна кількість флавоноїдів та фенолів у екстракті стебла був найнижчим, відповідно антиоксидантна активність – також нижчою [25].

Отже, можна побачити, що *E. ciliata* має потенціал для запобігання серцево-судинним захворюванням, раку та іншим захворюванням, викликаним надлишком вільних радикалів [26].

#### *Протизапальна активність*

У досліджах досліджувався вплив сполук педалін, лютеолін-7-О- $\beta$ -D-глюкопіранозид, 5-гідрокси-6,7-диметоксифлавонон та  $\alpha$ -ліноленова кислота, виділені з ефірної олії *E. Ciliata*, на запальну реакцію, індуковану ліпополісахаридом. [30]. Стан запалення оцінювали за кількістю медіаторів запалення, тобто фактора некрозу пухлини- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), інтерлейкіну (IL)-6 та простагландину E2 (PGE2). Етанольний екстракт *E. ciliata* може значно інгібувати секрецію медіаторів запалення, зокрема фактори TNF- $\alpha$  та IL-6 інгібувались екстрактом стебел та квіток, а простагланідини інгібувались екстрактом листя [35]. Ефірна олія *E. ciliata* та водний екстракт можуть різною мірою знижувати вміст PGE2, TNF- $\alpha$  та інших факторів запалення, а також вміст оксиду азоту (NO) у сироватці крові [39]. Надлишок NO може індукувати вироблення прозапальних факторів, таких як TGF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$ , і посилювати запальну відповідь. Карвакрол може пригнічувати експресію прозапальних цитокінів інтерферону- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), IL-6 та IL-17 і посилювати експресію

протизапальних факторів TGF- $\beta$ , IL-4 та IL-10, таким чином знижуючи рівень факторів запалення, зменшуючи пошкодження клітин і досягаючи протизапальних ефектів [51].

Водний екстракт *E. ciliata* має протиалергічну запальну активність і може бути пов'язана з інгібуванням кальцію, P38 мітоген-активованої протеїнкінази та експресії ядерного фактора  $\kappa$ B в лінії мастоцитів людини [13].

#### *Антимікробна активність*

Різні полярні екстракти *E. ciliata* продемонстрували значні відмінності в антимікробній активності. Результати показали, що дихлорметанова фракція мала найсильнішу інгібуючу дію на *Candida albicans* з мінімальною інгібуючою концентрацією (МІК) 62,5 мкг/мл, тоді як н-гексанова фракція мала найсильніший інгібуючий ефект на *Escherichia coli* з МІК 250 мкг/мл [48]. Етилацетатний екстракт мав сильну інгібуючу дію на *Rhizopus oryzae* з діаметром зони інгібування  $13,7 \pm 2,7$  мм, МІК 5 мг/мл і мінімальною бактерицидною концентрацією 5 мг/мл [15]. МІК петролейного, н-бутанольного та етанольного екстрактів проти *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* і *Bacillus subtilis* становила 31,25 мкг/мл, а МІК етилацетатного екстракту становила 15,60 мкг/мл [20]. Вуглекислотний екстракт *E. ciliata* виявляв певну пригнічувальну дію щодо *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphoid* та інших мікроорганізмів. При концентрації екстракту 0,10 г/мл інгібуюча дія на *Staphylococcus aureus* була найбільш явною, а діаметр зони інгібування становив  $19,7 \pm 0,1$  мм [11].

Відповідно до наявних літературних даних, *E. ciliata* містить ефірну олію, яка містить велику кількість антибактеріальних сполук і може пригнічувати різноманітні мікроорганізми, тому вона має наукове значення. Основними антибактеріальними діючими компонентами ефірної олії *E. ciliata* є тимол, карвакрол і п-цимен, які інгібують *Staphylococcus aureus*, метицилінрезистентний *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli*. МІК



становили 0,39 мг/мл, 3,12 мг/мл і 1,56 мг/мл, а діаметри зони інгібування становили  $21,9 \pm 0,1230$ ,  $18,2 \pm 0,0560$  і  $16,7 \pm 0,0115$  нм відповідно [19]. Ефірні олії з квіток та стебел і листя *E. ciliata* пригнічували ріст *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* і *Pseudomonas aeruginosa*. Обидві вони мали найсильніший інгібуючий вплив на *Staphylococcus aureus* з діаметром інгібуючої зони  $12,2 \pm 0,4$  і  $11,2 \pm 0,1$  мм відповідно [45]. Інші результати показують, що ефірна олія може впливати на формування біоплівки *Staphylococcus aureus*, щоб досягти бактеріостатичної дії на його ріст. МІК ефірної олії для *Staphylococcus aureus* становила 0,250 мг/мл. МІК карвакролу, тимолу та карвакролу ацетату проти *Staphylococcus aureus* становили 0,122, 0,245 та 0,195 мг/мл відповідно, що є ефективними антибактеріальними компонентами ефірної олії. Карвакрол, карвакрилацетат,  $\alpha$ -карден і 3-карден мали сильний інгібуючий вплив на утворення біоплівки *Staphylococcus aureus*, і рівень інгібування становив понад 80% при 1/4 МІК (0,0305, 1,4580, 0,1267 і 2,5975 мг/мл) відповідно [16, 32].

В іншому дослідженні вчені досліджували інгібуючу дію ефірної олії на 17 видів мікроорганізмів, серед яких вона значно пригнічувала ріст *Chaetomium globosum*, *Aspergillus fumigatus* і *Candida rugosa*. Діаметри антибактеріальної зони становили  $16,3 \pm 0,58$ ,  $15,0 \pm 1,00$ ,  $16,0 \pm 0,00$  мм, МІК – 31,3, 62,5, 62,5 мкг/мл відповідно [5]. Є припущення, що олія також має інгібуючий ефект на *Bacillus subtilis* і *Salmonella enteritidis*, що може бути пов'язано з вмістом терпенів [25]. Основними антибактеріальними компонентами олії є тимол і карвакрол. Оксид каріофілену можна використовувати при лікуванні дерматомікозів, особливо при короткочасному лікуванні мікозу нігтів [23]. Бактерицидний механізм ефірної олії може бути пов'язаний з тим, що активні компоненти, такі як карвакрол, можуть пошкоджувати клітинні мембрани та змінювати їх проникність [24].

В інших дослідах екстракт мав значний пригнічуючий ефект на проростання спор *Aspergillus flavus* і міг значно змінити морфологію міцелію,

подоцитів і спорофітів *Aspergillus flavus* з МІК 0,15 мг/мл [12]. Швидкість проростання *Penicillium digitorum*, обробленого карвакролом, значно зменшилася; механізм може полягати в тому, що карвакрол може змінити поверхневу морфологію міцелію [37].

#### *Інсектицидна активність*

Деякі дослідження показали, що *E. ciliata* проявляє інсектицидну дію. Ступінь репелентності ефірної олії *E. ciliata* до *Blattella germanica* становив 64,50%. [27]. Було показано, що дегідроельшольція кетон і ельшольція кетон є активними компонентами ефірної олії *E. ciliata* проти *Liposcelis bostrychophila* [50]. Карвон і лімонен є двома основними компонентами ефірної олії *E. ciliata*. Здатність ефірної олії *E. ciliata*, карвону та лімонену проти личинок *Tribolium castaneum* та дорослих особин була оцінена за допомогою тесту на контактну токсичність та аналізу фумігації. Тест на контактну токсичність показав, що LD<sub>50</sub> ефірної олії *E. ciliata*, карвону та лімонену для дорослих особин *Tribolium castaneum* становив 7,79, 5,08 та 38,57 мг/дорослу особину, відповідно, і 24,87, 33,03 та 49,68 мг/личинку для личинок *Tribolium castaneum*. Результати тесту на фумігаційну токсичність показали, що LC<sub>50</sub> дорослих особин *Tribolium castaneum* становив 11,61, 4,34 і 5,52 мг/л повітря відповідно, а LC<sub>50</sub> личинок *Tribolium Castaneum* — 8,73, 28,71 і 20,64 мг/л повітря відповідно [22]. Тимол, карвакрол і β-тимол, що містяться в ефірній олії, мали значну фумігаційну токсичність проти *Mythimna Separate*, *Myzus Persicae*, *Sitophilus Zeamais*, *Musca domestica* та *Tetranychus cinnabarinus*, серед яких β-тимол має найсильнішу активність [27].

З цієї точки зору ефірна олія *E. ciliata* має потенціал як природний засіб проти комах. Це закладено в основу розробки та використання лікарських форм пестицидів.

*Leishmania mexicana* може викликати шкірний лейшманіоз. Ефірна олія *E. ciliata* проявляла активність проти лейшманії. [14]. Водний екстракт *E.*

*ciliata* проявляв значний ефект проти *trichomonas vaginalis*, тобто може руйнувати структуру тіла комах. Результати експериментів *in vitro* показали, що найнижча ефективна концентрація водного екстракту *E. ciliata* становила 62,5 мг/мл, а найнижчий час дії становив 12 год. Коли концентрація становила 250 мг/мл, усі *Trichomonas vaginalis* могли бути вбиті протягом 4 годин. Цей експеримент проплнує новий погляд на клінічне лікування вагінального трихомоніазу [52].

### *Противірусна активність*

T-хелпери 17 відіграють важливу роль у підтримці адаптивного імунного балансу, а надлишок T-хелперів 17 може викликати запалення. Карвакрол відіграє роль проти вірусу грипу, зменшуючи концентрацію клітин T-хелперів 17, значно збільшену інфекцією вірусу грипу А. Його можна використовувати як потенційний противірусний препарат, а також для контролю запалення, викликаного інфекцією вірусу грипу А [51].

Мишей з вірусною пневмонією, змодельованою вірусом H1N1, лікували низькою, середньою та високою дозами загальних флавоноїдів екстракту *E. ciliata*. Легеневий індекс трьох дозових груп становив  $12,81 \pm 3,80$ ,  $11,65 \pm 2,58$ ,  $11,45 \pm 2,40$  мг/г, відповідно, у порівнянні з інфекційною групою  $16,05 \pm 3,87$  мг/г, показники інгібування становили 20,18%, 27,41%, 28,66%, відповідно [49].

В іншому дослідженні легеневий індекс при застосуванні низької, середньої та високої дози водного екстракту *E. ciliata* на мишах, інфікованих вірусом грипу А/PR8, становив  $1,21 \pm 0,22\%$ ,  $1,12 \pm 0,17\%$  та  $0,94 \pm 0,21\%$  відповідно. Порівняно з групою інфікованих вірусом  $1,80 \pm 0,29\%$ , показники інгібування становили 32,78 %, 37,78 % і 47,78 % відповідно. Екстракти можуть збільшувати кількість IL-2 та IFN- $\gamma$  у сироватці крові мишей і сприяти противірусній здатності організму опосередковано або прямо [46]. Флуорантен - це сполука з противірусною дією, отримана з *E. ciliata*. Він має

певну пригнічувальну дію на вірус Сіндбіс і мишачий цитомегаловірус, з найнижчими ефективними концентраціями 0,01 і 1,0 мкг/мл відповідно. Однак його біологічні ефекти є складними, а його клінічна безпека та ефективність потребують подальших досліджень [28].

#### *Гіполіпідемічна активність*

Гіполіпідемічну активність етанолового екстракту *E. ciliata* оцінювали шляхом визначення впливу на вміст тригліцеридів і загального холестерину в сироватці крові мишей *in vivo* та на проліферацію преадипоцитів 3T3-L1 *in vitro*. Результати показали, що рівні тригліцеридів і загального холестерину в сироватці мишей, які отримували екстракт, були знижені, а диференціація і накопичення преадипоцитів 3T3-L1 також ефективно інгібувались. Рівні генів, пов'язаних з адипогенезом, таких як рецептор  $\gamma$ , активований проліфератором пероксисом, синтаза жирних кислот і білок 2, що зв'язує жирні кислоти адипоцитів, також були значно знижені. Крім того, вміст лептину в сироватці крові в групі лікування етанольним екстрактом *E. ciliata* був нижчим, ніж у мишей із ожирінням, що може бути наслідком зниження вмісту жиру. Таким чином, механізм дії *E. ciliata*, що знижує рівень ліпідів у крові, може полягати в інгібуванні експресії генів, пов'язаних з утворенням жирових клітин. Однак конкретний механізм потребує подальшого вивчення [41].

#### *Противухлинна активність*

Вчені екстрагували ефірну олію зі свіжої, ліофілізованої і висушеної трави *E. ciliata*. В експериментах *in vitro* три види ефірної олії показали значне пригнічення проліферації клітин людської гліобластоми, раку підшлункової залози і потрійного негативного раку молочної залози, зі значеннями  $EC_{50}$  в діапазоні від 0,017 % до 0,021 %. Однак етанольний екстракт *E. ciliata* не виявив цитотоксичності в цьому експерименті [36]. Експерименти *in vitro* показали, що пектин MP-A40, виділений з рослини впливає на проліферацію

клітин лінії K562 людської лейкемії. При концентрації МР-А40 500 мкг/мл, рівень інгібування становив 31,32% [17].

### *Імунорегуляторна активність*

Макрофаги можуть регулювати апоптоз шляхом виробництва NO та інших діючих молекул. Клітини макрофагів RAW 264.7, оброблені пектином МР-А40, демонстрували помітне збільшення продукції NO. Крім того, це залежить від концентрації. Коли концентрація МР-А40 була такою низькою, наприклад 10 мкг/мл, виробництво NO все ще було в 15 разів більше, ніж у негативному контролі [17]. У мишей, які отримували циклофосфамід, спостерігався підвищений рівень вільних радикалів, посилення агресії по відношенню до імунних органів і зниження показників тимуса і селезінки. Полісахарид МР може поглинати вільні радикали та сприяти проліферації Т-клітин і В-клітин. До певної міри імуносупресію, спричинену циклофосфамідом, можна послабити [16, 17]. Проте потенційний імуномодулюючий механізм полісахариду ще належить дослідити.

### *Інші фармакологічні ефекти*

Різні полярні етанольні екстракти *E. ciliata* проявляли різний ступінь інгібування активності  $\alpha$ -глюкозидази, що вказує на певну гіпоглікемічну активність.

В інших дослідах було показано, що неочищений етанольний екстракт *E. ciliata* проявляє знеболювальну дію [48].

Використовували модель перфузованого ізольованого серця кролика Лангендорфа. Коли до перфузату додавали ефірну олію *E. ciliata*, інтервал QRS збільшувався, інтервал QT вкорочувався, амплітуда підйому потенціалу дії I зменшувалася, а час активації подовжувався, коли концентрація ефірної олії *E. ciliata* збільшувалася в діапазоні 0,01–0,1 мкл/мл і показали концентраційну залежність. Це може бути пов'язано з тим, що блокада

натрієвих каналів може підвищити поріг генерації потенціалу дії, подовжити ефективний рефрактерний період і пригнічувати деполяризацію нульової фази пізньої деполяризації. Скорочення тривалості потенціалу дії може зменшити виникнення ранньої деполяризації. Цей експеримент забезпечує теоретичну основу для *E. ciliata* у лікуванні аритмії [29].

Акацетин, виділений з *E. ciliata* показав значний інгібуючий ефект на активність ацетилхолінестерази, що може бути перспективним для лікування хвороби Альцгеймера [31].

## РОЗДІЛ II.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Об'єкти дослідження

Об'єктом досліджень було листя рослини *Elsholtzia ciliata*. Дикоросла сировина була зібрана на території України, в лісах і лісосмугах Здолбунівського району Рівненської області. Збір листя проводили за сухої погоди в перед початком цвітіння рослини.

#### 2.2. Макроскопічне дослідження

Макроморфологічні дослідження проводили із використанням цифрового світлового мікроскопу LCD HDMI Digital Microscope, а також пакету програмного забезпечення LevenhukLite для ПК.

#### 2.3. Мікроскопічне дослідження

Мікропрепарати виготовляли згідно загальновідомих методик – препарати витримували у мацеруючому розчині протягом 7–14 діб, обробляли гематоксиліном, сафраніном та Суданом III, після чого готували до світлової мікроскопії. Мікрофотографії робили використовуючи бінокулярний світловий мікроскоп ULAB для дзеркальної камери Canon EOS D550.

#### 2.4. Визначення вмісту полісахаридів

Для встановлення кількісного вмісту суми полісахаридів проводили екстракцію полісахаридів з листя дистильованою водою у співвідношенні 1:5 у сушильній шафі за температури  $98,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$  протягом 16 годин. Отриманий екстракт осаджували етанолом (96%) у співвідношенні 1:2 до об'єму за температури  $4,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$  протягом 24 год. Осад центрифугували при 5000 об/хв протягом 25 хв та ресуспензували в гарячій дистильованій воді ( $90,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$ ). Отриману фракцію полісахаридів висушували до постійної маси за  $60,0 \pm$

0,1°C. Визначення вмісту полісахаридів проводили гравіметричним методом. Результат виражали у відсотках від сухої маси. Кількість повторностей – 4.

## **2.5. Визначення поліфенольних сполук методом Фоліна-Чекальтеу**

### **2.5.1. Отримання метанольного екстракту**

Для визначення вмісту поліфенольних сполук отримували метанольний екстракт шляхом екстрагування 1 г порошку листя в 6 мл абсолютного метанолу (HANEYWELL, CHROMASOLV TM Gradient for HPLC, gradient grade  $\leq 99.9\%$ ) за температури  $4,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$  протягом 7 діб.

### **2.5.2. Побудова калібрувального графіку**

Для побудови калібрувальної кривої у мірні колби на 25 см<sup>3</sup> вносили 0,0; 0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 та 5,0 см<sup>3</sup> 0,2 мг галової кислоти/см<sup>3</sup> (робочого розчину). До кожної проби додавали 2 см<sup>3</sup> реактиву Фоліна-Чекальтеу і через кілька хвилин 10 см<sup>3</sup> 7,5%-ного розчину Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, після чого доводили об'єм водою до мітки. В одержаних розчинах концентрація галової кислоти у перерахунку на досліджувану пробу дорівнювала 0,0; 2,0; 4,0; 8,0; 12,0; 16,0 та 40,0 мкг галової кислоти/см<sup>3</sup>.

Через 40 хвилин оптичну густина приготованих розчинів вимірювали за допомогою спектрофотометра 6850 UV/VIS JENWAY, використовуючи світлофільтр із довжиною хвилі ( $\lambda = 750$  нм) у кюветах із товщиною поглинаючого світлошару 5 мм. За отриманими даними будували калібрувальний графік залежності оптичної густини від початкової концентрації розчину галової кислоти (рис. 2.1.).



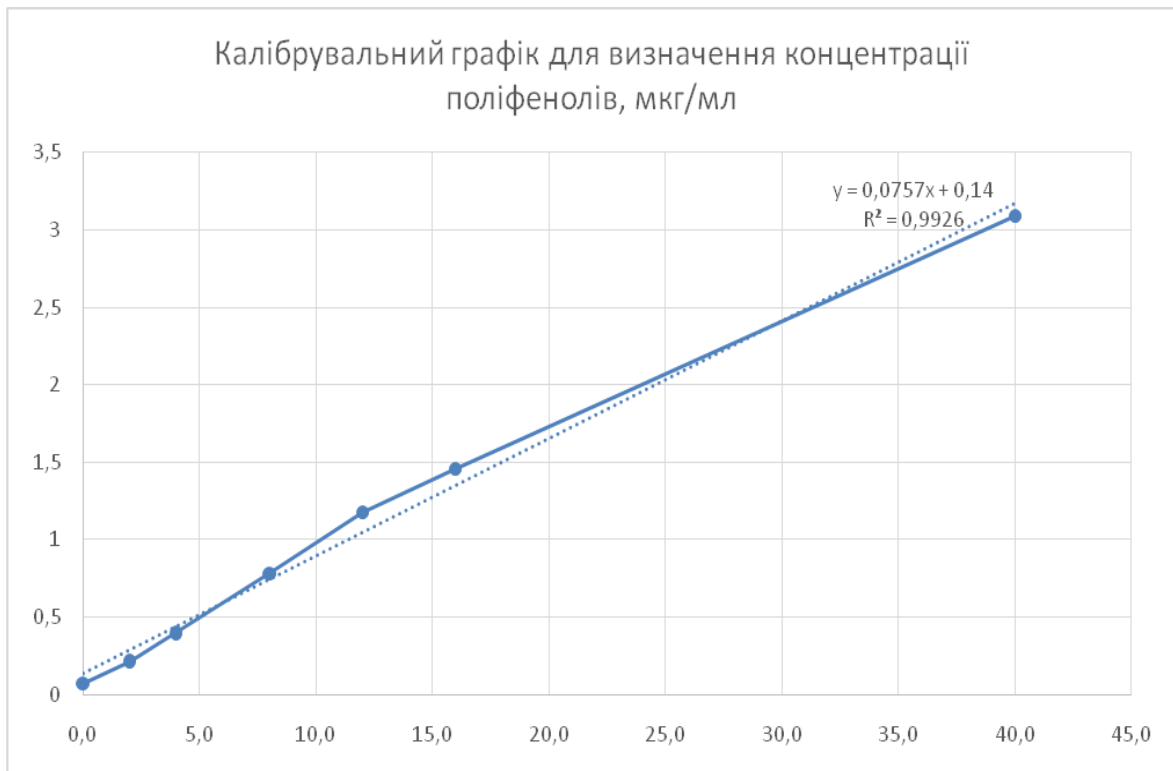


Рис.2.1.Калібрувальний графік для визначення концентрації суми поліфенольних сполук, мкг/мл. Ось абсцис – концентрація галлової кислоти в перерахунку на досліджувану пробу, мкг/мл. Ось ординат – оптична густина.

## 2.6. Ідентифікація основних груп БАР в сировині

Ідентифікацію різних груп БАР проводили у водних, водно-спиртових та спиртових витягах використовуючи загальноприйняті хімічні реакції [1-3].

## 2.7. Статистична обробка отриманих результатів

Для отримання достовірних результатів залежно від умов аналізу та вимог математичного планування експериментальні дослідження здійснювали у 3–4 повторностях. Достовірні значення досліджуваних показників обчислювались статистичними методами аналізу та вказувались такі показники: середні квадратичні відхилення, коефіцієнти варіацій та довірчих інтервалів. У таблицях наведені середні статистично достовірні дані за 95%-й імовірності.

Для статистичної обробки отриманих даних застосовували комп'ютерний пакет програм – Microsoft Office 365.

## РОЗДІЛ III.

# РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 3.1 Макроскопічне дослідження

Оскільки ДФУ регламентує проведення ідентифікації ЛРС, що включає в себе макроскопічне і мікроскопічне дослідження [1], ми провели морфологічне дослідження сировини.

Ельшольція війчаста – однорічна трав'яниста рослина (рис. 3.1). Стебло прямостояче, чотиригранне, висотою до 70 см, нерівномірно опушене, більш опушене у верхній частині біля суцвіть (рис.3.2.).

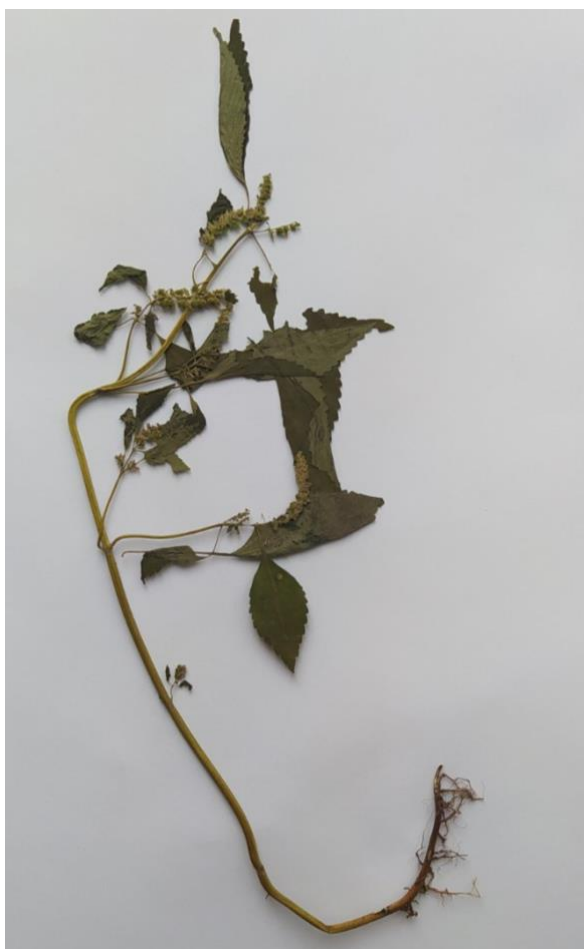


Рис. 3.1. Висушена сировина *Elsholtzia ciliata*



Рис. 3.2. Стебло з листками та суцвіттями *Elsholtzia ciliata*



Рис. 3.3. Листок *Elsholtzia ciliata*

Листки черешкові, яйцеподібно-еліптичні (ланцетні), звужуються біля верхівки, до 8-10 см у довжину, 1-4 см в ширину. Край листової пластинки городчасто-пилчастий, опушення розсіяне (рис.3.3.).

Суцвіття зазвичай однобічне колосоподібне, несправжньомуувчате, довжиною до 5-6 см, і до 1 см в ширину (рис.3.4). Приквітки зелені, трав'янисті, мають госту верхівку. Чашечка яйцеподібна, опушена, вийчаста. Віночок опушений, має вийчасті лопасті. Плід яйцеподібний горішок бурого кольору, до 1,5 мм в довжину. Період цвітіння – липень/серпень, плодоносить у вересні.



Рис.3.4. Суцвіття і квітки *Elsholtzia ciliata*

Висушена сировина мала легкий специфічний запах та була гірквата на смак.

### 3.2 Мікроскопічне дослідження

При мікроскопії листової пластинки *Elsholtzia ciliata* була виявлена амфістоматична анатомічна будова з діацитними та анізоцитними продихами. При цьому діацитний тип переважав. Клітини епідермісу адаксіальної та абаксіальної поверхні мали звивисті антиклінальні стінки (рис. 3.5а, б).

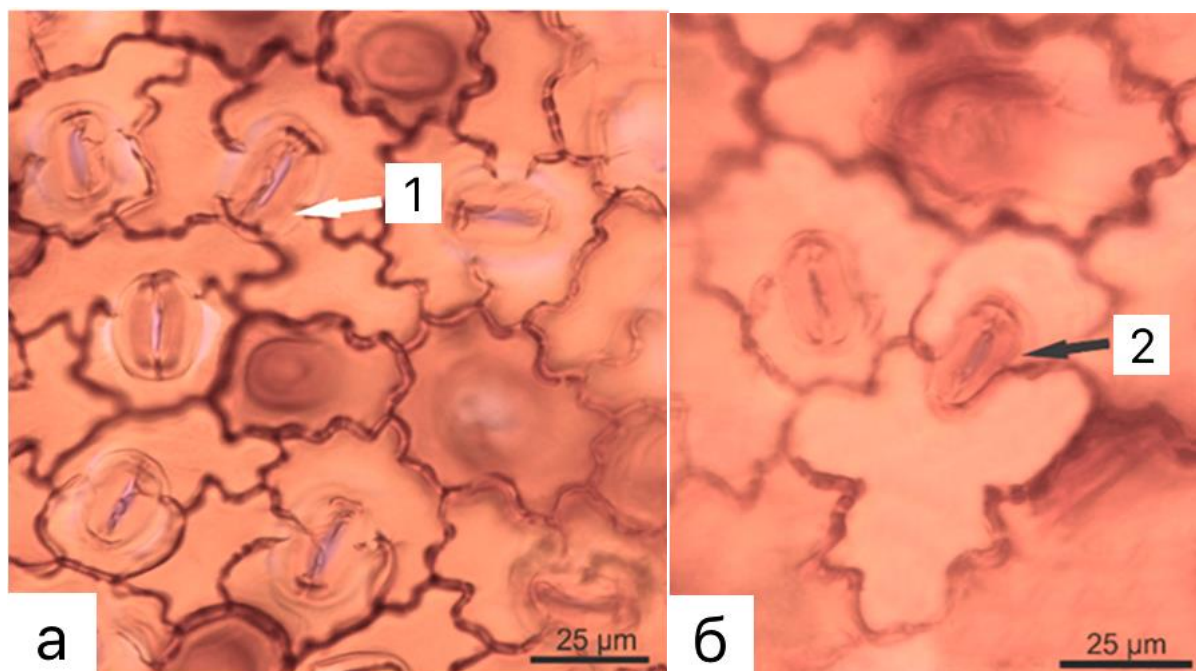


Рис. 3.5. Клітини епідермісу листка *Elsholtzia ciliata*: а – адаксіальна поверхня, б – абаксіальна поверхня; 1 – анізоцитний продиховий апарат, 2 – діацитний продиховий апарат.

Аналіз епідермісу за допомогою світлової мікроскопії (СМ) виявив гладку поверхню кутикули з трьома типами трихом: прості багатоклітинні трихоми (рис. 3.6а), головчасті залозисті трихоми (рис. 3.6б) і пельтатні залозисті трихоми (рис. 3.6в), які спостерігаються на обидвох поверхнях.

Прості багатоклітинні трихоми є незалозистими і складаються з 1–6 клітин із загостренням на кінці. Головчасті залозисті трихоми мають круглу багатоклітинну секреторну головку, яка складається з восьми клітин та одноклітинну ніжку. Пельтатні залозисті трихоми складаються з базальної епідермальної клітини з круглою багатоклітинною секреторною головою на одноклітинній ніжці.

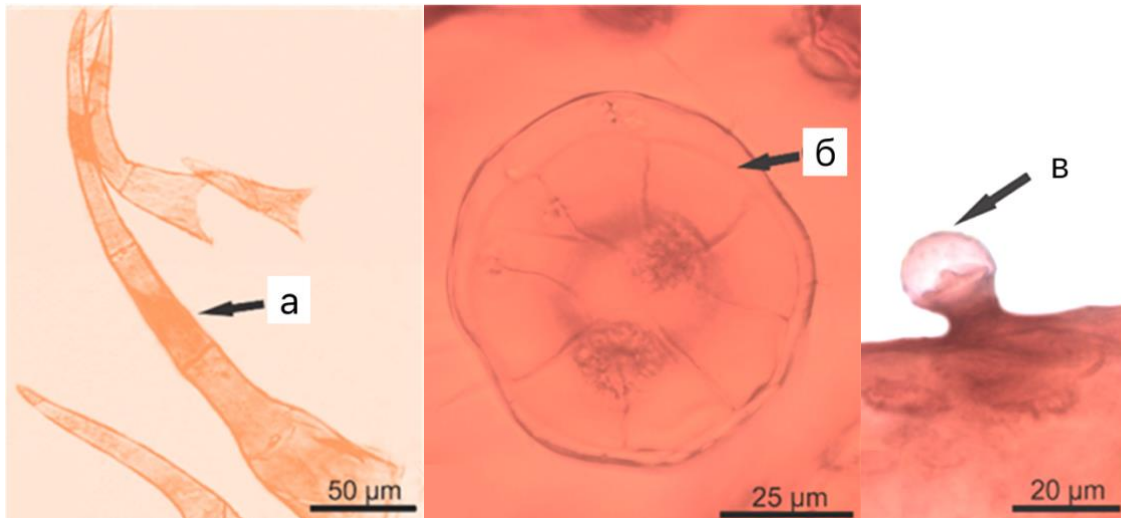


Рис. 3.6. Трихоми листка *Elsholtzia ciliata*: а – проста багатоклітинна трихома, б – головчаста залозиста трихома, в – пельтатна залозиста трихома

На поперечному перерізі край листка загнутий у напрямку абаксіальної поверхні з однорядним епідермісом. Під епідермісом спостерігали палісадну паренхіму з невеликими колатеральними судинними пучками, оточеними 2–4 шарами клітин губчастої паренхіми. Мезофіл представлений палісадною паренхімою (рис. 3.7а, 3.7б.,3.7в). Кілька дрібних колатеральних судинних пучків розподілені по всьому мезофілу. Спостерігали три типи трихом: прості багатоклітинні (рис. 3.7а), головчаті залозисті (рис. 3.7в) і пельтатні залозисті (рис. 3.7г). Абаксіальна поверхня відрізняється від адаксіальної наявністю по всій абаксіальній поверхні великих залозок, які складаються з восьмиклітинної головки та короткої триклітинної ніжки (рис. 3.7в).

Середня жилка має увігнуто-опуклу форму, клітини епідермісу в області листової пластинки меншого розміру. Під епідермісом (на адаксіальній поверхні) є один-два шари пухкої коленхіми. Далі розміщена основна паренхіма. Провідні тканини об'єднані в одному колатеральному пучку (рис.3.7д).

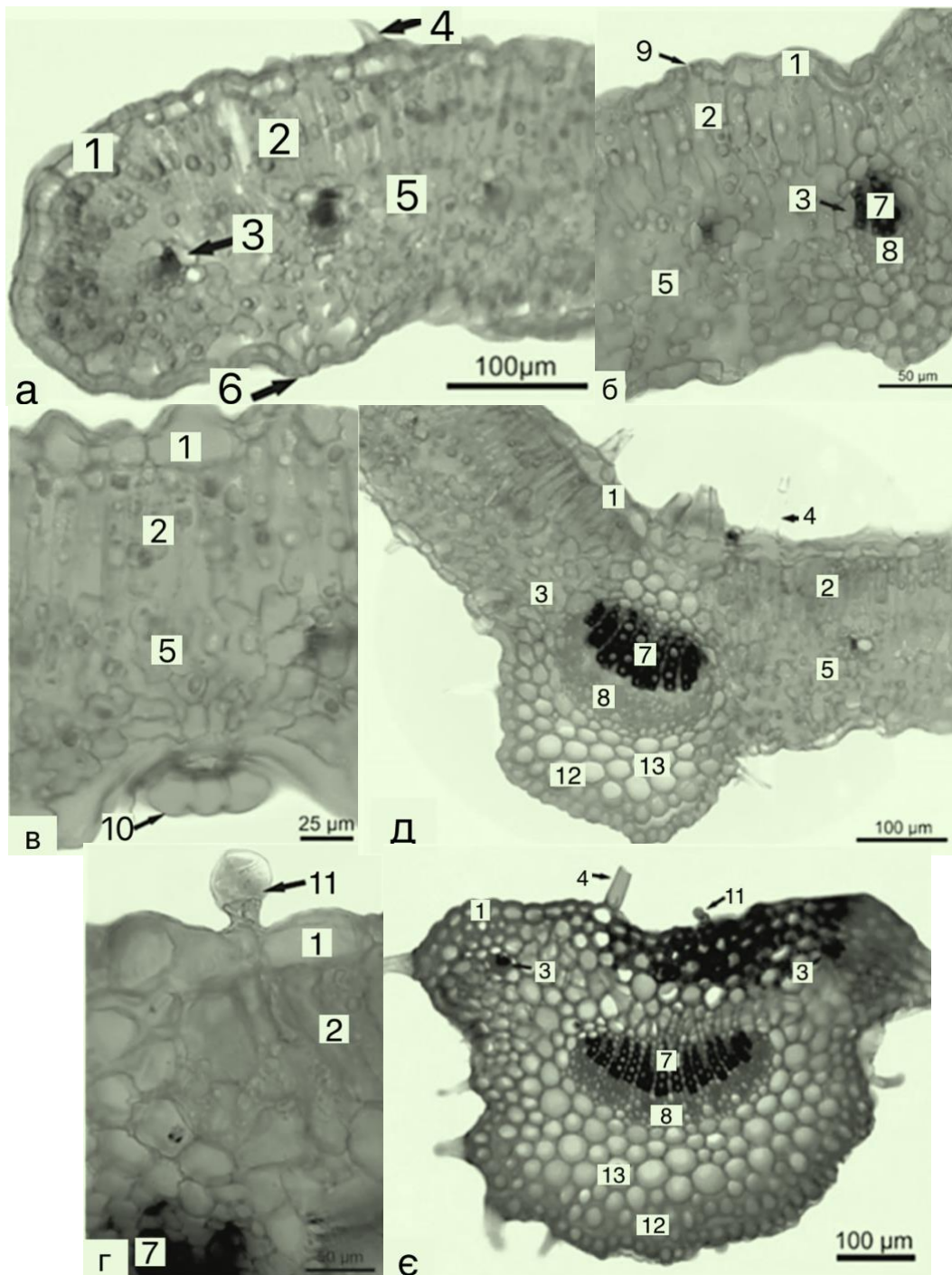


Рис. 3.7. а, б, в, г – поперечний переріз листка, д – середня жилка листка, е – поперечний переріз черешка: 1 – епідерма, 2 – палисадна паренхіма, 3 – провідний пучок, 4 – проста трихома, 5 – пухка паренхіма, 6, 9 – продиховий апарат, 7 – ксилема, 8 – флоема, 10 – головчаста залозиста трихома, 11 – пельтатна залозиста трихома, 12 – коленхіма, 13 – паренхіма



На поперечному розрізі черешок має увігнуто-опуклу форму, утворюючи два ребра (рис.3.7є). Епідерміс з усіх боків однорядний з простими та залозистими трихомами — подібними до описаних для листкової пластинки. Провідні тканини представлені у вигляді колатерального пучка у формі напівмісяця. Під епідермісом розміщена 4-5 шарова коленхіма.

### 3.3. Ідентифікація БАР в листі *Elsholtzia ciliata*

Ідентифікацію різних груп БАР проводили в здібнених на порошок листках *Elsholtzia ciliata*, оскільки, згідно даних літератури, саме в них накопичується більшість хімічних сполук. Отримані результати проведених якісних реакцій узагальнені та наведені у Табл. 3.1.

Таблиця 3.1.

#### Ідентифікація БАР в листі *Elsholtzia ciliata*

Група БАР	Реакція	Результат реакції
1	2	3
Ідентифікація полісахаридів	Осадження спиртом	Аморфний осад
Ідентифікація флавоноїдів	Реакція з лугом	Жовто-помаранчеве забарвлення
	Реакція із FeCl <sub>3</sub>	Червоно-буре забарвлення
	Ціанідінова реакція	Червоне забарвлення
	Реакція з розчином ацетату плюмбуму	Світло-жовтий осад
	Реакція Запрометова	Світло-жовте забарвлення
Ідентифікація дубильних речовин	Реакція з розчином желатину	Каламутний осад
	Реакція з розчином залізо-амонійного галуну	Темно-зелене забарвлення

### 3.3.1. Полісахариди

Ідентифікацію полісахаридів проводили у водному розчині сировини. Для цього брали 5,1 г здрібненого до порошкового стану листя і поміщали в колбу, потім додавали 100 мл води дистильованої і кип'ятили на водяній бані протягом 30 хвилин. Отриманий витяг відфільтровували через 4 шари марлі [2].

Проводили реакцію осадження полісахаридів етанолом (96%). В результаті спостерігали утворення аморфного осаду. Отриманий осад свідчить про присутність полісахаридів у досліджуваній сировині.

### 3.3.2. Флавоноїди

Ідентифікацію флавоноїдів проводили у спиртовому витязі з листя *Elsholtzia ciliata*. До 5 г здрібненого до порошкового стану листя у колбу зі зворотним холодильником додавали 50 мл етанолу (70%), екстрагування проводили на водяній бані протягом 30 хв. Далі витяг охолоджували та фільтрували через 4 шари марлі. Отриманий витяг використовували для проведення наступних реакцій:

1. *Реакція з лугом*: до 1 мл витягу додавали 2 краплі розчину КОН (10%). Розчин набув жовто-помаранчевого кольору, що може свідчити про присутність у сировині флавонів, флавонолів та/або флавононів.
2. *Реакція із  $FeCl_3$* : до 1 мл витягу додавали 2 краплі розчину  $FeCl_3$  (1%). Спостерігали утворення червоно-бурого забарвлення, що може свідчити про наявність в сировині флавонів, флаванонів, халконів, ауронів та/або інших фенольних сполук.
3. *Ціанідинова реакція*: до 1 мл витягу додавали 3 краплі концентрованої  $HCl$  та 1-2 стружки магнію металевого. Спостерігали утворення червоного забарвлення, що також підтверджує наявність в сировині флавоноїдів різної будови.

4. *Реакція з розчином ацетату плюмбуму*: до 1 мл витягу додавали 3-4 краплі розчину ацетату плюмбуму (10%). Спостерігали випадіння світло-жовтого осаду, що може свідчити про наявність флавонів, ауронів та/або халконів.
5. *Реакція Запрометова*: до 1 мл витягу додавали декілька крапель розчину ваніліну (1%) в кислоті HCl концентрованої. Спостерігали забарвлення розчину у світло жовтий колір, який зазвичай дають флаволи та/або флавоноли.

### 3.3.3. Дубильні речовини

Ідентифікацію дубильних речовин проводили у водному розчині із застосуванням наступних якісних реакцій:

1. *Реакція з розчином желатину*: до 2 мл витягу краплями додавали розчин желатину (1%), не допускаючи його надлишку. Спостерігали утворення каламутного осаду, який зникав при додаванні надлишку желатину.
2. *Реакція з розчином залізо-амонійного галуу*: до 2 мл досліджуваного екстракту додавали 5 крапель залізо-амонійного галуу. Спостерігали появу темно-зеленого забарвлення, що може свідчити про наявність дубильних речовин конденсованої групи.

### 3.4. Кількісне визначення суми полісахаридів в листі *Elsholtzia ciliata*

Результати наведені у табл. 3.2.

Таблиця 3.2.

**Кількісний вміст суми полісахаридів в листі *Elsholtzia ciliata*,**

**% сухої маси**

Об'єкт дослідження	% сухої маси
Листя	8,12±0,98

### 3.5. Кількісне визначення суми поліфенольних сполук у листі *Elsholtzia ciliata*

Кількісний вміст суми поліфенольних сполук визначали у метанольному екстракті листя, оскільки він містить різні групи БАР, зокрема поліфеноли різної будови, які можуть проявляти фармакологічну дію *Elsholtzia ciliata*. Визначення проводили спектрофотометрично за методикою Фолліна-Чокальтеу – до метанольного витягу додавали реактив Фолліна-Чокальтеу, який створює комплекси між реактивом та фенольними сполуками. В результаті проведеної реакції спостерігали утворення чорного забарвлення, що свідчить про позитивну реакцію.

Вміст фенольних сполук визначали таким чином: 0,5 мл метанольного екстракту досліджуваного порошку листя ельшоції в'їчної змішували з 0,5 мл реагенту Фолліна-Чокальтеу та витримували 3 хв. при кімнатній температурі, після того додавали 10 мл розчину карбонату натрію (75 г/л) і 5 мл дистильованої води, перемішували та витримували 1 год в темряві за кімнатної температури.

Поглинання зразків вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 750 нм. Розчин галової кислоти використовували як стандартний зразок. Кількість повторностей – 4. Результати наведені в таблиці 3.3.

Поліфеноли відіграють важливу роль у зміцненні здоров'я людини. Відомо, рослини родини *Lamiaceae* багаті на різні фенольні сполуки. Дослідження показали, що корисні ефекти поліфенолів часто пов'язані з їх антиоксидантною активністю, яка може мати профілактичний або терапевтичний ефект при нейродегенеративних розладах, серцево-судинних захворюваннях, деяких формах раку, остеопорозі, панкреатиті, шлунково-кишкових проблемах, пошкодженні легенів і ожирінні [8, 33, 35]. Одним із найпоширеніших станів захворювання є запалення, яке характеризується підвищеним окислювальним стресом і вивільненням специфічних цитокінів і медіаторів, що сприяють активації запалення. При цьому, фітосполуки,

зокрема поліфеноли, які проявляють антиоксидантну активність також мають протизапальні властивості.

Таблиця 3.3.

**Кількісний вміст суми поліфенольних сполук в листі *Elsholtzia ciliata***

Об'єкт дослідження	Кількісний вміст суми поліфенольних сполук, мг/г				
	Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3	Зразок 4	Середнє значення
Листя <i>Elsholtzia ciliata</i>	47,536±0,143	39,872±0,097	45,327±0,172	48,224±0,75	45,24

Результати якісного аналізу сировини встановили наявність різних груп БАР, зокрема полісахаридів, флавоноїдів та дубильних речовин. Отримані дані підтверджують дані вчених, які досліджували вміст листя *Elsholtzia ciliata*, зібраної на території азійських країн.

Встановлено, що полісахариди, що містяться в рослинах роду *Elsholtzia* можуть проявляти імуномодулюючу активність, зокрема впливаючи на проліферацію Т- і В-лімфоцитів. Хоча слід зазначити, що вказаний механізм дії ще не до кінця встановлений. Відомо, що флавоноїди в рослинах проявляють антиоксидантну, антимікробну, протипухлинну, протизапальну дію та ін. [15, 33, 38, 44]. В свою чергу дубильні речовини проявляють в'язучу, болезаспокійливу, бактерицидну, протівірусну, протизапальну та ранозагоювальну дію [24].

Враховуючи вищесказане, можна зробити висновок, що листя *Elsholtzia ciliata*, зібраної на території України, є багатокomпонентим і потребує більш детального дослідження як складу, так і фармакологічної активності in vitro та in vivo, а сировина є перспективною.

У нашій роботі були досліджені макроскопічні особливості рослини *Elsholtzia ciliata*. Застосовуючи методи світлової мікроскопії також були встановлені мікроскопічні особливості морфології листків *Elsholtzia ciliata*, які можуть бути використаним в подальшому при встановленні доброякісності лікарської рослинної сировини та при розробці нормативної документації на сировину.

## Висновки

1. Проведений макроскопічний аналіз *Elsholtzia ciliata* та встановлені основні видоспецифічні ознаки.
2. Визначені основні мікроскопічні діагностичні ознаки листя ельшольції війчастої.
3. Методами фітохімічного аналізу в листі *Elsholtzia ciliata* ідентифіковані полісахариди, флавоноїди та дубильні речовини.
4. Гравімеричним методом визначений вміст суми полісахаридів в листі *Elsholtzia ciliata*, який складав 8,12% від сухої маси.
5. Спектрофотометричним методом встановлено, що досліджувана сировина містить в собі 45 мг/г суми поліфенольних сполук.
6. *Elsholtzia ciliata* є перспективним джерелом отримання різних БАР різнонаправленої дії, а одержані дані можуть бути використані при розробці нормативної документації на сировину та в подальших фармакогностичних і фармакологічних дослідженнях.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. — Т. 3. — 732 с.
2. Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини : навч. посіб. / [В. М. Ковальов, С. М. Марчишин, О. П. Хворост та ін.] ; за ред. В. М. Ковальова, С. М. Марчишин, О. П. Хворост, Т. І. Ісакової. — Тернопіль : ТДМУ, 2014. — 264 с.
3. Робочий зошит для самостійної роботи студентів з фармакогнозії (аудиторної та позааудиторної). Лабораторний практикум з фармакогнозії. Навчальний посібник. Частина I. / В. М. Мінарченко, У. В. Карпюк, І. С. Чолак, О. І. Ємельянова, Н. П. Ковальська, Л. М. Махиня, В. Т. Підченко, О. М. Струменська, — К., 2023. — 170 с .
4. Робочий зошит для самостійної роботи студентів з фармацевтичної ботаніки (аудиторної та позааудиторної). Навчальний посібник. Частина II. Основи систематики, фітоєкології та геоботаніки / В. М. Мінарченко, Л. М. Махиня, Т. С. Двірна, І. А. Тимченко, О. М. Струменська, Н. П. Ковальська, У. В. Карпюк, О. І. Ємельянова, І. С. Чолак, В. Т. Підченко — К., 2023. — 88 с .
5. Cao, L.; Si, J.Y.; Liu, Y.; Sun, H.; Jin, W.; Li, Z.; Zhao, X.H.; Pan, R.L. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of *Mosla chinensis* Maxim. *Food Chem.* 2009, 115, 801–805.
6. Chen, F.F.; Peng, Y.H.; Zeng, D.Q.; Zhang, Y.; Qin, Q.H.; Huang, Y. Composition and bioactivity of the essential oils from *Mosla chinensis* against *Aedes albopictus*. *Chin. J. Vector Biol. Control* 2010, 21, 211–214.



7. Cragg, G.M.; Newman, D.J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) Gen. Subj.* **2013**, *1830*, 3670–3695.
8. Du, J.C.; Yang, L.Y.; Shao, L.; Yu, F.; Li, R.T.; Zhong, J.D. Study on phenolic acid compounds from aerial parts of *Mosla chinensis* and its anti-influenza activity, *J. Chin. Med. Mater.* 2021, *44*, 2594–2599.
9. Fu LZ, Li HZ, Li RT: Constituent analysis of two *Elsholtzia* volatile oils. *J Kunming Univ Sci Technol (Sci Technol)* 2010, *35*(1):88–92.
10. <https://www.gbif.org/ru/species/2927075> (дата звернення 01.11.2023)
11. Hu, H.B.; Cao, H.; Jian, Y.F.; Zheng, X.D. Study on extraction and antibacterial activity of active components from *Elsholtzia chinensis*. *Grassl. Sci.* 2007, *24*, 36–39.
12. Jiang, H.M.; Fang, J.; Lu, X.Y.; Peng, L.S.; Liu, J. Preliminary study on inhibition mechanism of *Mosla Chinensis* Maxim extract on *aspergillus flavus*. *J. Chin. Inst. Food Sci. Technol.* 2007, *7*, 47–50.
13. Kim, H.H.; Yoo, J.S.; Lee, H.S.; Kwon, T.K.; Shin, T.Y.; Kim, S.H. *Elsholtzia ciliata* inhibits mast cell-mediated allergic inflammation: Role of calcium, p38 mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappa B. *Exp. Biol. Med.* 2011, *236*, 1070–1077.
14. Le, T.B.; Beaufay, C.; Nghiem, D.T.; Mingeot-Leclercq, M.P. In vitro anti-leishmanial activity of essential oils extracted from vietnamese plants. *Molecules* 2017, *22*, 1071.
15. Li, J.E.; Fan, S.T.; Qiu, Z.H.; Li, C.; Nie, S.P. Total flavonoids content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from *Mosla chinensis* Maxim. cv. Jiangxiangru. *LWT—Food Sci. Technol.* 2015, *64*, 1022–1027
16. Li, J.E.; Nie, S.P.; Xie, M.Y.; Huang, D.F.; Wang, Y.T.; Li, C. Chemical composition and antioxidant activities in immunosuppressed mice of polysaccharides isolated from *Mosla chinensis* Maxim cv. Jiangxiangru. *Int. Immunopharmacol.* 2013, *17*, 267–274.

- 17.Li, J.E.; Nie, S.P.; Xie, M.Y.; Li, C. Isolation and partial characterization of a neutral polysaccharide from *Mosla chinensis* Maxim. cv. Jiangxiangru and its antioxidant and immunomodulatory activities. *J. Funct. Foods* 2014, *6*, 410–418
- 18.Li, Y.; Fang, S.G. Effects of elsholtzia chinensis ethanol extract on avian infectious bronchitis virus proliferation. *J. Yangtze Univ. (Nat. Sci. Ed.)* 2019, *16*, 75–80, 78.
- 19.Li, Y.Q.; Ren, Y.S.; Wang, L.J.; Ai, J.; Liang, S.; Zhang, T.P.; Liao, M.C.; Li, J. Preparation of nanoemulsion spray from Moslae Herba volatile oil and its antibacterial activity. *China J. Chin. Mater. Med.* 2021, *46*, 4986–4992.
- 20.Li, Z.M.; Sun, Y.M.; Wang, M.; Peng, L.; Ren, P. Study on antibacterial activity of different polar extracts from *Mosla chinensis* Maxim. cv. Jiangxiangru. *Sci. Technol. Food Ind.* 2014, *35*, 115–116+120.
- 21.Li, Z.M.; Wang, M.; Peng, L. Chemical composition analysis of essential oil from *Mosla chinensis* Maxim. cv. Jiangxiangru and inhibitory activity of the oil and its major constituents on biofilm formation of staphylococcus aureus. *Food Sci.* 2016, *37*, 138–143.
- 22.Liang, J.Y.; Xu, J.; Yang, Y.Y.; Shao, Y.Z.; Zhou, F.; Wang, J.L. Toxicity and synergistic effect of *Elsholtzia ciliata* essential oil and its main components against the adult and larval stages of tribolium castaneum. *Foods* 2020, *9*, 345.
- 23.Lin, C.L.; Cai, J.Z.; Lin, G.Y. Chemical constituents study of volatile oils from the *Mosla Chinensis* Maxim in zhejiang province. *Chin. Arch. Tradit. Chin. Med.* 2012, *30*, 197–198.
- 24.Liu AL, Lee SMY, Wang YT, Du GH: Elsholtzia: review traditional uses, chemistry and pharmacology. *J Chin Pharm Sci* 2007, *16*:73–78.
- 25.Liu, M.T.; Luo, F.Y.; Zeng, J.G. Composition analysis of essential oil of *Mosla Chinensis* Maxim and its antibacterial and antioxidant activity. *Chin. Tradit. Pat. Med.* 2020, *42*, 3091–3095.

26. Liu, X.P.; Jia, J.; Yang, L.; Yang, F.J.; Ge, H.S.; Zhao, C.J.; Zhang, L.; Zu, Y.G. Evaluation of antioxidant activities of aqueous extracts and fractionation of different parts of *Elsholtzia ciliata*. *Molecules* 2012, *17*, 5430–5441.
27. Lu, X.P.; Weng, H.; Li, C.; He, J.; Zhang, X.; Ma, Z.Q. Efficacy of essential oil from *Mosla chinensis* Maxim. cv. Jiangxiangru and its three main components against insect pests. *Ind. Crops Prod.* 2020, *147*, 112237.
28. Lynn, Y.; Jim, H.; Towers, G. Isolation of the anthropogenic compound fluoranthene in a screening of Chinese medicinal plants for antiviral compounds. *Planta Med.* 1995, *61*, 187–188.
29. Macianskiene, R.; Pudziuvelyte, L.; Bernatoniene, J.; Almanaityte, M.; Navalinskas, A.; Andriule, R.; Jurevicius, J. Antiarrhythmic properties of *Elsholtzia ciliata* essential oil on electrical activity of the isolated rabbit heart and preferential inhibition of sodium conductance. *Biomolecules* 2020, *10*, 948.
30. Nguyen, D.T.; Tran, H.; Schwaiger, S.; Stuppner, H.; Marzocco, S. Effect of non-volatile constituents of *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl. from southern vietnam on reactive oxygen species and nitric oxide release in macrophages. *Chem. Biodivers.* 2021, *18*, e2000577
31. Nugroho, A.; Park, J.H.; Choi, J.S.; Park, K.S.; Hong, J.P.; Park, H.J. Structure determination and quantification of a new flavone glycoside with anti-acetylcholinesterase activity from the herbs of *Elsholtzia ciliata*. *Nat. Prod. Res.* 2019, *33*, 814–821.
32. Peng, L.; Xiong, Y.; Wang, M.; Han, M.; Cai, W.; Li, Z. Chemical composition of essential oil in *Mosla Chinensis* Maxim Cv. Jiangxiangru and its inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *Open Life Sci.* 2018, *13*, 1–10.
33. Phong, H.X.; Viet, N.T.; Quyen, N.T.N.; Van Thinh, P.; Trung, N.M.; Ngan, T.T.K. Phytochemical screening, total phenolic, flavonoid contents, and

- antioxidant activities of four spices commonly used in Vietnamese traditional medicine. *Mater. Today Proc.* 2021, 56, A1–A5.
34. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:90101-2> (дата звернення 15.10.2023)
35. Pudziuvelyte, L.; Liaudanskas, M.; Jekabsone, A.; Sadauskiene, I.; Bernatoniene, J. *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl. extracts from different plant parts: Phenolic composition, antioxidant, and anti-Inflammatory activities. *Molecules* 2020, 25, 1153.
36. Pudziuvelyte, L.; Stankevicius, M.; Maruska, A.; Petrikaite, V.; Ragazinskiene, O.; Draksiene, G.; Bernatoniene, J. Chemical composition and anticancer activity of *Elsholtzia ciliata* essential oils and extracts prepared by different methods. *Ind. Crops Prod.* 2017, 107, 90–96.
37. Qi, W.W.; Shen, Y.T.; Chen, C.Y.; Chen, J.Y.; Wan, C.P. Antifungal mechanisms of the active ingredients carvacrol of *Mosla Chinensis* ‘Jiangxiangru’ against penicillium digitatum. *Mod. Food Sci. Technol.* 2018, 34, 65–69+64.
38. Shu, R.G.; Hu, H.W.; Zhang, P.Z.; Ge, F. Triterpenes and flavonoids from *Mosla chinensis*. *Chem. Nat. Compd.* 2012, 48, 706–707.
39. Sun, D.Y.; Gao, H.; Wang, X.T.; Yan, L.; Pang, B. Study on the antipyretic and anti-inflammatory effects of producing area processing integrated *Mosla chinensis* Maxim. *Chin. Herb. Med.* 2018, 49, 4737–4742.
40. Sun, D.Y.; Wang, X.Y.; Wang, X.T.; Yan, L.; Liu, X.F.; Pang, B.; Gao, H. Comparison of integration processing technology of origin and traditional cutting processing technology of *Moslae Herba* for lung-Yang deficiency rats. *China J. Chin. Mater. Med.* 2018, 43, 2537–2542.
41. Sung, Y.Y.; Yoon, T.; Yang, W.K.; Kim, S.J.; Kim, H.K. Article inhibitory effects of *Elsholtzia ciliata* extract on fat accumulation in high-fat diet-induced obese mice. *Appl. Biol. Chem.* 2011, 54, 388–394.

42. Tian, G.H. Chemical Constituents in Essential Oils from *Elsholtzia ciliata* and Their Antimicrobial Activities. *Chin. Herb. Med.* 2013, 5, 104–108.
43. Wang, X.; Cheng, K.; Liu, Z.; Sun, Y.; Zhou, L.; Xu, M.; Dai, X.; Xiong, Y.; Zhang, H. Bioactive constituents of *Mosla chinensis*. cv. Jiangxiangru ameliorate inflammation through MAPK signaling pathways and modify intestinal microbiota in DSS-induced colitis mice. *Phytomedicine* 2021, 93, 153804.
44. Wollenweber E, Roitman JN: New reports on surface flavonoids from *Chamaebatiaria* (Rosaceae), *Dodonaea* (Sapindaceae), *Elsholtzia* (Lamiaceae), and *Silphium* (Asteraceae). *Nat Prod Commun* 2007, 2:385–389.
45. Xiang, P.; Lou, G.Q.; Wang, S.Y.; Chen, Q. Analysis of volatile oils in *Elsholtzia ciliata* and *Elsholtzia cypriani* and evaluation of their biological activities. *Chin. Tradit. Pat. Med.* 2017, 39, 1880–1884.
46. Xu, J.L.; Jiang, W.E. Effect of water extract of *Mosla chinensis* Maxim against influenza virus. *Zhejiang J. Tradit. Chin. Med.* 2013, 48, 273–274.
47. Zhang HX, Zhang FQ, Xia Q, Wang GP, Shen ZG: Excess copper induces production of hydrogen peroxide in the leaf of *Elsholtzia haichowensis* through apoplastic and symplastic Cu Zn-superoxide dismutase. *J Hazard Mater* 2010, 178:834–843.
48. Zhang, Q.; Porto, N.M.; Guilhon, C.C.; Giorno, T.B.S.; Alviano, D.S.; Agra, M.D.; Fernandes, P.D.; Boylan, F. Pharmacognostic study on *Elsholtzia ciliata* (Thumb.) Hyl: Anatomy, phytochemistry and pharmacological activities. *Pharmaceuticals* 2021, 14, 1152.
49. Zhang, X.X.; Wu, Q.F.; Yan, Y.L.; Zhang, F.L. Inhibitory effects and related molecular mechanisms of total flavonoids in *Mosla chinensis* Maxim against H1N1 influenza virus. *Inflamm. Res.* 2018, 67, 179–189.

50. Zhao, M.P.; Liu, X.C.; Lai, D.W.; Zhou, L.G.; Liu, Z.L. Analysis of the essential oil of *Elsholtzia ciliate* aerial parts and its insecticidal activities against *liposcelis bostrychophila*. *Helv. Chim. Acta* 2016, *99*, 90–94.
51. Zheng, K.; Wu, S.Z.; Lv, Y.W.; Pang, P.; Deng, L.; Xu, H.C.; Shi, Y.C.; Chen, X.Y. Carvacrol inhibits the excessive immune response induced by influenza virus A via suppressing viral replication and TLR/RLR pattern recognition. *J. Ethnopharmacol.* 2021, *268*, 113555.
52. Zheng, L.L.; Cui, Y.; Qin, Y.H.; Ren, Y.X.; Liu, X.; Tao, L.; Dai, X.D. Effect of *Mosla chinensis* Maximon *Trichomonas vaginalis* in vitro. *J. Dalian Med. Univ.* 2009, *31*, 282–285.
53. Zheng XD, Hu HB: Chemical constituents of *Elsholtzia ciliata* (Thunb) Hyland. *Chemical Research* 2006, *17*:85–87.
54. Zienkaite ;K.; Liekis, A.; Sadauskiene ;I.; Pudžiuvėlyte ;L.; Bernatoniene ;J.; Šimonyte ;S. The effect of *Elsholtzia Ciliata* essential oil on catalase (Cat) activity in mice brain. In Proceedings of the XIII International Conference of the Lithuanian Neuroscience Association “CONSCIOUSNESS” (LNA conference), Kaunas, Lithuania, 26 November 2021.

## SUMMARY

**Verbytska Ivanna**

PHARMACOGNOSTIC RESEARCH OF *ELSHOLTZIA CILIATA*  
(THUNB.) HYL.

**Department of Pharmacognosy and Botany**

**Scientific supervisor:** PhD, as. professor Pidchenko Vitalii

**Keywords:** *Elsholtzia ciliata*, leaves, polysaccharides, polyphenols

**Introduction.** *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl. (family *Lamiaceae*) is a plant widely used in traditional Chinese medicine as an antibacterial and anti-inflammatory agent. This species is widespread in China, India, Korea, Mongolia, and Japan, and it has been introduced and cultivated in Europe and North America. For several thousand years in Chinese folk medicine, this plant has been used to treat many ailments, such as colds, fevers, diarrhoea, dysentery, indigestion, vomiting, strokes, and oedema. Modern studies have established that *Elsholtzia ciliata* exhibits antimicrobial, antioxidant, antinociceptive, anti-inflammatory, antipyretic, sedative, and antitumor activity. In Ukraine, *Elsholtzia ciliata* is an introduced species, it is also found in the wild. At the same time, it is not used in official medicine.

**Materials and methods.** The research objects are *Elsholtzia ciliata* leaves. Research subject: phytochemical study of *Elsholtzia ciliata* leaves. Methods: literature monitoring, macro- and microscopic, phytochemical (qualitative reactions, gravimetry, spectrophotometry).

**Results.** A macroscopic analysis of *Elsholtzia ciliata* was carried out and the main species-specific features were established. The main microscopic diagnostic features of the leaves of *Elsholtzia ciliata* were determined. Polysaccharides, flavonoids, and tannins were identified in the leaves of *Elsholtzia ciliata* using phytochemical methods of analysis. The total amount of polysaccharides in the *Elsholtzia ciliata* leaf was 8.12% of the dry weight. The spectrophotometric method established that the studied raw material contains 45 mg/g of polyphenolic compounds.

**Conclusions.** *Elsholtzia ciliata* is a promising plant material for obtaining various biologically active substances of multidirectional action, and the obtained data can be used in the development of regulatory documentation for raw materials and further pharmacognostic and pharmacological studies.