

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Дейнека Аліна Сергіївна

УДК 615.322 : 54.061/.062 : 582.661.21

ДИСЕРТАЦІЯ

**Фармакогностичне вивчення целозії гребінчастої (*Celosia cristata* (L.)
Kuntze)**

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. С. Дейнека

Науковий керівник Журавель Ірина Олександрівна, доктор фармацевтичних наук, професор

Харків – 2023

АНОТАЦІЯ

Дейнека А. С. Фармакогностичне вивчення целозії гребінчастої (*Celosia cristata* (L.) Kuntze) – 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, 2023.

У дисертаційній роботі наведено експериментальне вирішення наукової задачі, яка полягає у комплексному порівняльному фармакогностичному дослідженні коренів, листя, стебел та квіток целозії гребінчастої, розробці параметрів стандартизації сировини та одержанні екстракту на основі сировини цієї рослини, вивченню його хімічного складу та стандартизації одержаного екстракту.

Методами ПХ та ТШХ у листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої виявлено каротиноїди, у листі та стеблах – хлорофіли, а також досліджено якісний склад флавоноїдів, гідроксикоричних, органічних, амінокислот та вуглеводів. За результатами дослідження в усіх зразках сировини целозії гребінчастої ідентифіковано флавоноїди (кемпферол, кверцетин, гіперозид), гідроксикоричні (ферулову, кофейну, коричну та хлорогенову) кислоти, аліфатичні та ароматичні (яблучну, винну, лимонну, бензойну) кислоти, амінокислоти (тирозин, лейцин, глутамінову та аспарагінову кислоти), тритерпенові та стероїдні сполуки (β -амірин, стигмастерол та β -ситостерол), моносахариди (глюкозу, рамнозу, галактозу) до гідролізу, а також після гідролізу (ксилозу, арабінозу, фруктозу, рамнозу, манозу, глюкозу та галактозу) у витяжках із сировини целозії гребінчастої. Крім того, у листі, стеблах та квітках виявлено лютеолін та рутин, *n*-кумарову кислоту, валін, у листі та квітках – саліцилову, олеанолову кислоти, лізин та фенілаланін, у листі – неохлаорогенову кислоту, метіонін та даукостерол, у квітках – щавлеву кислоту, лупеол та α -амірин, у листі та стеблах – серин та треонін.

Методом ВЕРХ вивчено якісний склад та визначено кількісний вміст фенольних сполук коренів, листя, стебел та квіток целозії гребінчастої. У квітках целозії гребінчастої ідентифіковано 11, у коренях та стеблах – по 8, у листі – 12 сполук фенольної природи. Найбільше фенольних сполук містилося у листі целозії гребінчастої – 2793,32 мг/кг. Кількісно у коренях, листі та стеблах переважали флавоноїди, у квітках – гідроксикоричні кислоти. Домінуючою сполукою у квітках целозії гребінчастої була *n*-кумарова кислота. Серед флавоноїдів у цій сировині переважав рутин, а серед гідроксибензойних кислот – вератрова кислота. Превалюючими сполуками листя целозії гребінчастої були кофейна кислота, кверцетин і кемпферол. У стеблах цієї рослини домінував кверцетин, у коренях переважала ферулова кислота.

Методом ГХ досліджено жирнокислотний склад сировини целозії гребінчастої та ідентифіковано в усіх досліджуваних зразках по 12 жирних кислот. Встановлено, що в усіх об'єктах кількісно переважали ненасичені жирні кислоти. Максимальний їх вміст був у коренях целозії гребінчастої – 31,57 %. Серед насичених жирних кислот в усіх досліджуваних зразках домінувала пальмітинова кислота. У коренях, стеблах та квітках превалюючою ненасиченою жирною кислотою була ліолева кислота, у листі – ліноленова кислота. Максимальна кількість ліолевої кислоти накопичувалася у коренях досліджуваної рослини (45,38 %), ліноленової – у листі целозії гребінчастої (53,63 %).

Амінокислотний склад коренів, листя, стебел та квіток целозії гребінчастої вивчали методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії. В усіх об'єктах ідентифіковано та визначено вміст 18 амінокислот, з яких 9 було віднесено до незамінних. Встановлено, що у листі целозії гребінчастої накопичувалася максимальна кількість амінокислот – 85,61 мг/кг. Кількісно на вміст незамінних амінокислот в усіх досліджуваних зразках сировини припадало близько 40 %. Домінуючими амінокислотами у листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої були аспарагінова та глутамінова кислоти. У коренях досліджуваної рослини превалював пролін. Серед незамінних

амінокислот у коренях, листі та квітках целозії гребінчастої переважав лейцин, у стеблах – треонін. Максимальний вміст лейцину спостерігали у листі целозії гребінчастої – 7,33 мг/г.

Мінеральний склад сировини целозії гребінчастої вивчали методом ААС. В усіх зразках сировини цієї рослини було ідентифіковано та визначено вміст 6 макро-, 8 мікроелементів та 5 важких металів. Найбільша кількість мінеральних елементів накопичувалася у листі целозії гребінчастої – 11580,54 мкг/ 100 г. Встановлено, що серед макроелементів в усіх досліджуваних зразках сировини целозії гребінчастої переважав калій. Максимальний його вміст було відмічено у листі цієї рослини – 7000,00 мкг/ 100 г. Домінуючими мікроелементами у коренях целозії гребінчастої були ферум та алюміній. У листі (215,00 мкг/ 100 г) та квітках (44,00 мкг/100 г) за вмістом переважав алюміній. Превалюючим мікроелементом у стеблах досліджуваної рослини був цинк (5,70 мкг/ 100 г).

Вміст важких металів в усіх досліджуваних зразках сировини целозії гребінчастої відповідав вимогам ДФУ і не перевищував гранично допустимої концентрації для ЛРС.

Методом абсорбційної спектрофотометрії у сировині целозії гребінчастої визначено кількісний вміст флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, поліфенольних сполук, суми вільних амінокислот, хлорофілу а, хлорофілу b, каротиноїдів, стероїдних речовин, алкаліметрії – органічних кислот, гравіметрії – полісахаридів. Результати дослідження показали, що найбільше флавоноїдів (1,49 %) та стероїдних речовин (0,34 %) накопичувалося у квітках целозії гребінчастої, гідроксикоричних кислот (2,45 %), поліфенольних сполук (4,12 %), органічних кислот (7,36 %), вільних амінокислот (2,28 %), хлорофілів (580,29 мг/г), каротиноїдів (493,51 мг/г) та полісахаридів (19,75 %) – у листі цієї рослини.

Якісний аналіз сировини целозії гребінчастої показав, що у коренях целозії гребінчастої було ідентифіковано 71 сполуку, у стеблах та квітках – 83 та 84 сполуки відповідно. Максимальну кількість БАР було ідентифіковано у

листі цієї рослини – 92 сполуки. Крім того, лише у листі виявлено неохлорогенову кислоту, у квітках – п-гідроксибензойну. Таким чином, ці види сировини мали найрізноманітніший хімічний склад. У квітках целозії гребінчастої відмічено вищий вміст флавоноїдів та стероїдних речовин, органічні, гідроксикоричні, амінокислоти, поліфенольні сполуки та полісахариди у більшій кількості накопичувалися у листі цієї рослини. Також, у листі накопичується більше хлорофілів, у квітках – каротиноїдів. Проаналізувавши експериментальні дані, листя та квітки целозії гребінчастої було вибрано як перспективні види сировини, які накопичували значну кількість БАР, для одержання у подальшому лікарських рослинних засобів на їх основі.

Досліджено морфолого-анатомічну будову перспективних видів сировини целозії гребінчастої листя та целозії гребінчастої квіток. Для обох зразків сировини встановлено макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки. Діагностичне значення для целозії гребінчастої листя мали такі характерні ознаки як амфістоматичний тип листкової пластинки, аномоцитний (іноді анізоцитний) тип продихового апарату, наявність двох типів залозистих трихом (перший тип з 3-5 клітинною ніжкою і одноклітинною секреторною голівкою та другий тип з одноклітинною ніжкою та багатоклітинною голівкою), простих багатоклітинних волосків на епідермі листкової пластинки та черешка, присутність у паренхімі клітин з друзами кальцію оксалату та п'яти провідних пучків закритого колатерального типу, які в паренхімі черешка розташовуються напівколом. Відмінними діагностичними ознаками целозії гребінчастої квіток були продихи аномоцитного типу та наявність дрібних головчастих волосків на зовнішній епідермі пелюсток, дво-три клітинні, товстостінні, секреторні волоски та сосочкоподібні вирости епідерми по краях і верхівці чашолистків, судинні пучки чашолистків, які досягають їх верхівки та країв, друзи кальцію оксалату у паренхімі та дрібні, шароподібної форми пилкові зерна.

Встановлено основні показники якості целозії гребінчастої листя та целозії гребінчастої квіток (втрату в масі при висушуванні сировини, вміст

загальної золи та золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті) та вміст екстрактивних речовин при екстракції водою, етанолом та їх сумішами з різною концентрацією етанолу. Вищі показники втрати в масі при висушуванні сировини (9,70 %) та вмісту золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті (0,27 %) відмічено для целозії гребінчастої листя, вміст загальної золи (8,77 %) – для целозії гребінчастої квіток. Найбільша кількість екстрактивних речовин із целозії гребінчастої листя вилучалось 50 % етанолом (27,43 %), із квіток – 70 % етанолом (27,86 %).

Методом математичного планування, вихідним параметром для якісної оцінки в якому було обрано вихід флавоноїдів, здійснено підбір оптимальних умов одержання целозії гребінчастої квіток екстракту густого. Розрахункові дані показали, що такими умовами були трикратна екстракція 70 % етанолом при співвідношенні сировини й екстрагенту 1 : 5 протягом однієї години при підтриманні температури екстракції на близько 60 °С. Такі умови дозволяли вилучати із целозії гребінчастої квіток 5,19 % флавоноїдів, що становило 97 % від максимального прогнозованого значення (5,35 %). Вихід готового продукту при цьому був не менше 25 %.

Одержано целозії гребінчастої квіток екстракт густий, досліджено його якісний хімічний склад та визначено вміст сполук фенольної, стероїдної природи та мінеральних елементів. Методом ТШХ в одержаному екстракті ідентифіковано 9 сполук, з яких 4 гідроксикоричні кислоти (хлорогенову, кофейну, коричну, *n*-кумарову кислоти) та 5 флавоноїдів (рутин, кверцетин, кемпферол, гіперозид та лютеолін).

Методом ВЕРХ у целозії гребінчастої квіток екстракті густому ідентифіковано 10 сполук фенольної природи, серед яких було 2 гідроксикарбонові кислоти (вератрова та саліцилова кислоти), 5 гідроксикоричних кислот (кофейна, *n*-кумарова, хлорогенова, ферулова та розмаринова кислоти) та 3 флавоноїди (рутин, лютеолін та кверцетин). Загальний вміст ідентифікованих фенольних сполук у целозії гребінчастої квіток екстракті густому становив 3093,17 мг/кг. Домінуючою фенольною

сполукою у цьому екстракті був рутин (993,42 мг/кг), серед гідроксикоричних кислот превалювала *n*-кумарова кислота (742,85 мг/кг).

Методом ААС у целозії гребінчастої квіток екстракті густому визначено вміст мінеральних елементів та важких металів. Загальний вміст мінеральних елементів у целозії гребінчастої становив 11510,95 мкг/100 г. Серед макроелементів домінував калій (7946,00 мкг/100 г). Превалюючим мікроелементом був ферум (123,64 мкг/100 г). Також у досліджуваному екстракті відмічено значний вміст цинку, мангану, купруму та стронцію. За вимогами ДФУ щодо вмісту важких металів у ЛРС та екстрактах на рослинній основі, їх вміст у целозії гребінчастої квіток екстракті густому знаходився в допустимих межах.

Методом абсорбційної спектрофотометрії у целозії гребінчастої квіток екстракті густому визначено вміст поліфенолів (18,95 %), гідроксикоричних кислот (5,64 %), флавоноїдів (6,23 %) та стероїдних сполук (1,17 %).

Методом дифузії в агар досліджено протимікробну активність целозії гребінчастої квіток екстракту густого у концентрації 1, 5 та 10 %. Як референтний зразок використовували екстрагент – 70 % етанол. У концентрації 5 та 10 % целозії гребінчастої квіток екстракт густий пригнічував ріст усіх досліджуваних штамів мікроорганізмів на рівні із 70 % етанолом або перевищував його показники. У концентрації 1 % целозії гребінчастої квіток екстракт густий був ефективніший за екстрагент лише по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* та *Candida albicans*. Найвищі зони затримки росту усіх штамів було зафіксовано при використанні 10 % целозії гребінчастої квіток екстракту густого. Найчутливішими до дії целозії гребінчастої квіток екстракту густого у цій концентрації були *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis*, зона затримки росту яких становила 21,00 мм.

На підставі одержаних експериментальних даних, розроблено проєкти МКЯ «Целозії гребінчастої листя», «Целозії гребінчастої квітки» та «Целозії гребінчастої квіток екстракт густий». Ці види сировини запропоновано

стандартизувати за морфолого-анатомічними діагностичними ознаками, показниками якості сировини, якісним складом сполук фенольної природи, а також кількісним вмістом гідроксикоричних кислот (для целозії гребінчастої листя) або флавоноїдів (для целозії гребінчастої квіток). Целозії гребінчастої квіток екстракт густий запропоновано стандартизувати за якісним складом фенольних сполук (кофейної кислоти, кверцетину, лютеоліну та рутину) та кількісним вмістом флавоноїдів (не менше 5 %).

Наукова новизна проведених досліджень підтверджена патентом на корисну модель № 149093 від 13.10.2021 р. «Спосіб одержання екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією».

Ключові слова: целозія гребінчаста, амарантові, фармакогностичне вивчення, густий екстракт, протимікробна активність.

Список публікацій здобувача

1. The study in cockscomb mineral composition / A. S. Deyneka, V. V. Protska, I. O. Zhuravel, O. A. Kyslychenko, Viktoriia Yu. Kuznietsova. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. № 2. С. 194-199. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.2.230561> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, в обробці результатів дослідження та підготовці статті до друку).
2. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у сировині целозії гребінчастої. *Annals of Mechnikov's Institute*. 2022. № 1. С. 98-102. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6350017> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці результатів дослідження та підготовці статті до друку)
3. Дейнека А. С., Журавель І. О. Розробка технології одержання екстракту із квіток целозії гребінчастої шляхом застосування методу

математичного планування експерименту. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 2. С. 41-46. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6634779> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обговоренні та узагальненні результатів дослідження, підготовці статті до друку).

4. Дейнека А. С., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту фенольних сполук методом ВЕРХ у квітках целозії гребінчастої. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 3. С. 28-31. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7070948> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обговоренні та узагальненні результатів дослідження, підготовці статті до друку).

5. The study of fatty acid composition in Cockscomb (*Celosia cristata* (L.) Kuntze) / A. Deyneka, V. Protska, I. Zhuravel, O. Kyslychenko. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci.* 2022. Vol. 35. № 4. P. 176-182. (Scopus Q3) <https://doi.org/10.2478/cipms-2022-0032> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, в обробці результатів дослідження).

6. Процька В. В., Петкова І. Б., Унгурян Л. М., Алрікабі А. Я., Саррай Д. Х.А., Дейнека А. С., Горяча Л. М., Журавель І. О. Спосіб одержання екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією: пат. на кор. мод. 149093 Україна. № u 202105118; заявл. 10.09.2021; опубл. 13.10.2021; Бюл. No 41. (Особистий внесок – огляд джерел літератури, проведення патентного пошуку, одержання та стандартизація екстракту з квіток целозії гребінчастої).

7. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження фенольних сполук целозії гребінчастої та целозії перистої. *Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації*: матеріали наук.-практ. internet-конф., (м. Харків, 22-23 жовтня 2019 р.). Х. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 276.

8. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Визначення кількісного вмісту суми вільних амінокислот у сировині целозії гребінчастої. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*: збірник наукових праць (м. Харків, 7 – 8 листопада 2019 р.). Випуск 6. Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 171.

9. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження амінокислот целозії гребінчастої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет - конференції (м. Харків, 14-15 листопада 2019 р.) Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 84.

10. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Визначення числових показників якості сировини целозії гребінчастої згідно вимог ДФУ. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (м. Харків, 11 березня 2020 р.,). Х.: НФаУ, 2020. С. 57.

11. Дейнека, А. С. Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження вуглеводів у сировині целозії гребінчастої. *Застосування методів лікування і аніпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці*: матеріали міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, (м. Харків, 25 берез. 2020 р.). Харків. 2020. С. 94-95.

12. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І.О. Визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у сировині целозії гребінчастої. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження*: мат. науково-практичної дистанційної міжнародної конференції (м. Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р.). Івано-Франківськ. 2020. С. 158-159.

13. Дейнека А.С., Процька В.В., Журавель І.О. Дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту органічних кислот у сировині целозії гребінчастої. *Управління якістю в фармації*: мат. XIV наук.-практ. конф. (м. Харків, 22 трав. 2020 р.). Х.: НФаУ, 2020. С. 42.

14. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Визначення кількісного вмісту поліфенольних сполук у сировині Целозії гребінчастої. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку*: матеріали XII

наук.- практ. INTERNET-конф. (м. Харків, 22 травня 2020 р.). Харків. 2020. С. 239.

15. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту флавоноїдів у сировині целозії гребінчастої. *PLANTA+. наука, практика та освіта*: мат. Міжнародної науково-практичної конференції (м. Київ, 19 лютого 2021 р.). Київ. 2021. С. 73-74.

16. Визначення кількісного вмісту суми стероїдних сполук у сировині целозії гребінчастої / А. С. Дейнека, Д. М. Єгоркіна, В. В. Процька, І. О. Журавель *Актуальні питання: «здоров'я і довголіття – фундаментальні і клінічні дослідження, впровадження. комплементарні методи, як здоровий спосіб життя*: науковий симпозіум з міжнародною участю, залученням молодих вчених, студентів. (м. Київ, 22-23 жовтня 2021). Київ. 2021. С. 90-91.

17. Deyneka A., Protska V., Zhuravel I. The study of qualitative composition and quantitative content of steroid compounds of Cockscornb raw materials. *100 років успіху та якості*: матеріали міжнар. наук.-практ. симпозіуму, присвяченого 100-річчю кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету (м. Харків, 18 жовтня 2021 р.) = *100 years of success and quality*: materials of the international scientific and practical symposium, dedicated to the 100th anniversary of pharmaceutical chemistry department of National University of Pharmacy (Kharkiv, October, 18, 2021). X. 2021. С. 84.

18. The determination of polyphenolic compounds quantitative content in raw material of *Celosia cristata* (L.) Kuntze, *Gomphrena globosa* L. and *Aerva lanata* L. / A.Deyneka, P.Viktoriia, I. Zhuravel, A. Fedosov. *Contemporary Pharmacy: Issues Challenges and Expectations 2021 and 11th Conference: Pharmacy Science and Practice*: abs. The Joint International Pharmacy Symposium (Kaunas, Lithuania, 22nd October 2021). Kaunas. 2021. P. 41.

19. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження хлорофілів та каротиноїдів у сировині целозії гребінчастої. *Сучасні досягнення*

фармацевтичної технології і біотехнології: матеріали IX Міжнародної науково-практичної конференції (м. Харків, 11-12 листопада 2021 р.). Х. 2021. С. 104.

ANNOTATION

Deyneka A. S. Pharmacognostic study of *Celosia cristata* (L.) Kuntze – Qualification scientific work as a manuscript.

Thesis 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, 2023.

The dissertation presents experimental solution to the scientific problem, which involves a comprehensive comparative pharmacognostic study of the roots, leaves, stems, and flowers of *Celosia cristata*, development of standardization parameters for the raw material and obtaining an extract based on the main raw material of this plant, study of its chemical composition and standardization of the obtained extract.

Using paper chromatography (PC) and thin layer chromatography (TLC) methods, carotenoids were detected in the leaves, stems, and flowers of *Celosia cristata*, as well as chlorophylls in the leaves and stems. The qualitative composition of flavonoids, hydroxycinnamic acids, organic acids, amino acids, and carbohydrates was also studied. Flavonoids (such as kaempferol, quercetin, hyperoside), and hydroxycinnamic acids (such as ferulic, caffeic, coumaric, and chlorogenic acid) were identified in all samples of *Celosia cristata*. Aliphatic and aromatic acids (such as malic, tartaric, citric, and benzoic acids), as well as amino acids (such as tyrosine, leucine, glutamic acid, and aspartic acid), were also detected. Triterpenoid and steroid compounds (such as β -amyrin, stigmasterol, and β -sitosterol) were found, as well as monosaccharides (such as glucose, rhamnose, and galactose) before hydrolysis, and also after hydrolysis (xylose, arabinose, fructose, rhamnose, mannose, glucose, and galactose) in the extracts obtained from *Celosia cristata*. In addition, luteolin and rutin, *p*-coumaric acid, valine, salicylic acid, oleanolic acid, lysine, phenylalanine,

neochlorogenic acid, methionine, daucosterol, oxalic acid, lupeol, α -amyrin, serine, and threonine were detected in the leaves, stems, and flowers of *Celosia cristata*.

The qualitative composition and quantitative content of phenolic compounds in the roots, leaves, stems, and flowers of *Celosia cristata* were studied using HPLC. Eleven phenolic compounds were identified in the flowers, eight in the roots and stems, and twelve in the leaves. The highest content of phenolic compounds was found in the leaves of *Celosia cristata*, with a concentration of 2793.32 mg/kg. Flavonoids were the predominant phenolic compounds in the roots, leaves, and stems, while hydroxycinnamic acids were predominant in the flowers. The dominant compound in the flowers was p-coumaric acid, while rutin was the predominant flavonoid and veratric acid was the predominant hydroxybenzoic acid in the plant material. The main phenolic compounds in the leaves of *Celosia cristata* were caffeic acid, quercetin, and kaempferol. Quercetin was the dominant compound in the stems, while ferulic acid was the predominant compound in the roots.

The fatty acid composition of the raw material of *Celosia cristata* was studied by GC analysis, and 12 fatty acids were identified in all samples. It was found that unsaturated fatty acids predominated quantitatively in all objects. The highest content of unsaturated fatty acids was observed in the roots of *Celosia cristata* – 31.57%. Among the saturated fatty acids, palmitic acid was dominant in all samples. In the roots, stems, and flowers, linoleic acid was the predominant unsaturated fatty acid, while in the leaves, it was linolenic acid. The maximum amount of linoleic acid was accumulated in the roots of the investigated plant (45.38%), and of linolenic acid - in the leaves of *Celosia cristata* (53.63%).

The amino acid composition of the roots, leaves, stems, and flowers of *Celosia cristata* was studied by ion-exchange liquid chromatography. 18 amino acids were identified and their content was determined, of which 9 were classified as essential. It was found that the maximum amount of amino acids accumulated in the leaves of *Celosia cristata* was 85.61 mg/kg. The content of essential amino acids in all tested samples of raw material was about 40%. The dominant amino acids in the leaves, stems, and flowers of *Celosia cristata* were aspartic and glutamic acids. Proline was

the dominant amino acid in the roots of the plant. Leucine was the most abundant essential amino acid in the roots, leaves, and flowers of *Celosia cristata*, while threonine was the most abundant in the stems. The maximum content of leucine was observed in the leaves of *Celosia cristata* – 7.33 mg/g.

The mineral composition of the raw material of *Celosia cristata* was studied using the atomic absorption spectroscopy (AAS) method. The content of 6 macro and 8 microelements and 5 heavy metals was identified and determined in all samples of this plant material. The highest amount of mineral elements was accumulated in the leaves of *Celosia cristata* – 11580.54 µg/100 g. It was found that potassium predominated among the macroelements in all samples of *Celosia cristata* raw material. Its maximum content was noted in the leaves of this plant - 7000.00 µg/100 g. The dominant microelements in the roots of *Celosia cristata* were iron and aluminum. In the leaves (215.00 µg/100 g) and flowers (44.00 µg/100 g), aluminum predominated by content. Zinc (5.70 µg/100 g) was the dominant microelement in the stems of the plant under study.

The content of heavy metals in all samples of *Celosia cristata* raw material met the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPhU) and did not exceed the maximum allowable concentration for herbal raw materials.

The quantitative content of flavonoids, hydroxycinnamic acids, polyphenolic compounds, the sum of free amino acids, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, steroid compounds was determined in the raw material of *Celosia cristata* using by the absorption spectroscopy method, organic acids by alkalimetry, and polysaccharides by gravimetry method. The research results showed that the highest content of flavonoids (1.49%) and steroid compounds (0.34%) accumulated in the flowers of *Celosia cristata*, while hydroxycinnamic acids (2.45%), polyphenolic compounds (4.12%), organic acids (7.36%), free amino acids (2.28%), chlorophylls (580.29 mg/g), carotenoids (493.51 mg/g), and polysaccharides (19.75%) were mainly found in the leaves of this plant.

The qualitative analysis of raw material of *Celosia cristata* revealed that 71 compounds were identified in the roots, 83 in the stems, and 84 in the flowers. The

highest number of biologically active substances (BAS) was identified in the leaves of this plant – 92 compounds. In addition, only the neochlorogenic acid was found in the leaves, and p-hydroxybenzoic acid was found only in the flowers. Therefore, these types of raw materials had the most diverse chemical composition. The flowers of *Celosia cristata* had a higher content of flavonoids and steroid compounds, while organic, hydroxycinnamic, amino acids, polyphenolic compounds, and polysaccharides were accumulated in greater quantities in the leaves of this plant. Also, more chlorophylls were accumulated in the leaves, and carotenoids in the flowers. Analyzing the experimental data, the leaves and flowers of *Celosia cristata* were selected as promising types of raw materials that accumulated a significant amount of BAS for obtaining medicinal plant-based products in the future.

The morphological and anatomical structure of the promising types of raw material of the *Celosia cristata* leaves and *Celosia cristata* flowers has been studied. For both samples of raw materials, macro- and microscopic diagnostic features were established. The diagnostic significance for the *Celosia cristata* leaves included characteristic features such as an amphistomatic type of leaf blade, an anomocytic (sometimes anisocytic) type of stomatal apparatus, the presence of two types of glandular trichomes (the first type with a 3-5 cell stalk and a single-cell secretory head, and the second type with a single-cell stalk and a multicellular head), simple multicellular hairs on the epidermis of the leaf blade and petiole, the presence of parenchymal cells with calcium oxalate druses, and five collateral vascular bundles, which are located semi-circularly in the parenchyma of the petiole. The diagnostic features of the *Celosia cristata* flowers included anomocytic stomata and the presence of small glandular hairs on the outer epidermis of the petals, two-three cell thick, secretory hairs and nipple-like growths of the epidermis on the edges and apices of the sepals, vascular bundles of the sepals reaching their apices and edges, calcium oxalate druses in the parenchyma, and small, spherical-shaped pollen grains.

The main quality indicators of *Celosia cristata* leaves and flowers were determined (loss in weight upon drying, total ash content, ash insoluble in hydrochloric acid) as well as the content of extractive substances upon extraction

with water, ethanol, and their mixtures with different concentrations of ethanol. The highest indicators of loss in weight upon drying (9.70%) and ash insoluble in hydrochloric acid (0.27%) were noted for *Celosia cristata* leaves, while the total ash content (8.77%) was the highest for *Celosia cristata* flowers. The largest amount of extractive substances from *Celosia cristata* leaves was extracted with 50% ethanol (27.43%), while for flowers, it was 70% ethanol (27.86%).

Using the method of mathematical planning, with the output parameter being the qualitative evaluation of flavonoids, optimal conditions for obtaining a thick extract of *Celosia cristata* flowers were selected. The calculated data showed that the optimal conditions were triple extraction with 70% ethanol at a raw material-to-solvent ratio of 1:5 for one hour at an extraction temperature of about 60°C. These conditions allowed for the extraction of 5.19% flavonoids from *Celosia cristata* flowers, which was 97% of the maximum predicted value (5.35%). The yield of the final product was not less than 25%.

The obtained thick extract of *Celosia cristata* flowers was analyzed for its chemical composition, and the content of compounds of phenolic, steroid nature, and mineral elements was determined. Using TLC, nine compounds were identified in the obtained extract, including 4 hydroxycinnamic acids (chlorogenic, caffeic, coumaric, and p-coumaric acids) and 5 flavonoids (rutin, quercetin, kaempferol, hyperoside, and luteolin).

By using the HPLC method, 10 phenolic compounds were identified in the thick extract of *Celosia cristata* flowers, including 2 hydroxycarboxylic acids (veratric acid and salicylic acid), 5 hydroxycinnamic acids (caffeic, p-coumaric, chlorogenic, ferulic, and rosmarinic acids), and 3 flavonoids (rutin, luteolin, and quercetin). The total content of identified phenolic compounds in the thick extract of *Celosia cristata* flowers was 3093.17 mg/kg. Rutin was the dominant phenolic compound in this extract (993.42 mg/kg), while p-coumaric acid prevailed among the hydroxycinnamic acids (742.85 mg/kg).

By the method of AAS, the content of mineral elements and heavy metals was determined in the thick extract of *Celosia cristata* flowers. The total content of mineral

elements in the *Celosia cristata* flowers was 11,510.95 µg/100 g, with potassium being the dominant macroelement (7,946.00 µg/100 g) and iron being the dominant microelement (123.64 µg/100 g). Significant amounts of zinc, manganese, copper, and strontium were also found in the studied extract. According to the SPhU requirements for the content of heavy metals in herbal raw materials and extracts, their content in the dense extract of the whole *Celosia cristata* flowers was within acceptable limits.

By the method of absorption spectrophotometry, the content of polyphenols (18.95%), hydroxycinnamic acids (5.64%), flavonoids (6.23%), and steroid compounds (1.17%) was determined in the thick extract of *Celosia cristata* flowers.

The antimicrobial activity of the thick extract of *Celosia cristata* flowers was studied using the agar diffusion method at concentrations of 1%, 5%, and 10%. 70% ethanol was used as the reference extract. At concentrations of 5% and 10%, the thick extract of *Celosia cristata* flowers inhibited the growth of all tested microbial strains at levels comparable to or exceeding those of 70% ethanol. At a concentration of 1%, the thick extract of *Celosia cristata* flowers was more effective than the reference extract only against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Candida albicans*. The highest growth inhibition zones for all strains were observed when using 10% thick extract of *Celosia cristata* flowers. *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* were the most sensitive to the action of thick extract of *Celosia cristata* flowers at this concentration, with growth inhibition zones of 21.00 mm.

Based on the experimental data obtained, projects have been developed for the standardization of " *Celosia cristata* leaves", " *Celosia cristata* flowers" and "Thick extract of *Celosia cristata* flowers". These types of raw materials are proposed to be standardized based on morphological and anatomical diagnostic features, indicators of raw material quality, qualitative composition of phenolic compounds, as well as quantitative content of hydroxycinnamic acids (for *Celosia cristata* leaves) or flavonoids (for *Celosia cristata* flowers). The thick extract of *Celosia cristata* flowers is proposed to be standardized based on the qualitative composition of phenolic compounds (caffeic acid, quercetin, luteolin, and rutin) and the quantitative content of flavonoids (not less than 5%).

The scientific novelty of the conducted research is confirmed by the utility model patent № 149093 dated October 13, 2021, "Method for obtaining plant-based extracts with antibacterial action."

Keywords: *Celosia cristata*, *Amaranthaceae*, pharmacognostic study, thick extract, antimicrobial activity.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	23
ВСТУП	24
РОЗДІЛ 1 БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ В МЕДИЦИНІ РОСЛИН РОДУ ЦЕЛОЗІЯ (Огляд літератури)	31
1.1 Ботанічна характеристика рослин роду Целозія	31
1.2 Хімічний склад рослин роду Целозія	34
1.3 Застосування у медицині рослин роду Целозія	42
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ	49
2.1 Об'єкти дослідження, прилади, методи і реактиви	49
2.2 Методики дослідження якісного складу методами ПХ та ТШХ	50
2.3 Методики дослідження кількісного вмісту БАР	52
2.3.1 Аналіз фенольних сполук методом ВЕРХ	52
2.3.2 Кількісний аналіз фенольних сполук методом абсорбційної спектрофотометрії	53
2.3.3 Кількісний аналіз органічних кислот методом алкаліметрії	53
2.3.4 Кількісний аналіз жирних кислот методом ГХ	54
2.3.5 Кількісний аналіз амінокислот методом іонообмінної рідинно-колункової хроматографії та абсорбційної спектрофотометрії	55
2.3.6 Кількісний аналіз хлорофілів та каротиноїдів методом абсорбційної спектрофотометрії	57
2.3.7 Кількісний аналіз тритерпенових та стероїдних сполук методом абсорбційної спектрофотометрії	58

2.3.8	Кількісний аналіз мінеральних елементів методом ААС	60
2.3.9	Кількісний аналіз полісахаридів методом гравіметрії	61
2.4	Методики визначення показників якості сировини методом гравіметрії	61
2.5	Методика вивчення протимікробної активності	62
РОЗДІЛ 3	ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БАР У СИРОВИНІ ЦЕЛОЗІЇ ГРЕБІНЧАСТОЇ	64
3.1	Вивчення фенольних сполук	64
3.1.1	Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ	64
3.1.2	Ідентифікація флавоноїдів методами ПХ та ТШХ	69
3.1.3	Визначення кількісного вмісту флавоноїдів методом абсорбційної спектрофотометрії	71
3.1.4	Ідентифікація гідроксикоричних кислот методами ПХ та ТШХ	72
3.1.5	Визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот методом абсорбційної спектрофотометрії	73
3.1.6	Визначення кількісного вмісту поліфенолів методом абсорбційної спектрофотометрії	74
3.2	Дослідження карбонових кислот	75
3.2.1	Виявлення органічних кислот методами ПХ та ТШХ	75
3.2.2	Визначення кількісного вмісту органічних кислот	77
3.2.3	Вивчення жирнокислотного складу методом ГХ	78
3.2.4	Вивчення амінокислотного складу методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії	83
3.2.5	Виявлення вільних амінокислот методами ПХ та ТШХ	86
3.2.6	Визначення кількісного вмісту амінокислот методом	87

	абсорбційної спектрофотометрії	
3.3	Дослідження хлорофілів і каротиноїдів	88
3.3.1	Виявлення хлорофілів та каротиноїдів методом ТШХ	88
3.3.2	Визначення кількісного вмісту хлорофілів та каротиноїдів методом абсорбційної спектрофотометрії	89
3.4	Дослідження тритерпенових та стероїдних сполук	91
3.4.1	Виявлення тритерпенових та стероїдних сполук методом ТШХ	91
3.4.2	Визначення кількісного вмісту тритерпенових та стероїдних сполук методом абсорбційної спектрофотометрії	93
3.5	Виявлення та визначення кількісного вмісту мінеральних елементів методом атомно-абсорбційної спектроскопії	94
3.6	Дослідження вуглеводів	97
3.6.1	Виявлення моносахаридів методами ПХ та ТШХ	97
3.6.2	Визначення кількісного вмісту полісахаридів методом гравіметрії	100
3.7	Вибір перспективної сировини	101
	Висновки до розділу 3	102
РОЗДІЛ 4	СТАНДАРТИЗАЦІЯ СИРОВИНИ ЦЕЛОЗІЇ ГРЕБІНЧАСТОЇ. ОДЕРЖАННЯ, СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ОДЕРЖАНОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ	109
4.1	Дослідження анатомічних діагностичних ознак листя та квіток целозії гребінчастої	109
4.2	Визначення показників якості та вмісту екстрактивних речовин сировини целозії гребінчастої	116

методом гравіметрії	
4.3 Стандартизація целозії гребінчастої листя	118
4.4 Стандартизація целозії гребінчастої квіток	121
4.5 Розробка технології одержання целозії гребінчастої квіток екстракту густого	124
4.6 Дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту БАР целозії гребінчастої квіток екстракту густого хроматографічними та спектральними методами	134
4.7 Стандартизація целозії гребінчастої квіток екстракту густого	141
4.8 Обговорення протимікробної активності целозії гребінчастої квіток екстракту густого	144
Висновки до розділу 4	146
ВИСНОВКИ	151
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	155
ДОДАТКИ	172

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АлАТ – аланінамінотрансфераза;

АсАТ – аспартатамінотрансфераза;

ААС – атомно-абсорбційна спектроскопія;

БАР – біологічно активні речовини;

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;

ГХ – газова хроматографія;

МКЯ – методи контролю якості;

МТТ аналіз – мікротитраційний тест (колориметричний тест для оцінки метаболічної активності клітин);

ПХ – паперова хроматографія;

ТШХ – тонкошарова хроматографія;

Час утр. – час утримування;

ABTS – 2,2'-азино-біс(3-етилбензтіазолін-6-сульфонова кислота);

DRPH – 1,1-дифеніл-2-пікрилгіразил;

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Протимікробні засоби мають велике значення при лікуванні небезпечних та загрозливих для життя інфекцій. Однак, такі ліки з часом стають менш ефективними внаслідок розвитку бактеріальної резистентності – здатності мікроорганізмів адаптуватись до дії ксенобіотиків. За попередніми підрахунками понад 700 000 людей щорічно помирають через набуту стійкість мікроорганізмів до протимікробних засобів. ВООЗ визнала бактеріальну резистентність однією з десяти найбільших загроз для здоров'я людства, з якими сьогодні стикається світ [91, 124]. Розвиток панрезистентності у мікроорганізмів поступово обмежує можливості лікування спричинених ними захворювань. Це створює ризик виникнення ускладнень, продовжує термін лікування, збільшує кількість інфекцій, які не піддаються лікуванню, а також викликає значне навантаження на ресурси галузі охорони здоров'я. Загроза посилюється внаслідок боротьби з вірусною пандемією COVID-19, оскільки перші дослідження показали, що пацієнти з COVID-19 часто отримували антибіотики для запобігання або лікування вторинних бактеріальних інфекцій [37, 70].

Частота виникнення бактеріальної резистентності викликає нагальну потребу пошуку нових ефективних та безпечних ліків для подальшого розширення асортименту протимікробних засобів. Багато природних сполук і комплексних рослинних екстрактів можуть інактивувати резистентні бактеріальні штами або знижувати їх вірулентність, оскільки діють комплексно: багато з них мають не тільки антибактеріальну, але також протизапальну дію і можуть сприяти регенерації тканин і загоєнню ран. Природні БАР вступають у синергізм, завдяки чому посилюється ефективність терапії. При цьому, вони характеризуються високим профілем безпеки, доброю переносимістю та низьким ступенем ризику розвитку побічних реакцій [50].

Целозія гребінчаста та інші споріднені види традиційно

використовувались як протимікробні засоби для лікування гнійних і запальних захворювань шкіри, циститів, дизентерії, гонореї тощо. Проте, про їх хімічний склад відомо не багато [47, 62, 88].

Роботи іноземних вчених присвячені, в основному, вивченню фармакологічної активності целозії гребінчастої, зокрема гепатопротекторної [139], антиоксидантної [44, 45, 109, 110], протизапальної [94] та гіпоглікемічної [38] активності. У ході цих експериментів було частково досліджено хімічний склад сировини целозії гребінчастої і виявлено фенольні сполуки [31, 136], бетаціаніни [33, 147], ефірну олію [121], стероїдні сапоніни [110] (Sun Z. L. et al., 2011), амінокислоти та мінеральні елементи [34, 110]. Українських науковців [80] зацікавила калусна культура целозії гребінчастої як джерело беталаїнів, які мали гіпотензивну дію.

У 2010 році насіння спорідненого виду целозії сріблястої було включено до Китайської Фармакопеї [115]. В Україні целозії є нефармакопейними рослинами, які не використовують у клінічній практиці через недостатню вивченість та відсутність лікарських засобів на їх основі. Тому комплексне порівняльне фармакогностичне вивчення сировини целозії гребінчастої, розробка параметрів стандартизації та лікарських засобів на їх основі є актуальним.

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

Дисертаційна робота виконана відповідно до 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 фармакогностичне вивчення коренів, листя, стебел та квіток целозії гребінчастої (*Celosia cristata* (L.) Kuntze), одержання лікарських рослинних засобів на їх основі, розробка проєктів методів контролю якості на

рослинну сировину та одержані лікарські засоби.

Для досягнення цієї мети необхідно було вирішити такі завдання:

- провести інформаційний пошук та проаналізувати джерела літератури щодо ботанічного опису, хімічного складу, застосування у медицині рослин роду Целозія;
- вивчити якісний склад БАР сировини целозії гребінчастої;
- визначити кількісний вміст БАР сировини целозії гребінчастої;
- обґрунтувати вибір перспективних видів сировини для подальшої стандартизації та розробки лікарських рослинних засобів на їх основі;
- провести визначення діагностичних анатомічних ознак обраних видів сировини целозії гребінчастої, розробити параметри їх стандартизації;
- підібрати оптимальні умови для одержання лікарського рослинного засобу на основі сировини целозії гребінчастої та вивчити його хімічний склад;
- запропонувати критерії стандартизації та розробити проекти МКЯ на рослинну сировину целозії гребінчастої та лікарські засоби на її основі.
- Вивчити протимікробну активність одержаного лікарського засобу.

Об'єкт дослідження – фармакогностичне вивчення коренів, листя, стебел та квіток целозії гребінчастої, дослідження одержаного лікарського рослинного засобу на основі сировини целозії гребінчастої.

Предмет дослідження – вивчення якісного складу БАР та визначення їх кількісного вмісту у коренях, листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої, розробка МКЯ на досліджувану сировину, одержання лікарського рослинного засобу на основі сировини целозії гребінчастої, його стандартизація та дослідження протимікробної активності.

Методи дослідження

Фітохімічні дослідження якісного складу сировини целозії гребінчастої та одержаних лікарських засобів проводили за допомогою методів ПХ, ТШХ, ГХ,

ВЕРХ, іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії та ААС. Визначення кількісного вмісту БАР у сировині целозії та одержаному екстракті проводили методами ВЕРХ, ГХ, ААС, іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії, гравіметрії, алкаліметрії та абсорбційної спектрофотометрії. Дослідження морфологічної будови сировини проводили неозброєним оком та за допомогою лупи, анатомічної будови – методом світлової мікроскопії з фіксацією результатів фотокамерою. Протимікробну активність лікарського засобу вивчали *in vitro*. Статистичну обробку одержаних результатів проводили відповідно до вимог ДФУ за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel.

Наукова новизна отриманих результатів

Уперше проведено комплексне порівняльне вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту деяких груп БАР, у тому числі поліфенолів, флавоноїдів, гідроксикоричних, органічних, жирних кислот та амінокислот, хлорофілів, каротиноїдів, стероїдів, вуглеводів та мінеральних елементів, коренів, листя, стебел та квіток целозії гребінчастої.

Встановлено морфолого-анатомічні діагностичні ознаки та визначено показники якості целозії гребінчастої листя та целозії гребінчастої квіток.

Уперше одержано целозії гребінчастої квіток екстракт густий, вивчено його хімічний склад (стероїдні та фенольні сполуки, у тому числі поліфеноли, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, мінеральні елементи), а також розроблено параметри його стандартизації.

Уперше досліджено протимікробну активність целозії гребінчастої квіток екстракту густого.

Наукова новизна проведених досліджень підтверджена патентом на корисну модель № 149093 від 13.10.2021 р. «Спосіб одержання екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією».

Практичне значення отриманих результатів

За результатами проведених фармакогностичних досліджень розроблено проекти МКЯ «Целозії гребінчастої листя», «Целозії гребінчастої квітки» та

«Целозії гребінчастої квіток екстракт густий».

Запропоновано технологію одержання целозії гребінчастої квіток екстракту густого.

Результати проведених фітохімічних досліджень сировини целозії гребінчастої впроваджено у науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; кафедри фармації факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського; кафедри фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет»; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського.

Особистий внесок здобувача

Безпосередньо автором здійснено:

- огляд, аналіз та узагальнення наукових джерел за темою дисертації;
- проведено фітохімічне дослідження коренів, листя, стебел та квіток целозії гребінчастої;
- досліджено якісний склад та визначено кількісний вміст вуглеводів, органічних, жирних, гідроксикоричних та амінокислот, флавоноїдів, поліфенольних, стероїдних сполук, хлорофілів, каротиноїдів та мінеральних елементів у сировині целозії гребінчастої;
- досліджено морфолого-анатомічну будову, визначено характерні діагностичні ознаки та показники якості целозії гребінчастої листя та целозії гребінчастої квіток;
- визначено параметри стандартизації целозії гребінчастої листя та целозії гребінчастої квіток та запропоновано проекти МКЯ на сировину;
- розроблено технологію та одержано целозії гребінчастої квіток екстракт густий;
- досліджено хімічний склад одержаного лікарського засобу;
- розроблено проекти МКЯ «Целозії гребінчастої листя», «Целозії

гребінчастої квітки», «Целозії гребінчастої квіток екстракт густий».

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з Журавель І. О., Процькою В. В., Кисличенко О. А., Кузнєцовою В. Ю., Петковою І. Б., Саррай Дургхамом, Алрікабі А. Я., Горячою Л. М., Унгурян Л. М., Єгоркіною Д. М., Федосовим А. І.

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 з науковим керівником.

Апробація матеріалів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: I Міжнародній науково-практичній internet-конференції *«Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації: матеріали»* (м. Харків, 22-23 жовтня 2019 р.); VIII Міжнародній науково-практичній конференції *«Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології»* збірник наукових праць (м. Харків, 7 – 8 листопада 2019 р.); IV Міжнародній науково-практичній інтернет - конференції *«Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії»* (м. Харків, 14-15 листопада 2019 р.); II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції *«Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження»* (11 березня 2020 р., м. Харків); Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова *«Застосування методів лікування і аніпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці»* (м. Харків, 25 берез. 2020 р.); Науково-практичній дистанційній міжнародній конференції *«Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів*

природного і синтетичного походження» (м. Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р.); XIV науково-практичній конференції *«Управління якістю в фармації»* (м. Харків, 22 трав. 2020 р.); XII науково-практичній INTERNET-конференції *«Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку»* (м. Харків, 22 травня 2020 р., форма участі – публікація тез); Міжнародній науково-практичній конференції *«PLANTA+. наука, практика та освіта»* (м. Київ, 19 лютого 2021 р.); Науковому симпозіумі з міжнародною участю із залученням молодих вчених, студентів *«Актуальні питання: «здоров'я і довголіття – фундаментальні і клінічні дослідження, впровадження. комплементарні методи, як здоровий спосіб життя»* (м. Київ, 22-23 жовтня 2021); Міжнародному науково-практичному симпозіумі, присвяченому 100-річчю кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету *«100 років успіху та якості»* (м. Харків, 18 жовтня 2021 р.); The Joint International Pharmacy Symposium *«Contemporary Pharmacy: Issues Challenges and Expectations 2021 and 11th Conference: Pharmacy Science and Practice»* (Kaunas, Lithuania, 22nd October 2021); IX Міжнародній науково-практичній конференції *«Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології»* (м. Харків, 11-12 листопада 2021 р.).

Обсяг та структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 198 сторінках машинописного тексту, складається із анотації, вступу, 4 розділів, висновків, списку використаних джерел та 4 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 151 машинописних сторінок. Робота проілюстрована 15 таблицями та 63 рисунками. Список використаних джерел налічує 148 найменувань, із них 28 кирилицею та 120 латиницею.

РОЗДІЛ 1

БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ В МЕДИЦИНІ РОСЛИН РОДУ ЦЕЛОЗІЯ (Огляд літератури)

1.1 Ботанічна характеристика рослин роду Целозія

Целозія (*Celosia* L.) – нечисельний рід декоративних рослин, що належать до класу Магноліопсиди (*Magnoliopsida*), порядку Гвоздикоцвіті (*Caryophyllales* Juss. ex Bercht. & J.Presl) і родини Амарантові (*Amaranthaceae* Juss) [34, 35, 94, 104, 110, 136].

Родова назва цих рослин походить від грецького слова «kelos», що означає «спалений, полум'яний» і відображає їх яскраві квітки, схожі на вогники [34, 136].

Рід нечисельний і включає близько 60 видів [34]. Найпоширенішими представниками цього роду є целозія гребінчаста (*Celosia cristata* (L.) Kuntze), целозія срібляста (*Celosia argentea* L.), целозія периста (*Celosia plumosa* (Voss) Burv.), целозія колоскова (*Celosia spicata* L.) і целозія ізерта (*Celosia isertii* C. C.Towns) [34, 70, 104].

Целозія гребінчаста широко відома під назвами «півнячий гребінь», «чубата целозія» та «вогняний кущ», оскільки квітки цієї рослини схожі на голову півня [110, 136].

Целозії – одно- і багаторічні, трав'янисті, не опушені рослини із прямостоячими, соковитими і розгалуженими стеблами. Стебла ребристі знизу і сплюснені на верхівці, зеленого кольору із бурим відтінком [37, 104].

Листки чергові, черешкові, прості, цілокраї, видовжено-еліптичної, овально-ланцетної, яйцеподібної, лінійно-ланцетної, стрілоподібної або овальної форми, довжиною 5-13 см, шириною 2-6 см, із загостреною верхівкою. Суцвіття – плоскі, соковиті, гребенеподібні або пероподібні, загострені,

еліптичної або яйцеподібної форми колоски із численними дрібними квітками [78]. Їх оцвітина забарвлена від світло-жовтого, золотистого до жовтогарячого, рожевого та багряного кольору. Приквітники і оцвітина складаються із п'яти лускатих сегментів. Квітки мають по п'ять зрощених біля основи тичинкових ниток [136].

Плід – яйцеподібна багатонасіннева коробочка. Насінини дрібні, нирко- або кулеподібні, чорні, блискучі [104].

Целозія срібляста – однорічна рослина, яка у висоту може сягати від 0,5 до 1,5 м. Вона має ребристе, голе, розгалужене стебло. Листки черешкові, чергові, лінійні або ланцетні, прості, без прилистків з перистим жилкуванням. Черешки приблизно 4–14 см завдовжки, звужуються біля основи. Суцвіття – густий, неперервний, конусоподібний колос, який згодом стає вузькоциліндричним, пір'ястим, іноді яйцеподібним [29, 66]. При цвітінні базальна частина суцвіття відмирає. Квітки дрібні, білі, лілові або рожеві, шипуваті, плівчасті, блискучі, без пелюсток, 8-12 мм у довжину, які розташовуються на поодиноких, прямостоячих, щільних квітконосах. Приквітники ланцетні, загострені, білого кольору, до 4 мм завдовжки. Листочків оцвітини 5, вони однакового розміру. Тичинки 5-6 мм, з фіолетовими пильниками. Насінини дрібні, чорні, блискучі, кулеподібні, діаметром до 1,5 мм [78, 123].

Целозія гребінчаста – трав'яниста рослина, що досягає від 0,6 до 1,5 м у висоту. Жилкування листків перисто-розсічене. Листки розташовані почергово, прості та стрілоподібні, від 5 до 10 см у довжину, зелено-фіолетового або червоного кольору; квітки переважно червоні [122].

Целозія колосиста – це трав'яниста прямостояча рослина з червоно-фіолетовим листям і світло-рожевими квітками, виростає до 81,3 см [92].

Целозія ізерта – трав'яниста рослина, із розлогими стеблами, які досягають 3,0-3,2 м [94].

Батьківщиною целозій вважають Південну і Південно-Східну Азію. Целозії зустрічаються майже на всіх континентах світу, але найбільше вони

поширені в Азії, Північній та Південній Америці та Африці [35, 61]. Географію поширення рослин роду Целозія зображено на рис. 1.1.

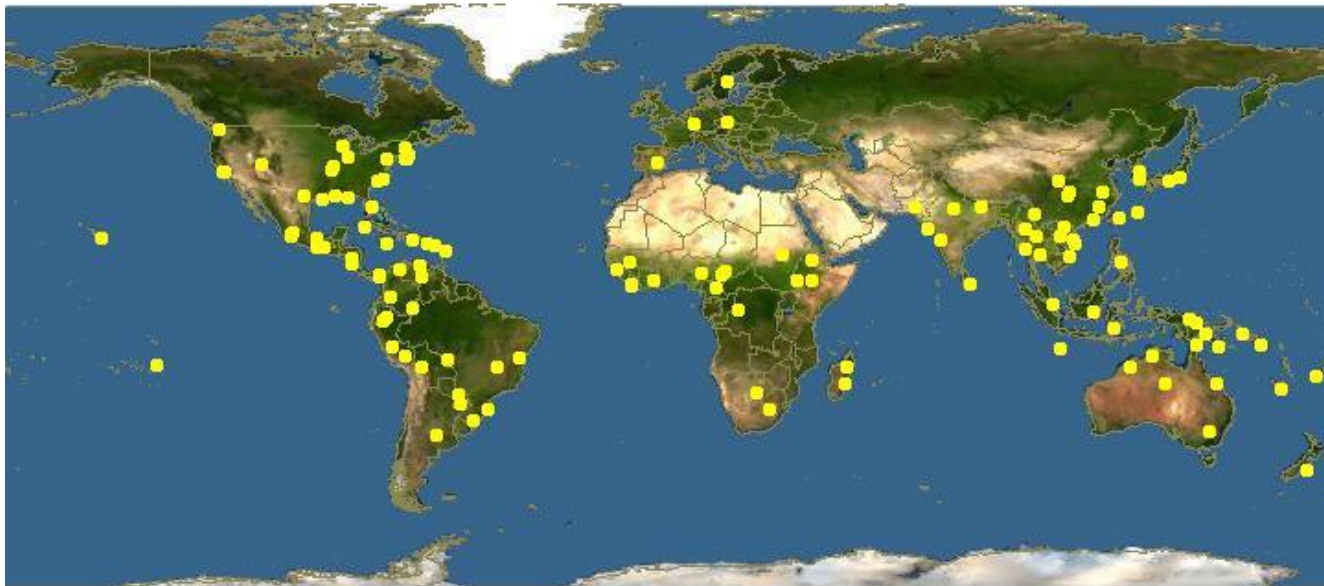


Рис. 1.1 Географічне поширення рослин роду Целозія (фото взято з ресурсу <https://www.discoverlife.org/mp/20m?kind=Celosia>)

Целозія срібляста, целозія колосиста та целозія гребінчаста є нативними видами для Східної та Центральної Африки (Нігерія, Камерун, Того та Республіка Бенін). Також ця рослина зростає як бур'ян по всій території Індії та інших тропічних країн світу, головним чином Шрі-Ланки, Ємену, Індонезії, Індії та Мексики [34, 92, 94]. Целозія ізерта зустрічається переважно в Західній та Центральній Африці (Сьєрра-Леоне, Конго, Сенегал, Камерун, Нігерія, Ангола та Замбія) [94].

Целозія гребінчаста вперше була виявлена у Північній Америці у XVIII столітті [32].

У природному ареалі целозії зростають на вологих місцях, по берегах струмків, на галявинах і рідко в савані [34, 94].

1.2 Хімічний склад рослин роду Целозія

Попередній фітохімічний аналіз витяжок із надземної частини целозії гребінчастої, проведений індійськими науковцями, показав наявність вуглеводів, зокрема, слизу та камедей, білків, амінокислот, флавоноїдів, танінів, тритерпенових сапонінів, стероїдів, алкалоїдів та бетанінів [34, 35, 94, 98, 106, 108, 110].

Суцвіття цієї рослини накопичують флавоноїди та бетаціаніни амарантин (рис. 1.2), ізоамарантин, целозіанін I (рис. 1.3), ізоцелозіанін I (рис. 1.4) [136].

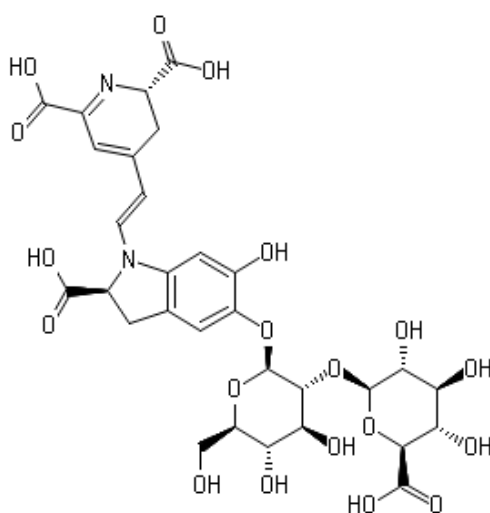


Рис. 1.2 Структурна формула амарантину

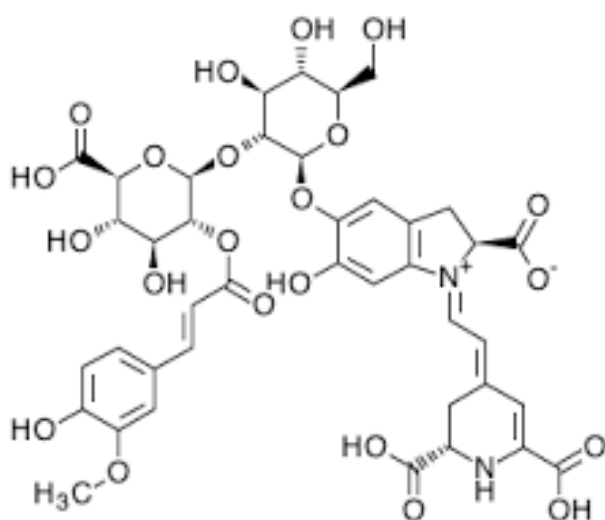
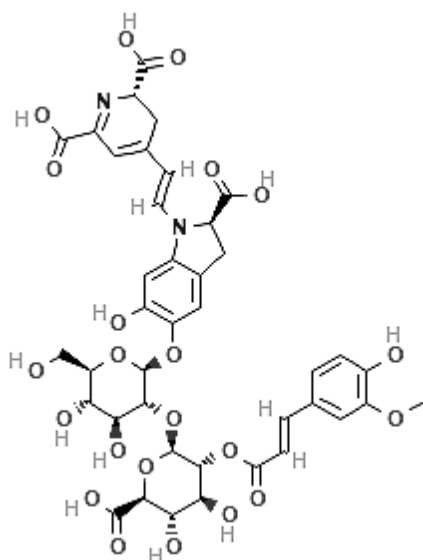


Рис. 1.3 Структурна формула целозіаніну I

Рис. 1.4 Структурна формула
ізоцелозину I



З етанольного екстракту трави целозії гребінчастої китайські вчені виділили флавоноїди кемпферол та кверцетин [116, 138].

Дослідження південноафриканських зразків квіток целозії сріблястої методом ВЕРХ дозволили виявити у цій сировині бетаціаніни амарантин, ізоамарантин та беталамову кислоту (рис. 1.5) [51, 56]. У надземній частині целозії сріблястої ідентифіковано 6 фенольних сполук, зокрема, цитрузин С (рис. 1.6), глікозиди кверцетину, ізорамнетину та ферулову кислоту [34, 142].

Рис. 1.5 Структурна формула
беталамової кислоти

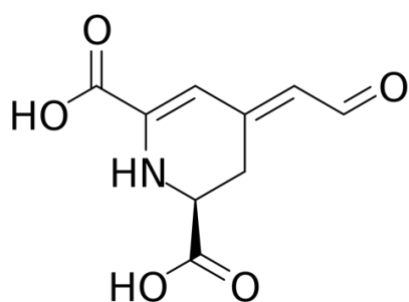
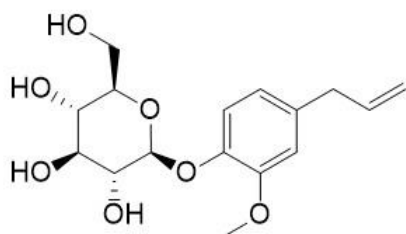


Рис. 1.6 Структурна формула
цитрузину С



Проведені китайськими науковцями ВЕРХ дослідження дозволили у надземній частині целозії гребінчастої та целозії перистої виявити бетаціанінові сполуки, зокрема целозіанін I, ізоцелозин I, целозіанін II (рис. 1.7), ізоцелозіанін II (рис. 1.8) [54, 119, 140, 147].

Рис. 1.7 Структурна формула целозіаніну II

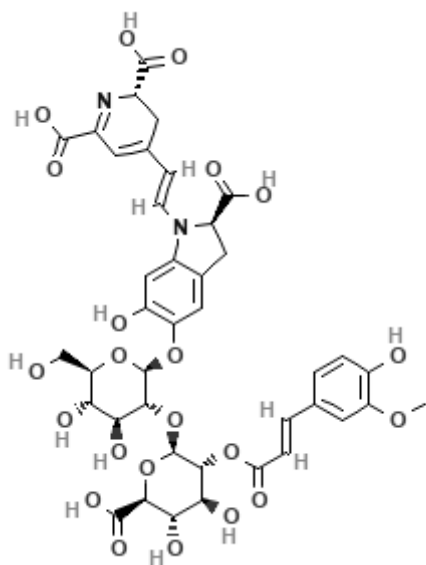
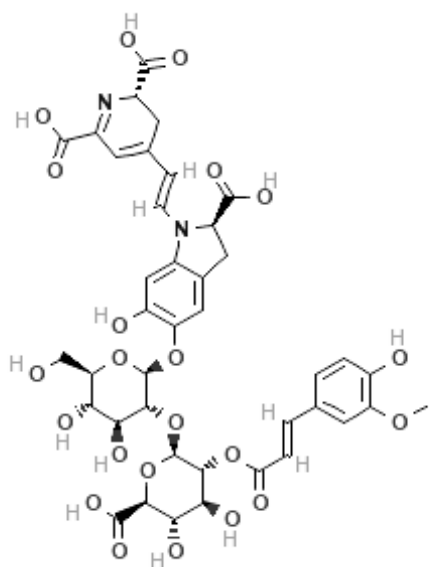


Рис. 1.8 Структурна формула целозіаніну II



Крім того, у ході досліджень було виявлено інші пігменти бетаксантини допамін-бетаксантин (рис. 1.9), 3-метокси-тирамін-бетаксантин (рис. 1.9) та триптофан-бетаксантин (рис. 1.10) [49, 141, 147].

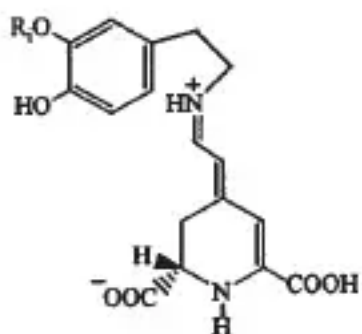


Рис. 1.9 Структурна формула:

$R_1 = H$ – допамін-бетаксантину;

$R_1 = CH_3$ – 3-метокси-тирамін-бетаксантину

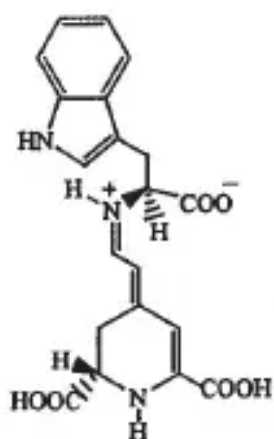


Рис. 1.10 Структурна формула

триптофан-бетаксантину

Індійські дослідники виділили із квіток целозії гребінчастої ізофлавоон кристатеїн (рис. 1.11) та визначили вміст кемпферолу (0,002-0,25 %) та ізорамнетину (0,001-0,011 %) [143, 146]. Вміст специфічного метилендіоксифлавоону кохліофіліну А (рис. 1.12) у паростках целозії гребінчастої становив 1,4 мкг/г [54, 143].

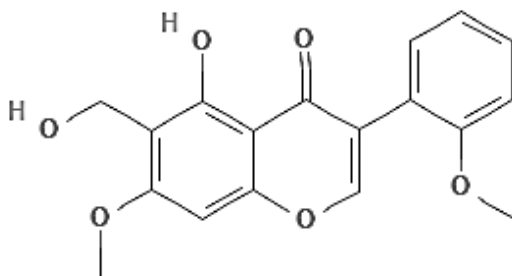


Рис. 1.11 Структурна формула

кристатеїну

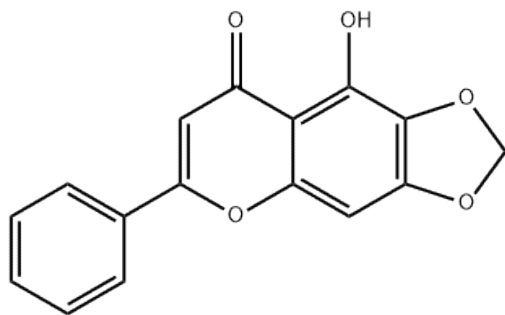


Рис. 1.12 Структурна формула кохліофіліну А

За результатами досліджень корейських вчених, загальний вміст поліфенолів у метанольних екстрактах із квіток целозії гребінчастої становив 6,80 мг/г, флавоноїдів – 2,34 мг/г, дубильних речовин – 6,23 мг/г [48]. Спектрофотометричне визначення з реактивом Фоліна-Чокалтеу індійськими вченими показало, що загальний вміст поліфенольних сполук у 70 % метанольних екстрактах із квіток целозії гребінчастої становив 47,29 мг/г у еквіваленті галової кислоти [78, 110].

Египетські дослідники з'ясували, що у листі целозії гребінчастої залежно від місця зростання і часу збору, накопичувалося від 1,4 до 1,78 мг/г хлорофілу а, від 0,46 до 0,59 мг/г хлорофілу b, від 0,16 до 0,37 мг/г каротиноїдів та від 5,01 до 13,75 мг/г антоціанів [59]. Серед антоціанів у досліджуваних зразках були ідентифіковані глікозиди ціанідину, зокрема ціанін (рис. 1.13) та 3-деоксиціанідин [53].

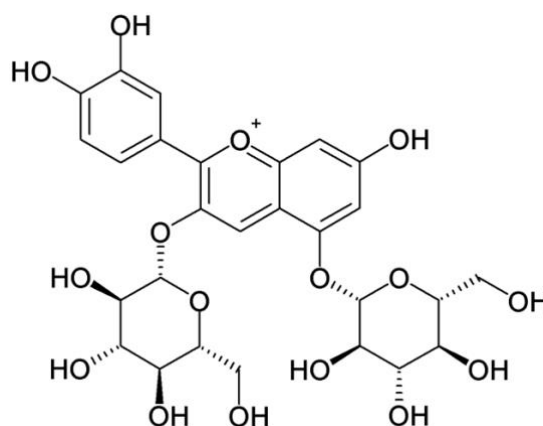


Рис. 1.13 Структурна формула ціаніну

Дослідження хімічного складу ефірної олії надземної частини целозії сріблястої, яке проводили іранські науковці методом ГХ, дозволили

ідентифікувати у цій сировині 37 летких сполук, зокрема, 12 терпенових сполук. Серед терпеноїдів у ефірній олії цієї сировини ідентифіковано 3,28 % пулегону (рис. 1.14), 4,22 % каріофілену (рис. 1.15), 2,08 % геранілацетону, 1,79 % γ -кадінену (рис. 1.16), 0,88 % ліналоолу, 0,44 % гумулену (рис. 1.17) та 34,69 % дитерпенової сполуки цемброну (рис. 1.18) [121].

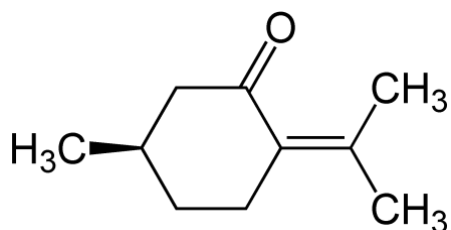


Рис. 1.14 Структурна формула пулегону

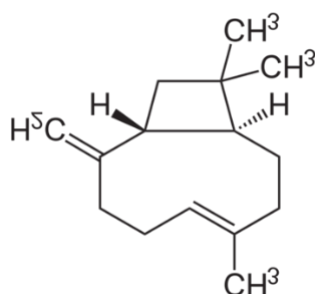


Рис. 1.15 Структурна формула каріофілену

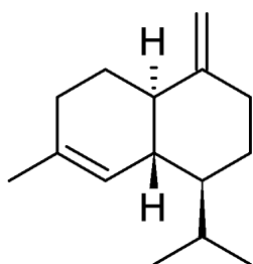


Рис. 1.16 Структурна формула γ -кадінену

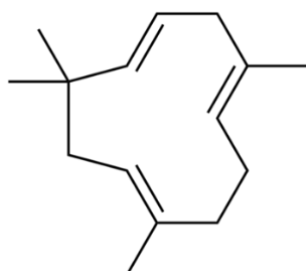


Рис. 1.17 Структурна формула гумулену

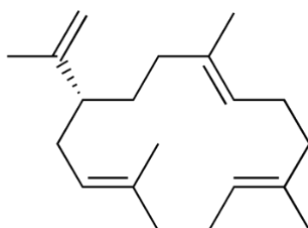


Рис. 1.18 Структурна формула цемброну

Китайські вчені із насіння целозії гребінчастої виділили тритерпенові сапоніни кристатаїн, семенозид А та целозини А-Д [30, 33, 118, 110, 117]. У іншому дослідженні зазначається, що квітки целозії гребінчастої містять β -ситостерин та стигмастерин [87, 90, 116]. Методом ВЕРХ у метанольних екстрактах із листя целозії гребінчастої індійські науковці ідентифікували целозин А, целозин В, β -ситостерин, стигмастерин та даукостерол (рис. 1.19) [31, 112, 135, 136].

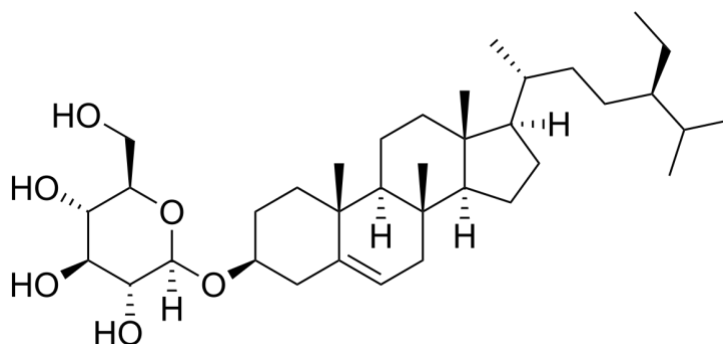


Рис. 1.19 Структурна формула даукостеролу

Два глікопротеїни ССР-25 і ССР-27 з протівірусною та протипухлинною дією було виділено індійськими дослідниками методом ВЕРХ із листя целозії гребінчастої [52, 67, 86, 110].

У деяких джерелах літератури зазначається, що у надземних частинах целозії гребінчастої міститься нітрогенвмісна сполука сфінгозин (рис. 1.20) [31, 71].

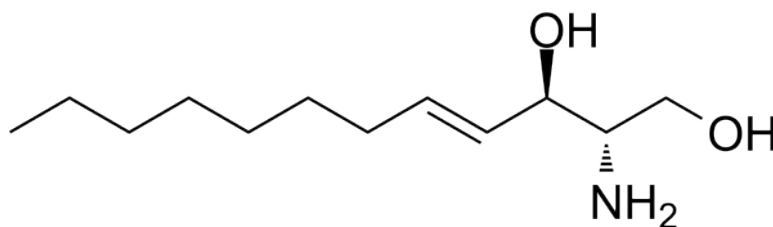


Рис. 1.20 Структурна формула сфінгозину

Відомо, що насіння целозії гребінчастої накопичує 10,1-12,8% білків та 7,2-10,1 % жирної олії. Вміст білків у квітках, стеблах та листках становить

19,40 %, 24,60 % і 27,04 % відповідно [35]. Рослина також містить ефіри гіалуронової кислоти [97].

Проведені індійськими науковцями дослідження показали, що квітки целозії гребінчастої накопичують важливі нутрієнти, зокрема, вітаміни, жирні та амінокислоти, мінеральні елементи. Методом ВЕРХ у квітках целозії гребінчастої було ідентифіковано 12 амінокислот. Результати аналізу показали, що у досліджуваній сировині превалюють триптофан (26,29 мг/100 г), L-аргінін (22,43 мг/100 г). Серед незамінних амінокислот домінували треонін (19,08 мг/100 г) та лізин (17,81 мг/ 100 г). Вміст валіну, фенілаланіну, лейцину та ізолейцину був у межах від 5 до 15 мг/ 100 г. Вміст треоніну у квітках целозії гребінчастої не перевищував 1 мг/100 г [110, 124].

Основними амінокислотами у південноафриканських зразках листя целозії сріблястої були глютамінова (12,8 г/100 г) й аспарагінова кислоти (8,96 г/100 г) [75].

Листя цього виду целозії характеризувалося високим вмістом валіну (6,77 мг/100 г), гістидину (6,68 мг/100 г), лейцину (5,53 мг/100 г), лізину (6,42 мг/100 г) та фенілаланіну (5,18 мг/100 г), тоді як треонін (4,60 мг/100 г), метіонін (1,50 мг/100 г) та ізолейцин (4,43 мг/100 г) містяться в помірних кількостях [34].

Дослідження мінерального складу квіток целозії гребінчастої індійські вчені проводили шляхом атомно-емісійного спектрального аналізу, у ході якого було ідентифіковано 7 мінеральних елементів [85, 99]. Результати показали, що серед макроелементів кількісно у цій сировині переважали калій (520,4 мкг/100 г), кальцій (128,68 мкг/100 г), серед мікроелементів – ферум (9,45 мкг/100 г). При цьому, вміст цинку та купруму не перевищував 1 мкг/100 г [103, 110].

Південноафриканські вчені у листі целозії сріблястої та целозії колосистої ідентифікували по 8 мінеральних елементів, зокрема, калій, натрій, кальцій, ферум, купрум, цинк, магній, манган і фосфор [33, 113]. Калій, магній і кальцій переважали в обох зразках. У листі целозії сріблястої та целозії колосистої було

відмічено також високий вміст феруму (15,25 та 4,90 мг/100 г відповідно) та цинку (7,25 та 4,20 мг/100 г відповідно) [31, 70].

Методом ГХ було встановлено, що загальний вміст насичених пальмітинової та стеаринової жирних кислот у квітках целозії гребінчастої складав 1,48 г/100 г. Мононенасичених пальмітолеїнової 0,90 г/100 г, поліненасичених – 2,20 мг/100 г. Серед ненасичених жирних кислот переважали ліолева (2027,9 мг/100 г) та олеїнова (897,5 мг/100 г) жирні кислоти. Вміст ліолевої кислоти у цій сировині становив 167,5 мг/ 100 г [33, 93, 110]. У листі виявлено пальмітинову кислоту [136, 148].

За даними літератури, у надземній частині целозії перистої містяться вітаміни, зокрема, тіамін, рибофлавін, аскорбінова кислота, токоферол та β -каротин [84, 128].

За результатами ВЕРХ досліджень індійських вчених у 70 % етанольних екстрактах з квіток целозії гребінчастої ідентифіковано та визначено вміст аскорбінової кислоти (4,3 мг/100 г), каротиноїдів (11,94 мкг/100 г), токоферолу (455 мкг/ 100 г), тіаміну (5,29 мкг/100 г), рибофлавіну (27,31 мкг/100 г), ніацинамідну (49,98 мкг/100 г), пантотенової кислоти (107,64 мкг/ 100 г), піридоксину (50,60 мкг/ 100 г), біотину (1,66 мкг/100 г), фолієвої кислоти (3,63 мкг/100 г) та ціанокобаламіну (1,41 мкг/100 г) [33, 110, 133].

У траві целозії сріблястої було визначено вміст феруму (13,5 мг/100 г), кальцію (188 мг/100 г), натрію (240,6 мг/100 г) та магнію (93,4 мг/100 г) [34, 78].

Трава целозії сріблястої, за даними індійських дослідників, накопичує аскорбінову кислоту (26 мг/100 г) і β -каротин (4,42 мг/100 г) [34].

1.3 Застосування у медицині рослин роду Целозія

У традиційній медицині країн Азії та Південної Америки використовують траву, квітки та насіння целозії гребінчастої [35, 106].

Відомо, що квітки деяких целозій використовуються як в'яжучий, кровоспинний, детоксикавальний, заспокійливий, послаблювальний,

антибактеріальний, антигельмінтний, гепатопротекторний, імунозміцнювальний, протикашльовий, жарознижувальний, антиноцицептивний, антиоксидантний, противиразковий та гастропротекторний засіб [29, 35, 94, 102, 110].

В Індії червоні квітки целозії гребінчастої рекомендують при менорагії, діареї, дизентерії, лихоманці [62], головному болю, геморої, герпесі, внутрішніх, зокрема, маткових та гемороїдальних кровотечах, лейкореї, остеопорозі, хворобах печінки, виразках та ранах на шкірі [94, 106, 110]. Відвар насіння цієї рослини ефективний при лікуванні гіпертензії, циститів, дизентерії, офтальмологічних захворювань, зокрема, катаракти, а також як знеболювальний та заспокійливий засіб [106].

Сік із листя целозії гребінчастої застосовують при жовчнокам'яній хворобі. Його також використовують для стимулювання пологів [44].

Надземну частину використовують для лікування атеросклерозу, лейкореї та остеопорозу, як тонізувальний, вітрогінний і протизапальний засіб [110].

Китайські вчені встановили, що настій із квіток целозії гребінчастої у дозуванні 1,7 г/кг значно скорочував час кровотечі, коагуляції, протромбіновий час і час відновлення плазми порівняно з контрольною групою [35].

Гепатопротекторну активність сапонінів, виділених із насіння целозії гребінчастої, у дозі від 1 до 4 мг/кг досліджували на моделі тетраклорметанового та діетилформамід індукованого гепатиту у мишей. Зниження рівня АсАТ, АлАТ і лужної фосфатази у сироватці крові піддослідних тварин свідчило про наявність дозозалежного гепатопротекторного ефекту у досліджуваних сполук. Крім того, було відмічено, що гістопатологічний стан печінки досліджуваних мишей, спричинений введенням тетраклорметану, помітно покращився при застосуванні цього екстракту [69, 134, 139].

Антиоксидантний потенціал по відношенню до гепатоцитів метанольних екстрактів із квіток целозії гребінчастої досліджували *in vivo* на моделі ураження гепатоцитів щурів трет-бутилгідропероксидом. Пероральне

застосування метанольного екстракту із квіток целозії гребінчастої у дозах 100 та 500 мг/кг у щурів показало значний гепатопротекторний ефект шляхом зниження рівня глутамат оксалоацетату, трансамінази, глутаматпіруваттрансамінази та тригліцеридів у сироватці крові [45, 46, 63].

Цитотоксичність водних, дихлорметанових та метанольних екстрактів із надземної частини целозії гребінчастої китайські науковці визначали на клітинах фібробластів Cos7 і чотирьох лініях ракових клітин: HeLa, HepG2, SK-Hep1 і LS174T [55, 144]. Дослідження показало, що водні екстракти із цієї сировини мали виражену цитотоксичну активність у напівефективній дозі 263,9 мкг/мл для клітин фібробластів Cos7 та у напівефективних дозах 2773,5, 200, 180 і 200 мкг/мл для клітинних ліній HeLa, HepG2, SK-Hep1 і LS174T відповідно [86, 129]. Екстракти із надземної частини целозії гребінчастої показали дещо гірший результат. Дихлорметанові екстракти проявляли цитотоксичну дію на клітинну лінію HeLa у напівефективній дозі 472,0 мкг/мл, метанольні – 499,2 мкг/мл [58, 105].

Японські вчені *in vitro* на клітинних лініях раку товстої кишки 26-L5 з'ясували, що метанольні екстракти насіння целозії сріблястої у концентрації 28 мкг/мл показали значний цитотоксичний ефект у порівнянні зі стандартним протипухлинним препаратом метотрексатом. У концентрації 1000 мкг/мл аналізований екстракт показав мітогенну активність на клітини селезінки [40, 107]. Результати досліджень швейцарських вчених показали, водні та 70 % етанольні екстракти з надземної частини целозії сріблястої зменшує міелосупресію та посилює імунну відповідь при індукованій циклофосфамідом міелосупресії у мишей [65, 145].

Науковці з Індії досліджували протипухлинний ефект етанольного екстракту трави целозії сріблястої на життєздатність двох ліній ракових клітин (SiHa та MCF-7) за допомогою МТТ аналізу [31, 52]. Результати дослідження показали, що екстракт із трави целозії сріблястої мав потужну протиракову активність проти обох клітинних ліній у концентрації 31 мкг/мл [34].

Антиоксидантну активність етанольних екстрактів із квіток целозії гребінчастої китайські вчені досліджували *in vitro* спектрофотометричним методом за реакцією зі стабільним радикалом DPPH. Аналізований екстракт показав дозозалежне сповільнення утворення внутрішньоклітинних активних форм кисню. У концентрації 1,5 мг/мл його поглинаюча здатність становила 264,7 мг/г у еквіваленті хлорогенової кислоти [81, 83, 111]. Крім того, етанольний екстракт із квіток целозії гребінчастої інгібував активність гіалуронідази та еластази, що свідчить про можливість застосування досліджуваного екстракту для зволоження шкіри, запобігання утворення та вирівнювання зморшок [109, 127].

Корейськими науковцями встановлено, що поглинаюча здатність метанольних екстрактів із квіток целозії гребінчастої радикалів DPPH становила 52,43 мг/г, ABTS – 107,01 мг/г у еквіваленті тролоксу [77, 79]. Дослідження антиоксидантної активності метанольних екстрактів із листя цієї рослини показало, що здатність поглинати радикал DPPH у концентрації 100–1000 мкг/мл дозозалежно зростала від 68,7 % до 81,07 % [44, 43, 48].

Протизапальну активність етанольних екстрактів із листя целозії ізерта досліджено нігерійськими вченими [39, 101]. На моделі карагенінового набряку лапи щурів встановлено, що етанольні екстракти із листя целозії ізерта у дозі 250 мг/кг зменшували набряк на рівні із препаратом порівняння диклофенаком натрію [82, 94].

Китайські дослідники повідомили про антидіабетичну активність водних екстрактів із коренів целозії сріблястої. В експериментах на щурах з індукованим стрептозотоцином діабетом встановлено, що при лікуванні щурів досліджуваними екстрактами у дозі 500 мг/кг протягом 2 тижнів показало зниження рівня глюкози в крові на 75 % – з 397,83 до 99,33 мг/мл [38, 84]. У експерименті на щурах з алоксановим типом діабету етанольні екстракти із насіння целозії сріблястої у дозах 250 і 500 мг/кг через 6 годин після застосування знижували рівень глюкози в крові на 27,8 % і 38,8 % відповідно [73, 84, 137].

Результати дослідів вчених з Бангладеш продемонстрували, що пероральне застосування метанольного екстракту із листя целозії гребінчастої у мишей у дозі 400 мг/кг викликало значний центральний і периферичний антиноцицептивний ефект на експериментальних моделях болю [74]. Метанольний екстракт із листя целозії гребінчастої значно збільшував час затримки больового і температурного порогу у дослідях із гарячими пластинами та тестах на судоми [76, 124]. Відмічено значне інгібування судом при застосуванні цього екстракту у тесті на судоми, викликані оцтовою кислотою. Також він зменшував індукований формаліном нейрогенний і запальний біль. Антиноцицептивний ефект був менш вираженим при одночасному застосуванні екстракту з налоксоном і глібенкламідом, що свідчило про асоціацію з опіоїдними рецепторами [76, 89].

Турецькі автори з'ясували, що метанольні екстракти з коренів целозії сріблястої у дозах 250 і 500 мг/кг запобігають утворенню конкрементів у нирках [64].

В експерименті *in vitro* французькі науковці оцінювали адипогенний потенціал водного екстракту із квіток целозії гребінчастої у концентрації від 0,05 до 0,5 %. Для оцінки впливу екстракту целозії гребінчастої на комітацію та диференціацію клітин-попередників людської жирової тканини, тобто на прихильність і диференціацію до адипогенної лінії, використовували дві різні умови культивування клітин. Клітини культивували в середовищі диференціації протягом 10 днів у присутності екстракту з квіток целозії гребінчастої або за його відсутності [125]. В обох експериментальних серіях частку клітин-попередників визначали шляхом порівняння кількісного співвідношення ліпідів та інтенсивності експресії ключових генів, залучених до адипогенезу. Результати показали, що водний екстракт із квіток целозії гребінчастої зменшує адипогенез шляхом зниження вмісту ліпідів у клітинах-попередниках [29, 75]. Ці показники корелювали зі зниженням рівня експресії ключових генів, які беруть участь у адипогенезі: генів-факторів транскрипції

PPAR γ 2 і C/EBP α , а також маркерних генів LPL і GPDH. Водні екстракти із квіток целозії гребінчастої знижували експресію гена C/EBP α на 56 % [34, 75].

Антимікробні властивості етанольних та метанольних екстрактів із листя целозії гребінчастої по відношенню до штамів мікроорганізмів *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Candida albicans* індійські дослідники оцінювали за допомогою методу мікророзведення бульйону. Результати показали, що значення мінімальної інгібуючої концентрації досліджуваних екстрактів із листя целозії гребінчастої було в межах від 0,125 до 1 мг/мл [60]. Метанольні екстракти показали високу протимікробну активність проти *Staphylococcus aureus* (0,125 мг/мл), *Bacillus subtilis* (0,5 мг/мл) і *Candida albicans* (1 мг/мл). Етанольні екстракти із листя цієї рослини показали аналогічні результати [42, 43].

У повідомленнях корейських вчених зазначалося, що 70 % етанольні екстракти із надземної частини целозії сріблястої у концентраціях від 3,125 до 50 мкг/мл пригнічували ріст *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* і *Aspergillus niger* [95].

Методом дифузії в агар індійські науковці досліджували протигрибкову дію хлороформних та метанольних екстрактів із коренів і стебел целозії сріблястої у від 25 до 1000 мкг. Результати показали дозозалежне інгібування росту *Candida albicans* і *Aspergillus niger* [114].

Корейські вчені встановили, що метанольні екстракти із листя целозії гребінчастої у концентрації 20-30 мкг/мл на 90 % пригнічували реплікацію вірусів тютюнової мозаїки, діареї великої рогатої худоби, вірусу гепатиту В [36, 58, 67, 68 100].

Антигельмінтну активність хлороформних, метанольних і водних екстрактів із листя целозії гребінчастої вивчали на дощових черв'яках, оскільки вони мають анатомічну та фізіологічну схожість з кишковопорожнинними паразитами аскаридами. У дозуванні 100 мг/мл та 200 мг/мл водні та метанольні екстракти викликали параліч, а згодом призводили до смерті дощових черв'яків на рівні з альбендазолом [29]. Результати показали, що

антигельмінтна активність водного екстракту значно перевищувала активність метанольного екстракту. При цьому, хлороформні екстракти не проявили значної антигельмінтної активності [106].

Целозія гребінчаста та целозія колосиста є одними з найпопулярніших сухоцвітів, які використовують у флористиці для створення композицій [92]. У деяких країнах Африки, у Китаї, Індонезії, Індії листя та суцвіття целозії гребінчастої вживають в їжу як овочі під збірною назвою «лаоський шпинат» для приготування салатів та рагу [34, 110]. Завдяки високому вмісту природних водорозчинних пігментів беталаїнів, в Індії висушені квітки целозії гребінчастої використовують як природний харчовий барвник [110].

Результати аналізу літературних джерел показали, що представники роду Целозія характеризуються різноманітним хімічним складом і мають широке застосування у традиційній та доказовій медицині.

Відомості, знайдені в науковій літературі, вказують на те, що хімічний склад целозій представлений вітамінами, амінокислотами, флавоноїдами, бетаціанінами, алкалоїдами, терпеновими та стероїдними сполуками. Аналіз робіт закордонних вчених показав певну варіабельність хімічного складу рослин роду Целозія залежно від виду і місця зростання. Проте, знайдена інформація носить переважно несистемний характер і лише частково висвітлює якісний склад та кількісний вміст деяких представників роду Целозія.

Попри широке культивування та застосування у традиційній медицині цих декоративних рослин, жоден вид целозії не є офіційним ні в Україні, ні в інших країнах світу. Необхідність комплексного фармакогностичного дослідження сировини целозії гребінчастої для поглиблення знань стосовно її 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, прилади, методи і реактиви

Об'єктами дослідження були: корені, листя, стебла, квітки та насіння целозії гребінчастої (*Celosia cristata* (L.) Kuntze) сорту Гребінець. Це єдиний в Україні сорт целозії гребінчастої, який з 2002 року внесено до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні [19]. Сировину заготовляли у Харківській області у 2018-2021 роках. Заготівлю листя та стебел проводили у фазу вегетації рослини (серпень – вересень), квіток – у фазу цвітіння (вересень - жовтень), коренів – у фазу плодоношення (кінець жовтня, до приморозків).

Заготовлену сировину сушили на конвективних сушарках при температурі близько 50 °С. Стебла та квітки попередньо розрізали на шматки.

Експериментальні дослідження БАР сировини целозії гребінчастої проводили хроматографічними методами (ПХ, ТШХ, ВЕРХ, ГХ) та ААС.

Морфологічні ознаки вивчали за допомогою лупи. Дослідження анатомічної будови проводили з використанням мікропрепаратів зі свіжозібраної сировини та законсервованої у суміші етанол – гліцерин – вода (1 : 1 : 1). Мікропрепарати готували за загальними правилами. Анатомічну будову вивчали за допомогою світлового мікроскопу «Granum» (при збільшенні 60-100 разів), фотофіксацію проводили фотокамерою.

Реактиви і титровані розчини, які були використані для якісного та кількісного аналізу, готували відповідно до вимог ДФУ 2.1 (розділ 4 «Реактиви») [17].

Хроматографування фенольних сполук проводили на рідинному хроматографі Prominence LC-20 з колонкою Supelcosil C18 довжиною 2,5 м, діаметром 4,6 см та зернистістю 5 мкм, яка обладнана діодно-матричним детектором SPD-M20A.

Амінокислотний склад сировини вивчали за допомогою автоматичного аналізатора амінокислот Т 339, жирнокислотний – за допомогою газового хроматографа «Селміхром-1» з полум'яно-іонізаційним детектором.

Мінеральний склад сировини вивчали на спектрографі ІВС-28 із дифракційною решіткою 600 штр/мм і трилінзовою системою освітлення щілини та мікрофотометрі МФ-1 з фіксацією на фотоплівку [21].

При дослідженні кількісного вмісту БАР методом абсорбційної спектрофотометрії спектри поглинання фіксували за допомогою спектрофотометра Mecasys Optizen POP.

Як референтні зразки при дослідження жирнокислотного складу брали стандарти насичених та ненасичених метилових ефірів жирних кислот фірми «Sigma».

Мікробну суспензію при дослідження антимікробної активності готували на приладі Densi-La-Meter (з довжиною хвилі 540 нм).

Математичне планування експерименту здійснювали за допомогою програмного забезпечення PlanEXp B-D13.

Статистичну обробку експериментальних даних, здійснювали за вимогами ДФУ з використанням програмного забезпечення Statistica 10,0 [18]

2.2 Методики дослідження якісного складу методами ПХ та ТШХ

Для хроматографічних досліджень використовували водні, 50 та 96 % етанольні витяжки із коренів, стебел, листя та квіток целозії гребінчастої у співвідношенні сировини й екстрагенту 1 : 5 при нагріванні на водяній бані. Одержані витяжки концентрували і використовували для аналізу.

Для хроматографування застосовували папір «Filtrak» FN № 4, а також пластинки з тонким шаром сорбенту фірми «Merck».

Хроматографування проводили методом одномірної, висхідної та низхідної ПХ та ТШХ з одно- і багаторазовою розгонкою при температурі 20-25 °С. Для приготування рухомих фаз використовували розчинники класу

ч.д.а. або х.ч.; Співвідношення розчинників у рухомих фазах для хроматографування, позначені цифрами у дужках, брали в об'ємних одиницях:

- № 1 – етилацетат – оцтова кислота льодяна – мурашина кислота – вода (100:11:11:27);
- № 2 – мурашина кислота безводна – вода – етилформіат (10 : 10 : 80);
- № 3 – мурашина кислота безводна – вода – метилкетон – етилацетат (10 : 10 : 30 : 50);
- № 4 – н-бутанол – оцтова кислота льодяна – вода (4 : 1 : 2);
- № 5 – 96 % етанол – хлороформ – аміак концентрований – вода (70 : 40 : 20 : 2);
- № 6 – оцтова кислота льодяна – пропанол – вода – 96 % етанол (1 : 1 : 1 : 2);
- № 7 – гексан – ацетон (6 : 4);
- № 8 – ацетон – петролейний ефір (3 : 7);
- № 9 – хлороформ – метанол (2 : 1);
- № 10 – н-бутанол – піридин – вода (6:3:1);
- № 11 – хлороформ – 96 % етанол – аміак концентрований (10:5:1).

На хроматограмах БАР виявляли за кольором флуоресценції в УФ-світлі та забарвленням зон у денному світлі після обробки реактивами:

- А – 1 % розчином дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру в метанолі;
- Б – 5 % розчином макроголу 400 в метанолі;
- В – парами аміаку;
- Г – 2 % етанольним розчином заліза (III) хлориду;
- Д – 2 % етанольним розчином алюмінію (III) хлориду;
- Е – 0,05 % розчином бромфенолового синього;
- Ж – 0,2 % етанольним розчином нінгідрину;
- К – 2 % етанольним розчином *n*-диметиламінобензальдегіду.

Л – 2 % розчином анілінфталатного реактиву

2.3 Методики дослідження кількісного вмісту БАР

2.3.1 Аналіз фенольних сполук методом ВЕРХ

Дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту індивідуальних сполук фенольної природи проводили методом ВЕРХ за методикою, узгодженою із методикою загальної статті «Рідинна хроматографія» ДФУ 2.0.1 [18].

Точну наважку (близько 1,0 г) сировини поміщали в колбу зі шліфом і додавали 10 мл 70 % етанолу. Нагрівали на киплячій водяній бані зі зворотним холодильником протягом 30 хв. Витяжку охолоджували, фільтрували та доводили до позначки цим же розчинником в мірній колбі на 10 мл. 5 мл одержаної витяжки поміщали в мірну колбу на 10 мл та доводили до позначки 70 % етанолом [132].

При проведенні хроматографічного вивчення фенольних сполук методом ВЕРХ як рухому фазу А використовували 0,1 % розчин трифтороцтової кислоти у воді, як рухому фазу Б – 0,1 % розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі [132].

Умови хроматографії: температура термостата становила 40 °С, швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв [132].

Час, хв	Рухома фаза А (0,1% водний розчин оцтової кислоти, %)	Рухома фаза Б (0,1 % розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі, %)
0–8	5–15	95–85
8–30	15–20	85–80
30–48	20–40	80–60
48–58	40–50	60–50

58–65	50	50
65–66	50–95	50–5

Фенольні сполуки ідентифікували за часом утримування відповідно до УФ-спектрів стандартів [132].

2.3.2 Кількісний аналіз фенольних сполук методом абсорбційної спектрофотометрії

Вміст флавоноїдів визначали за довжини хвилі 410 нм у перерахунку на рутин за методикою монографії «Софори бутони» ДФУ 2.1 [17]. Для аналізу використовували 1,0 г сировини або 0,2 г целозії гребінчастої квіток екстракту густого, який попередньо розчиняли у 70 % етанолі.

Визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот проводили за довжини хвилі 525 нм у перерахунку на хлорогенову кислоту за методикою, яка викладена в монографії «Кропиви листя» ДФУ 2.0.3 [16]. Для аналізу використовували 1,0 г сировини або 0,2 г целозії гребінчастої квіток екстракту густого, який попередньо розчиняли у 70 % етанолі.

Визначення кількісного вмісту поліфенольних сполук проводили за довжини хвилі 760 нм у перерахунку на пірогалол за методикою загальної статті «Визначення танінів у лікарських засобах рослинного походження» ДФУ 2.0.1 [18]. Для аналізу використовували 1,0 г сировини або 0,2 г целозії гребінчастої квіток екстракту густого, який попередньо розчиняли у 70 % етанолі.

2.3.3 Кількісний аналіз органічних кислот методом алкаліметрії

Вміст органічних кислот у перерахунку на яблучну кислоту та абсолютно суху сировину визначали методом алкаліметрії за методикою монографії «Шипшини плоди^N» ДФУ 2.1 [17].

2.3.4 Кількісний аналіз жирних кислот методом ГХ

Ідентифікацію та кількісний вміст жирних кислот визначали у ліпофільних фракціях після метилювання.

Метиллові ефіри жирних кислот отримували за модифікованою методикою Пейскера. Метилювання проводили сумішшю хлороформу з метанолом та сірчаною кислотою у співвідношенні 100 : 100 : 1. Від 30 до 50 мкл ліпофільної фракції змішували з 2,5 мл метилюючої суміші та запаювали в скляні ампули, які потім витримували в термостаті 3 год при температурі 105°C. Після закінчення метилювання ампули розкривали, вміст переносили в пробірку, додавали порошкоподібний цинку сульфат та по 2 мл води очищеної і гексану. Суміш збовтували, а після відстоювання гексанову витяжку відфільтровували [26].

Для дослідження використовували хроматографічну колонку з нержавіючої сталі, яка мала такі параметри:

- довжина 2,5 м;
- внутрішній діаметр 4 мм;
- нерухома фаза – інертон, оброблений 10 % діетиленглікольсукцинатом (DEGS);
- температура термостата колонки 180 °C;
- температура випарника 230 °C;
- температура детектора 220 °C;
- швидкість потоку газу носія (азот) 30 см³/хв;
- об'єм проби 2 мм³ розчину метилових ефірів кислот у гексані [3].

Метиллові ефіри жирних кислот ідентифікували за часом утримування у порівнянні зі референтними зразками насичених і ненасичених жирних кислот фірми «Sigma». Обчислення кількісного вмісту жирних кислот проводили методом нормалізації [26].

2.3.5 Кількісний аналіз амінокислот методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії та абсорбційної спектрофотометрії

Якісний та кількісний аналіз вільних та зв'язаних амінокислот досліджували методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії.

Амінокислотний склад вивчали в гідролізатах сировини целозії гребінчастої. Точну наважку сировини 1,0 г заливали 6 н розчином хлористоводневої кислоти. В подальшому розчин охолоджували у потоці рідкого азоту. Після замерзання вмісту пробірки з неї видаляли повітря під вакуумом для запобігання окиснення амінокислот. Пробірку запаювали, витримували добу в термостаті при температурі 106 °С. Вміст пробірки охолоджували, хлористоводневу кислоту випарювали на водяній бані. До висушеного зразка додавали 3-4 мл деіонізованої води та продовжували упарювання. Одержаний зразок розчиняли у 0,3 н літій цитратному буфері з рН 2,2 і наносили на іонообмінну колонку аналізатора амінокислот, катіонообмінник якої попередньо врівноважували буферним розчином натрію цитрату або літію цитрату. Розділення амінокислот проводили на дрібнозернистих катіонообмінниках сферичної форми, виготовлених із стиrolу і дивінілбензолу з функціональною сульфатною групою [20].

На виході з колонки за допомогою мікронасоса елюат безперервно зміщувався з нінгідриним реактивом (суміш нінгідрину, буферного розчину й олова хлориду в атмосфері аргону). Одержана суміш по капілярній трубці подавалась у реактор, нагрітий до 95 – 98 °С. Далі вона надходила в проточну кювету для фотоколориметричного вимірювання інтенсивності одержаного забарвлення за довжини хвилі 440 або 560 нм. Сигнали фотоелемента реєструвались самописним потенціометром у вигляді хроматограм. Площа піків на хроматограмах розраховувалась і порівнювалась з площею піків амінокислот з відомою концентрацією, на основі чого обчислювалась абсолютна кількість кожної амінокислоти в аналізованому зразку [20].

Вміст ідентифікованих вільних та зв'язаних амінокислот в мкМ (X_1) розраховували за формулою:

$$X_1 = S_1 / S_o, \quad (2.1)$$

де S_1 – площа піку амінокислоти в досліджуваному зразку;

S_o – площа піку амінокислоти в розчині стандартних амінокислот, кількість кожної амінокислоти в якому відповідає 1 мкМ.

Для вираження вмісту у мг одержану кількість мкМ амінокислоти множили на відповідну їй молекулярну масу [20].

Кількісний вміст вільних амінокислот у сировині целозії гребінчастої визначали методом абсорбційної спектрофотометрії.

Для проведення аналізу 1,0 г (точна наважка) сировини заливали 50 мл води і настоювали на водяній бані протягом 20 хв. Охолоджений та відфільтрований розчин доводили до позначки в мірній колбі місткістю 50 мл тим же розчинником [20].

До 1мл одержаного розчину додавали 8 мл 0,2 % розчину нінгідрину в ізопропанолі і витримували 5 хв на водяній бані. Одержану витяжку кількісно переносили у мірну колбу місткістю 25 мл і доводили об'єм розчину до позначки ізопропанолом [20].

Оптичну густину розчину вимірювали за довжини хвилі 573 нм. Як компенсаційний розчин використовували 8 мл 0,2 % розчину нінгідрину в ізопропанолі, доведеному до позначки ізопропанолом у мірній колбі об'ємом 25,0 мл [20].

Кількісний вміст вільних амінокислот (X , %) у перерахунку на лейцин і абсолютно суху сировину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \times 25 \times 100 \times 50}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times m \times 1 \times (100 - W)}, \quad (2.2)$$

де: A – оптична густина досліджуваного розчину за довжини хвилі 573 нм;

m – маса наважки випробовуваної сировини, г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, %;

– питомий показник поглинання комплексу лейцину з нінгідрином в ізопропанолі за довжини хвилі 573 нм, який дорівнює 862 [20].

2.3.6 Кількісний аналіз хлорофілів та каротиноїдів методом абсорбційної спектрофотометрії

Для проведення аналізу до 0,50 г (точна наважка) сировини целозії гребінчастої додавали магнію карбонат. Одержану суміш розтирали у ступці із 5 мл охолодженого 96 % етанолу. Витяжку зливали, фільтрували крізь скляний фільтр. Операцію проводили до моменту повного знебарвлення фільтрату. Фільтрати об'єднували у мірній колбі місткістю 25 мл і доводили 96 % етанолом до позначки [22, 23].

Оптичну густину витяжки, у порівнянні із 96 % етанолом, вимірювали за довжини хвилі 665, 649 та 441 нм, оскільки за таких значень спостерігали максимум поглинання хлорофілу а, хлорофілу b та каротиноїдів відповідно [22, 23].

Концентрацію хлорофілів а ($C_{\text{хл.а}}$, мг/л) і b ($C_{\text{хл.б}}$, мг/л) та каротиноїдів ($C_{\text{кар}}$, мг/л) обчислювали за формулами:

$$C_{\text{хл.а}} = 13,70 \cdot A_{665} - 5,76 \cdot A_{649}, \quad (2.3)$$

$$C_{\text{хл.б}} = 25,80 \cdot A_{649} - 7,60 \cdot A_{665}, \quad (2.4)$$

$$C_{\text{кар.}} = 4,695 \cdot A_{441} - 0,268 \cdot (C_{\text{хл.а}} + C_{\text{хл.б}}), \quad (2.5)$$

де A_{665} – оптична густина витяжки за довжини хвилі 665 нм;

A_{649} – оптична густина витяжки за довжини хвилі 649 нм.

A_{441} — оптична густина витяжки за довжини хвилі 441 нм;

$(C_{\text{хл.а}} + C_{\text{хл.б}})$ — сумарний вміст хлорофілів а і б у розчині, мг/л [6, 7].

Після встановлення концентрації хлорофілів та каротиноїдів у витяжках обчислювали їх кількісний вміст (X , мг/кг) за формулою:

$$X = \frac{V \cdot C \cdot 100}{m \cdot (100 - W)}, \quad (2.6)$$

де V — об'єм 96 % етанольної витяжки, мл;

C — концентрація пігменту в 96 % етанольному розчині, мг/л;

m — наважка сировини, г;

W — в масі при висушуванні сировини, % [22, 23].

2.3.7 Кількісний аналіз тритерпенових та стероїдних сполук методом абсорбційної спектрофотометрії

Для аналізу 1,0 г (точна наважка) сировини поміщали в колбу місткістю 100 мл, додавали 50 мл 96 % етанолу і нагрівали на водяній бані 1 год. Одержану витяжку охолоджували і фільтрували. При визначенні тритерпенових та стероїдних сполук у целозії гребінчастої квіток екстракті густому 0,2 г екстракту розчиняли у 70 % етанолі та доводили цим же розчинником до позначки 25,0 мл [1, 24].

Для приготування випробовуваного розчину у колбу зі шліфом поміщали 5,0 мл фільтрату й 5 мл 1 % розчину *n*-диметиламінобензальдегіду в 4 н етанольному розчині хлористоводневої кислоти. Паралельно готували розчин порівняння, який складався із 5 мл фільтрату і 5 мл 4 н етанольного розчину хлористоводневої кислоти. Обидва розчини витримували в термостаті ($t^\circ = 58 \pm 0,5^\circ\text{C}$) 2 год і в подальшому охолоджували до кімнатної температури [1, 24].

Оптичну густину розчину вимірювали за довжини хвилі 518 нм. Вміст стероїдних сполук (X, %) у перерахунку на абсолютно суху сировину обчислювали за формулою [1, 24]:

$$X = \frac{a \cdot 0,0101 \cdot 50 \cdot F \cdot 100 \cdot 100}{m_1 \cdot (100 - W)}, \quad (2.7)$$

де а – концентрація кобальту (II) хлориду за градувальним графіком (рис. 2.1);

0,0101 – коефіцієнт перерахунку;

F – коефіцієнт розведення;

m_1 – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, % [1, 24].

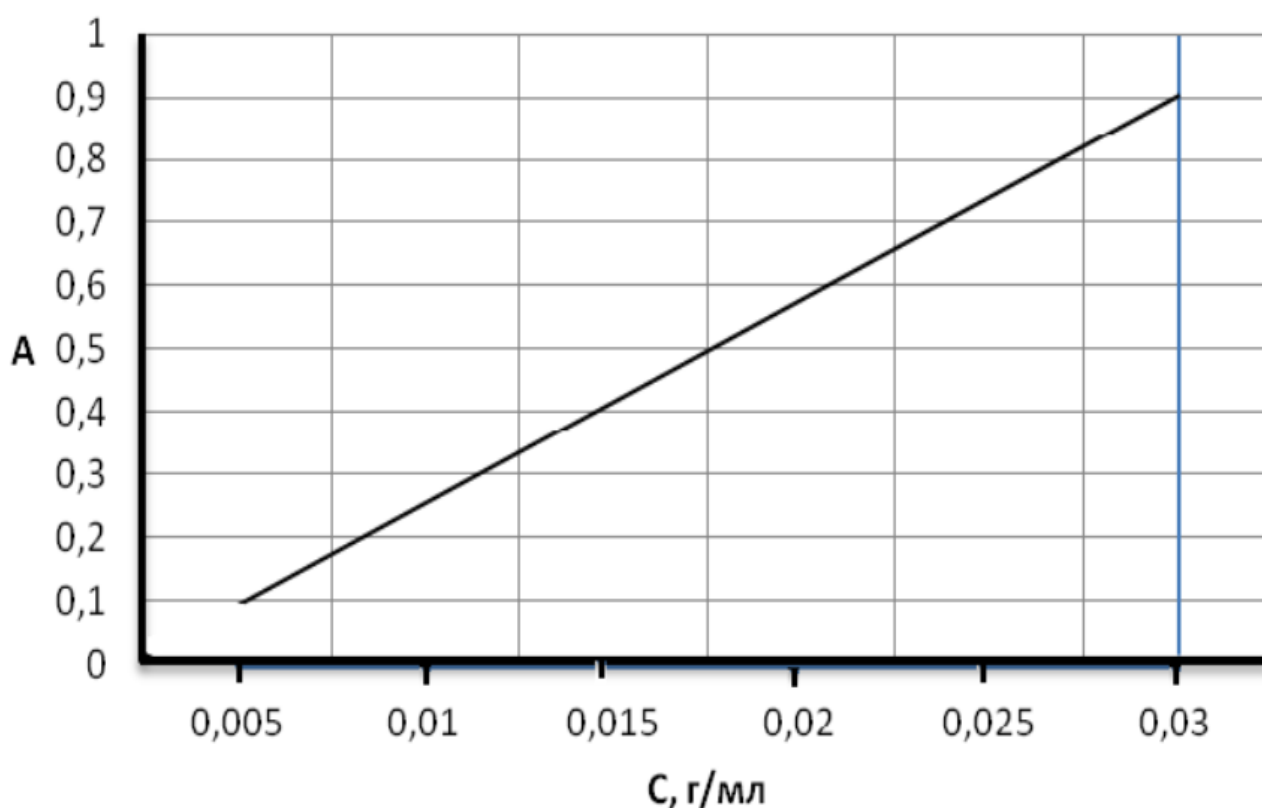


Рис. 2.1 Градувальний графік залежності оптичної густини від концентрації розчину кобальту хлориду

2.3.8 Кількісний аналіз мінеральних елементів методом ААС

Якісний склад та кількісний вміст мінеральних елементів у сировині целозії гребінчастої визначали за методикою, узгодженою з положеннями загальної статті «Атомно-абсорбційна спектрометрія» ДФУ 2.0.1 (метод 1 – калібрувальної кривої) [18]

Вивчення мінерального складу сировини целозії гребінчастої проводили на базі відділу аналітичної хімії ім. А.Б. Бланка ДНУ НТК «Інститут монокристалів НАН України», під керівництвом О. В. Гришиної.

Пробу для аналізу готували шляхом обвуглювання її в муфельній печі (при температурі до 500°C) сірчаною кислотою розведеною 2,0 г (точна наважка) сировини целозії гребінчастої або 0,5 г целозії гребінчастої квіток екстракту густого. На приладі були встановлені тиск 0,04 МПа та температура полум'я 2250 °С. Зразки випаровували з графітових електродів, сила змінного струму у розряді дуги якого складала 16А, експозиція – 60 с [21, 96].

Умови фотографування передбачали:

- фазу підпалювання: 60 °С;
- ширину щілини спектрографа – 0,015 мм
- частоту підпалювальних імпульсів: 100 розрядів за секунду;
- ділянку спектру: 230-347 нм [8, 78].

Градуювальні графіки в інтервалі вимірюваних концентрацій елементів будували за допомогою стандартних проб розчинів солей металів. Для розчинення купруму використовували кислоту азотну, для аналізу інших елементів – реактиви кваліфікації х. ч. та двічі очищену воду [21, 96].

Для всіх елементів розраховували різниці почорніння лінії і фону ($S = S_{л+ф} - S_{ф}$) для спектрів проб ($S_{ин}$) та градуювальних зразків ($S_{ГЗ}$). На основі одержаних результатів будували градуювальний графік у координатах: середнє значення різниці почорніння фону (S) і фону ($S_{ГЗ}$) – логарифм вмісту елемента в градуювальному зразку ($\lg C$), де C виражено у відсотках до основи [21, 96].

Вміст мінерального елемента в золі (a , %) знаходили за графіком. У сировині целозії гребінчастої вміст елемента (X , %) обчислювали за формулою:

$$X = \frac{a \cdot m_1}{m}, \quad (2.8)$$

де m_1 – маса золи, г;

m – маса сировини (сухого екстракту), г;

a – вміст елемента в золі, % [21].

2.3.9 Кількісний аналіз полісахаридів методом гравіметрії

Визначення кількісного вмісту полісахаридів у перерахунку на абсолютно суху сировину проводили гравіметричним методом за методикою монографії «Алтеї трава^N» ДФУ 2.0.3 [13].

2.4 Методики визначення показників якості сировини методом гравіметрії

Втрату в масі при висушуванні сировини визначали за методикою загальної статті «Втрата в масі при висушуванні» ДФУ 2.0.1 [18].

Загальну золу визначали за методикою загальної статті «Загальна зола» ДФУ 2.0.1 [18].

Золу, нерозчинну в хлористоводневій кислоті визначали за методикою загальної статті «Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті» ДФУ 2.0.1 [18].

Екстрактивні речовини визначали за методикою монографії «Полин гіркий^N» ДФУ 2.0.3 [16].

2.5 Методика вивчення протимікробної активності

Дослідження протимікробної активності целозії гребінчастої квіток екстракту густого проводили на базі ДУ «Інституту мікробіології і імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України» під керівництвом с. н. с., канд. біол. наук Т. П. Осолодченко.

Дослідження проводили методом дифузії в агар у модифікації «колодязів» на музейних тест-штамах мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636 та *Candida albicans* ATCC 885/653 [25, 28].

Для досліду готували мікробну суспензію. Для цього мікробні культури синхронізували при 40 °С, мікробне навантаження становило 10^7 мікроорганізмів на 1 см³ поживного середовища (для бактерій – агар Мюллера-Хінтона, для грибів – агар Сабуро). У дослідях використовували 18-24 годинну культуру мікроорганізмів [25, 28].

На підложку з «голодного агару» (агар-агар, вода, солі) встановлювали від 3 до 6 тонкостінних сталевих циліндрів діаметром 8 мм і висотою 10 мм. Навколо циліндрів заливали 14-16 мл попередньо гомогенізованого верхнього шару (розплавлене поживне агаризоване середовище, стандарт добової культури тестового мікроорганізму). Після застигання циліндри вилучали стерильним пінцетом, в утворені лунки поміщали по 0,3 мл розчиненого в 70 % етанолі целозії гребінчастої квіток екстракту густого у концентрації 1, 5 та 10 %. Чашки залишали в термостаті на 18-24 год [25, 28]. Паралельно визначали протимікробну активність екстрагенту – 70 % етанолу, який використовували для одержання целозії гребінчастої квіток екстракту густого.

Величину протимікробної активності целозії гребінчастої квіток екстракту густого оцінювали за шкалою зон затримки росту мікроорганізмів:

- до 10 мм – мікроорганізм не чутливий до цього лікарського засобу;

- 10-15 мм – низька чутливість штаму до лікарського засобу у досліджуваній концентрації;
- 15-25 мм – мікроорганізм чутливий до досліджуваного лікарського засобу;
- понад 25 мм – висока чутливість мікроорганізмів до антибактеріального засобу [25, 28].

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БАР У СИРОВИНІ ЦЕЛОЗІЇ ГРЕБІНЧАСТОЇ

3.1 Вивчення фенольних сполук

3.1.1 Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ

ВЕРХ профіль фенольних сполук целозії гребінчастої на прикладі квіток целозії гребінчастої наведено на рис. 3.1.

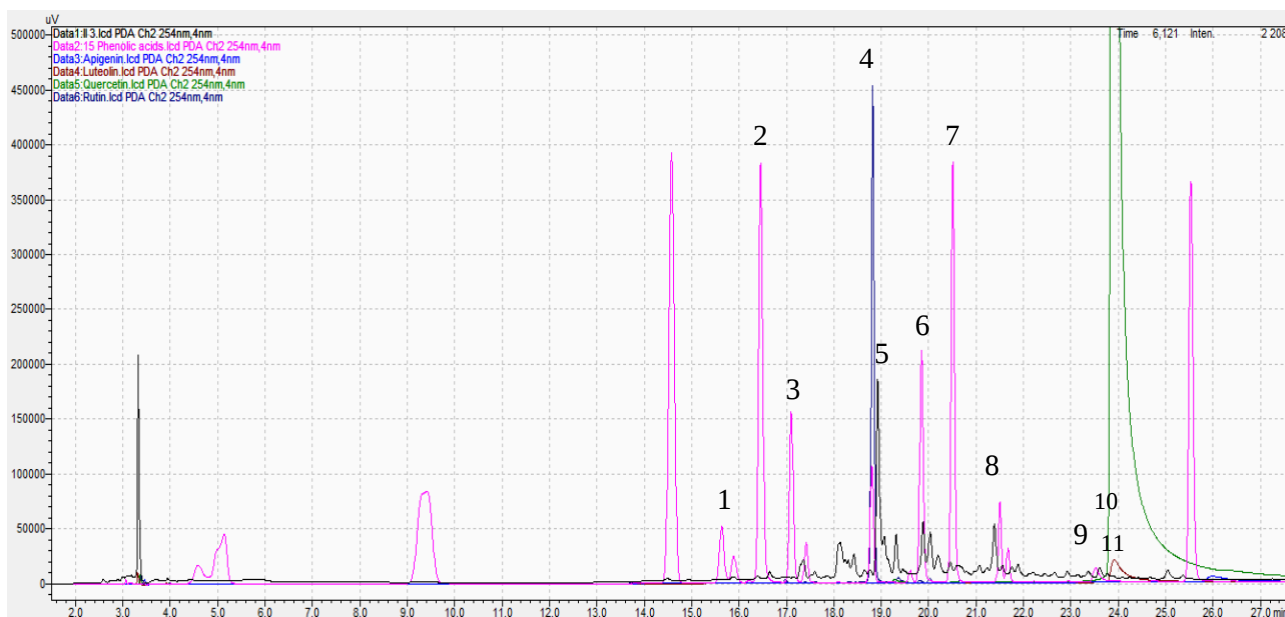


Рис. 3.1 ВЕРХ профіль фенольних сполук квіток целозії гребінчастої: 1 – *n*-гідроксибензойна кислота; 2 – кофейна кислота; 3 – бузкова кислота; 4 – рутин; 5 – *n*-кумарова кислота; 6 – ферулова кислота; 7 – вератрова кислота; 8 – розмаринова кислота; 9 – саліцилова кислота; 10 – лютеолін; 11 – кверцетин

Час утримування фенольних сполук коренів, листя, стебел та квіток целозії гребінчастої наведено у табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Час утримування фенольних сполук

Сполука	Час утримування, хв			
	корені	листя	стебла	квітки
Гідроксибензойні кислоти				
<i>n</i> -Гідроксибензойна кислота	—	—	—	15,58
Бузкова кислота	17,02	17,64	—	17,38
Вератрова кислота	—	—	—	20,47
Саліцилова кислота	—	23,91	—	23,63
Гідроксикоричні кислоти				
Кофейна кислота	17,56	16,51	17,18	16,60
<i>n</i> -Кумарова кислота	18,49	15,97	17,90	19,08
Хлорогенова кислота	—	20,10	20,18	—
Ферулова кислота	20,91	22,03	21,31	20,05
Розмаринова кислота	—	22,41	—	21,58
Флавоноїди				
Рутин	—	19,50	—	18,78
Лютеолін	23,13	20,85	21,93	23,78
Апігенін	34,67	36,72	36,31	—
Кверцетин	24,41	22,78	24,53	23,97
Кемпферол	27,05	26,26	25,40	—

Примітка. «—» – не виявлено.

У ході експерименту у квітках целозії гребінчастої було ідентифіковано 11 сполук фенольної природи, з яких 4 було віднесено до гідроксибензойних

(*n*-гідроксибензойна, бузкова, вератрова та саліцилова кислоти) та 4 – до гідроксикоричних кислот (кофейна, *n*-кумарова, ферулова та розмаринова кислоти), 3 – до флавоноїдів (рутин, лютеолін та кверцетин). У коренях та стеблах досліджуваної рослини було виявлено по 8 фенольних сполук, у листі – 12.

У листі та стеблах целозії гребінчастої ідентифіковано кофейну, *n*-кумарову, ферулову та хлорогенову кислоти. У листі також містилася розмаринова кислота. У коренях цієї рослини містилося 3 гідроксикоричні кислоти (кофейна, *n*-кумарова та ферулова кислоти). При цьому, серед гідроксибензойних кислот у листі та коренях ідентифіковано бузкову кислоту, у листі – саліцилову. У стеблах гідроксикоричних кислот не виявлено. Флавоноїди лютеолін та кемпферол було знайдено в усіх досліджуваних зразках. Рутин містився у листі та квітках целозії гребінчастої, кемпферол – у коренях, листі та стеблах цієї рослини.

Результати ідентифікації та визначення кількісного вмісту фенольних сполук у сировині целозії гребінчастої наведено в табл. 3.2.

Таблиця 3.2

**Вміст фенольних сполук у сировині целозії гребінчастої (m=5,
P < 0,05)**

Сполука	Вміст фенольних сполук, мг/кг			
	корені	листя	стебла	квітки
1	2	3	4	5
Гідроксибензойні кислоти				
<i>n</i> -Гідроксибензойна кислота	—	—	—	12,39 ± 0,31
Бузкова кислота	29,31 ± 0,73	71,12 ± 1,78	—	9,38 ± 0,23
Вератрова кислота	—	—	—	120,99 ± 3,02
Саліцилова кислота	—	7,92 ± 0,20	—	19,75 ± 0,49

Продовж. табл. 3.2

1	2	3	4	5
Загалом гідроксибензойних кислот	$29,31 \pm 0,73$	$79,04 \pm 1,98$	—	$162,51 \pm 4,06$
Гідроксикоричні кислоти				
Кофейна кислота	$28,17 \pm 0,70$	$561,34 \pm 14,03$	$87,48 \pm 2,19$	$45,78 \pm 1,14$
<i>n</i> -Кумарова кислота	$8,57 \pm 0,21$	$24,27 \pm 0,61$	$11,14 \pm 0,28$	$866,70 \pm 21,67$
Хлорогенова кислота	—	$437,13 \pm 10,93$	$174,35 \pm 4,36$	—
Ферулова кислота	$81,20 \pm 2,03$	$145,78 \pm 3,64$	$81,47 \pm 2,04$	$31,80 \pm 0,80$
Розмаринова кислота	—	$92,43 \pm 2,31$	—	$20,37 \pm 0,51$
Загалом гідроксикоричних кислот	$117,94 \pm 2,92$	$1260,95 \pm 27,88$	$354,44 \pm 6,82$	$964,65 \pm 23,32$
Флавоноїди				
Рутин	—	$231,63 \pm 5,79$	—	$343,73 \pm 8,59$
Лютеолін	$32,58 \pm 0,81$	$35,05 \pm 0,88$	$73,11 \pm 1,83$	$252,40 \pm 6,31$
Апігенін	$4,22 \pm 0,11$	$45,85 \pm 1,15$	$26,65 \pm 0,67$	—
Кверцетин	$75,27 \pm 1,88$	$579,76 \pm 14,49$	$271,59 \pm 6,79$	$56,86 \pm 1,42$
Кемпферол	$9,61 \pm 0,24$	$561,04 \pm 14,03$	$17,24 \pm 0,43$	—
Загалом флавоноїдів	$121,68 \pm 3,04$	$1453,33 \pm 36,33$	$388,59 \pm 9,71$	$652,99 \pm 16,32$
Загалом ідентифікованих фенольних сполук	$268,93 \pm 6,72$	$2793,32 \pm 69,83$	$743,03 \pm 18,58$	$1780,15 \pm 44,50$

Примітка. «—» – не виявлено.

У ході експерименту встановлено, що найбільше фенольних сполук містилося у листі целозії гребінчастої – $2793,32 \pm 69,83$ мг/кг. У квітках

(1780,15 ± 44,50 мг/кг) їх накопичувалося майже у 1,6 рази менше, у стеблах (743,03 ± 18,58 мг/кг) – у 3,8 рази менше. На мінімальному рівні фенольні сполуки накопичувалися у коренях целозії гребінчастої – 268,93 ± 6,72 мг/кг.

Кількісно у коренях, листі та стеблах переважали флавоноїди, у квітках – гідроксикоричні кислоти. Максимальна кількість флавоноїдів та гідроксикоричних кислот містилася у листі целозії гребінчастої (1453,33 ± 36,33 та 1115,17 ± 27,88 мг/кг відповідно), гідроксибензойних кислот – у квітках цієї рослини (162,51 ± 4,06 мг/кг).

На вміст гідроксикоричних кислот у коренях (117,94 ± 2,92 мг/кг), листі (1260,95 ± 27,88 мг/кг) та стеблах (354,44 ± 6,82 мг/кг) целозії гребінчастої припадало від 44 до 48 %. У квітках (964,65 ± 23,32 мг/кг) гідроксикоричні кислоти за вмістом становили майже 54 % від суми усіх ідентифікованих у цій сировині фенольних сполук. Вміст флавоноїдів у коренях (121,68 ± 3,04 мг/кг), листі (1453,33 ± 36,33 мг/кг) та стеблах (388,59 ± 9,71 мг/кг) целозії гребінчастої був майже на одному рівні із вмістом гідроксикоричних кислот у цих об'єктах. У квітках флавоноїдів (652,99 ± 16,32 мг/кг) містилося майже у 1,5 рази менше, що становило лише 37 % від вмісту фенольних сполук.

Домінуючою сполукою у квітках целозії гребінчастої була *n*-кумарова кислота. Її вміст становив 866,70 ± 21,67 мг/кг, що складало майже половину від вмісту усіх ідентифікованих сполук. Серед флавоноїдів у цій сировині переважав рутин (343,73 мг/кг), а серед гідроксибензойних кислот – вератрова кислота (120,99 ± 3,02 мг/кг). Превалюючими сполуками листя целозії гребінчастої були кофейна кислота (561,34 ± 14,03 мг/кг), кверцетин (579,76 ± 14,49 мг/кг) і кемпферол (561,04 ± 14,03 мг/кг), вміст яких був майже на одному рівні. У стеблах целозії гребінчастої домінував кверцетин – 271,59 ± 6,79 мг/кг, що складало майже 70 % від вмісту флавоноїдів у цій сировині. У коренях переважала ферулова кислота (81,20 ± 2,03 мг/кг).

Лютеоліну (252,40 ± 6,31 мг/кг) у квітках целозії гребінчастої містилося майже в 1,4 рази менше, ніж рутину. Вміст *n*-гідроксибензойної, кофейної,

бузкової, ферулової, розмаринової, саліцилової кислот та кверцетину не перевищував у квітках целозії гребінчастої 60 мг/кг.

У листі целозії гребінчастої рутину ($231,63 \pm 5,79$ мг/кг) накопичувалося майже у 2,5 рази менше, ніж кверцетину. Вміст хлорогенової кислоти ($437,13 \pm 10,93$ мг/кг) становив приблизно третину від загального вмісту гідроксикоричних кислот у цій сировині. Ферулової кислоти ($145,78 \pm 3,64$ мг/кг) у листі накопичувалося майже втричі менше, ніж хлорогенової кислоти.

У стеблах досліджуваної рослини хлорогенової кислоти ($174,35 \pm 4,36$ мг/кг) накопичувалося майже у 2,5 рази менше, ніж у листі. Вміст кофейної, ферулової, *n*-кумарової, лютеоліну, апігеніну та кемпферолу не перевищував 100 мг/кг.

Серед флавоноїдів у коренях целозії гребінчастої у значній кількості містився кверцетин ($75,27 \pm 1,88$ мг). Лютеоліну ($32,58 \pm 0,81$) у цьому зразку містилося майже вдвічі менше. Вміст *n*-кумарової, кемпферолу та апігеніну не перевищував 10 мг/кг. Кофейної кислоти ($28,17 \pm 0,70$ мг/кг) у коренях целозії гребінчастої було майже у 2,3 рази менше, ніж ферулової. Серед гідроксибензойних кислот у цій сировині виявлено лише бузкову кислоту ($29,31 \pm 0,73$ мг/кг) [3].

3.1.2 Ідентифікація флавоноїдів методами ПХ та ТШХ

Флавоноїди у коренях, листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої виявляли у порівнянні з ФСЗ ДФУ флавоноїдів. Для ТШХ аналізу використовували рухомі фази № 1-3, ПХ аналізу – № 4. Флавоноїди на хроматограмах проявлялись у вигляді зон із яскравою флуоресценцією жовтого, оранжевого, жовто-зеленого або жовто-коричневого кольору в УФ-світлі. При обробці хроматограм проявниками А, Б та В флуоресценція ставала інтенсивнішою. При обробці реактивом Г зони, які відповідали флавоноїдам, у денному світлі набували темно-зеленого забарвлення, при обробці реактивом Д – жовтого забарвлення.

Результати виявлення флавоноїдів у коренях, листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої наведено на рис. 3.2.

Верхня частина хроматограми				
кемпферол: жовта зона	жовта зона	жовта зона	жовта зона	жовта зона
кверцетин: оранжева зона	оранжева зона	оранжева зона	оранжева зона	оранжева зона
гіперозид: оранжева зона	оранжева зона	оранжева зона	оранжева зона	оранжева зона
лютеолін: жовта зона		жовта зона	жовта зона	жовта зона
рутин: жовто-коричнева зона		жовто-коричнева зона	жовто-коричнева зона	жовто-коричнева зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин (корені)	Випробовуваний розчин (листя)	Випробовуваний розчин (стебла)	Випробовуваний розчин (квітки)

Рис. 3.2 ТШХ хроматограма флавоноїдів у сировині целозії гребінчастої (рухома фаза: етилацетат – оцтова кислота льодяна – мурашина кислота – вода (100 : 11 : 11 : 27); проявник: 1 % розчин дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру в метанолі та 5 % розчин макроголу 400 в метанолі)

В результаті аналізу в усіх зразках сировини целозії гребінчастої ідентифіковано флавоноїди кемпферол, кверцетин та гіперозид. Крім того, у листі, стеблах та квітках виявлено лютеолін та рутин [6, 8].

3.1.3 Визначення кількісного вмісту флавоноїдів методом абсорбційної спектрофотометрії

Кількісний вміст флавоноїдів у сировині целозії гребінчастої визначали у перерахунку на рутин та абсолютно суху сировину.

Динаміку накопичення флавоноїдів у сировині целозії гребінчастої наведено на рис. 3.3.

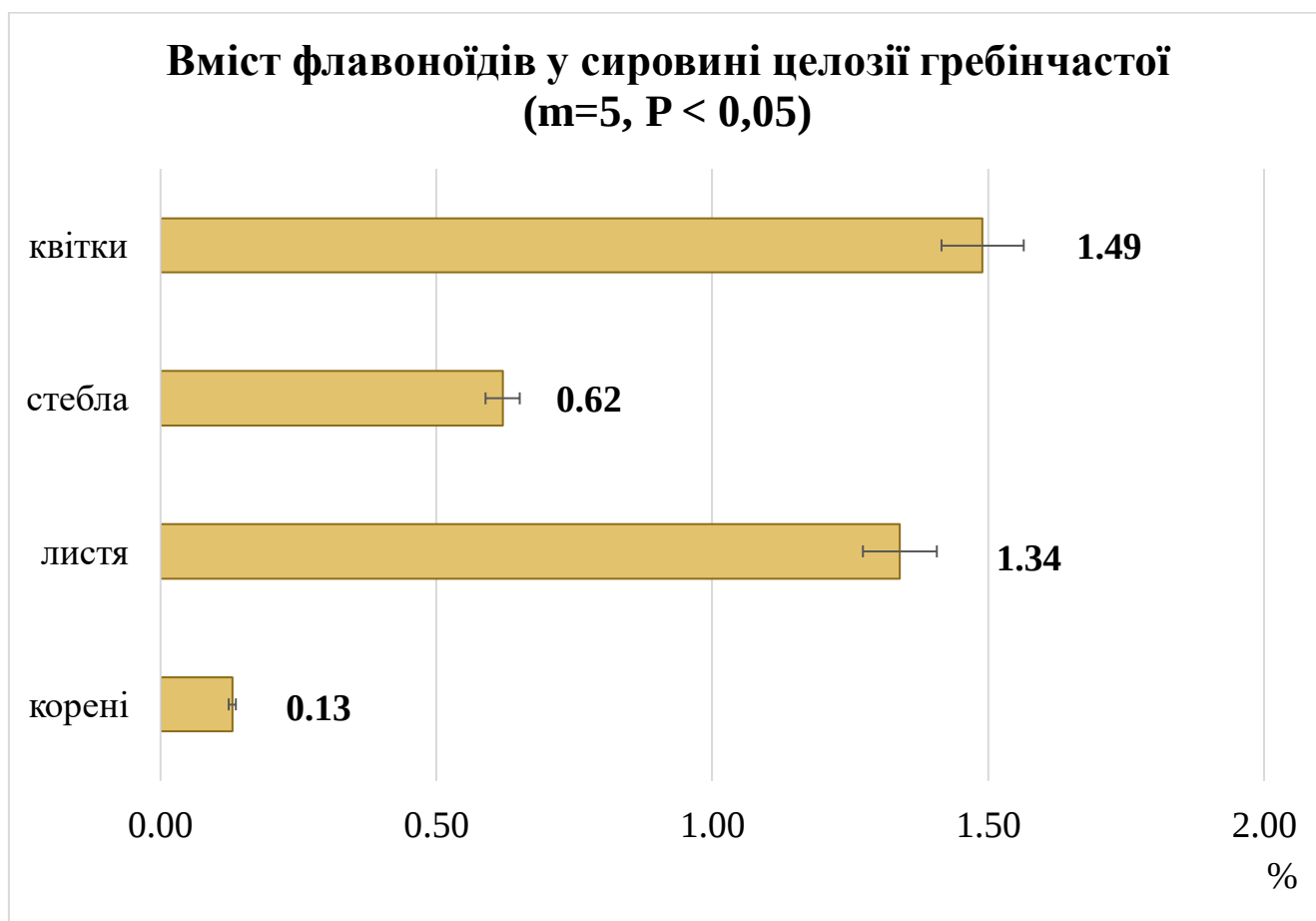


Рис. 3.3 Динаміка накопичення флавоноїдів у сировині целозії гребінчастої

Результати аналізу показали, що найбільший вміст цих сполук спостерігали у квітках – $1,49 \pm 0,04$ %. У листі целозії гребінчастої цих БАР містилося дещо менше – $1,34 \pm 0,03$ %. Їх вміст у коренях та стеблах досліджуваної рослини був у межах 0,13-0,62 % [6].

3.1.4 Ідентифікація гідроксикоричних кислот методами ПХ та ТШХ

Ідентифікацію гідроксикоричних кислот проводили у порівнянні з ФСЗДФУ гідроксикоричних кислот. Хроматографування проводили у рухомих фазах № 1-3 (при визначенні методом ТШХ) та № 4 (при визначенні методом ПХ). Гідроксикоричні кислоти на хроматограмах виявляли за синьою, фіолетовою та блакитною флуоресценцією в УФ-світлі. При обробці хроматограм проявниками А, Б та В флуоресценція ставала інтенсивнішою. При обробці реактивом Г зони у денному світлі набували темно-зеленого забарвлення.

Результати виявлення гідроксикоричних кислот у коренях, листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої наведено на рис. 3.4.

Верхня частина хроматограми				
ферулова кислота: фіолетова зона	фіолетова зона	фіолетова зона	фіолетова зона	фіолетова зона
кофейна кислота: синя зона	синя зона	синя зона	синя зона	синя зона
корична кислота: синя зона	синя зона	синя зона	синя зона	синя зона
неохлорогенова кислота: блакитна зона		блакитна зона		
хлорогенова кислота: блакитна зона	блакитна зона	блакитна зона	блакитна зона	блакитна зона
<i>n</i> -кумарова кислота: синя зона		синя зона	синя зона	синя зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин (корені)	Випробовуваний розчин (листя)	Випробовуваний розчин (стебла)	Випробовуваний розчин (квітки)

Рис. 3.4 ТШХ хроматограма гідроксикоричних кислот у сировині целозії гребінчастої (рухома фаза: мурашина кислота безводна – вода – метилкетон – етилацетат (10 : 10 : 30 : 50); проявник: 1 % розчин дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру в метанолі та 5 % розчин макроголу 400 в метанолі)

В усіх досліджуваних видах сировини було ідентифіковано ферулову, кофейну, коричну та хлорогенову кислоти. Крім того, у листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої виявлено *n*-кумарову кислоту, у листі – неохлорогенову кислоту [8].

3.1.5 Визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот методом абсорбційної спектрофотометрії

Кількісний вміст гідроксикоричних кислот визначали у перерахунку на хлорогенову кислоту та абсолютно суху сировину.

Динаміку накопичення гідроксикоричних кислот у сировині целозії гребінчастої представлено на рис. 3.5.

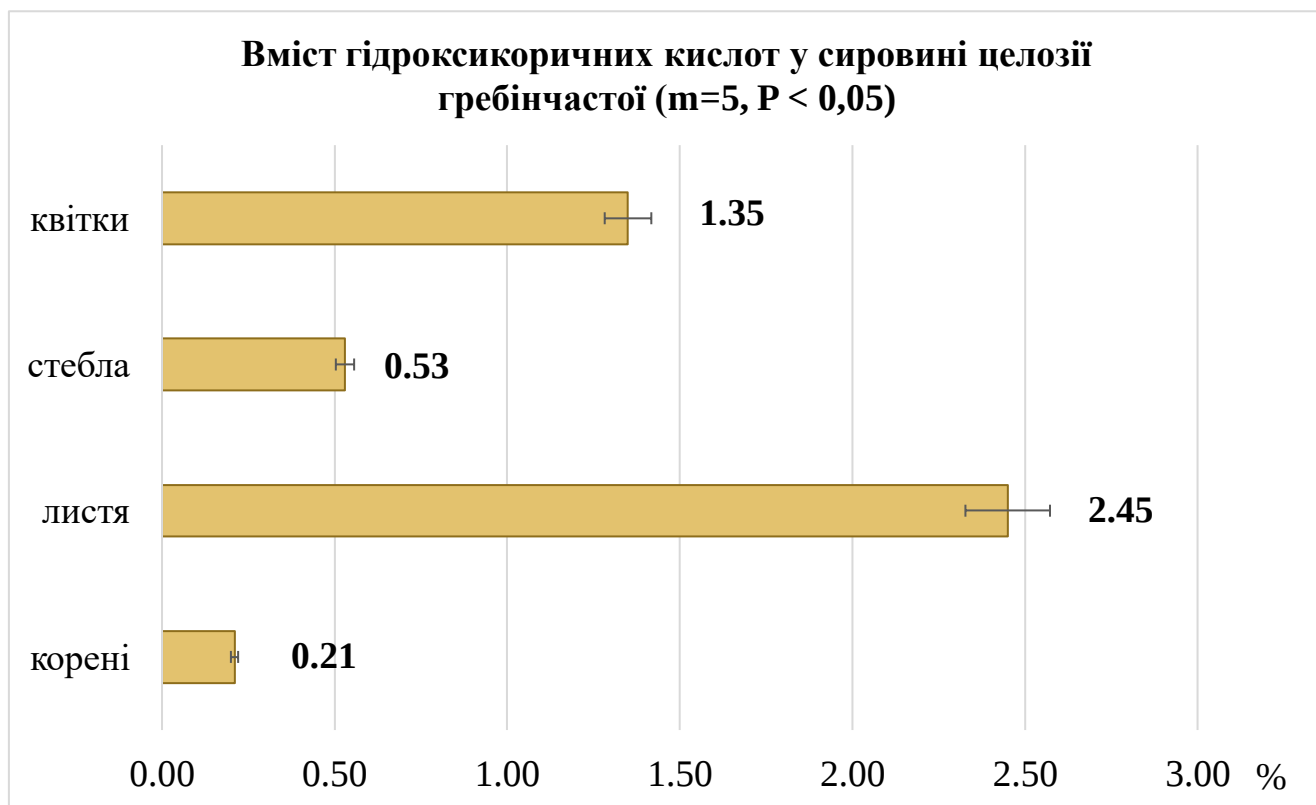


Рис. 3.5 Динаміка накопичення гідроксикоричних кислот у сировині целозії гребінчастої

Отримані результати експерименту показали, що максимальна кількість гідроксикоричних кислот накопичувалась у листі целозії гребінчастої і

становила $2,45 \pm 0,06$ %. Відмічено, що вміст гідроксикоричних кислот у квітках був у 1,8 рази нижчим ($1,35 \pm 0,03\%$), у стеблах ($0,53 \pm 0,01$ %) – у 4,6 рази нижче, ніж у листі досліджуваної рослини. У коренях целозії гребінчастої їх накопичувалося найменше ($0,21 \pm 0,01$ %) [10].

3.1.6 Визначення кількісного вмісту поліфенолів методом абсорбційної спектрофотометрії

Оскільки, крім гідроксикоричних кислот та флавоноїдів, за даними літератури у сировині целозії гребінчастої містяться й інші сполуки фенольної природи, у тому числі таніни, антоціани та бетаціаніни [34, 53, 110, 136, 143, 147], актуально було встановити загальний вміст поліфенольних сполук у досліджуваних зразках сировини.

Визначення кількісного вмісту поліфенолів проводили у перерахунку на пірогалол та абсолютно суху сировину. Динаміку накопичення поліфенольних сполук у сировині целозії гребінчастої наведено на рис. 3.6.

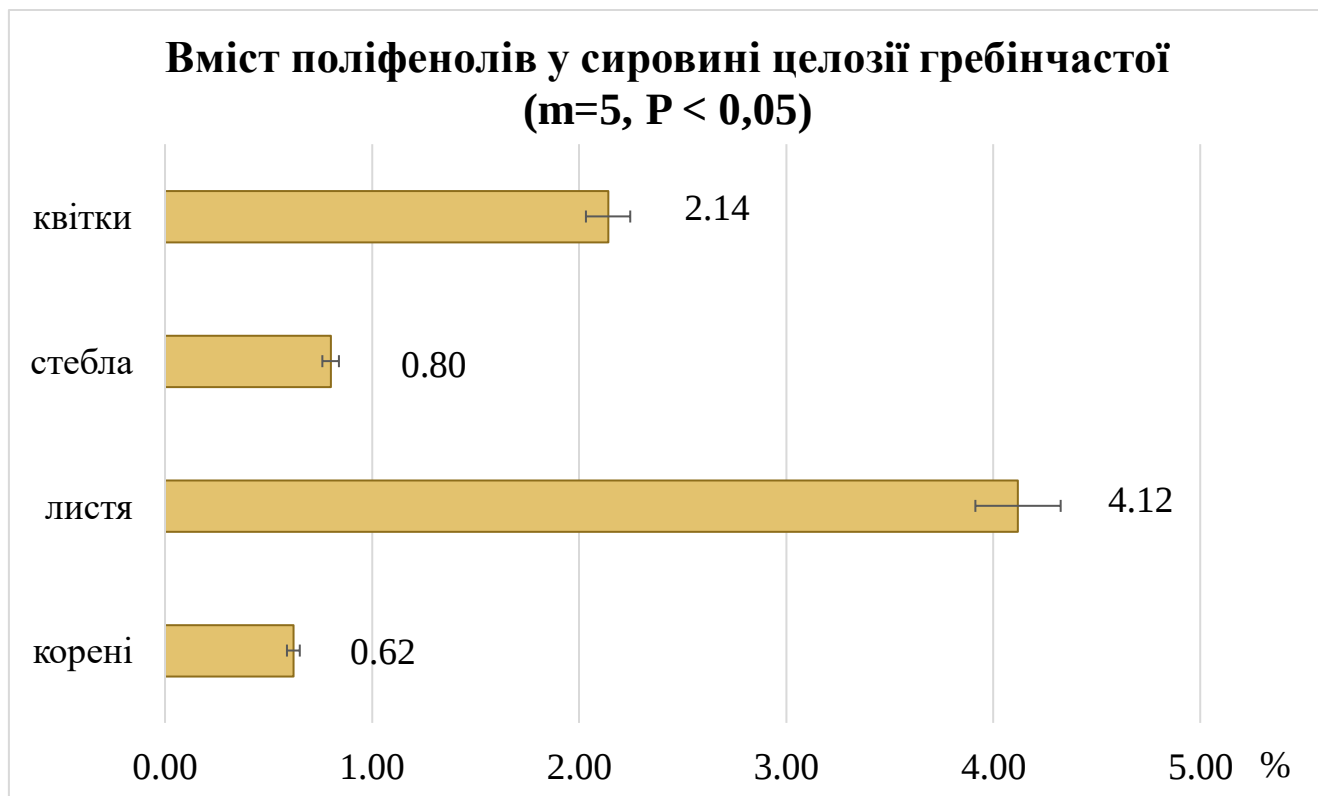


Рис. 3.6 Динаміка накопичення поліфенольних сполук у сировині целозії гребінчастої

За результатами експерименту максимальний вміст суми поліфенольних сполук був відмічений у листі целозії гребінчастої і становив $4,12 \pm 0,10$ %. Вміст поліфенолів у квітках ($2,14 \pm 0,05$ %) цієї рослини був у вдвічі нижчим, ніж у листі. У коренях та стеблах накопичувалася майже однакова кількість поліфенольних сполук, яка дорівнювала $0,62 \pm 0,02$ % та $0,80 \pm 0,02$ % [13, 126].

3.2 Дослідження карбонових кислот

3.2.1 Виявлення органічних кислот методами ПХ та ТШХ

Ідентифікацію органічних кислот у сировині целозії гребінчастої здійснювали за допомогою методу ПХ у рухомих фазах № 4 і 5 та методом ТШХ у рухомих фазах № 1 і 2 у порівнянні зі стандартними зразками органічних кислот. На хроматограмах їх виявляли за жовтим забарвленням зон на синьому фоні після обробки реагентом Е.

Результати ТШХ аналізу органічних кислот сировини целозії гребінчастої наведено на рис. 3.7.

Верхня частина хроматограми				
бензойна кислота: жовта зона	жовта зона	жовта зона	жовта зона	жовта зона
саліцилова кислота: жовта зона		жовта зона	жовта зона	
щавлева кислота: жовта зона				жовта зона
яблучна кислота: жовта зона	жовта зона	жовта зона	жовта зона	жовта зона
винна кислота: жовта зона	жовта зона	жовта зона	жовта зона	жовта зона
лимонна кислота: жовта зона	жовта зона	жовта зона	жовта зона	жовта зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин (корені)	Випробовуваний розчин (листя)	Випробовуваний розчин (стебла)	Випробовуваний розчин (квітки)

Рис. 3.7 ТШХ хроматограма органічних кислот у сировині целозії гребінчастої (рухома фаза: етилацетат – оцтова кислота льодяна – мурашина кислота – вода (100 : 11 : 11 : 27); проявник: 0,05% розчин бромфенолового синього)

За результатами якісного аналізу у коренях, листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої було ідентифіковано яблучну, винну, лимонну та бензойну кислоти. Крім того, на хроматограмах витяжок із стебел та листя цієї рослини

проявлялась зона, яка за кольором та розташуванням відповідала зоні стандартного зразку саліцилової кислоти на хроматограмі розчину порівняння. У квітках досліджуваної рослини також ідентифіковано щавлеву кислоту.

3.2.2 Визначення кількісного вмісту органічних кислот

Визначення кількісного вмісту органічних кислот проводили у перерахунку на яблучну кислоту та абсолютно суху сировину. Динаміка накопичення органічних кислот у сировині целозії гребінчастої представлено на рис. 3.8.

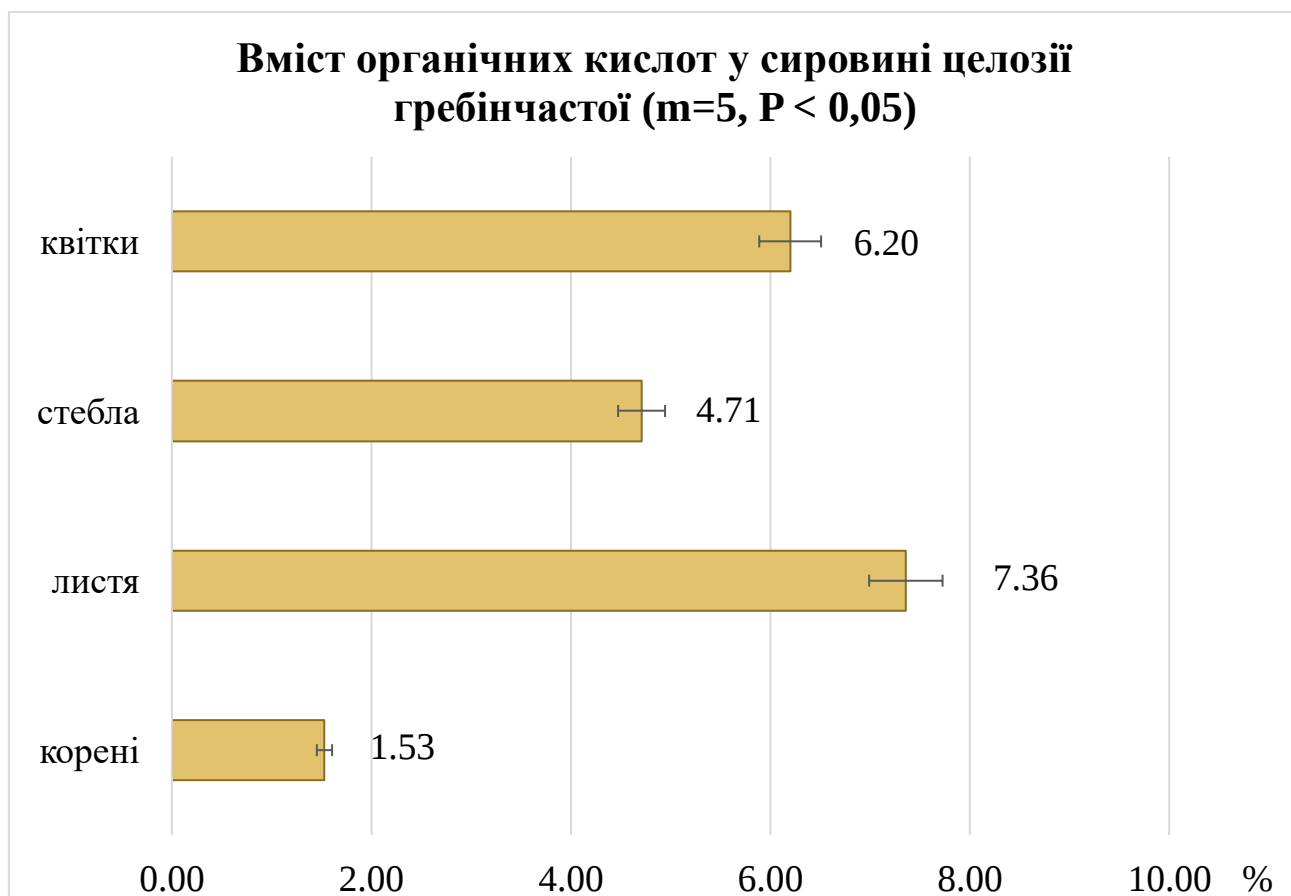


Рис. 3.8 Динаміка накопичення органічних кислот у сировині целозії гребінчастої

За результатами кількісного аналізу максимальний вміст органічних кислот спостерігали у листі целозії гребінчастої ($7,36 \pm 0,34$ %). У квітках цієї рослини органічних кислот містилося дещо менше – $6,20 \pm 0,29$ %. Вміст досліджуваної групи БАР у стеблах ($4,71 \pm 0,21$ %) целозії гребінчастої був у 1,6 рази нижчим, ніж у листі цієї рослини. У коренях органічних кислот акумулювалось найменше – $1,53 \pm 0,05$ % [14].

3.2.3 Вивчення жирнокислотного складу методом ГХ

За результатами експерименту в усіх зразках досліджуваної сировини було ідентифіковано по 12 жирних кислот. Хроматографічний профіль жирних кислот сировини целозії гребінчастої наведено на рис. 3.9-3.12 відповідно.

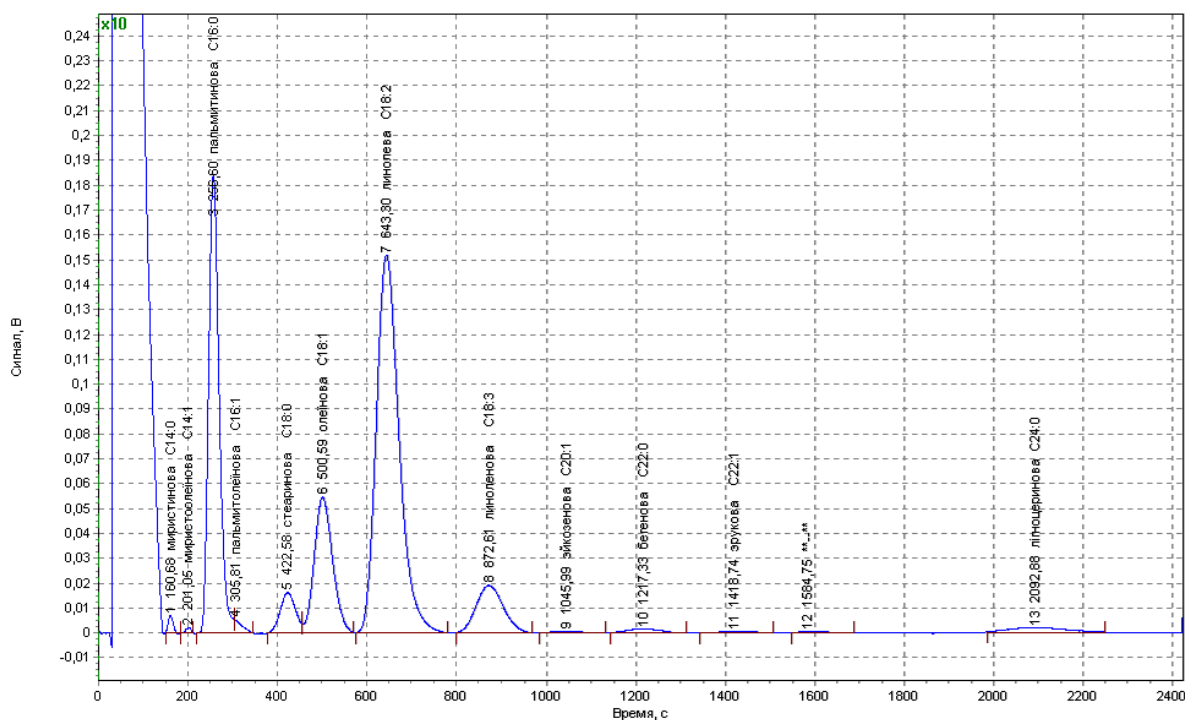


Рис. 3.9 Хроматографічний профіль метилових ефірів жирних кислот коренів целозії гребінчастої

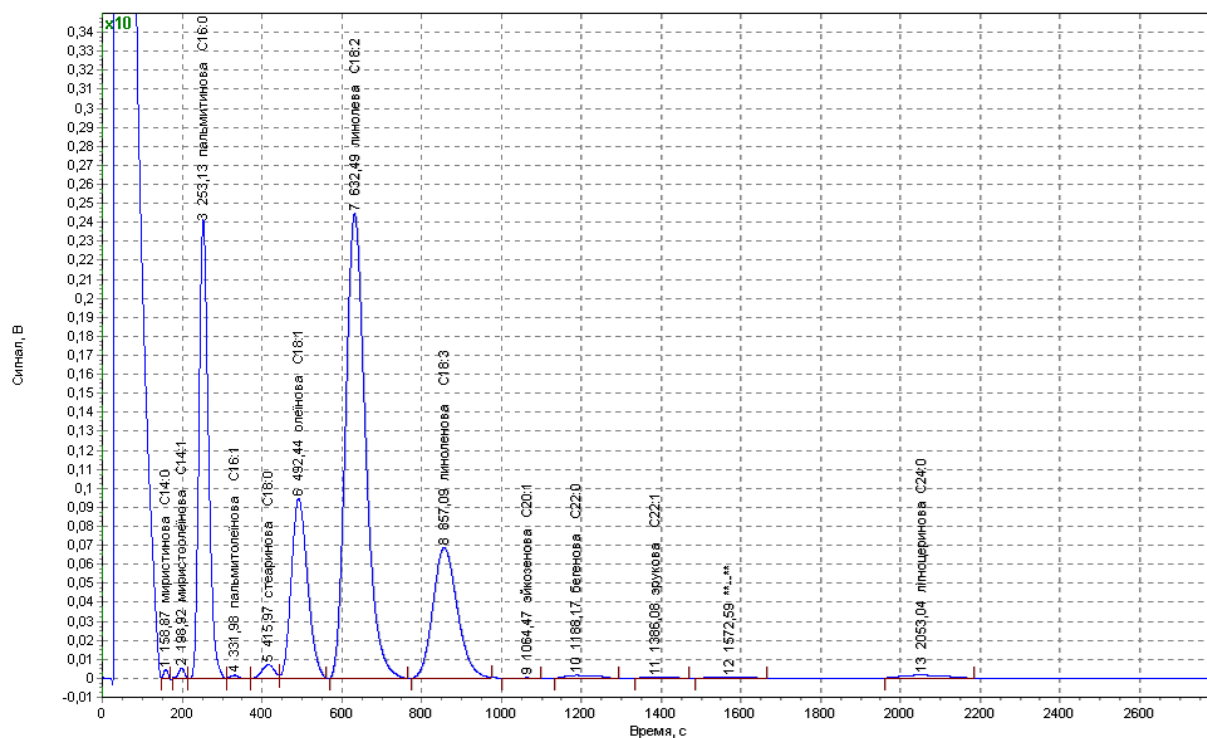


Рис. 3.10 Хроматографічний профіль метилових ефірів жирних кислот стебел целозії гребінчастої

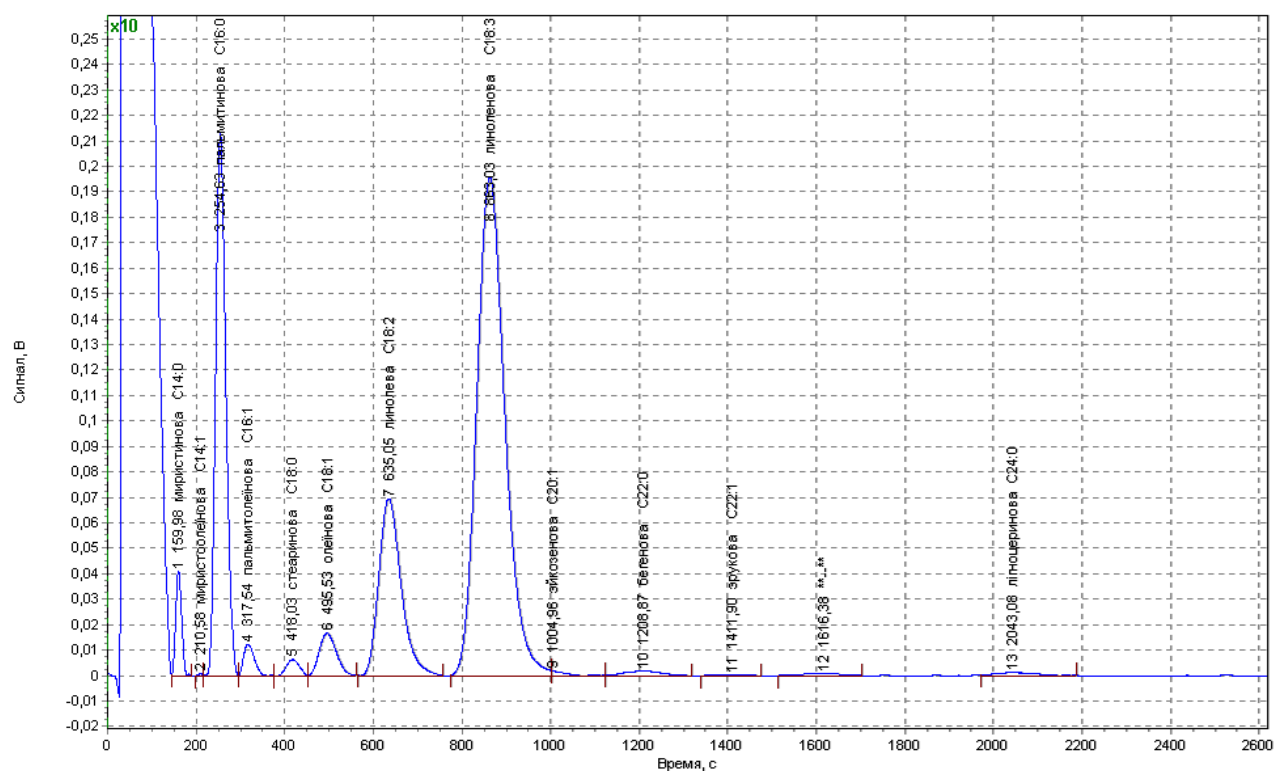


Рис. 3.11 Хроматографічний профіль метилових ефірів жирних кислот листя целозії гребінчастої

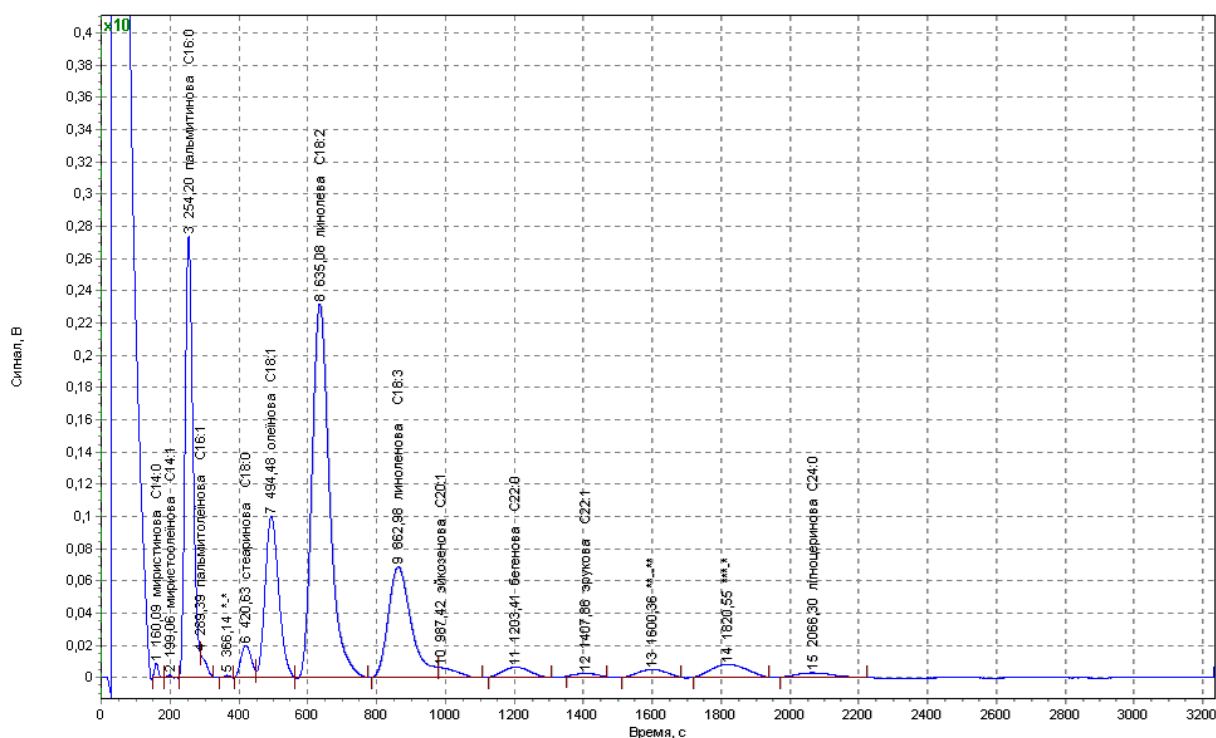


Рис. 3.12 Хроматографічний профіль метилових ефірів жирних кислот квіток целозії гребінчастої

Результати дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту жирних кислот у сировині целозії гребінчастої наведено в табл. 3.3.

Таблиця 3.3

Вміст жирних кислот у сировині целозії гребінчастої (m=5, P < 0,05)

Назва кислоти	Вміст у перерахунку на абсолютно суху сировину, %			
	корені	стебла	листя	квітки
1	2	3	4	5
Насичені жирні кислоти				
Міристинова	0,58 ± 0,01	0,20 ± 0,01	2,48 ± 0,16	0,33 ± 0,01
Пальмітинова	25,68 ± 0,64	21,27 ± 0,53	21,80 ± 0,57	21,15 ± 0,53
Стеаринова	3,63 ± 0,09	0,87 ± 0,02	0,85 ± 0,01	2,15 ± 0,05
Бегенова	0,64 ± 0,02	0,57 ± 0,01	0,68 ± 0,02	1,78 ± 0,04

1	2	3	4	5
Лігноцеринова	$1,04 \pm 0,03$	$0,78 \pm 0,02$	$0,50 \pm 0,01$	$1,08 \pm 0,03$
Загалом насичених кислот	$31,57 \pm 0,79$	$23,69 \pm 0,59$	$26,31 \pm 0,77$	$26,49 \pm 0,66$
Ненасичені жирні кислоти				
Міристоолеїнова	$0,21 \pm 0,01$	$0,28 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,01$	$0,08 \pm 0,01$
Пальмітолеїнова	$0,86 \pm 0,02$	$0,12 \pm 0,01$	$1,35 \pm 0,07$	$0,87 \pm 0,02$
Олеїнова	$13,65 \pm 0,34$	$14,50 \pm 0,36$	$2,89 \pm 0,06$	$13,30 \pm 0,33$
Лінолева	$45,38 \pm 1,13$	$45,02 \pm 1,14$	$15,05 \pm 1,13$	$38,02 \pm 0,98$
Ліноленова	$7,43 \pm 0,21$	$15,78 \pm 0,39$	$53,63 \pm 0,53$	$14,70 \pm 0,37$
Гондоїнова	$0,31 \pm 0,01$	$0,13 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,01$	$1,18 \pm 0,03$
Ерукова	$0,34 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,01$	$0,70 \pm 0,02$
Загалом ненасичених кислот	$68,18 \pm 1,70$	$75,93 \pm 1,90$	$73,34 \pm 1,72$	$68,85 \pm 1,72$
Загалом неідентифікованих кислот	$0,25 \pm 0,01$	$0,38 \pm 0,01$	$0,35 \pm 0,01$	$4,66 \pm 0,12$

За результатами аналізу встановлено, що в усіх досліджуваних зразках сировини целозії гребінчастої кількісно переважали ненасичені жирні кислоти. На вміст насичених жирних кислот у стеблах целозії гребінчастої припадало близько четвертої частини, у коренях, листі та квітках – близько третини від суми усіх ідентифікованих жирних кислот.

Максимальний вміст насичених жирних кислот було відмічено у коренях целозії гребінчастої $31,57 \pm 0,79$ %.

Серед насичених жирних кислот в усіх досліджуваних зразках домінувала пальмітинова кислота. Вміст цієї сполуки у досліджуваних видах сировини

коливався від 21,15 до 25,68 %. Найбільше цієї сполуки накопичувалося у коренях целозії гребінчастої.

Стеаринової кислоти найбільше містилося у коренях целозії гребінчастої – $3,63 \pm 0,09$ %. У квітках цієї рослини вміст стеаринової кислоти був майже в 1,7 рази нижчий і становив $2,15 \pm 0,05$ % відповідно. У ході експерименту відмічено, що у коренях та квітках целозії гребінчастої накопичувалося близько 1 % лігноцеринової кислоти. Найвищий вміст міристинової кислоти було зафіксовано у листі целозії гребінчастої – $2,48 \pm 0,16$ %.

Майже однаково високий вміст ненасичених жирних кислот був у стеблах та листі целозії гребінчастої – $75,93 \pm 1,90$ та $73,34 \pm 1,72$ % відповідно. У коренях та квітках цієї рослини вміст ненасичених жирних кислот був дещо нижчий і становив $68,18 \pm 1,70$ та $68,85 \pm 1,72$ %.

У коренях, стеблах та квітках превалюючою ненасиченою жирною кислотою була ліолева кислота, у листі – ліноленова кислота. Вміст ліолевої кислоти у коренях, стеблах та квітках целозії гребінчастої був майже на одному рівні. Максимальна кількість ліолевої кислоти накопичувалася у коренях досліджуваної рослини – $45,38 \pm 1,13$ %. У листі цієї сполуки містилося майже втричі менше – $15,05 \pm 1,13$ %.

Максимальний вміст ліноленової кислоти був у листі целозії гребінчастої – $53,63 \pm 0,53$ %. Вміст цієї сполуки у стеблах та квітках майже не відрізнявся і був майже в 3,5 рази нижчий, ніж у листі. Вміст ліноленової кислоти у стеблах становив $15,78 \pm 0,39$ %, у квітках – $14,70 \pm 0,37$ %. На мінімальному рівні ліноленова кислота накопичувалася у коренях ($7,43 \pm 0,21$ %) целозії гребінчастої.

У значній кількості у листі містилася олеїнова кислота – $14,50 \pm 0,36$ %. Кількісний вміст олеїнової кислоти у коренях та квітках целозії гребінчастої відрізнявся незначно і коливався від $13,30 \pm 0,33$ до $13,65 \pm 0,36$ %. У листі цієї рослини олеїнової кислоти накопичувалося $2,89 \pm 0,06$ %. Відмічено, що найвищий вміст гондоїнової та бегенової кислот був у квітках целозії гребінчастої – $1,18 \pm 0,03$ % та $1,78 \pm 0,04$ % відповідно.

Вміст міристолеїнової, бегенової та ерукової кислот у досліджуваних зразках сировини целозії гребінчастої не перевищував 0,87 % [131].

3.2.4 Вивчення амінокислотного складу методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії

У результаті аналізу у коренях, листі, стебла та квітках целозії гребінчастої було ідентифіковано та визначено вміст 18 амінокислот. Серед ідентифікованих 9 амінокислот було віднесено до незамінних. Якісний склад та кількісний вміст амінокислот у сировині целозії гребінчастої наведено у табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Якісний склад та кількісний вміст амінокислот у сировині целозії гребінчастої ($m = 5$, $P < 0,05$)

Амінокислота	Вміст у сировині целозії гребінчастої, мг/кг			
	корені	листя	стебла	квітки
1	2	3	4	5
Замінні амінокислоти				
ГАМК	$0,41 \pm 0,01$	$1,20 \pm 0,03$	$0,67 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,01$
Аспарагінова кислота	$2,64 \pm 0,07$	$9,66 \pm 0,24$	$3,46 \pm 0,25$	$8,05 \pm 0,20$
Серин	$0,77 \pm 0,02$	$5,06 \pm 0,13$	$1,73 \pm 0,14$	$3,84 \pm 0,10$
Глутамінова кислота	$3,19 \pm 0,08$	$13,23 \pm 0,33$	$4,52 \pm 0,52$	$10,39 \pm 0,26$
Пролін	$3,40 \pm 0,09$	$4,93 \pm 0,12$	$2,03 \pm 0,13$	$2,77 \pm 0,07$
Гліцин	$1,18 \pm 0,03$	$6,17 \pm 0,15$	$1,92 \pm 0,20$	$4,62 \pm 0,12$
Аланін	$1,52 \pm 0,04$	$6,63 \pm 0,17$	$1,98 \pm 0,13$	$4,03 \pm 0,10$
Цистеїн	$0,16 \pm 0,01$	$1,55 \pm 0,04$	$0,08 \pm 0,04$	$0,65 \pm 0,02$
Тирозин	$0,56 \pm 0,02$	$2,88 \pm 0,07$	$0,75 \pm 0,09$	$2,28 \pm 0,06$

Продовж. табл. 3.4

1	2	3	4	5
Сума замінних амінокислот	$13,83 \pm 0,35$	$51,31 \pm 1,28$	$17,14 \pm 0,43$	$36,80 \pm 0,92$
Незамінні амінокислоти				
Лізин	$1,47 \pm 0,04$	$5,70 \pm 0,14$	$1,95 \pm 0,13$	$4,10 \pm 0,10$
Гістидин	$0,29 \pm 0,01$	$1,90 \pm 0,05$	$0,91 \pm 0,04$	$1,71 \pm 0,04$
Аргінін	$1,37 \pm 0,03$	$3,42 \pm 0,09$	$0,57 \pm 0,06$	$3,91 \pm 0,10$
Треонін	$0,33 \pm 0,01$	$4,41 \pm 0,11$	$2,74 \pm 0,24$	$2,88 \pm 0,07$
Валін	$0,90 \pm 0,02$	$3,26 \pm 0,08$	$0,83 \pm 0,07$	$2,03 \pm 0,05$
Метіонін	$0,12 \pm 0,01$	$1,43 \pm 0,04$	$0,12 \pm 0,01$	$0,99 \pm 0,02$
Ізолейцин	$0,85 \pm 0,02$	$2,57 \pm 0,06$	$0,57 \pm 0,04$	$1,73 \pm 0,04$
Лейцин	$1,88 \pm 0,05$	$7,33 \pm 0,18$	$1,88 \pm 0,14$	$4,12 \pm 0,10$
Фенілаланін	$1,00 \pm 0,03$	$4,28 \pm 0,11$	$1,14 \pm 0,09$	$2,68 \pm 0,07$
Сума незамінних амінокислот	$8,21 \pm 0,21$	$34,30 \pm 0,86$	$10,71 \pm 0,95$	$24,15 \pm 0,60$
Сума ідентифікованих амінокислот	$22,04 \pm 0,55$	$85,61 \pm 2,14$	$27,85 \pm 2,44$	$60,95 \pm 1,52$

Результати експерименту показали, що у листі целозії гребінчастої накопичувалася максимальна кількість амінокислот – $85,61 \pm 2,14$ мг/кг. У квітках ($60,95 \pm 1,52$ мг/кг) цієї рослини амінокислот накопичувалося майже у 1,5 рази менше. Вміст цих речовин у коренях ($22,04 \pm 0,55$ мг/г) та стеблах ($27,85 \pm 2,44$ мг/кг) целозії гребінчастої був майже на одному рівні. При цьому, на вміст незамінних амінокислот в усіх досліджуваних зразках сировини припадало близько 40 %.

Найбільше замінних амінокислот містилося у листі целозії гребінчастої - $51,31 \pm 1,28$ мг/кг. У квітках ($36,80 \pm 0,92$ мг/кг) досліджуваної рослини

замінних амінокислот накопичувалося у 1,4 рази менше. Вміст цих сполук у коренях та стеблах був майже однаковим і становив $13,83 \pm 0,35$ мг/кг та $17,14 \pm 0,43$ мг/кг відповідно, що було майже втричі менше, ніж у листі цієї рослини.

Максимальний вміст суми незамінних амінокислот відмічено у листі целозії гребінчастої – $34,30 \pm 0,86$ мг/кг. У квітках ($24,15 \pm 0,60$ мг/кг) цієї рослини їх вміст був майже у 1,4 рази нижчий. Вміст незамінних амінокислот у коренях та стеблах целозії гребінчастої відрізнявся незначно і становив $8,21 \pm 0,21$ та $11,13 \pm 0,95$ мг/кг відповідно.

Домінуючими амінокислотами у листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої були аспарагінова та глютамінова кислоти. У коренях досліджуваної рослини превалював пролін. Вміст аспарагінової кислоти у досліджуваних об'єктах знаходився в межах від $2,64 \pm 0,07$ мг/кг у коренях до $9,66 \pm 0,24$ у листі целозії гребінчастої. Максимальний вміст глютамінової кислоти зафіксовано у листі цієї рослини – $13,23 \pm 0,33$ мг/кг. Найбільше проліну містилося у листі ($4,93 \pm 0,12$ мг/г) та коренях ($3,40 \pm 0,09$ мг/г) досліджуваної рослини.

Крім того, у листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої у значній кількості містилися гліцин та аланін. Вміст гліцину у цих об'єктах коливався від $1,18 \pm 0,03$ до $6,17 \pm 0,15$ мг/г. Найвищий вміст аланіну зафіксовано у листі целозії гребінчастої – $6,63$ мг/г. Вміст гліцину ($4,62 \pm 0,12$ мг/кг) та аланіну ($4,03 \pm 0,10$ мг/кг) у квітках целозії гребінчастої був майже на одному рівні. У стеблах цих сполук містилося майже вдвічі менше $1,92$ - $1,98$ мг/кг.

Серед незамінних амінокислот у коренях, листі та квітках целозії гребінчастої превалював лейцин, у стеблах – треонін. Вміст лейцину у цих об'єктах був у межах $1,88$ - $7,33$ мг/г. Найбільше треоніну ($4,41 \pm 0,11$ мг/кг) накопичувалося у листі. Вміст цієї сполуки у стеблах був у 1,6 рази нижчий ($2,74 \pm 0,24$ мг/кг). У листі та квітках відмічено високий вміст лізину – від $5,70 \pm 0,14$ та $4,10 \pm 0,10$ мг/г відповідно. У листі виявлено $3,26 \pm 0,08$ мг/г валіну та $4,28 \pm 0,11$ мг/кг фенілаланіну [5].

3.2.5 Виявлення вільних амінокислот методами ПХ та ТШХ

Якісний склад амінокислот вивчали методом ПХ у рухомій фазі № 4 та методом ТШХ у рухомій фазі № 6. Амінокислоти ідентифікували у денному світлі за синьо-фіолетовим або червоно-фіолетовим забарвленням зон після обробки реактивом Ж та розташуванням на одному рівні із відповідними зонами стандартних зразків амінокислот на хроматограмі розчину порівняння. Результати ТШХ аналізу амінокислот сировини целозії гребінчастої наведено на рис. 3.13.

Верхня частина хроматограми				
фенілаланін: фіолетова зона		фіолетова зона		фіолетова зона
лейцин: фіолетова зона	фіолетова зона	фіолетова зона	фіолетова зона	фіолетова зона
пролін: жовто-коричнева зона				
треонін: фіолетова зона		фіолетова зона	фіолетова зона	
серин: фіолетова зона		фіолетова зона	фіолетова зона	
аланін: фіолетова зона				
тирозин: фіолетова зона	фіолетова зона	фіолетова зона	фіолетова зона	фіолетова зона
валін: фіолетова зона		фіолетова зона	фіолетова зона	фіолетова зона
метіонін: фіолетова зона		фіолетова зона		
лізин: фіолетова зона		фіолетова зона		фіолетова зона
глутаміновіа кислота: синьо-фіолетова зона	синьо-фіолетова зона	синьо-фіолетова зона	синьо-фіолетова зона	синьо-фіолетова зона
аспарагінов кислота: фіолетова зона	фіолетова зона	фіолетова зона	фіолетова зона	фіолетова зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин (корені)	Випробовуваний розчин (листя)	Випробовуваний розчин (стебла)	Випробовуваний розчин (квітки)

Рис. 3.13 ТШХ хроматограма амінокислот у сировині целозії гребінчастої (рухома фаза: оцтова кислота – пропанол – вода – 96% етанол (1 : 1 : 1 : 2); проявник: 0,2 % етанольний розчин нінгідрину)

В ході проведення експериментальних досліджень у листі целозії гребінчастої ідентифіковано 10 амінокислот. У стеблах та квітках досліджуваної рослини виявлено по 7 сполук даної групи. У коренях целозії гребінчастої за результатами аналізу містилося 4 амінокислоти. В усіх зразках виявлено тирозин, лейцин, глютамінову та аспарагінову кислоти. Валін не було виявлено лише на хроматограмах витяжок із коренів целозії гребінчастої. Серин та треонін містилися у витяжках із листя та стебел досліджуваної рослини. Лізин та фенілаланін проявлявся на хроматограмах листя та квіток целозії гребінчастої. Метіонін було виявлено у витяжках із листя даної рослини [11].

3.2.6 Визначення кількісного вмісту амінокислот методом абсорбційної спектрофотометрії

Кількісний вміст вільних амінокислот визначали у перерахунку на лейцин та абсолютно суху сировину. Динаміку накопичення амінокислот у сировині целозії гребінчастої представлено на рис. 3.14.

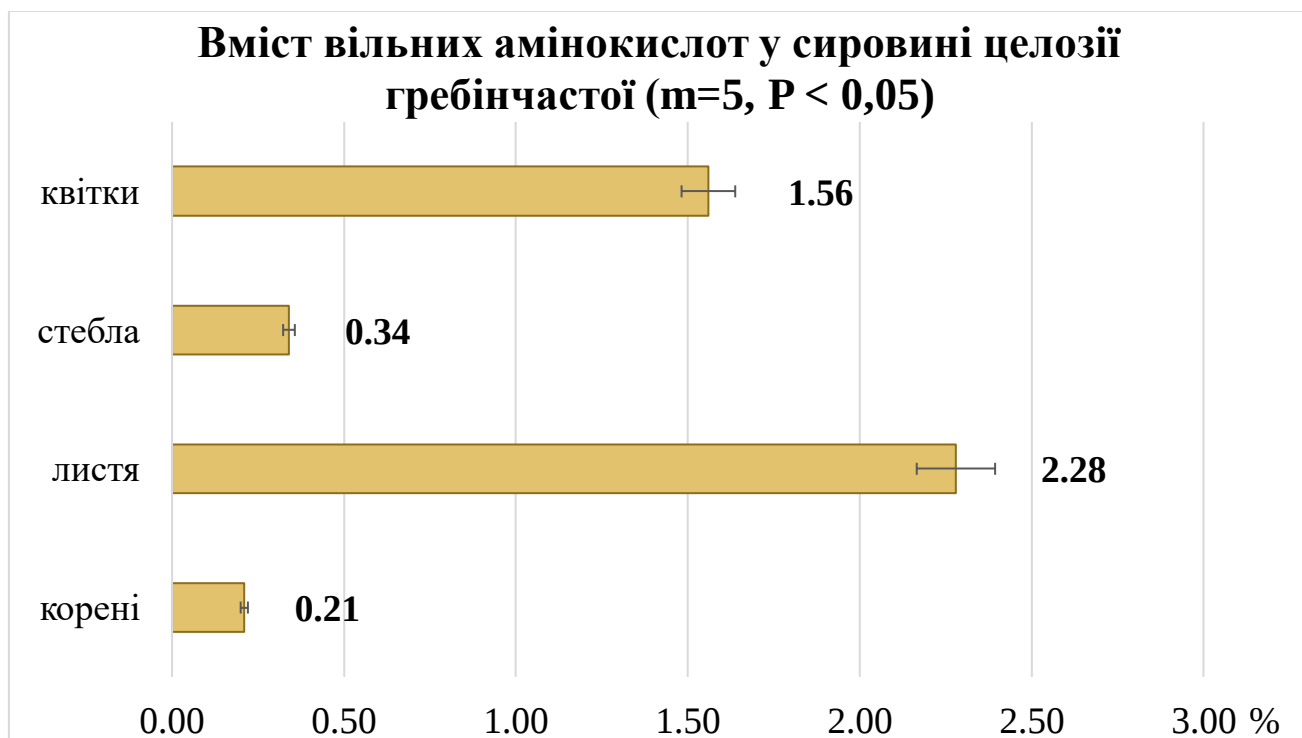


Рис. 3.14 Динаміка накопичення амінокислот у сировині целозії гребінчастої

За результатами експерименту найвищий вміст вільних амінокислот, який становив $2,28 \pm 0,06\%$, зафіксовано у листі целозії гребінчастої. У квітках ($1,56 \pm 0,04\%$) досліджуваної рослини їх вміст був майже у 1,5 рази нижчий, ніж у листі. Кількісний вміст досліджуваних БАР у коренях та стеблах цієї рослини відрізнявся незначно і знаходився на рівні $0,21 \pm 0,01\%$ для коренів та $0,34 \pm 0,01\%$ – для стебел [16].

3.3 Дослідження хлорофілів і каротиноїдів

3.3.1 Виявлення хлорофілів та каротиноїдів методом ТШХ

Хлорофіли та каротиноїди виявляли методом ТШХ у рухомих фазах № 7 та 8. На хроматограмах хлорофіли та каротиноїди ідентифікували за характерним забарвленням зон у денному світлі. У денному світлі хлорофіли мали зелене та синьо-зелене, каротиноїди – жовте та оранжеве забарвлення. В УФ-світлі каротиноїди мали коричневу флуоресценцію, хлорофіли – червону.

Результати ТШХ аналізу хлорофілів та каротиноїдів сировини целозії гребінчастої наведено на рис. 3.15.

На хроматограмах витяжок із листя та стебел целозії гребінчастої проявлялось по 7 зелених та синьо-зелених зон, які були віднесені до хлорофілів, та по 4 жовті та оранжеві зони, які віднесено до каротиноїдів. На хроматограмах витяжок із квіток проявлялось не менше 5 сполук, які віднесли до каротиноїдів.

Верхня частина хроматограми		
жовта зона	жовта зона	жовта зона
темно-зелена зона	темно-зелена зона	
зелена зона		
жовта зона	жовта зона	жовта зона
зелена зона	зелена зона	
синьо-зелена зона	синьо-зелена зона	
	зелена зона	
зелена зона	зелена зона	
зелена зона	зелена зона	оранжева зона
оранжева зона	зелена зона	оранжева зона
зелена зона	оранжева зона	
оранжева зона	оранжева зона	оранжева зона
Випробовуваний розчин (листя)	Випробовуваний розчин (стебла)	Випробовуваний розчин (квітки)

Рис. 3.15 ТШХ хроматограма хлорофілів та каротиноїдів у сировині целозії грібінчастої (рухома фаза: гексан – ацетон (6 : 4))

3.3.2 Визначення кількісного вмісту хлорофілів та каротиноїдів методом абсорбційної спектрофотометрії

Кількісне визначення хлорофілів та каротиноїдів проводили у перерахунку на абсолютно суху сировину [22, 24]. Кількісний вміст хлорофілів та каротиноїдів у сировині целозії грібінчастої наведено у табл. 3.5.

Таблиця 3.5

Вміст хлорофілів та каротиноїдів у сировині целозії гребінчастої
($m = 5$, $P < 0,05$)

Сировина	Кількісний вміст у сировині, мг/г		
	хлорофіл а	хлорофіл b	каротиноїди
стебла	265,18 $\pm$ 6,62	294,07 $\pm$ 7,35	230,38 $\pm$ 5,75
листя	446,80 $\pm$ 11,17	133,49 $\pm$ 3,34	493,51 $\pm$ 12,77
квітки	сліди	сліди	322,47 $\pm$ 8,06

Динаміку накопичення хлорофілу а і b, каротиноїдів представлено на рис. 3.16.

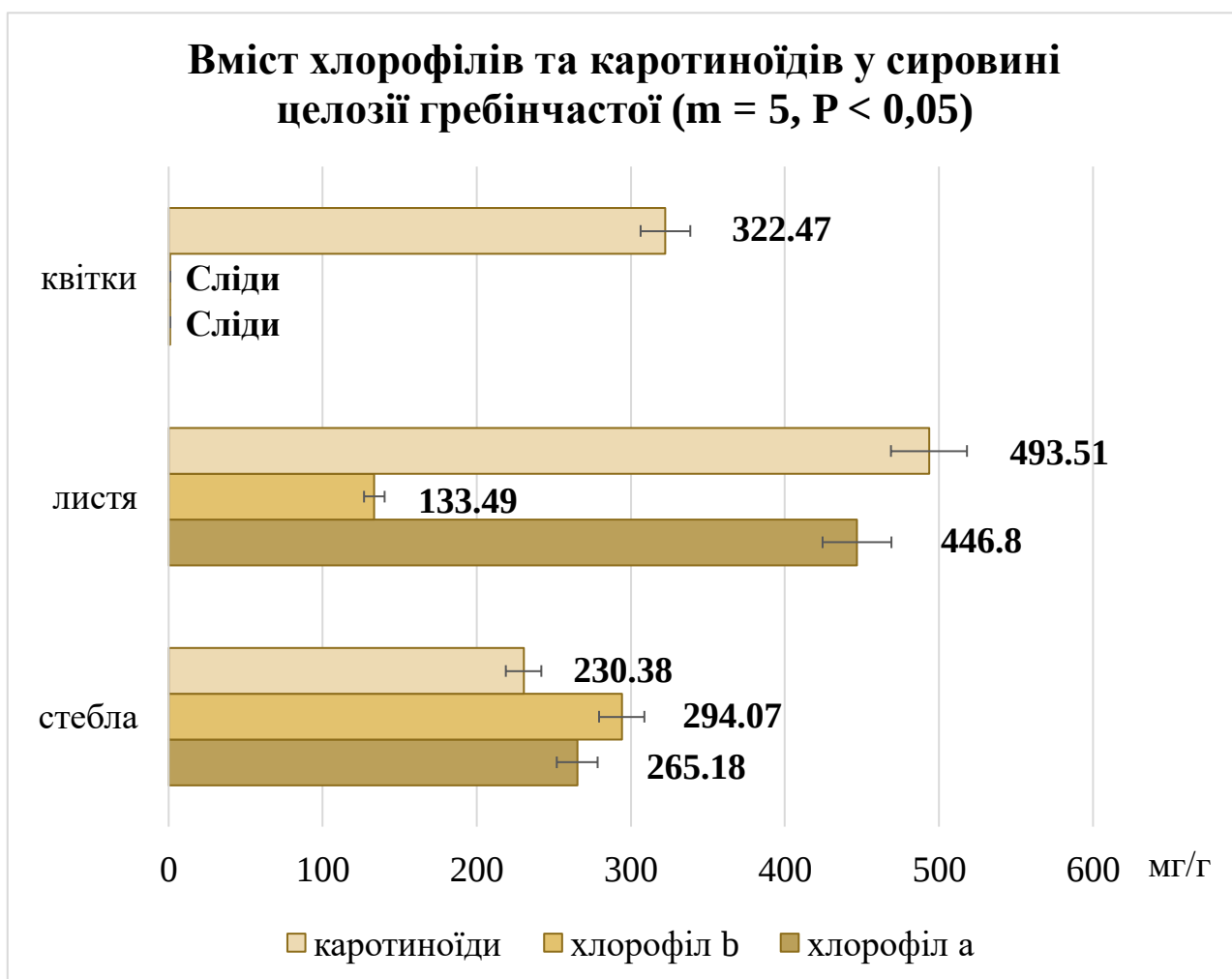


Рис. 3.16 Динаміка накопичення хлорофілу а і b, каротиноїдів у сировині целозії гребінчастої

Результати експерименту показали, що максимальний вміст суми хлорофілів а і b був у листі целозії гребінчастої – $580,29 \pm 14,50$ мг/г. Проте, їх сумарний вміст у стеблах цієї рослини відрізнявся незначно і становив $559,25 \pm 13,99$ мг/г. У квітках хлорофіли містилися у слідовій кількості. У листі целозії гребінчастої хлорофілу а ($446,80 \pm 11,17$ мг/г) містилося майже втричі більше, ніж хлорофілу b ($133,49 \pm 3,34$). У стеблах вміст цих сполук був приблизно однаковий – $265,18 \pm 6,62$ та $294,07 \pm 7,35$ мг/г відповідно.

Найбільше каротиноїдів ($493,51 \pm 12,77$ мг/г) накопичувалося у листі досліджуваної рослини. У квітках ($322,47 \pm 8,06$ мг/г) цієї рослини вміст каротиноїдів був у 1,5 рази нижчий, у стеблах ($230,38 \pm 5,75$ мг/г) – майже у 2,5 рази нижчий [9].

3.4 Дослідження тритерпенових та стероїдних сполук

3.4.1 Виявлення тритерпенових та стероїдних сполук методом ТШХ

Виявлення тритерпенових та стероїдних сполук у сировині целозії гребінчастої проводили методом ТШХ у порівнянні зі стандартними зразками тритерпенових та стероїдних сполук за рожевим та бузковим забарвленням зон у денному світлі. Хроматографію здійснювали в системі розчинників № 9. Обробку хроматограм проводили реактивом К.

Результати ТШХ аналізу тритерпенових та стероїдних сполук сировини целозії гребінчастої наведено на рис. 3.17.

Верхня частина хроматограми				
олеанолова кислота: бузкова зона		бузкова зона		бузкова зона
лупеол: рожева зона				рожева зона
даукостерол: рожева зона		рожева зона		
β -амірин: рожева зона	рожева зона	рожева зона	рожева зона	рожева зона
α -амірин: бузкова зона				бузкова зона
стигмастерол: бузкова зона	бузкова зона	бузкова зона	бузкова зона	бузкова зона
β -ситостерол: бузкова зона	бузкова зона	рожева зона	рожева зона	рожева зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин (корені)	Випробовуваний розчин (листя)	Випробовуваний розчин (стебла)	Випробовуваний розчин (квітки)

Рис. 3.17 ТШХ хроматограма тритерпенових та стероїдних сполук у сировині целозії гребінчастої (рухома фаза: хлороформ-метанол (2 : 1); проявник: 2 % етанольний розчин *n*-диметиламінобензальдегіду)

За результатами якісного аналізу на хроматограмах витяжок із коренів та стебел целозії гребінчастої виявлено по 3, у витяжках з листя – 5, із квіток – 6

речовин, які були класифіковані як тритерпенові та стероїдні сполуки. В усіх досліджуваних зразках ідентифіковано β -амірин, стигмастерол та β -ситостерол. У листі та квітках цієї рослини містилася олеанолова кислота. Крім того, у листі було виявлено даукостерол, у квітках – лупеол та α -амірин [57].

3.4.2 Визначення кількісного вмісту тритерпенових та стероїдних сполук методом абсорбційної спектрофотометрії

Визначення кількісного вмісту стероїдних сполук проводили у перерахунку на абсолютно суху сировину у сировині целозії гребінчастої [5].

Динаміку накопичення стероїдних сполук у сировині целозії гребінчастої представлено на рис. 3.18.

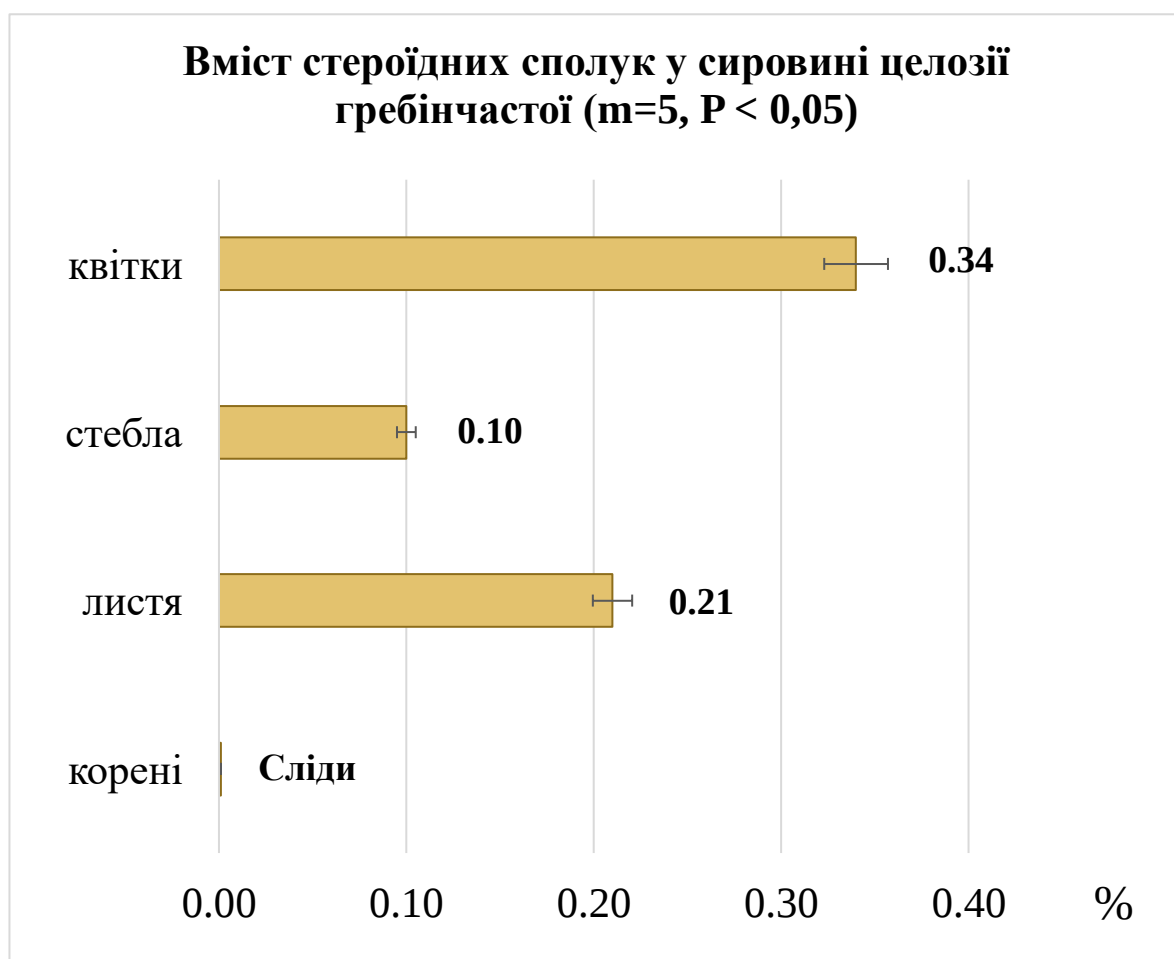


Рис. 3.18 Динаміка накопичення стероїдних сполук у сировині целозії гребінчастої

Встановлено, що найбільше стероїдних сполук містилося у квітках целозії гребінчастої – $0,34 \pm 0,02$ %. У листі ($0,21 \pm 0,01$ %) цієї рослини вміст стероїдних сполук був у 1,6 рази нижчим. У стеблах целозії гребінчастої накопичувалося $0,10 \pm 0,01$ % цих БАР. Корені целозії гребінчастої містили слідові кількості стероїдних сполук [1, 57].

3.5 Виявлення та визначення кількісного вмісту мінеральних елементів методом атомно-абсорбційної спектроскопії

За результатами дослідження мінерального складу в усіх зразках сировини целозії гребінчастої було ідентифіковано та визначено вміст 6 макро- (силіцію, фосфору, магнію, кальцію, натрію та калію), 8 мікроелементів (феруму, алюмінію, мангану, ніколу, молібдену, купруму, цинку та стронцію) та 5 важких металів (плюмбуму, кобальту, кадмію, арсену та ртуті).

Якісний склад та кількісний вміст мінеральних елементів у сировині целозії гребінчастої наведено у табл. 3.6.

Таблиця 3.6

Якісний склад та кількісний вміст мінеральних елементів у сировині целозії гребінчастої ($m = 5$, $P < 0,05$)

Елемент	Вміст макро- та мікроелементів у сировині целозії гребінчастої у перерахунку на абсолютно суху сировину, мг/100 г			
	корені	листя	стебла	квітки
1	2	3	4	5
Макроелементи				
Силіцій	$1485,00 \pm 37,12$	$270,00 \pm 6,75$	$11,00 \pm 0,28$	$175,00 \pm 4,38$
Фосфор	$32,00 \pm 0,80$	$245,00 \pm 6,12$	$57,00 \pm 1,42$	$115,00 \pm 2,88$
Магній	$635,00 \pm 15,88$	$1080,00 \pm 27,00$	$265,00 \pm 6,62$	$265,00 \pm 6,62$
Кальцій	$1485,00 \pm 37,12$	$2430,00 \pm 60,75$	$920,00 \pm 23,00$	$530,00 \pm 13,25$
Натрій	$425,00 \pm 10,63$	$190,00 \pm 4,75$	$210,00 \pm 5,25$	$44,00 \pm 1,10$

1	2	3	4	5
Калій	5935,00 ± 148,38	7000,00 ± 175,00	3100,00 ± 77,50	2640,00 ± 66,00
Загалом макроелементів	9997,00 ± 249,93	11215,00 ± 280,38	4563,00 ± 114,08	3769,00 ± 94,22
Мікроелементи				
Ферум	210,00 ± 5,25	75,00 ± 1,88	4,60 ± 0,12	22,00 ± 0,55
Алюміній	210,00 ± 5,25	215,00 ± 5,38	1,00 ± 0,03	44,00 ± 1,10
Манган	21,20 ± 0,53	27,00 ± 0,68	1,10 ± 0,03	4,00 ± 0,10
Нікол	0,21 ± 0,01	0,13 ± 0,01	< 0,03	0,07 ± 0,01
Молибден	0,21 ± 0,01	0,21 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,13 ± 0,01
Купрум	0,70 ± 0,02	1,00 ± 0,03	0,52 ± 0,01	2,00 ± 0,05
Цинк	53,00 ± 1,33	27,00 ± 0,67	5,70 ± 0,14	8,80 ± 0,22
Стронцій	21,20 ± 0,53	20,20 ± 0,51	2,50 ± 0,06	1,60 ± 0,04
Загалом мікроелементів	516,52 ± 12,91	365,54 ± 9,14	15,53 ± 0,39	82,60 ± 2,07
Сума мінеральних елементів	10513,52 ± 262,84	11580,54 ± 289,51	4578,53 ± 114,46	3851,60 ± 96,29
Вміст токсичних елементів				
Плюмбум	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Кобальт	< 0,03	< 0,03	< 0,03	< 0,03
Кадмій	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Арсен	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Меркурій	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

У ході дослідження встановлено, що найбільша кількість мінеральних елементів накопичувалася у листі та коренях целозії гребінчастої – 11580,54 ± 289,51 та 10513,52 ± 262,84 мкг/ 100 г відповідно. У стеблах (4578,53 ± 114,46 мкг/ 100 г) досліджуваної рослини сумарний вміст мінеральних елементів був майже у 2,5 рази нижчий, ніж у листі досліджуваної рослини. У квітках (3851,60 ± 96,29 мкг/ 100 г) целозії

гребінчастої мінеральних елементів містилося майже втричі менше, ніж у листі. Вміст суми мінеральних елементів збільшувався від квіток і стебел до коренів і листя. На вміст мікроелементів у коренях, листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої припадало від 1 до 5 %.

У листі та квітках целозії гребінчастої кількісний вміст ідентифікованих мінеральних елементів поступово спадав у ряду $K > Ca > Mg > Si > P > Al > Na > Fe > Zn > Mn > Sr > Cu > Mo > Ni$. У стеблах та коренях спостерігали схожу ситуацію. Проте, у стеблах натрій переважав над вмістом фосфору та силіцію, а цинку накопичувалося більше, ніж феруму. У коренях домінували калій, силіцій, кальцій та магній, а вміст алюмінію, натрію та цинку превалював над вмістом фосфору.

Максимальний вміст макроелементів був у листі целозії гребінчастої – $11215,00 \pm 280,38$ мкг / 100 г, мікроелементів – у її коренях ($516,52 \pm 12,91$ мкг/ 100 г). При цьому, у листі ($365,54 \pm 9,14$ мкг / 100 г) досліджуваної рослини суми мікроелементів містилося майже у 1,5 рази менше, ніж у коренях.

Встановлено, що серед макроелементів в усіх досліджуваних зразках сировини целозії гребінчастої переважав калій. Його вміст коливався від $2640,00 \pm 66,00$ мкг/ 100 г у квітках целозії гребінчастої до $7000,00 \pm 175,00$ мкг/ 100 г у листі цієї рослини. У максимальній кількості силіцій ($1485,00 \pm 37,12$ мкг/ 100 г) та натрій ($425,00 \pm 10,63$ мкг / 100 г) накопичувалися у коренях целозії гребінчастої, фосфор ($245,00 \pm 6,12$ мкг / 100 г), магній ($1080,00 \pm 27,00$ мкг / 100 г), кальцій ($2430,00 \pm 60,75$ мкг / 100 г) – у листі цієї рослини.

Домінуючими мікроелементами у коренях целозії гребінчастої були ферум та алюміній, яких накопичувалася майже однакова кількість – по $210,00 \pm 5,25$ мкг / 100 г. У листі та квітках за вмістом переважав алюміній. Вміст алюмінію у листі целозії гребінчастої ($215,00 \pm 5,38$ мкг/100 г) майже у 5 разів перевищував його вміст у квітках ($44,00 \pm 1,10$ мкг/100 г). Вміст

феруму у листі целозії гребінчастої був майже втричі нижчий, ніж у коренях, і становив $75,00 \pm 1,88$ мкг/ 100 г.

Превалюючим мікроелементом у стеблах досліджуваної рослини був цинк, якого містилося $5,70 \pm 0,14$ мкг/ 100 г. При цьому, феруму у цій сировині було дещо менше – $4,60 \pm 0,12$ мкг/100 г. Поряд з тим, результати експерименту показали, що найбільше цинку акумулювалося у коренях ($53,00 \pm 1,33$ мкг/ 100 г). Однаково високий вміст молібдену було зафіксовано у коренях та у листі целозії гребінчастої – $0,21 \pm 0,01$ мкг/ 100 г. Манган ($27,00 \pm 0,68$ мкг/ 100 г) за вмістом переважав у листі, купрум ($2,00 \pm 0,05$ мкг/ 100 г) – у квітках цієї рослини.

Вміст важких металів в усіх досліджуваних видах сировини целозії гребінчастої відповідав вимогам ДФУ і не перевищував гранично допустимої концентрації для лікарської рослинної сировини [130].

3.6 Дослідження вуглеводів

3.6.1 Виявлення моносахаридів методами ПХ та ТШХ

Виявлення моносахаридів проводили методом ПХ та ТШХ у витяжках із досліджуваних видів сировини до та після проведення гідролізу. Як рухому фазу при хроматографуванні методом ПХ використовували суміш № 10, а при хроматографуванні методом ТШХ – № 11. Моносахариди на хроматограмах ідентифікували за коричневим та рожевим забарвленням зон у денному світлі після обробки реактивом Л у порівнянні зі стандартними зразками моносахаридів.

Результати ТШХ аналізу моносахаридів сировини целозії гребінчастої до гідролізу наведено на рис. 3.19.

Верхня частина хроматограми				
рамноза: коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона
глюкоза: жовто- коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона
галактоза: жовто- коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин (корені)	Випробовуваний розчин (листя)	Випробовуваний розчин (стебла)	Випробовуваний розчин (квітки)

Рис. 3.19 ТШХ хроматограма моносахаридів до гідролізу у сировині целозії гребінчастої (рухома фаза: хлороформ – 96 % етанол – аміак концентрований (10 : 5 : 1); проявник: 2 % розчин анілінфталатного реактиву)

Результати ТШХ аналізу моносахаридів сировини целозії гребінчастої після гідролізу наведено на рис. 3.20.

Верхня частина хроматограми				
рамноза: коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона
ксилоза: рожево- коричнева зона	рожево-коричнева зона	рожево-коричнева зона	рожево-коричнева зона	рожево-коричнева зона
арабіноза: рожево- коричнева зона	рожево-коричнева зона	рожево-коричнева зона	рожево-коричнева зона	рожево-коричнева зона
фруктоза: рожево- коричнева зона	рожево-коричнева зона	рожево-коричнева зона	рожево-коричнева зона	рожево-коричнева зона
маноза: жовто- коричнева зона	жовто-коричнева зона	жовто-коричнева зона	жовто-коричнева зона	жовто-коричнева зона
глюкоза: жовто- коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона
галактоза: жовто- коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона	коричнева зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин (корені)	Випробовуваний розчин (листя)	Випробовуваний розчин (стебла)	Випробовуваний розчин (квітки)

Рис. 3.20 ТШХ хроматограма моносахаридів після гідролізу у сировині целозії гребінчастої (рухома фаза: хлороформ – 96 % етанол – аміак концентрований (10 : 5 : 1); проявник: 2 % розчин анілінфталатного реактиву)

За результатами експерименту в усіх досліджуваних видах сировини до та після гідролізу було ідентифіковано глюкозу, рамнозу та галактозу. Після

гідролізу у витяжках із коренів, листя, стебел та квіток целозії гребінчастої було ідентифіковано 3 пентози (ксилозу, арабінозу та фруктозу) та 4 гексози (рамнозу, манозу, глюкозу та галактозу) [15].

3.6.2 Визначення кількісного вмісту полісахаридів методом гравіметрії

Динаміку накопичення полісахаридів у сировині целозії гребінчастої представлено на рис. 3.21.

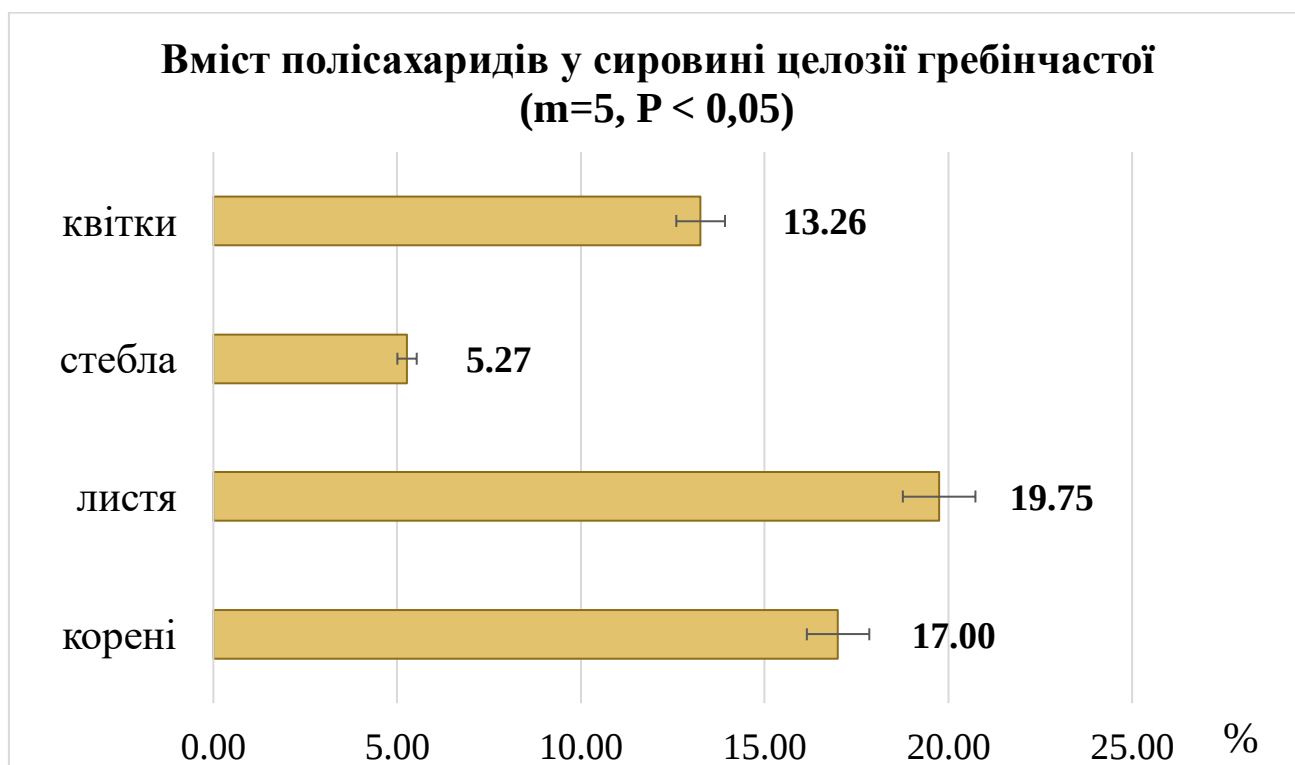


Рис. 3.21 Динаміка накопичення полісахаридів у сировині целозії гребінчастої

Найвищий вміст полісахаридів накопичувався у листі целозії гребінчастої – $19,75 \pm 0,92$ %. У коренях ($17,00 \pm 0,81$ %) цієї рослини вміст суми полісахаридів був майже на тому ж рівні. У квітках ($13,26 \pm 0,62$ %) вміст полісахаридів був майже у 1,5 рази нижчим, у стеблах ($5,27 \pm 0,26$ %) – у 3,7 рази нижчим у порівнянні із їх максимальним вмістом у листі целозії гребінчастої [15].

3.7 Вибір перспективної сировини

Якісний аналіз сировини целозії гребінчастої показав, що у коренях целозії гребінчастої було ідентифіковано 71 сполуку, у стеблах та квітках – 83 та 84 сполуки відповідно. Максимальну кількість БАР було ідентифіковано у листі цієї рослини – 92 сполуки. Крім того, лише у листі виявлено неохлорогенову кислоту, у квітках – *n*-гідроксибензойну. Таким чином, ці види сировини мали найрізноманітніший хімічний склад. На рис. 3.22 наведено динаміку накопичення БАР у сировині целозії гребінчастої.

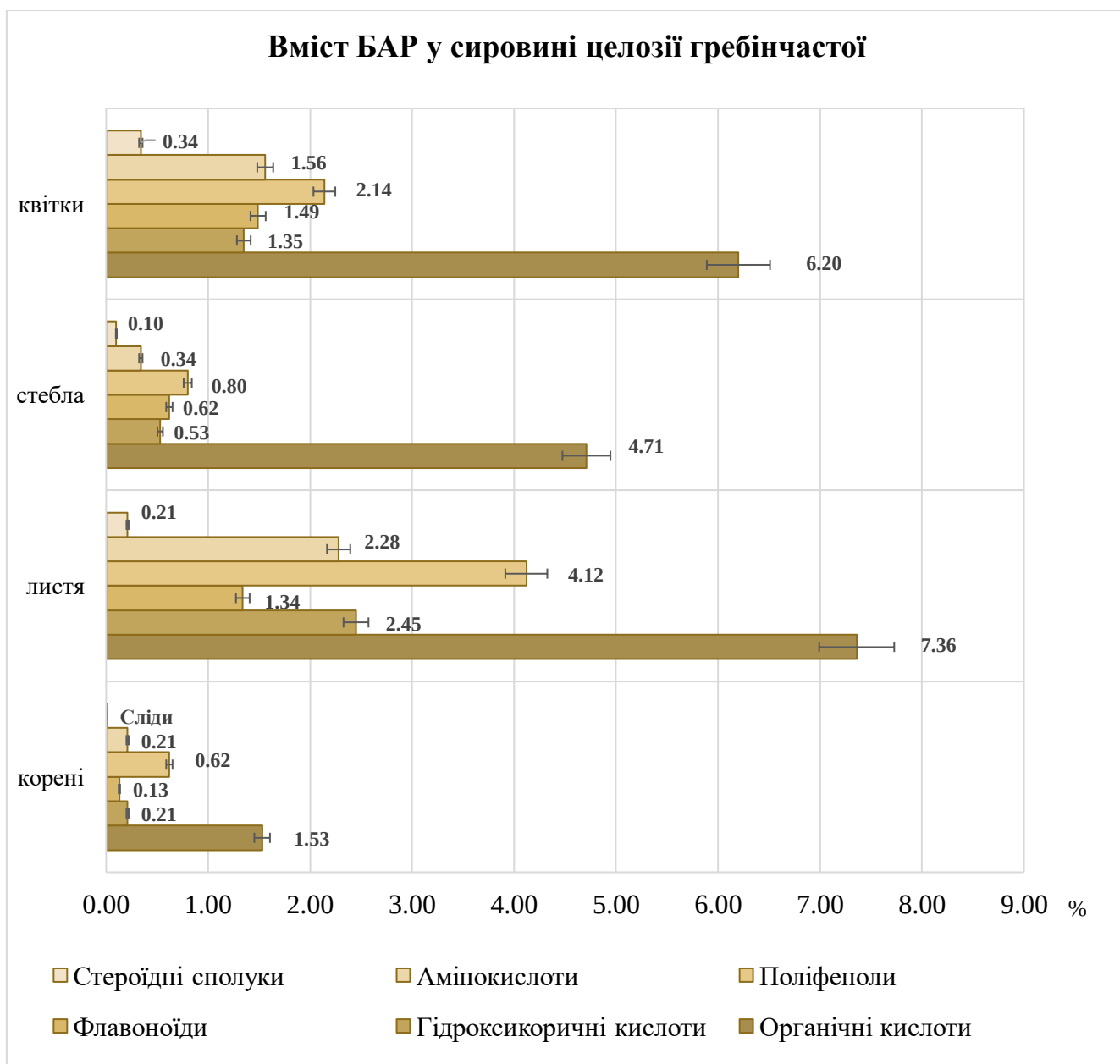


Рис. 3.22 Динаміка накопичення БАР у сировині целозії гребінчастої

Як видно із діаграми, у квітках целозії гребінчастої відмічено вищий вміст флавоноїдів та стероїдних речовин, органічні, гідроксикоричні, амінокислоти, поліфенольні сполуки та полісахариди у більшій кількості накопичувалися у листі цієї рослини. Також, у листі накопичувалося більше хлорофілів, у квітках – каротиноїдів.

Висновки до розділу 3

1. Методами ПХ та ТШХ у листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої виявлено каротиноїди, у листі та стеблах – хлорофіли. Досліджено якісний склад флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, органічних кислот, амінокислот та вуглеводів. За результатами дослідження в усіх зразках сировини целозії гребінчастої ідентифіковано флавоноїди кемпферол, кверцетин, гіперозид, гідроксикоричні ферулову, кофейну, коричну та хлорогенову кислоти, аліфатичні та ароматичні яблучну, винну, лимонну, бензойну кислоти, амінокислоти тирозин, лейцин, глютамінову та аспарагінову кислоти, тритерпенові та стероїдні сполуки β -амірин, стигмастерол та β -ситостерол, моносахариди глюкозу, рамнозу, галактозу до гідролізу, а також ксилозу, арабінозу, фруктозу, рамнозу, манозу, глюкозу та галактозу у витяжках із сировини целозії гребінчастої після гідролізу. Крім того, у листі, стеблах та квітках виявлено лютеолін та рутин, *n*-кумарову кислоту, валін, у листі та квітках – саліцилову, олеанолову кислоти, лізин та фенілаланін, у листі – неохлорогенову кислоту, метіонін та даукостерол, у квітках – щавлеву кислоту, лупеол та α -амірин, у листі та стеблах – серин та треонін. Методом ВЕРХ досліджено фенольні сполуки коренів, листя, стебел та квіток целозії гребінчастої. У квітках целозії гребінчастої ідентифіковано 11, у коренях та стеблах – по 8 фенольних сполук, у листі – 12 сполук фенольної природи. Найбільше фенольних сполук містилося у листі целозії гребінчастої – 2793,32 мг/кг. Кількісно у

коренях, листі та стеблах переважали флавоноїди, у квітках – гідроксикоричні кислоти. Домінуючою сполукою у квітках целозії гребінчастої була *n*-кумарова кислота. Серед флавоноїдів у цій сировині переважав рутин, а серед гідроксибензойних кислот – вератрова кислота. Превалюючими сполуками листя целозії гребінчастої були кофейна кислота, кверцетин і кемпферол. У стеблах целозії гребінчастої домінував кверцетин. У коренях переважала ферулова кислота.

2. Методом ГХ досліджено жирнокислотний склад сировини целозії гребінчастої та ідентифіковано в усіх досліджуваних зразках по 12 жирних кислот. Встановлено, що в усіх об'єктах сировини целозії гребінчастої кількісно переважали ненасичені жирні кислоти. Максимальний вміст насичених жирних кислот було відмічено у коренях целозії гребінчастої 31,57 %. Серед насичених жирних кислот в усіх досліджуваних зразках домінувала пальмітинова кислота. У коренях, стеблах та квітках превалюючою ненасиченою жирною кислотою була ліолева кислота, у листі – ліноленова кислота. Максимальна кількість ліолевої кислоти накопичувалася у коренях досліджуваної рослини (45,38 %), ліноленової – у листі целозії гребінчастої (53,63 %).
3. Амінокислотний склад сировини целозії гребінчастої досліджували методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії. В усіх досліджуваних об'єктах ідентифіковано та визначено вміст 18 амінокислот, з яких 9 було віднесено до незамінних. Встановлено, що у листі целозії гребінчастої накопичувалася максимальна кількість амінокислот – 85,61 мг/кг. Кількісно на вміст незамінних амінокислот в усіх досліджуваних зразках сировини припадало близько 40 %. Домінуючими амінокислотами у листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої були аспарагінова та глутамінова кислоти. У коренях досліджуваної рослини превалював пролін. Серед незамінних

амінокислот у коренях, листі та квітках целозії гребінчастої переважав лейцин, у стеблах – треонін. Максимальний вміст лейцину спостерігали у листі целозії гребінчастої – 7,33 мг/г.

4. Мінеральний склад сировини целозії гребінчастої вивчали методом ААС. В усіх зразках сировини цієї рослини було ідентифіковано та визначено вміст 6 макро-, 8 мікроелементів та 5 важких металів. Найбільша кількість мінеральних елементів накопичувалася у листі целозії гребінчастої – 11580,54 мкг/ 100 г. Встановлено, що серед макроелементів в усіх досліджуваних зразках сировини целозії гребінчастої переважав калій. Домінуючими мікроелементами у коренях целозії гребінчастої були ферум та алюміній. У листі (215,00 мкг/ 100 г) та квітках (44,00 мкг/100 г) також за вмістом переважав алюміній. Превалюючим мікроелементом у стеблах досліджуваної рослини був цинк (5,70 мкг/ 100 г).

Вміст важких металів в усіх досліджуваних зразках сировини целозії гребінчастої відповідав вимогам ДФУ і не перевищував гранично допустимої концентрації для ЛРС.

5. Методом абсорбційної спектрофотометрії у сировині целозії гребінчастої визначено кількісний вміст флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, поліфенольних сполук, суми вільних амінокислот, хлорофілу а, хлорофілу b, каротиноїдів, стероїдних речовин, алкаліметрії – органічних кислот, гравіметрії – полісахаридів. Результати дослідження показали, що найбільше флавоноїдів (1,49 %) та стероїдних речовин (0,34 %) накопичувалося у квітках целозії гребінчастої, гідроксикоричних кислот (2,45 %), поліфенольних сполук (4,12 %), органічних кислот (7,36 %), вільних амінокислот (2,28 %), хлорофілів (580,29 мг/г), каротиноїдів (493,51 мг/г) та полісахаридів (19,75 %) – у листі цієї рослини.
6. Проаналізувавши експериментальні дані, листя та квітки целозії гребінчастої було вибрано як перспективні види сировини, які

накопичували значну кількість БАР, для одержання у подальшому лікарських рослинних засобів на їх основі.

Результати експериментальних досліджень розділу наведено у таких публікаціях:

1. The study in cockscomb mineral composition / A. S. Deyneka, V. V. Protska, I. O. Zhuravel, O. A. Kyslychenko, Viktoriia Yu. Kuznietsova. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. № 2. С. 194-199. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.2.230561> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, в обробці результатів дослідження та підготовці статті до друку).
2. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у сировині целозії гребінчастої. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 1. С. 98-102. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6350017> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці результатів дослідження та підготовці статті до друку)
3. Дейнека А. С., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту фенольних сполук методом ВЕРХ у квітках целозії гребінчастої. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 3. С. 28-31. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7070948> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обговоренні та узагальненні результатів дослідження, підготовці статті до друку).
4. The study of fatty acid composition in Cockscomb (*Celosia cristata* (L.) Kuntze) / A. Deyneka, V. Protska , I. Zhuravel, O. Kyslychenko. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci*. 2022. Vol. 35. № 4. P. 176-182. (Scopus Q3) <https://doi.org/10.2478/cipms-2022-0032> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, в обробці результатів дослідження).

5. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження фенольних сполук целозії гребінчастої та целозії перистої. *Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації*: матеріали наук.-практ. internet-конф., (м. Харків, 22-23 жовтня 2019 р.). Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 276.
6. Дейнека А.С., Процька В.В., Журавель І.О. Визначення кількісного вмісту суми вільних амінокислот у сировині целозії гребінчастої. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*: збірник наукових праць (м. Харків, 7 – 8 листопада 2019 р.). Випуск 6. Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 171.
7. Дейнека А.С., Процька В.В., Журавель І.О. Дослідження амінокислот целозії гребінчастої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет - конференції (м. Харків, 14-15 листопада 2019 р.) Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 84.
8. Дейнека, А. С. Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження вуглеводів у сировині целозії гребінчастої. *Застосування методів лікування і аніпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці*: матеріали міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, (м. Харків, 25 берез. 2020 р.) Харків. 2020. С. 94-95.
9. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І.О. Визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у сировині целозії гребінчастої. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження*: мат. науково-практичної дистанційної міжнародної конференції (м. Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р.). Івано-Франківськ. 2020. С. 158-159.
10. Дейнека А.С., Процька В.В., Журавель І.О. Дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту органічних кислот у сировині

- целозії гребінчастої. *Управління якістю в фармації*: мат. XIV наук.-практ. конф. (м. Харків, 22 трав. 2020 р.). Х.: НФаУ, 2020. С. 42.
11. Дейнека А.С., Процька В.В., Журавель І.О. Визначення кількісного вмісту поліфенольних сполук у сировині Целозії гребінчастої. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку* : матеріали XII наук.-практ. INTERNET-конф. (м. Харків, 22 травня 2020 р.). 2020. С. 239.
 12. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту флавоноїдів у сировині целозії гребінчастої. *PLANTA+. наука, практика та освіта*: мат. Міжнародної науково-практичної конференції (м. Київ, 19 лютого 2021 р.). Київ. 2021. С. 73-74.
 13. Визначення кількісного вмісту суми стероїдних сполук у сировині целозії гребінчастої / Дейнека А. С., Єгоркіна Д. М., Процька В. В., Журавель І. О. *Актуальні питання: «здоров'я і довголіття – фундаментальні і клінічні дослідження, впровадження. комплементарні методи, як здоровий спосіб життя*: науковий симпозіум з міжнародною участю, залученням молодих вчених, студентів. (м. Київ, 22-23 жовтня 2021). Київ. 2021. С. 90-91.
 14. Deyneka A., Protska V., Zhuravel I. The study of qualitative composition and quantitative content of steroid compounds of Cockscomb raw materials. *100 років успіху та якості* : матеріали міжнар. наук.-практ. симпозіуму, присвяченого 100-річчю кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету (м. Харків, 18 жовтня 2021 р.) = *100 years of success and quality*: materials of the international scientific and practical symposium, dedicated to the 100th anniversary of pharmaceutical chemistry department of National University of Pharmacy (Kharkiv, October, 18, 2021,). X. 2021. С. 84.
 15. The determination of polyphenolic compounds quantitative content in raw material of *Celosia cristata* (L.) Kuntze, *Gomphrena globose* L. and *Aerva*

- lanata L. / Deyneka A., Viktoriia P., Zhuravel I., Fedosov A. *Contemporary Pharmacy: Issues Challenges and Expectations 2021 and 11th Conference: Pharmacy Science and Practice*: abs. The Joint International Pharmacy Symposium (Kaunas, Lithuania, 22nd October 2021). Kaunas. 2021. P. 41.
16. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження хлорофілів та каротиноїдів у сировині целозії гребінчастої. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології: матеріали ІХ Міжнародної науково-практичної конференції (м. Харків, 11-12 листопада 2021 р.)*. Х. 2021. С. 104.

РОЗДІЛ 4
СТАНДАРТИЗАЦІЯ СИРОВИНИ ЦЕЛОЗІЇ ГРЕБІНЧАСТОЇ.
ОДЕРЖАННЯ, СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ
ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ОДЕРЖАНОГО ЛІКАРСЬКОГО
ЗАСОБУ

4.1 Дослідження анатомічних діагностичних ознак листя та квіток целозії гребінчастої

Листок. Анатомічна будова листка целозії гребінчастої на поперечному зрізі представлена одношаровою епідермою, двома-трьома шарами коленхіми і декількома шарами паренхіми, в якій напівколом розташовувалось п'ять овальних провідних пучків закритого колатерального типу. Два провідні пучки були дещо більшого розміру. У паренхімі зустрічалися клітини з друзами кальцію оксалату.

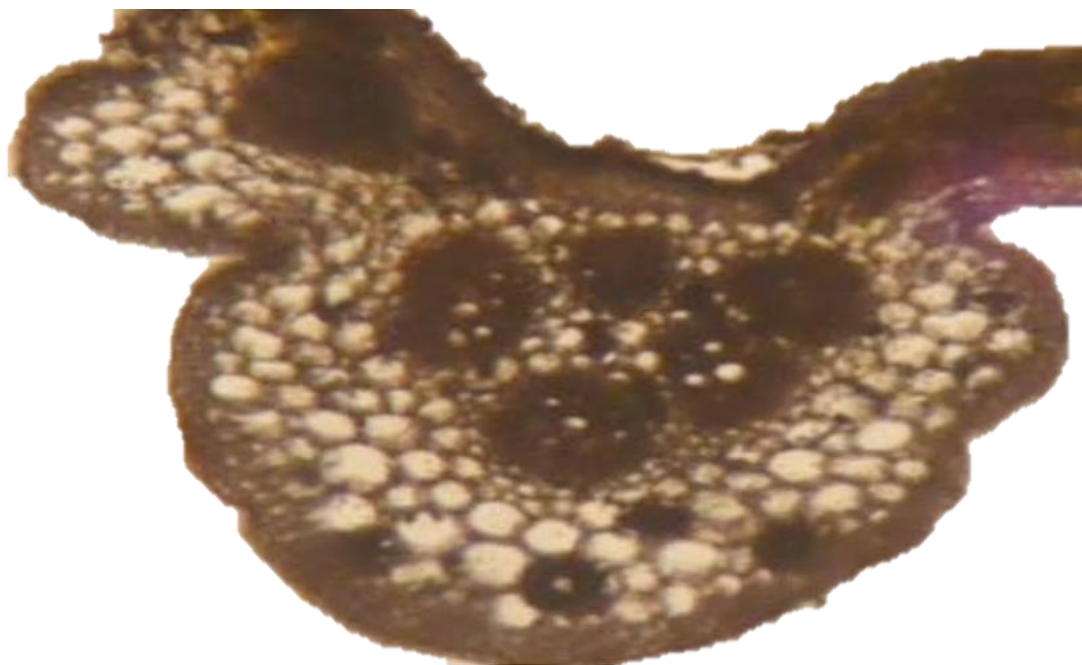


Рис. 4.1 Поперечний переріз листка целозії гребінчастої

Розподіл продихів листка целозії гребінчастої був за амфістоматичним типом. На абаксіальному боці (рис. 4.2) листової пластинки продихи розташовані приблизно втричі щільніше, ніж на адаксіальному (рис. 4.3) боці. Продихи еліпсоїдні, поверхневі, аномоцитного, іноді анізоцитного типу, однакові з обох боків листка. На епідермі над жилками продихів не виявлено. На адаксіальній поверхні клітини епідерми характеризувалися правильною прямокутною або багатокутною формою та мали антиклінальні стінки.

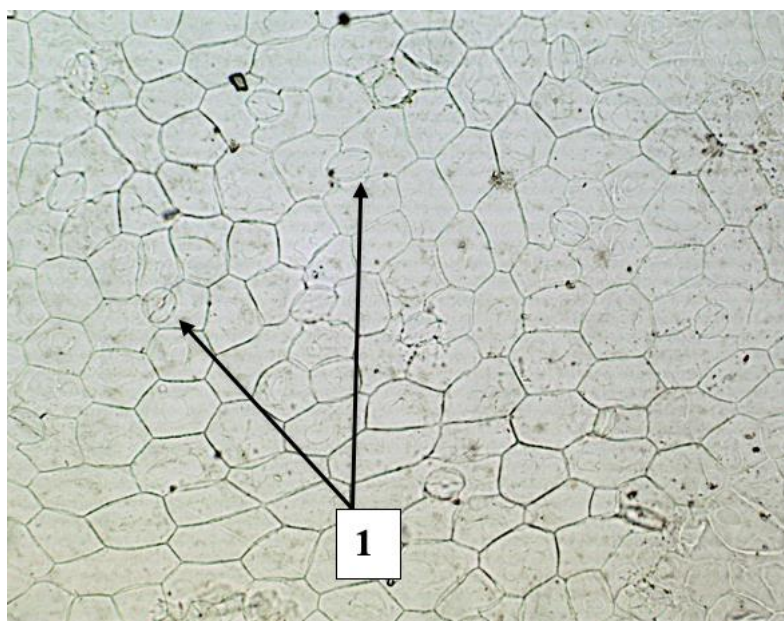


Рис. 4.2 Епідерма адаксіального боку листка целозії гребінчастої: 1 – продихи

Клітини епідерми абаксіальної поверхні, навпаки, мали неправильну форму із сильно звивистими антиклінальними стінками. На абаксіальній були присутні залозисті трихоми. Вони складались із 3-5 клітинної ніжки та одноклітинної секреторної голівки.

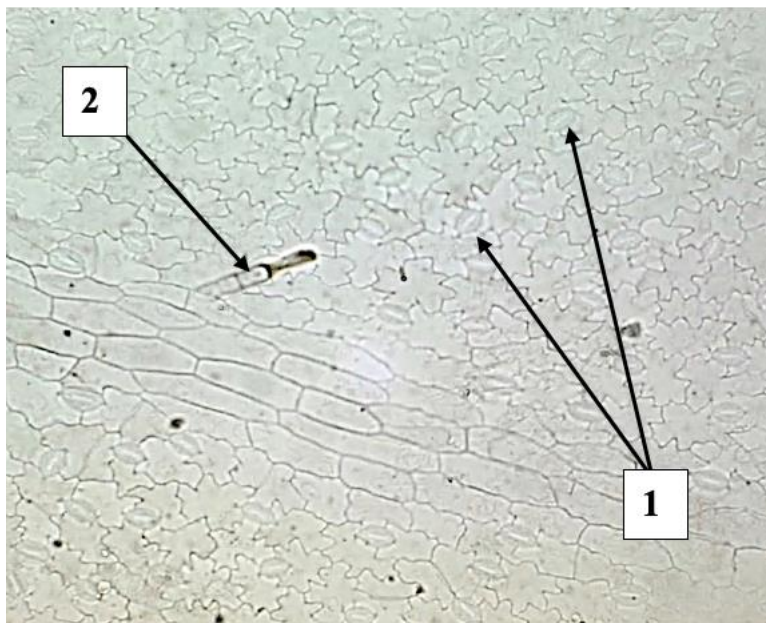


Рис. 4.3 Епідерма абаксіального боку листка целозії гребінчастої: 1 – продиhi, 2 – залозисті трихоми

Двоклітинні та багатоклітинні прості волоски зустрічались не часто на обох поверхнях листка. На адаксіальній (рис. 4.4) поверхні також зрідка були присутні залозисті волоски з одноклітинною ніжкою та багатоклітинною голівкою.

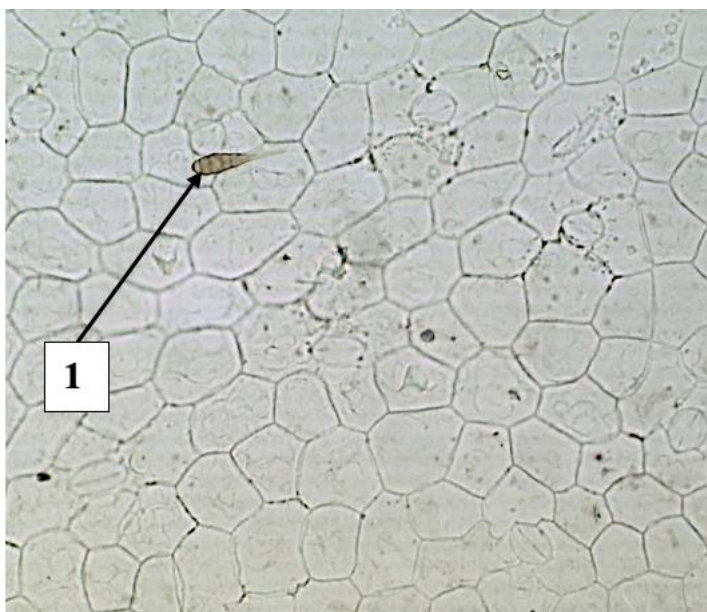


Рис. 4.4 Епідерма абаксіального боку листка целозії гребінчастої: 1 – залозисті трихоми

Черешок. На поперечному перерізі черешок целозії гребінчастої (рис. 4.5) чашоподібної форми. Ззовні черешок вкритий однорядною епідермою.

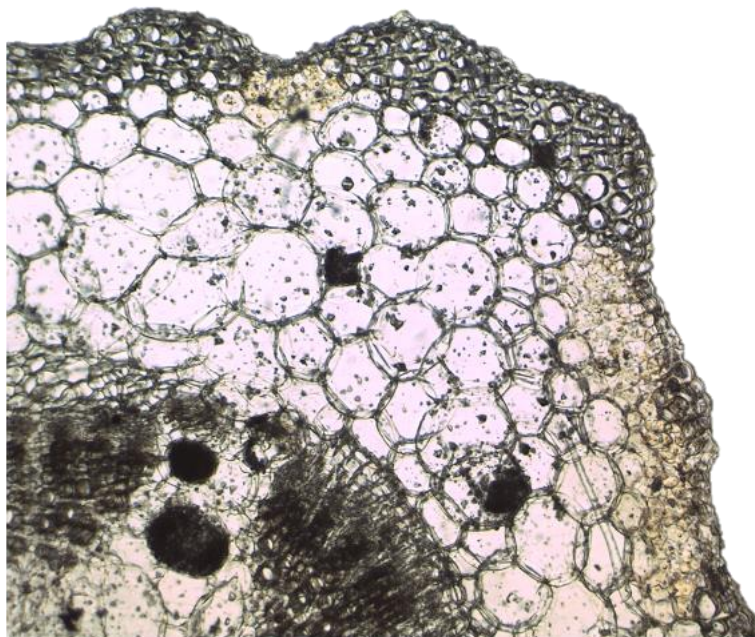


Рис. 4.5 Поперечний переріз черешка целозії гребінчастої

Епідерма (рис. 4.6) утворена видовженими прямокутними клітинами. На епідермі зрідка траплялись продихи аномоцитного типу та прості дво-три клітинні волоски.



Рис. 4.6 Епідерма черешка целозії гребінчастої

Під епідермою з адаксіального боку розташовані два-три шари коленхіми. З абаксіального боку спостерігали характерне потовщення коленхіми. Провідну систему черешка целозії гребінчастої утворювали п'ять провідних пучків закритого колатерального типу, усі приблизно однакового розміру та мали овальну форму. Провідні пучки у паренхімі розташовувались у формі напівмісяця.

Квітки. Епідерма чашечки (рис. 4.7) квітки целозії гребінчастої з обох боків утворена дещо видовженими, овальними, прямокутними або багатокутними клітинами із товстими прямими стінками. На епідермі зрідка зустрічались продихи аномоцитного типу.

Судинні пучки чашолистків целозії гребінчастої досягають верхівки та країв. У паренхімі чашолистків були присутні друзи. По краях і верхівці чашолистків виявлено дво-три клітинні, товстостінні, секреторні волоски та сосочкоподібні вирости епідерми.



Рис. 4.7 Епідерма чашолистка целозії гребінчастої: 1 - друзи

Епідерма плівчастих пелюсток целозії гребінчастої складалась із прямостінних, багатокутних клітин. Клітини внутрішньої (рис. 4.8) епідерми квітки мали більш звивисті стінки, ніж клітини зовнішньої (рис. 4.9) епідерми.

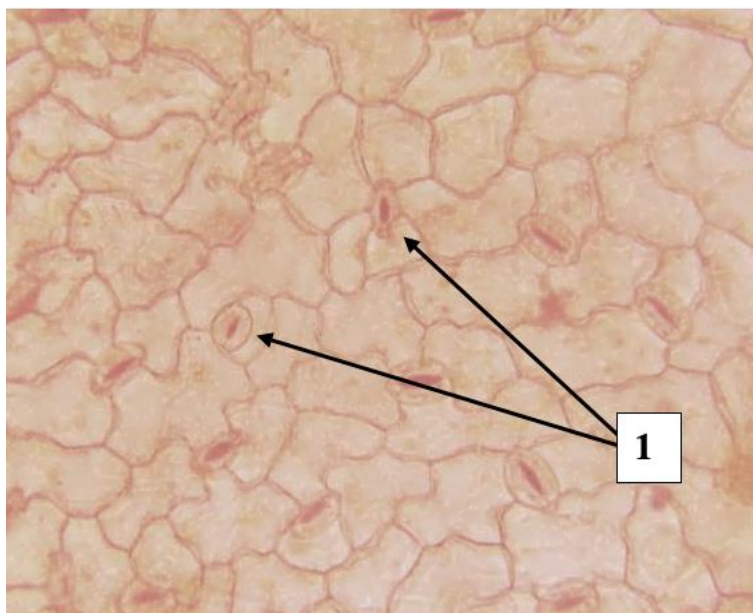


Рис. 4.8 Епідерма внутрішнього боку пелюстки целозії гребінчастої: 1 -
продихи

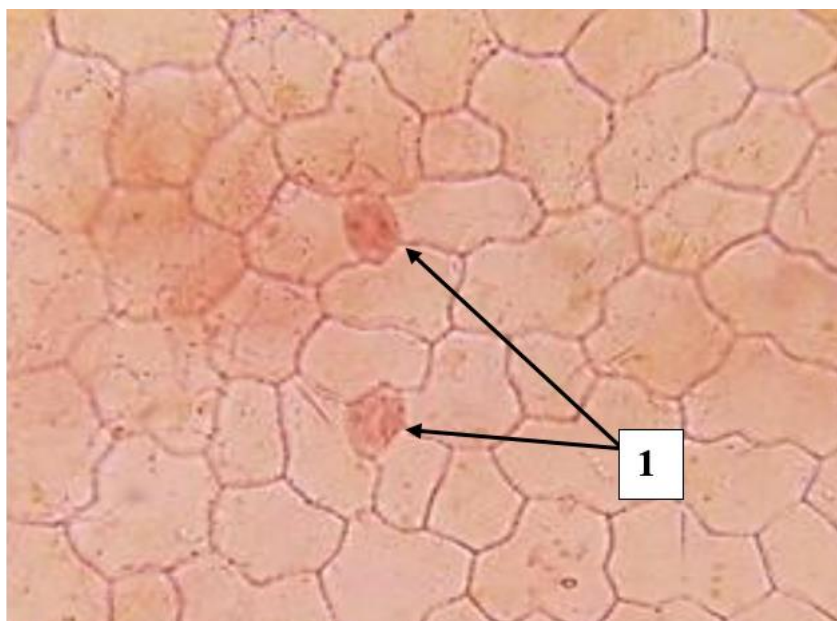


Рис. 4.9 Епідерма зовнішнього боку пелюстки целозії гребінчастої: 1 -
продихи

На зовнішній поверхні пелюстки целозії гребінчастої зустрічались дрібні
головчасті волоски (рис. 4.10), на внутрішній поверхні пелюсток таких
утворень не виявлено.



Рис. 4.10 Головчасті волоски на епідермі зовнішнього боку пелюстки целозії гребінчастої

Пилкові зерна (рис. 4.11) целозії гребінчастої дрібні, шароподібної форми з тонкою, щільною екзиною, однотипною по всій поверхні з невеликими виступами.



Рис. 4.11 Пилкове зерно целозії гребінчастої

4.2 Визначення показників якості та вмісту екстрактивних речовин сировини целозії гребінчастої методом гравіметрії

Результати визначення показників якості (втрату в масі при висушуванні сировини, вміст загальної золи та золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті) листя та квіток целозії гребінчастої наведено у табл. 4.1.

Таблиця 4.1

Показники якості листя та квіток целозії гребінчастої ($m = 5$, $P < 0,05$)

Показник якості	Значення, %	
	листя	квітки
Втрата в масі при висушуванні сировини	$9,70 \pm 0,46$	$8,34 \pm 0,41$
Загальна зола	$7,19 \pm 1,17$	$8,77 \pm 0,40$
Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті	$0,27 \pm 0,01$	$0,18 \pm 0,01$

У ході проведених досліджень встановлено, що листя ($9,70 \pm 0,46$ %) целозії гребінчастої мало вищі показники втрати в масі при висушуванні сировини, ніж квітки ($8,34 \pm 0,41$ %) цієї рослини.

Загальної золи у листі та квітках целозії гребінчастої містилося майже однаково – $7,19 \pm 1,17$ та $8,77 \pm 0,40$ % відповідно.

Вміст золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті у листі ($0,27 \pm 0,01$ %) досліджуваної рослини був у 1,5 рази вищий, ніж у її квітках ($0,18 \pm 0,01$ %) [22].

Дослідження вмісту екстрактивних речовин за вимогами ДФУ визначали при використанні як екстрагенту води очищеної, 96 % етанолу та їх сумішей у концентрації етанолу 30, 50 та 70 %.

Результати проведених експериментів наведено в табл. 4.2 та проілюстровано на рис. 4.12.

Таблиця 4.2

Вміст екстрактивних речовин у листі та квітках целозії гребінчастої при екстракції водою, 96 % етанолом та їх сумішами ($m = 5$, $P < 0,05$)

Екстрагент	Вміст екстрактивних речовин, %	
	листя	квітки
Вода	$25,58 \pm 1,23$	$22,26 \pm 1,07$
30 % етанол	$21,42 \pm 1,05$	$20,59 \pm 0,99$
50 % етанол	$27,43 \pm 1,29$	$26,46 \pm 1,27$
70 % етанол	$25,88 \pm 1,24$	$27,86 \pm 1,31$
96 % етанол	$16,82 \pm 0,79$	$14,91 \pm 0,71$

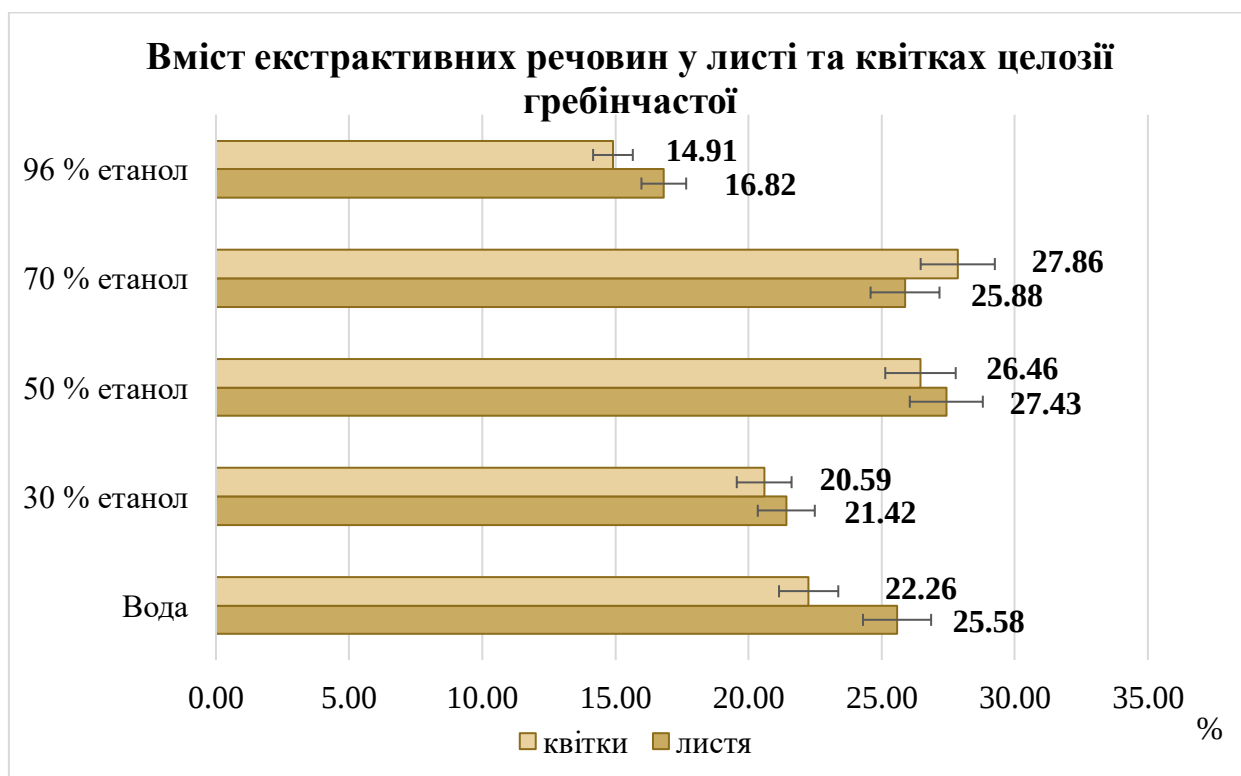


Рис. 4.12 Вміст екстрактивних речовин у листі та квітках целозії гребінчастої

Результати експерименту показали, що для целозії гребінчастої листя вміст екстрактивних речовин збільшувався при використанні екстрагентів у такому порядку: 96 % етанол – 30 % етанол – вода – 70 % етанол – 50 % етанол.

Для целозії гребінчастої квіток розподіл був дещо інший: 96 % етанол – 30 % етанол – вода – 50 % етанол – 70 % етанол. 50 та 70 % етанолом вилучалось порівняно більше БАР, ніж іншими екстрагентами. Проте, максимальна кількість екстрактивних речовин із листя целозії гребінчастої вилучалось 50 % етанолом ($27,43 \pm 1,29 \%$), із квіток – 70 % етанолом ($27,86 \pm 1,31 \%$) [7].

4.3 Стандартизація целозії гребінчастої листя

Для встановлення показників якості використовували по 5 серій целозії гребінчастої листя та целозії гребінчастої квіток. Усі зразки цієї сировини відповідали поставленим вимогам за морфологічними (Ідентифікація А) та анатомічними (Ідентифікація Б) діагностичними ознаками, показниками якості (Випробовування), якісним складом (Ідентифікація С) та кількісним вмістом гідроксикоричних кислот (для целозії гребінчастої листя) або флавоноїдів (для целозії гребінчастої квіток).

ЦЕЛОЗІЇ ГРЕБІНЧАСТОЇ ЛИСТЯ

Celosiae cristatae folia

Цілі або частково подрібнені листки *Celosia cristata* (L.) Kuntze з черешками

Вміст:

– *гідроксикоричні кислоти*: не менше 2,0 % у перерахунку на хлорогенову кислоту ($C_{16}H_{18}O_9$; *М.м.* 354,30) і суху сировину;

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Ідентифікація А. Цільні листки або їх частини лінійної або широкоовальної форми із клиноподібною основою і загостреною верхівкою, 3-5 см завдовжки та до 5 см завширшки. Листки голі, зеленого, буро-зеленого або бурого кольору. Тип жилкування перистий, жилки більше виступають із

нижнього боку. Листки короткочерешкові, черешок тонкий 1-3 см довжиною та 0,2 – 0,5 мм у діаметрі.

Ідентифікація В. На поперечному зрізі мають одношарову епідерму, два-три шари коленхіми і паренхіма, в якій розташовуються п'ять овальних провідних пучків закритого колатерального типу. У паренхімі зустрічаються клітини з друзами кальцію оксалату.

Листки амфістоматичного типу. Продихи еліпсоїдні, поверхневі, аномоцитного, іноді анізоцитного типу. На абаксіальній поверхні присутні залозисті трихоми. Вони складаються із 3-5 клітинної ніжки та одноклітинної секреторної голівки. Двоклітинні та багатоклітинні прості волоски зустрічаються на обох поверхнях листка. На адаксіальній поверхні присутні залозисті волоски з одноклітинною ніжкою та багатоклітинною голівкою.

На поперечному перерізі черешок целозії гребінчастої чашоподібної форми, ззовні вкритий однорядною епідермою з продихами аномоцитного типу та простими дво-три клітинними волосками. Під епідермою з адаксіального боку розташовані два-три шари коленхіми, яка потовщується з абаксіального боку. Провідна система утворюється п'ятьма провідними пучками закритого колатерального типу. Провідні пучки у паренхімі розташовуються у формі напівмісяця. Усі вони приблизно однакового розміру, овальної форми.

Ідентифікація С. *Тонкошарова хроматографія.*

Фенольні сполуки. Ідентифікацію фенольних сполук проводять методом ТШХ за методикою монографії «Липи квітки» ДФУ 2.0.3 [16].

Випробовуваний розчин. До 0,50 г подрібненої на порошок сировини додають 10 мл метанолу Р, нагрівають протягом 10 хв на водяній бані при температурі близько 60° С, охолоджують і фільтрують.

Розчин порівняння. 2,0 мг ФСЗ кверцетину Р, 2,0 мг ФСЗ рутину Р, і 2,0 мг ФСЗ хлорогенової кислоти Р розчиняють у 10 мл метанолу Р.

Пластика: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

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

Об'єм проб: 10 мкл, смугами.

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

Висушування: при температурі (100-105)°С протягом 5 хв.

Виявлення: теплу пластинку обприскують розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру *P* у метанолі *P*, потім розчином 50 г/л макроголу 400 *P* у метанолі *P*, після висихання переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: На хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння в УФ-світлі мають проявлятися зони у такій послідовності:

Верхня частина хроматограми	
кверцетин: оранжева флуоресціююча зона	оранжева флуоресціююча зона
хлорогенова кислота: блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона
рутин: жовто-коричнева флуоресціююча зона	жовто-коричнева флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

У середній частині хроматограми одна під одною мають проявлятися оранжева та блакитна флуоресціюючі зони кверцетину та хлорогенової кислоти. У

нижній частині хроматограми має проявлятися жовто-коричнева флуоресціююча зона рутину. На хроматограмах вище або нижче вказаних зон в УФ-світлі можуть проявлятися інші флуоресціюючі зони фіолетового, синього, блакитного або жовтого кольору.

ВИПРОБУВАННЯ

Екстрактивні речовини. Не менше 25,0 %. (За методикою монографії «Полин гіркий^N» 2.0.3 [18]).

Втрата в масі при висушуванні. Не більше 12,0 %.

Загальна зола. Не більше 8,0 %.

Зола, нерозчинна у хлористоводневій кислоті. Не більше 1,0 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Сума гідроксикоричних кислот. Визначення кількісного вміст проводять за методикою монографії «Кропиви листя» ДФУ 2.0.3 [16]. Повний текст методики наведено у додатку Б.

Кількісний вміст гідроксикоричних кислот у целозії гребінчастої листі має бути не менше 2,0 %.

4.4 Стандартизація целозії гребінчастої квіток

ЦЕЛОЗІЇ ГРЕБІНЧАСТОЇ КВІТКИ

Celosiae cristatae flores

Фрагменти суцвіття *Celosia cristata* (L.) Kuntze.

Вміст:

– *флавоноїди:* не менше 1,0 % у перерахунку на рутин ($C_{27}H_{30}O_{16}$; М.м. 611,0) і суху сировину;

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Ідентифікація А. Частини суцвіття завдовжки та завширшки до 5 см.

Суцвіття – гребенеподібний колос із бахромою, численними, дрібними квітками та бутонами, які щільно розташовуються на плоскому квітколожі. Бахрома складчаста, утворена з численними дрібними частками, схожими на приквітники, які мають кремову основу та яскраво-малинові загострені кінці. Яскраво-жовта смуга розділяє дві сторони бахром. Із цієї жовтої тканини відростають численні тонкі, дрібні волоски. Бутони веретеноподібні, квітки двостатеві, п'ятичленні правильні, пелюстки оцвітини вільні, вузькоеліптичні, видовжені, плівчасті, довжиною до 1 см, тичинки зрощені біля основи, зав'язь верхня, одногніздна, маточок 2-3, дуже короткі. Пильовики стрілоподібні, кремового кольору, маточки довгі, ниткоподібні, яскраво-рожевого кольору. Квіти розташовані віддалено на вузькому «краї» трикутної частини квітколожя.

Ідентифікація В. На епідермі чашечки квітки целозії гребінчастої з обох боків зрідка зустрічаються продихи аномоцитного типу. Судинні пучки чашолистків досягають верхівки та країв, у паренхімі присутні друзи. По краях і верхівці чашолистків виявлено дво-три клітинні, товстостінні, секреторні волоски та сосочкоподібні вирости епідерми. На зовнішній епідермі пелюстки зустрічаються дрібні головчасті волоски. Пилкові зерна дрібні, шароподібної форми з тонкою, щільною екзиною, однотипною по всій поверхні з невеликими виступами.

Ідентифікація С. *Тонкошарова хроматографія.*

Фенольні сполуки. Дослідження проводять за методикою монографії «Липи квітки» ДФУ 2.0.3 [13].

Випробовуваний розчин. До 0,50 г подрібненої сировини додають 10 мл метанолу *P*, нагрівають на водяній бані при температурі 60°C протягом 10 хв, охолоджують і фільтрують.

Розчин порівняння. 2,0 мг ФСЗ лютеоліну *P*, 2,5 мг ФСЗ рутину *P*, 2,5 мг і ФСЗ кофейної кислоти *P* розчиняють у 10 мл метанолу *P*.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю *P*.

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

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 ефіру Р у метанолі Р, потім розчином 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р, після висихання переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: На хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння в УФ-світлі мають проявлятися зони у такій послідовності:

Верхня частина хроматограми	
кофейна кислота: синя флуоресціююча зона	синя флуоресціююча зона
лютеолін: жовта флуоресціююча зона	жовта флуоресціююча зона
рутин: жовто-коричнева флуоресціююча зона	жовто-коричнева флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

У верхній частині хроматограми має проявлятися синя флуоресціююча зона кофейної кислоти, у середній частині – жовта флуоресціююча зона

лютеоліну. У нижній частині хроматограми має проявлятися жовто-коричнева флуоресціююча зона рутину. На хроматограмах вище або нижче вказаних зон в УФ-світлі можуть проявлятися інші флуоресціюючі зони фіолетового, синього, блакитного або жовтого кольору.

ВИПРОБУВАННЯ

Екстрактивні речовини. Не менше 25,0 %. (За методикою монографії «Полин гіркий^N» 2.0.3 [16]).

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

Загальна зола. Не більше 10,0 %.

Зола, нерозчинна у хлористоводневій кислоті. Не більше 1,0 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Сума флавоноїдів. Визначення кількісного вмісту флавоноїдів проводять за методикою, наведеною у монографії «Софори бутони» ДФУ 2.1 [17]. Повний текст методики наведено у додатку Б.

Кількісний вміст флавоноїдів у целозії гребінчастої квіток має бути не менше 1,0 %.

4.5 Розробка технології одержання целозії гребінчастої квіток екстракту густого

Для підбору оптимальних умов екстракції використовували метод математичного планування трифакторного експерименту. Як змінні чинники, що мають визначальний вплив на процес екстракції було обрано концентрацію етанолу, температуру екстракції та співвідношення сировини й екстрагента. Значення вихідних факторів встановлювали на верхньому, центральному та нижньому рівнях. Інтервали варіювання обраних факторів наведено у табл. 4.3.

Таблиця 4.3

Фактори та інтервали їх варіювання

Фактор	Нижній рівень (-1)	Основний рівень (0)	Верхній рівень (+1)	Інтервал варіювання
Концентрація етанолу (x_1)	0	48,00	96,00	48,00
Температура екстракції (x_2)	20,00	60,00	100,00	40,00
Співвідношення сировини й екстрагента (x_3)	0,05	0,20	0,35	0,15

Для надання якісної оцінки побудованого математичного плану як вихідний параметр оптимізації використовували кількісний вміст флавоноїдів у витяжках із целозії гребінчастої квіток.

Для забезпечення статистичної достовірності одержаних результатів проводили 10 дослідів за умов змінних факторів відповідно до матриці планування. Усі паралельні експерименти проводили у трикратній повторюваності, при цьому величина похибки була в межах 1-2 %. Матрицю планування трифакторного експерименту та вихідні параметри дослідів представлено в табл. 4.4.

Результати математичного планування за допомогою програмного забезпечення PlanEXp B-D13 проілюстровано на рис. 4.13.

Таблиця 4.4

Матриця планування експерименту та вихідні параметри дослідів

Номер дослідів (u)	Матриця планування			Натуральні значення змінних			Вихідний параметр (вміст флавоноїдів, %)		
	x1	x2	x3	Концентрація етанолу	Температура екстракції	Співвідношення сировини й екстрагента	y(u, 1)	y(u, 2)	y(u, 3)
1	-1,00	-1,00	-1,00	0	20,00	0,05	0,78	0,80	0,77
2	+1,00	-1,00	-1,00	96,00	20,00	0,05	1,91	2,96	2,92
3	-1,00	+1,00	-1,00	0	100,00	0,05	0,56	0,35	0,27
4	-1,00	-1,00	+1,00	0	20,00	0,35	2,72	2,53	1,81
5	-1,00	0,19	0,19	0	67,60	0,22	0,92	1,10	1,23
6	0,19	-1,00	0,19	57,12	20,00	0,22	2,82	2,90	3,17
7	0,19	0,19	-1,00	57,12	67,60	0,05	6,38	5,68	6,40
8	-0,29	+1,00	+1,00	34,08	100,00	0,35	5,93	6,20	6,71
9	+1,00	-0,29	+1,00	96,00	48,40	0,35	6,42	6,97	6,32
10	+1,00	+1,00	-0,29	96,00	100,00	0,15	5,69	4,76	5,50

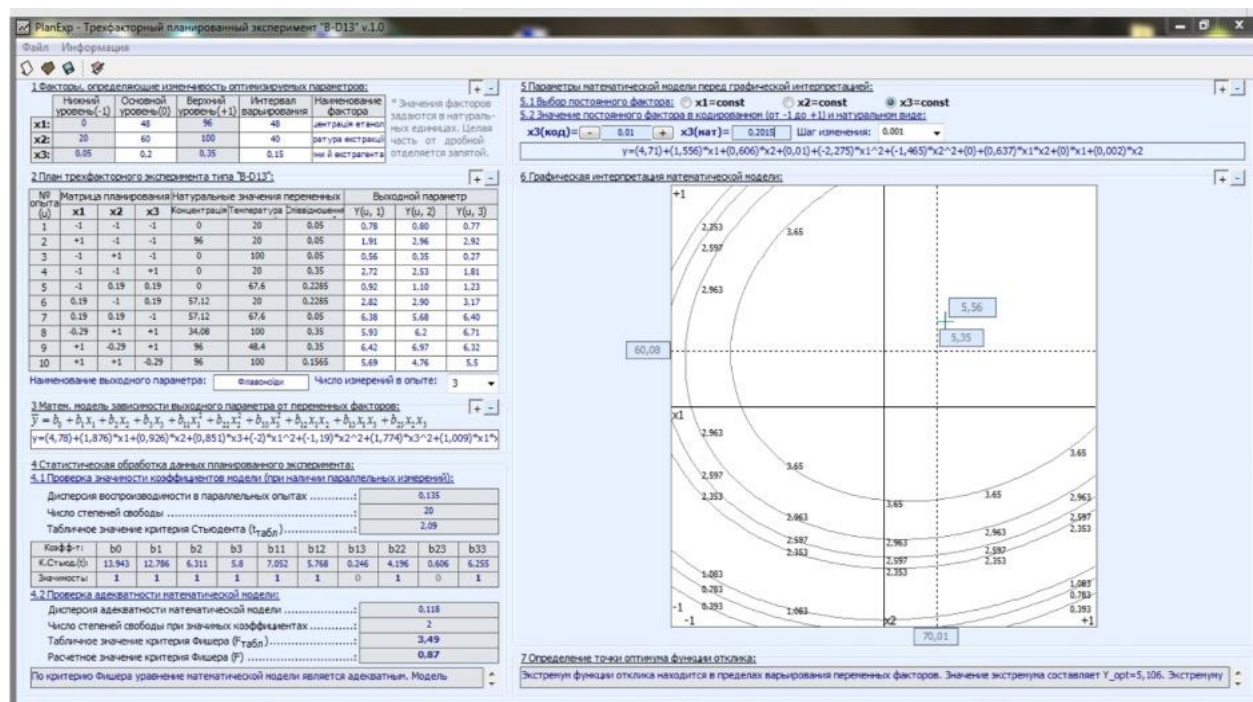


Рис. 4.13 Результати математичного планування за допомогою програмного забезпечення PlanExp B-D13

Для вираження функціональної залежності виходу флавоноїдів із целозії гребінчастої квіток від заданих чинників було розраховано коефіцієнти регресії рівняння математичної моделі, які наведено у табл. 4.5

Таблиця 4.5

Коефіцієнти регресії рівняння математичної моделі

Умовне позначення	Найменування	Значення
1	2	3
b_0	Вільний член	4,780
b_1	Лінійна залежність фактору концентрації етанолу	1,876
b_2	Лінійна залежність фактору температури екстракції	0,926
b_3	Лінійна залежність фактору співвідношення сировини й екстрагента	0,851
b_{11}	Квадратична залежність фактору концентрації етанолу	-2,000

1	2	3
b_{22}	Квадратична залежність фактору температури екстракції	-1,190
b_{33}	Квадратична залежність фактору співвідношення сировини й екстрагента	1,774
b_{12}	Лінійна взаємодія факторів концентрації етанолу та температури екстракції	1,009
b_{13}	Лінійна взаємодія факторів концентрації етанолу та співвідношення сировини й екстрагента	-0,043
b_{23}	Лінійна взаємодія факторів температури екстракції та співвідношення сировини й екстрагента	0,106

Таким чином, загальне рівняння математичної моделі залежності виходу флавоноїдів від змінних факторів має вигляд:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{12}X_1 X_2 + b_{13}X_1 X_3 + b_{23}X_2 X_3$$

З урахуванням коефіцієнтів регресії:

$$Y = (4,780) + (1,876) \times x_1 + (0,926) \times x_2 + (0,851) \times x_3 + (-2,000) \times x_1^2 + (-1,190) \times x_2^2 + (1,774) \times x_3^2 + (1,009) \times x_1 \times x_2 + (-0,043) \times x_1 \times x_3 + (0,106) \times x_2 \times x_3$$

За результатами математичного планування програмою було розраховано, що дисперсія відтворюваності у паралельних дослідах становила 0,135. При цьому, число ступенів свободи становило 20, а табличне значення критерію Стьюдента – 2,09.

Карта Парето (рис. 4.14) ілюструє статистичну значимість впливу лінійних та квадратичних чинників на процес екстракції флавоноїдів із квіток целозії гребінчастої.

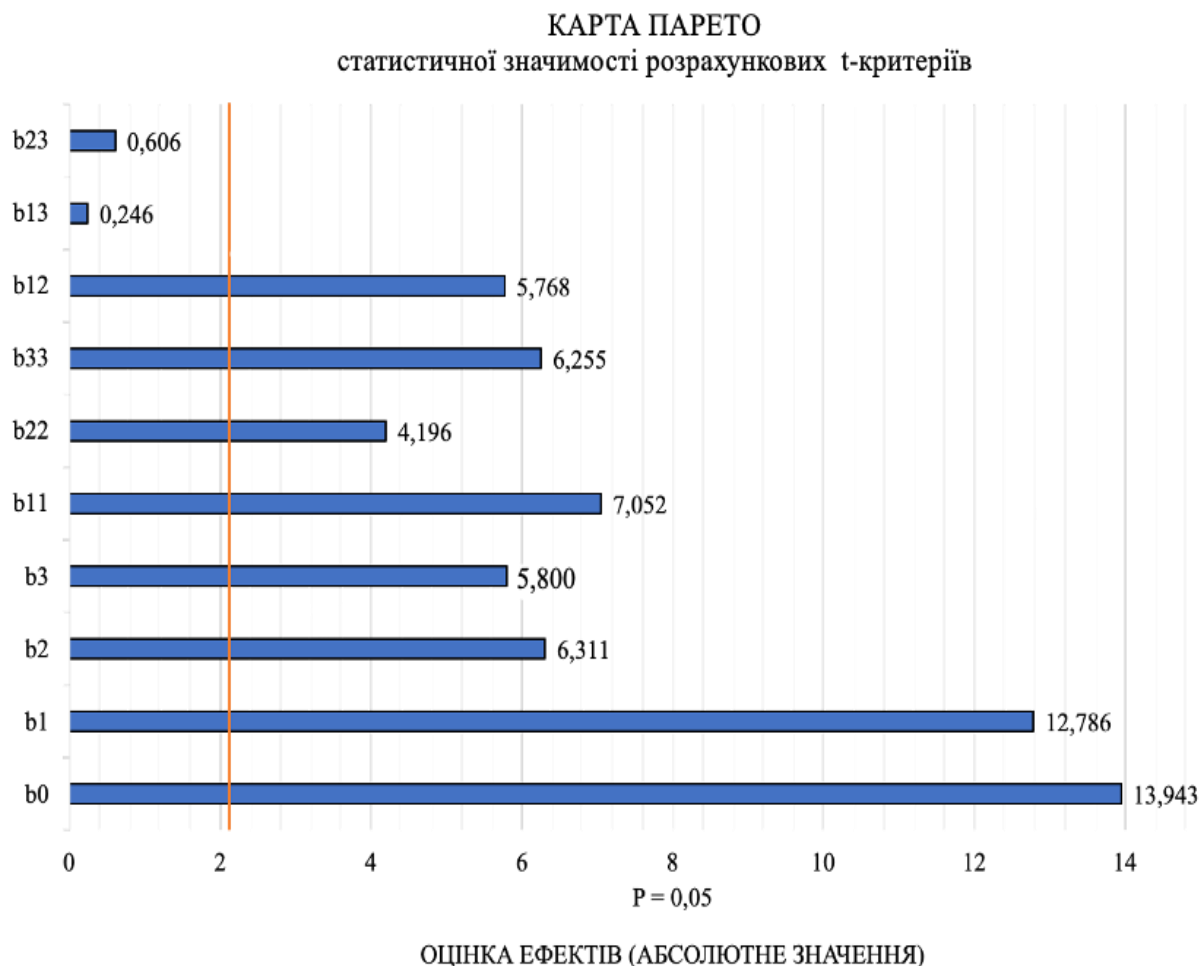


Рис. 4.14 Карта Парето значимості впливу факторів на вміст флавоноїдів у витяжках із целозії гребінчастої квіток

При порівнянні табличного та розрахункових значень критеріїв Стюдента встановлено, що статистичну значимість мають фактори лінійної та квадратичної концентрації етанолу, температури екстракції та співвідношення сировини й екстрагента, а також лінійної взаємодії факторів концентрації етанолу та температури екстракції, концентрації етанолу та співвідношення сировини й екстрагента.

Для визначення адекватності запропонованої моделі були розраховані дисперсія адекватності математичної моделі (0,118), число ступенів свободи

при значущих коефіцієнтах (2,00), табличне (3,49) та розрахункове (0,87) значення критерію Фішера. За критерієм Фішера рівняння математичної моделі є адекватним, а модель придатна для вирішення промислових задач.

За результатами математичного планування екстремум функції відгуку знаходився у межах варіювання змінних факторів. Прогнозоване значення екстремуму функції відгуку (Y) становило 5,56 % при значеннях факторів концентрації етанолу 78,48 %, температурі екстракції 66,32 °C та співвідношенні сировини й екстрагента 0,20 (або 1 : 5). Графічне зображення функції відгуку при сталому значенні фактору співвідношення сировини й екстрагента ($x_3 = \text{const} = 0,20$) представлено на діаграмі ліній сталого рівня на рис. 4.15.

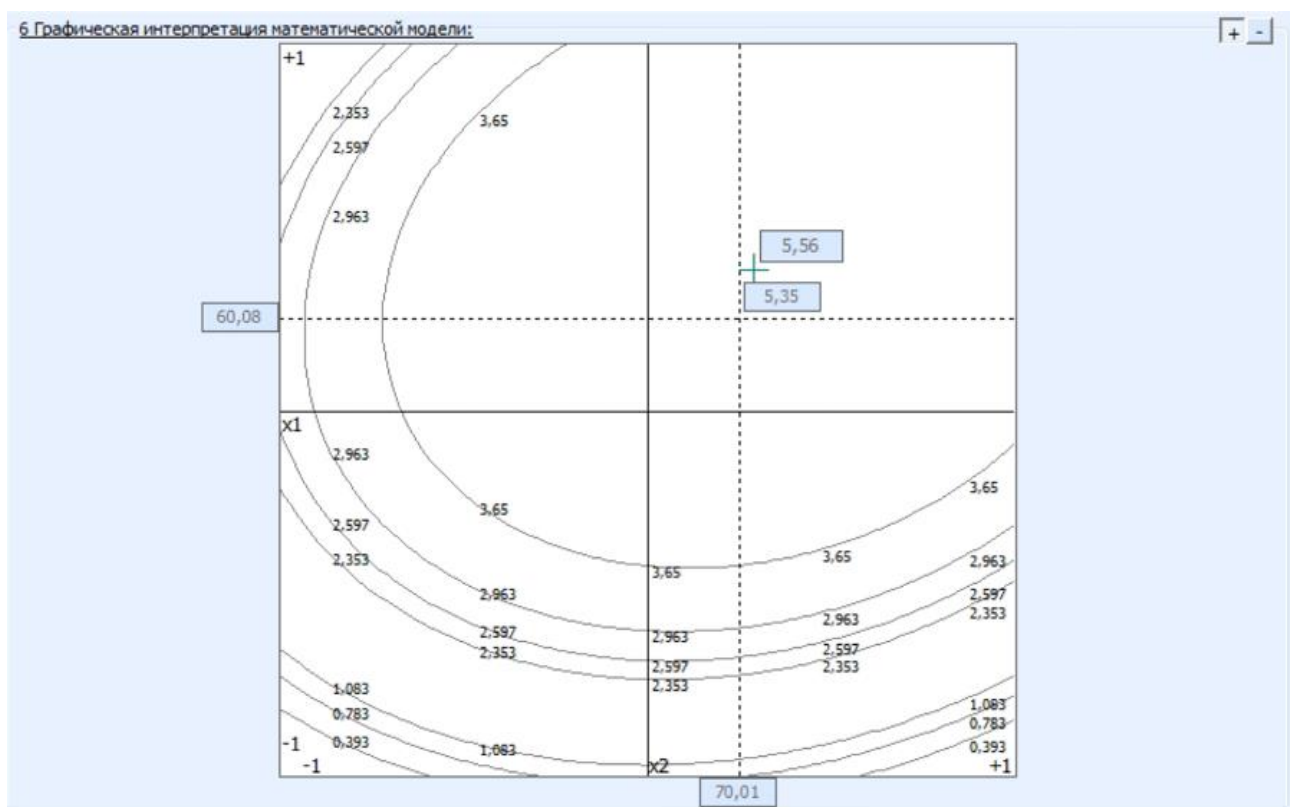


Рис. 4.15 Графічне зображення функції відгуку при сталому значенні фактору співвідношення сировини й екстрагента ($x_3 = \text{const} = 0,2$)

При сталому значенні фактору співвідношення сировини й екстрагента ($x_3 = \text{const} = 0,2$) рівняння математичної набувало вигляду:

$$Y = (4,780) + (1,876) \times x_1 + (0,926) \times x_2 + (-2,000) \times x_1^2 + (-1,190) \times x_2^2 + (1,009) \times x_1 \times x_2$$

Проте, враховуючи можливості проведення технологічного процесу екстракції у промислових умовах, досягти умов у точці екстремуму, які забезпечують максимальний вихід флавоноїдів, досить важко і вимагає додаткових економічних затрат. Тому, оптимальними умовами для одержання екстракту із квіток целозії гребінчастої було обрано максимально наближені значення, які легко відтворити у промислових умовах: концентрацію етанолу 70,00 %, температуру екстракції 60,00 °С, співвідношення сировини й екстрагента 0,20 (або 1 : 5). За таких умов, прогнозоване значення виходу флавоноїдів складало 5,35 %, що становило 96,22 % від максимального значення у точці екстремуму функції.

Для співставлення теоретичних результатів виходу флавоноїдів, одержаних у ході математичного планування та емпіричних даних було на практиці одержано 70,00 % етанольні витяжки із целозії гребінчастої квіток з дотриманням співвідношення сировини й екстрагента 1 : 5 та температури екстракції близько 60,00 °С. Витяжки одержували шляхом одно-, дво- та трикратної екстракції. Кількісний вміст флавоноїдів у одержаних витяжках вимірювали методом абсорбційної спектрофотометрії, використовуючи методику ДФУ. Результати дослідження показали, що вихід флавоноїдів із целозії гребінчастої квіток при однократній екстракції становив $5,02 \pm 0,12$ %, що становило 93,83 % від прогнозованого значення виходу флавоноїдів. При двократній екстракції вміст цих БАР у витяжках збільшувався до $5,11 \pm 0,13$ %, при трикратній сягав $5,19 \pm 0,13$ %. Оскільки, максимальний вихід флавоноїдів спостерігали при застосуванні трикратної екстракції, то оптимальними умовами для одержання екстракту із квіток целозії гребінчастої було обрано трикратну

екстракцію 70,00 % етанолом при температурі 60,00 °С та співвідношенні сировини й екстрагента 0,20 (або 1 : 5) [4].

Целозії гребінчастої квіток екстракт густий одержували шляхом екстракції 70 % етанолом методом дробної мацерації. Для одержання екстракту брали 1 частину сировини та 5 масо-об'ємних частин екстрагенту. Під час екстракції підтримували температуру водяної бані близько 60 °С. У подальшому одержані витяжки концентрували під зниженим тиском.

Екстракцію проводили у три етапі. На першому етапі враховували K_p , який становив 4,70 для 70 % етанолу. Тому, 100,0 г целозії гребінчастої квіток заливали 637 мл 70 % етанолу. Тривалість екстракції становила 1 год. Одержану витяжку охолоджували і фільтрували. Операцію повторювали ще двічі, беручи кожного разу по 167 мл 70 % етанолу. Одержані витяжки об'єднували і концентрували під зниженим тиском. Вихід готового продукту складав не менше 25 % від маси повітряно-сухих квіток целозії гребінчастої [27].

Целозії гребінчастої квіток екстракт густий – густа, в'язка маса темно-червоного кольору з коричневим відтінком із характерним, специфічним запахом. Одержаний екстракт легко розчинявся у воді, етилацетаті, бутанолі, 40 та 70 % етанолі, частково – у 96 % етанолі, майже не розчинявся у хлороформі та петролейному етері. Схему технологічного процесу одержання целозії гребінчастої квіток екстракту густого наведено на рис. 4.16.

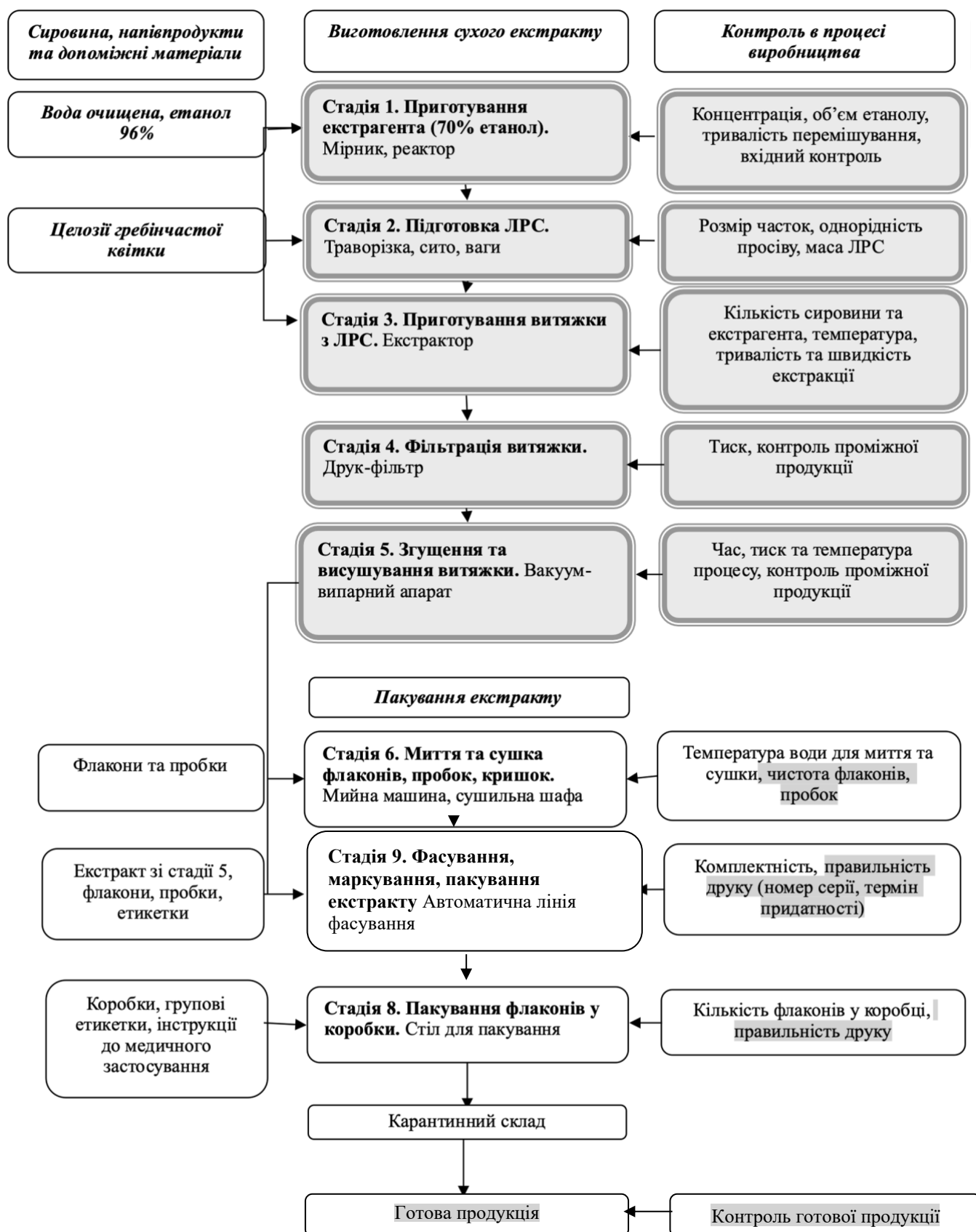


Рис. 4.16 Схема технологічного процесу одержання целозії гребінчастої квіток екстракту густого

4.6 Дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту БАР целозії гребінчастої квіток екстракту густого хроматографічними та спектральними методами

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту сполук фенольної природи у целозії гребінчастої квіток екстракті густому проводили методом ВЕРХ.

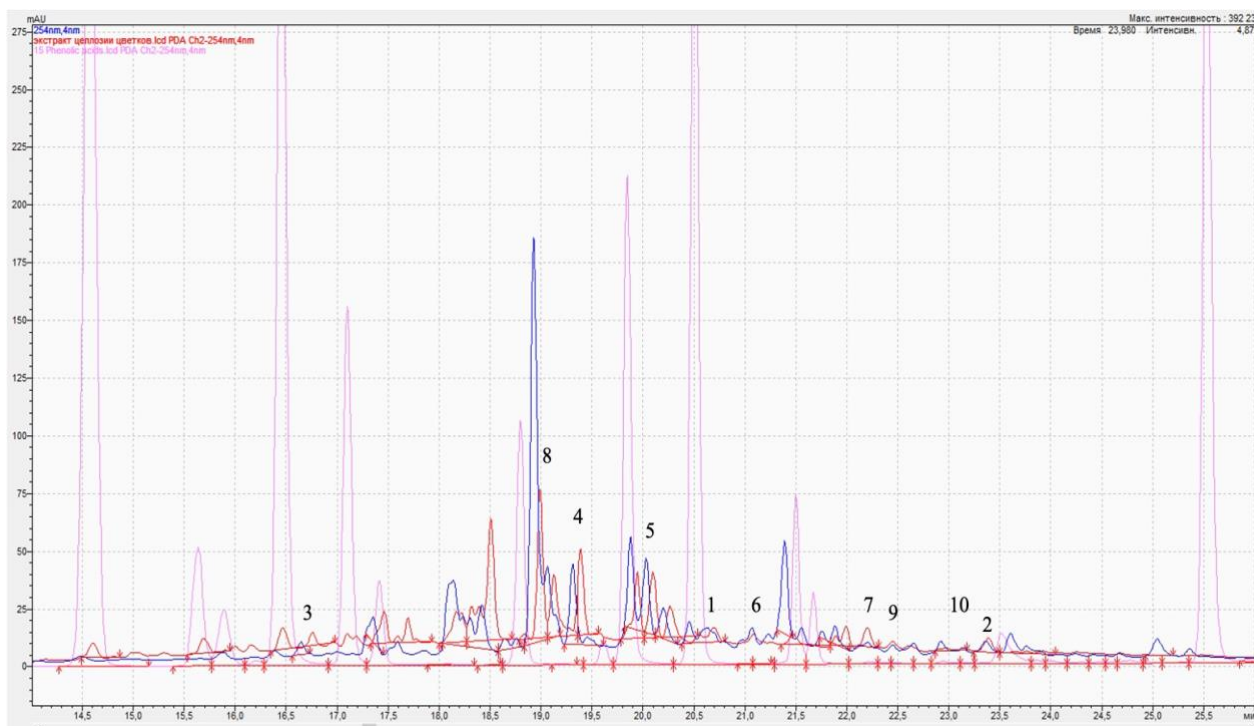


Рис. 4.17 ВЕРХ профіль фенольних сполук квіток целозії гребінчастої екстракту густого: 1 – вератрова кислота; 2 – саліцилова кислота; 3 – кофейна кислота; 4 – *n*-кумарова кислота; 5 – хлорогенова кислота; 6 – ферулова кислота; 7 – розмаринова кислота; 8 – рутин; 9 – лютеолін; 10 – кверцетин

За результатами експерименту у целозії гребінчастої квіток екстракті густому було виявлено та визначено вміст 10 сполук фенольної природи, серед яких було дві гідроксикарбонові кислоти (вератрова та саліцилова кислоти), 5 гідроксикоричних кислот (кофейна, *n*-кумарова, хлорогенова, ферулова та розмаринова кислоти) та 3 флавоноїди (рутин, лютеолін та кверцетин).

Кількісний вміст ідентифікованих речовин наведено у табл. 4.6.

Таблиця 4.6

**Вміст фенольних сполук у целозії гребінчастої квіток екстракті
густому (m=5, P < 0,05)**

Сполука	Час утримування	Вміст, мг/кг
Гідроксибензойні кислоти		
Вератрова кислота	20,50	45,65 ± 1,14
Саліцилова кислота	23,37	52,73 ± 1,31
Загалом гідроксибензойних кислот		98,38 ± 2,46
Гідроксикоричні кислоти		
Кофейна кислота	16,68	159,30 ± 3,98
<i>n</i> -Кумарова кислота	19,36	742,85 ± 11,07
Хлорогенова кислота	20,13	445,42 ± 8,63
Ферулова кислота	21,08	75,93 ± 1,90
Розмаринова кислота	22,18	220,72 ± 3,02
Загалом гідроксикоричних кислот		1644,22 ± 28,61
Флавоноїди		
Рутин	19,01	993,42 ± 14,84
Лютеолін	22,46	240,60 ± 6,02
Кверцетин	23,13	116,55 ± 2,76
Загалом флавоноїдів	—	1350,57 ± 33,61
Загалом ідентифікованих фенольних сполук		3093,17 ± 77,33

Загальний вміст ідентифікованих фенольних сполук у целозії гребінчастої квіток екстракті густому становив 3093,17 ± 77,33 мг/кг. Майже половина з них за вмістом становили гідроксикоричні кислоти (1644,22 ± 28,61 мг/кг). На вміст флавоноїдів (1350,57 ± 33,61 мг/кг) у досліджуваному екстракті припадало лише 44 % від загальної суми ідентифікованих сполук. Сумарний вміст обох ідентифікованих в екстракті гідроксибензойних кислот не перевищував 100 мг/кг.

Домінуючою фенольною сполукою у досліджуваному екстракті був рутин ($993,42 \pm 14,84$ мг/кг), що складало майже третину сумарного вмісту фенольних сполук. Лютеоліну ($240,60 \pm 6,02$ мг/кг) у досліджуваному зразку містилося майже в 4 рази менше, кверцетину – у 8,5 разів менше.

Серед гідроксикоричних кислот в екстракті превалювала *n*-кумарова кислота ($742,85 \pm 11,07$ мг/кг). На вміст цієї сполуки припадало близько 24 % від загального вмісту. Хлорогенової кислоти ($445,42 \pm 8,63$ мг/кг) у цьому екстракті містилося у 1,7 раз, менше. Вміст кофейної ($159,30 \pm 3,98$ мг/кг) та розмаринової ($220,72$ мг/кг) був майже на одному рівні. Співвідношення вмісту фенольних сполук у целозії гребінчастої квіток екстракті густому проілюстровано на рис. 4.18.



4.18. Вміст фенольних сполук у целозії гребінчастої квіток екстракті густому

Для стандартизації целозії гребінчастої квіток екстракту густого було досліджено його хімічний склад та визначено вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, поліфенольних та стероїдних сполук. Дослідження якісного складу фенольних сполук у целозії гребінчастої квіток екстракті густому проводили методом ТШХ у рухомих фазах № 1-3 у порівнянні з ФСЗ ДФУ гідроксикоричних кислот та флавоноїдів. На хроматограмах ці сполуки ідентифікували за відповідним кольором флуоресценції. При обробці хроматограм випробовуваного та стандартного розчинів реактивами А і Б інтенсивність флуоресціюючих зон посилювалась. Результати дослідження наведено на рис. 4.19.

Верхня частина хроматограми	
кемпферол: жовта флуоресціююча зона	жовта флуоресціююча зона
кофейна кислота: синя флуоресціююча зона	синя флуоресціююча зона
кверцетин: оранжева флуоресціююча зона	оранжева флуоресціююча зона
корична кислота: синя флуоресціююча зона	синя флуоресціююча зона
гіперозид: оранжева флуоресціююча зона	оранжева флуоресціююча зона
лютеолін: жовта флуоресціююча зона	жовта флуоресціююча зона
хлорогенова кислота: блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона
п-кумарова кислота: синя зона	
рутин: жовто-коричнева флуоресціююча зона	жовто-коричнева флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин (целозії гребінчастої квіток екстракт густий)

Рис. 4.19 ТШХ хроматограма фенольних сполук целозії гребінчастої квіток екстракту густого (рухома фаза: етилацетат – оцтова кислота льодяна – мурашина кислота – вода (100 : 11 : 11 : 27); проявник: 1 % розчин дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру в метанолі та 5 % розчин макрогону 400 в метанолі)

За результатами експерименту у целозії гребінчастої квіток екстракті густому було ідентифіковано 9 сполук, з яких чотири гідроксикоричні кислоти (хлорогенова, кофейна, корична, *n*-кумарова кислоти) та п'ять флавоноїдів (рутин, кверцетин, кемпферол, гіперозид та лютеолін).

Вміст поліфенольних сполук, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та стероїдних сполук визначали методом абсорбційної спектрофотометрії. Результати проведеного аналізу наведено у табл. 4.7.

Таблиця 4.7

Вміст БАР у целозії гребінчастої квіток екстракті густому ($m = 5$, $P < 0,05$)

БАР	Вміст, %
Поліфеноли (у перерахунку на пірогалол з урахуванням втрати в масі при висушуванні)	$18,95 \pm 0,47$
Гідроксикоричні кислоти (у перерахунку на хлорогенову кислоту з урахуванням втрати в масі при висушуванні)	$5,64 \pm 0,14$
Флавоноїди (у перерахунку на рутин з урахуванням втрати в масі при висушуванні)	$6,23 \pm 0,16$
Стероїдні сполуки (у перерахунку з урахуванням втрати в масі при висушуванні)	$1,17 \pm 0,03$

У результаті проведених досліджень встановлено, що у целозії гребінчастої квіток екстракті густому найбільше містилося поліфенольних сполук – $18,95 \pm 0,47$ %. Вміст гідроксикоричних кислот ($5,64 \pm 0,14$ %) та флавоноїдів ($6,23 \pm 0,16$ %) відрізнявся незначно і був майже втричі нижчий, ніж вміст поліфенольних сполук. Стероїдних сполук у досліджуваному екстракті містилося $1,17 \pm 0,03$ %.

Дослідження мінерального складу целозії гребінчастої квіток екстракту густого проводили методом ААС. У ході експерименту експерименту у досліджуваному екстракті ідентифіковано та визначено кількісний вміст 19 мінеральних елементів. Результати проведеного експерименту наведено в табл. 4.8.

**Мінеральний склад целозії гребінчастої квіток екстракту густого
($m = 5$, $P < 0,05$)**

Елемент	Вміст з урахуванням втрати в масі при висушуванні, мкг/100 г
1	2
Макроелементи	
Силіцій	505,00 ± 12,62
Фосфор	363,00 ± 9,08
Магній	644,00 ± 16,10
Кальцій	1733,00 ± 43,32
Натрій	103,00 ± 2,58
Калій	7946,00 ± 198,65
Загалом макроелементів	11294,00 ± 282,35
Мікроелементи	
Ферум	123,64 ± 3,09
Алюміній	50,80 ± 1,27
Манган	10,96 ± 0,27
Нікол	0,09 ± 0,01
Молібден	0,11 ± 0,01
Купрум	6,14 ± 0,15
Цинк	19,71 ± 0,49
Стронцій	5,50 ± 0,14
Загалом мікроелементів	216,95 ± 5,42
Сума мінеральних елементів	11510,95 ± 287,77
Вміст токсичних елементів	
Плюмбум	< 0,03
Кобальт	< 0,03

1	2
Кадмій	< 0,01
Арсен	< 0,01
Меркурій	< 0,01

За результатами експерименту, вміст мінеральних елементів у целозії гребінчастої квіток екстракті густому становив $11510,95 \pm 287,77$ мкг/ 100 г. За вмістом у досліджуваному зразку переважали макроелементи ($11294,00 \pm 282,35$ мкг/ 100 г). Мікроелементів у целозії гребінчастої квіток екстракті густому містилося $216,95 \pm 5,42$ мкг/100 г.

Серед макроелементів домінував калій ($7946,00 \pm 198,65$ мкг/ 100 г). На вміст цієї сполуки припадало 69 % від загального вмісту мінеральних елементів у цьому об'єкті. Кальцію ($1733,00 \pm 43,32$ мкг / 100 г) містилося майже у 4,6 рази менше. Силіцію ($505,00 \pm 12,62$ мкг / 100 г) та магнію ($644,00 \pm 16,10$ мкг / 100 г) у целозії гребінчастої квіток екстракті густому містилося майже однакова кількість.

Превалюючим мікроелементом був ферум ($123,64 \pm 3,09$ мкг/100 г), що складало майже дві третини від сумарного вмісту мікроелементів у цьому зразку. Вміст алюмінію ($50,80 \pm 1,27$ мкг/ 100 г) у целозії гребінчастої квіток екстракті густому був у 2,4 рази нижчим. Також у досліджуваному екстракті відмічено значний вміст цинку ($19,71 \pm 0,49$ мкг/ 100 г), мангану ($10,96 \pm 0,27$ мкг/ 100 г), купруму ($6,14 \pm 0,15$ мкг/ 100 г) та стронцію ($5,50 \pm 0,14$ мкг/ 100 г).

Відповідно до вимог ДФУ щодо вмісту важких металів у ЛРС та екстрактах на рослинній основі, вміст цих речовин у целозії гребінчастої квіток екстракті густому знаходився в допустимих межах [18].

Співвідношення мінеральних елементів у целозії гребінчастої квіток екстракті густому наведено на рис. 4.20.

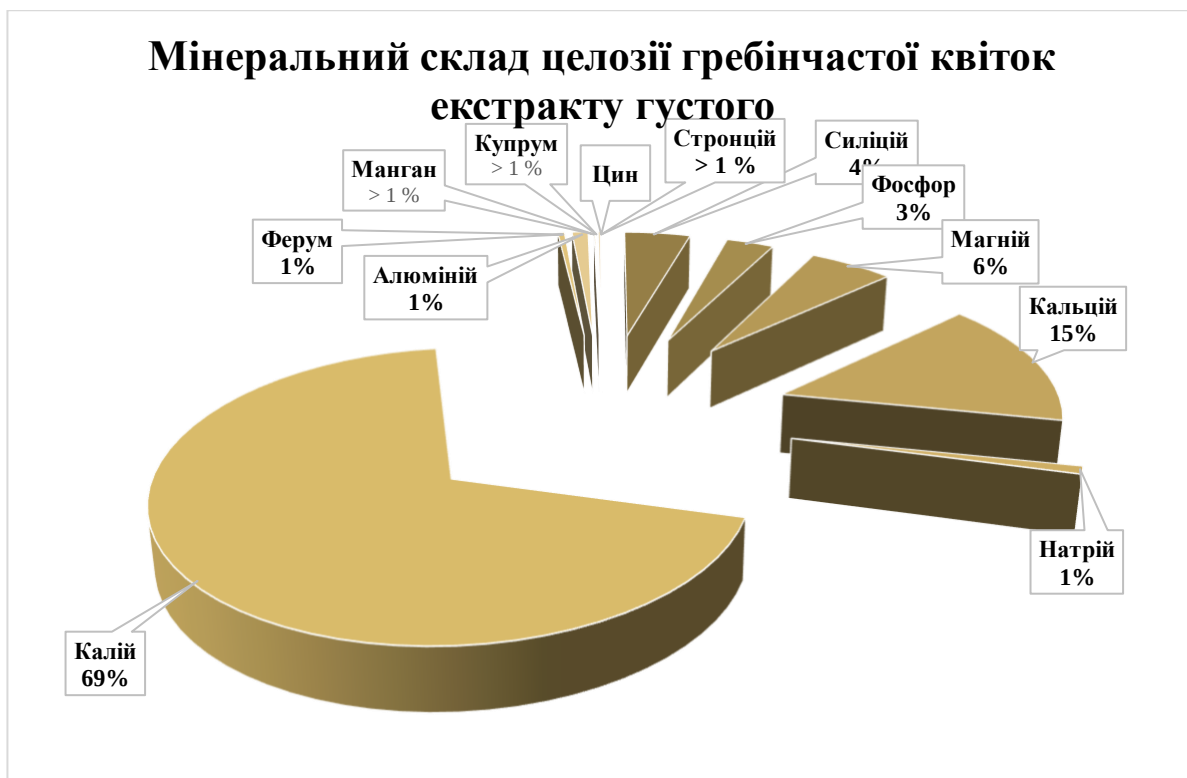


Рис. 4.20 Співвідношення мінеральних елементів у целозії гребінчастої квіток екстракті густому

4.7 Стандартизація целозії гребінчастої квіток екстракту густого

Стандартизацію целозії гребінчастої квіток екстракту густого проводили на 5 серіях екстракту, одержаного в лабораторних умовах. Досліджувані зразки відповідали поставленим критеріям за органолептичними показниками та показниками якості (Випробування), якісним складом фенольних сполук та кількісним вмістом флавоноїдів.

ЦЕЛОЗІЇ ГРЕБІНЧАСТОЇ КВІТОК ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ

Celosiae cristatae florum extractum spissum

Густа, в'язка маса темно-червоного кольору з коричневим відтінком і специфічним запахом.

Вміст:

– флавоноїди: не менше 5,0 % у перерахунку на рутин ($C_{27}H_{30}O_{16}$; М.м. 611,0) з урахуванням втрати в масі при висушуванні;

ВИРОБНИЦТВО

Для виготовлення густого екстракту використовують 1 частину целозії гребінчастої квіток та 5 частин етанолу (70%, об/об) Р. Екстракт готують методом дробної мацерації при температурі близько 60°C та висушують витяжку під зниженим тиском.

ВИПРОБУВАННЯ

Втрата в масі при висушуванні. Не більше 20,0 %. Визначення втрати в масі при висушуванні екстракту проводять за методикою, наведеною в загальній статті «Визначення втрати в масі при висушуванні екстрактів» ДФУ 2.0.1 [18].

Сухий залишок. не менше 80 % [18].

Загальна зола. Не більше 12,0 %. Визначення загальної золи проводять за методикою, наведеною в загальній статті «Загальна зола» ДФУ 2.0.1 [18].

Вміст важких металів. Не більше 0,01 %. Визначення вмісту важких металів проводять за методикою, наведеною в загальній статті «Важкі метали» ДФУ 2.0.1 [18].

Мікробіологічна чистота. В 1 г екстракту допускається наявність не більше 1000 бактерій і 100 дріжджових та пліснявих грибів (у сумі). Не допускається наявність штамів *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonellas spp.*

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

С. Тонкошарова хроматографія.

Ідентифікацію С проводять за методикою, наведеною у монографії «Липи квітки» ДФУ 2.0.3 [16].

Випробовуваний розчин. 0,2 г розчиняють у 5 мл метанолу Р з використанням ультразвуку та подальшим центрифугуванням протягом 5 хв.

Розчин порівняння. 2,0 мг кофейної кислоти Р, 2,0 мг лутеоліну Р, 2,0 мг кверцетину Р та 2,0 мг рутину Р розчиняють у 10 мл метанолу Р.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

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

Об'єм проб: 5 мкл, смугами 8 мм.

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

Висушування: на повітрі.

Виявлення: нагрівають протягом 5 хв при температурі 100-105°C, обробляють розчином 1 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р в етилацетаті Р, потім розчином 5 г/л макрогону 400 Р у метиленхлориді Р і висушують на повітрі протягом 30 хв. Переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: на хроматограмі зони мають проявлятися у такій послідовності:

Верхня частина хроматограми	
кофейна кислота: синя флуоресціююча зона	синя флуоресціююча зона
кверцетин: оранжева флуоресціююча зона	оранжева флуоресціююча зона
лютеолін: жовта флуоресціююча зона	жовта флуоресціююча зона
рутин: жовто-коричнева флуоресціююча зона	жовто-коричнева флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

У верхній частині хроматограми випробовуваного розчину в УФ-світлі мають проявлятися синя флуоресціююча зона кофейної кислоти та оранжева флуоресціююча зона кверцетину. У середній частині хроматограми має

проявляться зона із жовтою флуоресценцією, яка відповідає зоні лютеоліну. У нижній частині хроматограми має проявляться зона рутину із жовто-коричневою флуоресценцією. Вище та нижче описаних зон можуть проявляться інші зони із синьою, фіолетовою, блакитною, оранжевою та жовтою флуоресценцією.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Сума флавоноїдів. Кількісне визначення вмісту флавоноїдів проводять за методикою монографії «Софори бутони» ДФУ 2.1, використовуючи для аналізу 0,2 г целозії гребінчастої екстракту густого попередньо розчиненого у 25 мл 70 % етанолу [17]. Повний текст методики наведено у додатку Б.

Кількісний вміст флавоноїдів у целозії гребінчастої квіток екстракті густому має бути не менше 5,0 %.

4.8 Обговорення протимікробної активності целозії гребінчастої квіток екстракту густого

Протимікробну активність целозії гребінчастої квіток екстракту густого досліджували *in vitro* методом дифузії в агар. Результати проведеного експерименту наведено у табл. 4.9.

Таблиця 4.9

Протимікробна активність целозії гребінчастої квіток екстракту густого (m = 5, P < 0,05)

Мікроорганізм	Діаметр зони затримки росту, мм			
	Концентрація целозії гребінчастої квіток екстракт густий, %			70 % етанол
	1	5	10	
1	2	3	4	5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	16,68 ± 0,82	18,33 ± 0,84	21,00 ± 1,01	14,67 ± 0,68

1	2	3	4	5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	15,71 ± 0,74	17,67 ± 0,85	19,00 ± 0,89	14,00 ± 0,60
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	Ріст	13,27 ± 0,61	15,33 ± 0,71	13,67 ± 0,44
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	13,00 ± 0,61	15,30 ± 0,72	18,00 ± 0,85	13,33 ± 0,44
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	17,00 ± 0,82	19,31 ± 0,93	21,00 ± 0,99	15,00 ± 0,68
<i>Candida albicans</i> ATCC 885/653	14,65 ± 0,70	16,33 ± 0,80	18,69 ± 0,90	13,00 ± 0,48

Результати аналізу показали, що *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* були чутливими до дії целозії гребінчастої квіток екстракту густого в усіх досліджуваних концентраціях. *Pseudomonas aeruginosa* та *Candida albicans* були чутливими до целозії гребінчастої квіток екстракту густого лише у концентрації 5 та 10 %, а *Proteus vulgaris* – лише у концентрації 10 %. При цьому, *Pseudomonas aeruginosa* та *Candida albicans* були малочутливими до дії 1 % целозії гребінчастої квіток екстракту густого. Також у цій концентрації досліджуваний екстракт не затримував ріст *Proteus vulgaris*.

Порівнюючи зони затримки росту досліджуваних штамів мікроорганізмів при використанні різних концентрації целозії гребінчастої квіток екстракту густого із їх зонами затримки росту при використанні 70 % етанолу, який використовували як екстрагент при одержанні екстракту, було встановлено, що у концентрації 5 та 10 % целозії гребінчастої квіток екстракт густий пригнічував ріст усіх цих мікроорганізмів на рівні із 70 % етанолом або перевищував його показники. У концентрації 1 % целозії гребінчастої квіток екстракт густий був ефективніший за екстрагент лише по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* та *Candida albicans*.

Найвищі зони затримки росту усіх штамів було зафіксовано при використанні 10 % целозії гребінчастої квіток екстракту густого. Найчутливішими до дії целозії гребінчастої квіток екстракту густого у зазначеній концентрації були *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis*, зона затримки росту яких становила $21,00 \pm 1,01$ мм.

Висновки до розділу 4

1. Досліджено морфолого-анатомічну будову перспективних видів сировини целозії гребінчастої листя та целозії гребінчастої квіток. Для обох зразків сировини встановлено макро- та мікроскопічні діагностичні ознаки. Діагностичне значення для целозії гребінчастої листя мали такі характерні ознаки як амфістоматичний тип листкової пластинки, аномоцитний (іноді анізоцитний) тип продихового апарату, наявність двох типів залозистих трихом (перший тип з 3-5 клітинною ніжкою і одноклітинною секреторною голівкою та другий тип з одноклітинною ніжкою та багатоклітинною голівкою), простих багатоклітинних волосків на епідермі листкової пластинки та черешка, присутність у паренхімі клітин з друзами кальцію оксалату та п'яти провідних пучків закритого колатерального типу, які в паренхімі черешка розташовуються напівколом. Відмінними діагностичними ознаками целозії гребінчастої квіток були продихи аномоцитного типу та дрібні головчасті волоски на зовнішній епідермі пелюсток, дво-три клітинні, товстостінні, секреторні волоски та сосочкоподібні вирости епідерми по краях і верхівці чашолистків, судинні пучки чашолистків, які досягають їх верхівки та країв, друзи кальцію оксалату у паренхімі та дрібні, шароподібної форми пилкові зерна.
2. Встановлено основні показники якості целозії гребінчастої лист та

целозії гребінчастої квіток (втрату в масі при висушуванні сировини, вміст загальної золи та золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті) та вміст екстрактивних речовин при екстракції водою, етанолом та їх сумішами з різною концентрацією етанолу. Вищі показники втрати в масі при висушуванні сировини (9,70 %) та вмісту золи, нерозчинної в хлористоводневій кислоті (0,27 %) відмічено для целозії гребінчастої листя, вміст загальної золи (8,77 %) – для целозії гребінчастої квіток. Найбільша кількість екстрактивних речовин із целозії гребінчастої листя вилучалось 50 % етанолом (27,43 %), із квіток – 70 % етанолом (27,86 %).

3. Розроблено проекти МКЯ «Целозії гребінчастої листя» та «Целозії гребінчастої квітки». Ці види сировини запропоновано стандартизувати за морфолого-анатомічними діагностичними ознаками, показниками якості сировини, якісним складом сполук фенольної природи, а також кількісним вмістом гідроксикоричних кислот (для целозії гребінчастої листя) або флавоноїдів (для целозії гребінчастої квіток).
4. Методом математичного планування, вихідним параметром для якісної оцінки екстракції в якому було обрано вихід флавоноїдів, здійснено підбір оптимальних умов одержання целозії гребінчастої квіток екстракту густого. Розрахункові дані показали, що такими умовами були трикратна екстракція 70,00 % етанолом при співвідношенні сировини й екстрагенту 1 : 5 протягом однієї години при підтриманні температури екстракції близько 60,00°C. Такі умови дозволяли вилучати із целозії гребінчастої квіток 5,19 % флавоноїдів, що становило 97 % від максимального прогнозованого значення (5,35 %). Вихід готового продукту при цьому був не менше 25 %.
5. Одержано целозії гребінчастої квіток екстракт густий, досліджено його якісний хімічний склад та визначено вміст сполук фенольної,

стероїдної природи та мінеральних елементів. Методом ТШХ в одержаному екстракті ідентифіковано 9 сполук, з яких чотири гідроксикоричні кислоти (хлорогенова, кофейна, корична, *n*-кумарова кислоти) та п'ять флавоноїдів (рутин, кверцетин, кемпферол, гіперозид та лютеолін).

6. Методом ВЕРХ у целозії гребінчастої квіток екстракті густому ідентифіковано 10 сполук фенольної природи серед яких було дві гідроксикарбонові кислоти (вератрова та саліцилова кислоти), 5 гідроксикоричних кислот (кофейна, *n*-кумарова, хлорогенова, ферулова та розмаринова кислоти) та 3 флавоноїди (рутин, лютеолін та кверцетин). Загальний вміст ідентифікованих фенольних сполук у целозії гребінчастої квіток екстракті густому становив 3093,17 мг/кг. Домінуючою фенольною сполукою у цьому екстракті був рутин (993,42 мг/кг), серед гідроксикоричних кислот превалювала *n*-кумарова кислота (742,85 мг/кг).
7. Методом ААС у целозії гребінчастої квіток екстракті густому визначено вміст мінеральних елементів та важких металів. Загальний вміст мінеральних елементів у целозії гребінчастої становив 11510,95 мкг/ 100 г. Серед макроелементів домінував калій (7946,00 мкг/ 100 г). Превалюючим мікроелементом був ферум (123,64 мкг/100 г). Також у досліджуваному екстракті відмічено значний вміст цинку, мангану, купруму та стронцію. За вимогами ДФУ вміст важких металів у целозії гребінчастої квіток екстракті густому знаходився в допустимих межах.
8. Методом абсорбційної спектрофотометрії у целозії гребінчастої квіток екстракті густому визначено вміст поліфенолів (18,95 %), гідроксикоричних кислот (5,64 %), флавоноїдів (6,23 %) та стероїдних сполук (1,17 %).
9. На основі проведених досліджень розроблено проєкти МКЯ «Целозії гребінчастої квіток екстракт густий», який запропоновано

стандартизувати за якісним складом фенольних сполук (кофейної кислоти, кверцетину, лютеоліну та рутину) та кількісним вмістом флавоноїдів (не менше 5 %).

10. Методом дифузії в агар досліджено протимікробну активність целозії гребінчастої квіток екстракту густого у концентрації 1, 5 та 10 %. Як референтний зразок використовували екстрагент – 70 % етанол. У концентрації 5 та 10 % целозії гребінчастої квіток екстракт густий пригнічував ріст усіх досліджуваних штамів мікроорганізмів на рівні із 70 % етанолом або перевищував його показники. У концентрації 1 % целозії гребінчастої квіток екстракт густий був ефективніший за екстрагент лише по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* та *Candida albicans*. Найвищі зони затримки росту усіх штамів було зафіксовано при використанні 10 % целозії гребінчастої квіток екстракту густого. Найчутливішими до дії целозії гребінчастої квіток екстракту густого у цій концентрації були *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis*, зона затримки росту яких становила 21,00 мм.

Результати експериментальних досліджень розділу наведено у таких публікаціях:

1. Дейнека А. С., Журавель І. О. Розробка технології одержання екстракту із квіток целозії гребінчастої шляхом застосування методу математичного планування експерименту. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 2. С. 41-46. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6634779> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обговоренні та узагальненні результатів дослідження, підготовці статті до друку).
2. Процька В. В., Петкова І. Б., Унгурян Л. М., Алрікабі А. Я., Саррай Д. Х.А., Дейнека А. С., Горяча Л. М., Журавель І. О.

Спосіб одержання екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією: пат. на кор. мод. 149093 Україна. № u 202105118; заявл. 10.09.2021; опубл. 13.10.2021; Бюл. No 41. (Особистий внесок – огляд джерел літератури, проведення патентного пошуку, одержання та стандартизація екстракту з квіток целозії гребінчастої).

3. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Визначення числових показників якості сировини целозії гребінчастої згідно вимог ДФУ. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (м. Харків, 11 березня 2020 р.). Х.: НФаУ, 2020. С. 57.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено експериментальне вирішення наукової задачі, яка полягає у комплексному порівняльному фармакогностичному дослідженні коренів, листя, стебел та квіток целозії гребінчастої, розробці параметрів стандартизації сировини та одержанні екстракту на основі сировини цієї рослини, вивченню його хімічного складу та стандартизації одержаного екстракту.

1. Методами ПХ та ТШХ у коренях, листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої ідентифіковано кемпферол, кверцетин, гіперозид, ферулову, кофейну, коричну та хлорогенову, яблучну, винну, лимонну, бензойну кислоти, тирозин, лейцин, глютамінову та аспарагінову кислоти, β -амірин, стигмастерол, β -ситостерол, глюкозу, рамнозу, галактозу до гідролізу, а також ксилозу, арабінозу, фруктозу, рамнозу, манозу, глюкозу та галактозу після гідролізу. Крім того, у листі та квітках було виявлено лютеолін, рутин, *p*-кумарову, саліцилову, олеанолову кислоти, валін, лізин та фенілаланін.

2. Методом ВЕРХ у квітках целозії гребінчастої ідентифіковано 11, у коренях та стеблах – по 8, у листі – 12 сполук фенольної природи. Найбільше фенольних сполук містилося у листі целозії гребінчастої – 2793,32 мг/кг. Домінуючими сполуками квіток целозії гребінчастої були рутин (343,73 мг/кг) та *n*-кумарова кислота (866,70 мг/кг). Превалюючими сполуками листя целозії гребінчастої були кофейна кислота (561,34 мг/кг), кверцетин (579,76 мг/кг) і кемпферол (561,04 мг/кг). У стеблах целозії гребінчастої домінував кверцетин (271,59 мг/кг), у коренях – ферулова кислота (81,20 мг/кг).

Методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії в усіх досліджуваних об'єктах ідентифіковано 18 амінокислот, з яких 9 – незамінні. Максимальна кількість амінокислот (85,61 мг/кг) накопичувалася у листі целозії гребінчастої. Домінуючими амінокислотами у листі, стеблах та квітках целозії гребінчастої були аспарагінова та глютамінова кислоти, у коренях

превалював пролін. Серед незамінних амінокислот у коренях, листі та квітках целозії гребінчастої преважав лейцин, у стеблах – треонін.

3. Жирнокислотний склад сировини целозії гребінчастої вивчали методом ГХ. В усіх зразках сировини ідентифіковано по 12 жирних кислот. Серед насичених жирних кислот в усіх досліджуваних зразках домінувала пальмітинова кислота. У коренях, стеблах та квітках преважуючою ненасиченою жирною кислотою була ліолева кислота, у листі – ліоленова кислота.

Методом ААС в усіх зразках сировини целозії гребінчастої ідентифіковано та визначено вміст 19 мінеральних елементів. Найбільша кількість мінеральних елементів накопичувалася у листі целозії гребінчастої – 11580,54 мкг/ 100 г. Серед макроелементів в усіх досліджуваних зразках сировини целозії гребінчастої переважав калій. Домінуючими мікроелементами у коренях, листі та стеблах целозії гребінчастої були ферум та алюміній. Преважуючим мікроелементом у стеблах цієї рослини був цинк (5,70 мкг/ 100 г). Вміст важких металів в усіх зразках був у межах норми для ЛРС за вимогами ДФУ.

Методом абсорбційної спектрофотометрії у сировині целозії гребінчастої визначено кількісний вміст флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, поліфенольних сполук, суми вільних амінокислот, хлорофілу а, хлорофілу b, каротиноїдів, стероїдних речовин, алкаліметрії – органічних кислот, гравіметрії – полісахаридів. Результати дослідження показали, що найбільше флавоноїдів (1,49 %) та стероїдних речовин (0,34 %) накопичувалося у квітках целозії гребінчастої, гідроксикоричних кислот (2,45 %), поліфенольних сполук (4,12 %), органічних кислот (7,36 %), вільних амінокислот (2,28 %), хлорофілів (580,29 мг/г), каротиноїдів (493,51 мг/г) та полісахаридів (19,75 %) – у листі цієї рослини.

4. Результати якісного та кількісного аналізу показали, що листя та квітки целозії гребінчастої мали найрізноманітніший хімічний склад. Встановлено, що більша кількість БАР накопичувалася цих видах сировини.

Тому для подальших досліджень з розробки лікарських засобів були обрані листя та квітки целозії гребінчастої.

5. Для обох видів сировини було визначено показники якості, досліджено морфолого-анатомічну будову та встановлено їх діагностичні ознаки. Діагностичне значення для целозії гребінчастої листя мали такі характерні ознаки як аномоцитний (іноді анізоцитний) тип продихового апарату, наявність двох типів залозистих трихом, простих багатоклітинних волосків та включень у вигляді друз кальцію оксалату. Відмінними діагностувальними рисами целозії гребінчастої квіток були продихи аномоцитного типу, головчасті волоски на зовнішній епідермі пелюсток, секреторні волоски та сосочкоподібні вирости епідерми по краях і верхівці чашолистків, включення у вигляд друз кальцію оксалату, а також судинні пучки чашолистків, які досягають їх верхівки та країв.

6. Методом математичного планування здійснено підбір оптимальних умов одержання целозії гребінчастої квіток екстракту густого. Як вихідний параметр для оцінки якості екстракції був вихід флавоноїдів. Оптимальними умовами для одержання лікарського засобу із квіток целозії гребінчастої були трикратна екстракція 70 % при співвідношенні сировини й екстрагенту 1 : 5 протягом однієї години при підтриманні температури екстракції близько 60 °С. Дотримання зазначених умов дозволило вилучати 5,19 % флавоноїдів із квіток целозії гребінчастої, що становило 97 % від максимального прогнозованого значення. Вихід готового продукту був не менше 25 %.

Проведено фітохімічне дослідження целозії гребінчастої квіток екстракту густого. Методом ВЕРХ у досліджуваному об'єкті ідентифіковано 10 сполук фенольної природи, загальний вміст яких становив 3093,17 мг/кг. Домінуючою фенольною сполукою у цьому екстракті був рутин (993,42 мг/кг), серед гідроксикоричних кислот превалювала *n*-кумарова кислота (742,85 мг/кг). Методом ТШХ у целозії гребінчастої квіток екстракті густому ідентифікували хлорогенову, кофейну, коричну, *n*-кумарову кислоти, рутин, кверцетин, кемпферол, гіперозид та лютеолін. Методом абсорбційної спектрофотометрії

встановлено вміст поліфенолів (18,95 %), гідроксикоричних кислот (5,64 %), флавоноїдів (6,23 %) та стероїдів (1,17 %) у цьому екстракті. Методом ААС досліджено мінеральний склад целозії гребінчастої квіток екстракту густого та встановлено, що вміст важких металів у ньому знаходився в допустимих межах згідно вимог ДФУ.

7. Розроблено критерії стандартизації та запропоновано проєкти МКЯ «Целозії гребінчастої листя», «Целозії гребінчастої квітки», «Целозії гребінчастої квіток екстракт густий».

8. Протимікробну активність целозії гребінчастої квіток екстракту густого у концентрації 1, 5 та 10 % вивчали методом дифузії в агар. Як референтний зразок використовували екстрагент – 70 % етанол. У концентрації 5 та 10 % целозії гребінчастої квіток екстракт густий пригнічував ріст усіх досліджуваних штамів мікроорганізмів на рівні із 70 % етанолом або перевищував його показники. Найчутливішими до дії 10 % розчину целозії гребінчастої квіток екстракту густого були *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis*.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Визначення кількісного вмісту суми стероїдних сполук у сировині целозії гребінчастої / А. С. Дейнека, Д. М. Єгоркіна, В. В. Процька, І. О. Журавель. *Актуальні питання: «здоров'я і довголіття – фундаментальні і клінічні дослідження, впровадження. комплементарні методи, як здоровий спосіб життя: науковий симпозіум з міжнародною участю, залученням молодих вчених, студентів.* (м. Київ, 22-23 жовтня 2021). Київ. 2021. С. 90-91.
2. Гур'єва І. Г. Кількісне визначення суми стероїдних сполук у сировині тифону. Зб. наук. праць співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика. 2014. № 23 (4). С. 267–270.
3. Дейнека А. С., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту фенольних сполук методом ВЕРХ у квітках целозії гребінчастої. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 3. С. 28-31.
4. Дейнека А. С., Журавель І. О. Розробка технології одержання екстракту із квіток целозії гребінчастої шляхом застосування методу математичного планування експерименту. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 2. С. 41-46.
5. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у сировині целозії гребінчастої. *Annals of Mechnikov's Institute*. 2022. № 1. С. 98-102.
6. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту флавоноїдів у сировині целозії гребінчастої. *PLANTA+. наука, практика та освіта: мат. Міжнародної науково-практичної конференції* (19 лютого 2021 р., м. Київ). Київ. 2021. С. 73-74.
7. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Визначення числових показників якості сировини целозії гребінчастої згідно вимог ДФУ. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження :*

матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (11 березня 2020 р., м. Харків). Х. : НФаУ, 2020. С. 57.

8. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження фенольних сполук целозії гребінчастої та целозії перистої. *Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації*: матеріали наук.-практ. internet-конф., (м. Харків, 22-23 жовтня 2019 р.). Х. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 276.

9. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження хлорофілів та каротиноїдів у сировині целозії гребінчастої. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*: матеріали IX Міжнародної науково-практичної конференції (м. Харків, 11-12 листопада 2021 р.). Х. 2021. С. 104.

10. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І.О. Визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у сировині целозії гребінчастої. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження*: мат. науково-практичної дистанційної міжнародної конференції, м. Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р. Івано-Франківськ. 2020. С. 158-159.

11. Дейнека А.С., Процька В.В., Журавель І.О. Дослідження амінокислот целозії гребінчастої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет - конференції (м. Харків, 14-15 листопада 2019 р.) Х. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 84.

12. Дейнека А.С., Процька В.В., Журавель І.О. Визначення кількісного вмісту суми вільних амінокислот у сировині целозії гребінчастої. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*: збірник наукових праць (м. Харків, 7 – 8 листопада 2019 р.). Випуск 6. Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 171.

13. Дейнека А.С., Процька В.В., Журавель І.О. Визначення кількісного вмісту поліфенольних сполук у сировині Целозії гребінчастої.

Фармакоєкономіка в Україні: стан та перспективи розвитку : матеріали XII наук.- практ. INTERNET-конф., м. Харків, 22 травня 2020 р. 2020. С. 239.

14. Дейнека А.С., Процька В.В., Журавель І.О. Дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту органічних кислот у сировині целозії гребінчастої. *Управління якістю в фармації*: мат. XIV наук.-практ. конф. (м. Харків, 22 трав. 2020 р.). Х.: НФаУ, 2020. С. 42.

15. Дейнека, А. С. Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження вуглеводів у сировині целозії гребінчастої. *Застосування методів лікування і аніпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці*: матеріали міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, (м. Харків, 25 берез. 2020 р.) Харків. 2020. С. 94-95.

16. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Х.: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.

17. Державна фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доп. 1. Х.: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.

18. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Х.: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1130 с.

19. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні на 2023 рік. [електронний ресурс]. Режим доступу: <https://minagro.gov.ua/file-storage/reyestr-sortiv-roslin>. (Дата звернення 27.01.2023). Назва з екрану.

20. Кисличенко О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження амінокислотного складу та визначення кількісного вмісту амінокислот в сланях пармелії бороздчатої та пармелії перлинової. *Фармацевтична наука та*

практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку = Pharmaceutical science and practice : problems, achievements, prospects : мат. II наук. - практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 27 квіт. 2018 р. Харків. 2018. С. 163.

21. Кисличенко О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження мінерального складу сланей пармелії перлинової. *Медична та клінічна хімія*. 2018. Т. 20, № 1. С. 117-122.

22. Кисличенко О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження фотосинтезувальних пігментів трави канни садової деяких сортів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. № 2. С. 141-147.

23. Кисличенко О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Ідентифікація та визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів у листі, квітках та траві канни садової сортів «Америка», «Президент» та «Маестро». *Зб. наук. прац. співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2018. Вип. 30. С. 16-25.

24. Кисличенко, О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Динаміка накопичення суми стероїдних сполук в листі хости подорожникової. *Science and life: proceedings of articles the international scientific conference, Czech Republic, Karlovy Vary - Ukraine, Kyiv, November 16-17, 2017*. Karlovy Vary. 2017. P. 157-159.

25. Процька В. В., Дьяконова Я. В., Журавель І. О. Дослідження антибактеріальної та протигрибкової активності настоек з квіток та кореневищ з коренями хости подорожникової та хости ланцетолистої. *Фітотерапія. Часопис*. 2016. № 1. С. 67-72.

26. Процька В. В., Кисличенко О. А., Журавель І. О. Аналіз жирнокислотного складу сировини хости ланцетолистої. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2016. № 2 (2). С. 24-29.

27. Спосіб одержання екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією: пат. на кор. мод. 149093 Україна. No u 202105118; заявл. 10.09.2021; опубл. 13.10.2021; Бюл. No 41.

28. Чутливість до антибактеріальних препаратів збудників позалікарняних інфекцій / Т. П. Осолодченко, І. Д. Андреєва, Н. П. Завада, Т. В. Лук'яненко та ін. *Annals of Mechnikov Institute*. 2015. № 1. С. 29-38.

29. A Comprehensive review of phytochemical and pharmacological overview on *Celosia cristata* for future prospective research / M. Sing, K. P. Sravan, B. Shrivastava, B. P. Reddy. *Asian J Pharm Clin Res*. 2020. Vol 13, Issue 12. P. 21-24.

30. A new hepoprotective saponin from Semen *Celosia cristata* / Z. L. Sun, G. L. Gao, Y. F. Xia, J. Feng et al. *Fitoterapia*. 2011. № 82(4). P. 591-594.

31. A new phenolic glycoside and cytotoxic constituents from *Celosia argentea* / S. Shen, X. Ding, M.A. Ouyang, Z. J. Wu et al. *J. Asian Nat. Prod. Res*. 2020. 12, 821–827.

32. A novel hepatoprotective saponin from *Celosia cristata* L. / Y. Wang, Z. Lou, Q. B. Wu, M L. Guo *Fitoterapia*. 2010. № 81(8). P. 1246-1252.

33. Adegbaju O. D., Otunola G. A., Afolayan A. J. Proximate, mineral, vitamin and anti-nutrient content of *Celosia argentea* at three stages of maturity. *South African Journal of Botany*. 2019. № 124. P. 372-379.

34. Adegbaju O., Otunola G. A., Afolayan A. J. Potential of *Celosia* species in alleviating micronutrient deficiencies and prevention of diet-related chronic diseases: a review. *AIMS Agriculture and Food*. 2019. № 4 (2). P. 458-484.

35. Al-Snafi A. E. The chemical constituents and pharmacological importance of *Celosia cristata* – a review. *Journal of Pharmaceutical Biology*. 2015. № 5 (4). P. 254-261.

36. An antiviral protein having deoxyribonuclease and ribonuclease activity from leaves of the post-flowering stage of *Celosia cristata*. / M. Begam, S. Narwal, S. Roy, S. Kumar et al. *Biochemistry*. 2007. № 71 (1). P. 44-88.

37. Analysis of traditional knowledge of medicinal plants from residents in Gayasan National Park (Korea) / M. J. Song, H. Kim, B. Y. Lee, H. Brian et al. *J Ethnobiol Ethnomed*. 2014. № 10. P. 1–47.

38. Anti-diabetic activity of *Celosia argentea* root in streptozotocin-induced diabetic rats / S. Ghule, T. Prakash, D. Kotresha et al. *Int J Green Pharm.* 2010. № 4. P. 206–211.
39. Anti-inflammatory activity of an isolated flavonoid fraction from *Celosia argentea* Linn. / S.S. Bhujbal, S.S. Chitlange, A.A. Suralkar, D.B. Shinde et al. *J. Med. Plants Res.* 2008. № 2. P. 52–54.
40. Anti-metastatic and immunomodulating properties of the water extract from *Celosia argentea* seeds / Y. Hayakawa, H. Fuji, K. Hase et al. *Biol Pharm Bull.* 1998. № 21. P. 1154–1159.
41. Antidiarrhoeal activity of leaf extract of *Celosia argentea* in experimentally induced diarrhoea in rats / P. Sharma, G. Vidyasagar, S. Singh, S. Ghule et al. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* 2020. № 1, 41–48.
42. Antimicrobial activities of the flower extract of *Celosia cristata* L. / S. Yun, B. Choi, H. Ku, M. Lee et al. *Planta Med.* 2008. № 74. P. 31-44.
43. Antimicrobial activity of a selection of organic acids, their salts and essential oils against swine enteropathogenic bacteria / M. Gómez-García, C. Sol, P. J. G. Nova, M. Puyalto et al. *Porcine Health Management.* 2019. № 5. P. 32-40.
44. Antioxidant activities of solvent fractions from methanolic extract of cockscome (*Celosia cristata* L.) flowers / H. Y. Kim, J. Y. Ko, S. B. Song, J.I. Kim et al. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 2012. № 41. P. 1502–1507.
45. Antioxidant activity and protective effect of extract of *Celosia cristata* L. flower on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative hepatotoxicity / Y.-S. Kim, J.-W. Hwang, S.-H. Sung, Y.-J. Jeon et al. *Food Chem.* 2015. № 168. P. 572–579.
46. Antioxidant activity and protective effect of extract of *Celosia cristata* L. flower on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative hepatotoxicity / Y.S. Kim, J. W. Hwang, S. H. Sung, Y. J. Jeon et al. *Food Chem.* 2015. № 68. P. 572-579.
47. Antioxidant activity of antiviral proteins from *Celosia cristata* / A. Gholizadeh, M. Kumar, A. Balasubrahmanyam, S. Sharma et al. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology.* 2004. № 13 (1). P. 13-18.

48. Antioxidant compounds and antioxidant activities of the methanolic Extracts from Cockscome (*Celosia cristata* L.) flowers / K. Woo, Ko J., S. Song, J. Lee et al. *Planta Med.* 2011. № 77. P. 78-83.
49. Betalains of *Celosia argentea* / W. Schliemann, Y. Caib, T. Degenkolb, J. Schmidt et al. *Phytochemistry*. 2021. № 58. P. 159–165.
50. Bioactive polysaccharides from natural resources including Chinese medicinal herbs on tissue repair / Q. Li, Y. Niu, P. Xing, C. Wang. *Chin Med.* 2018. № 13. P. 1-7.
51. Cai Y.Z., Sun M., Corke H. HPLC characterization of betalains from plants in the Amaranthaceae. *J. Chromatogr. Sci.* 2005. № 43. P. 454–460.
52. Celogentin K, a new cyclic peptide from the seeds of *Celosia argentea* and X-ray structure of moroidin / S. Hayato, M. Hiroshi, S. Motoo, K. Jun'ichi. *Tetrahedron*. № 60. P. 2489–2495.
53. Chemical constituents of *Celosia argentea* va. *cristata* L. plants as affected by foliar application of putrescine and alpha-tocopherol / M. El-Saady, L. Badawy, M. M. Kandil, M. H. Mahgoub et al. *International Journal of ChemTech Research*. 2015. Vol. 8, № 12. P. 464-470.
54. Chemical constituents of *Celosia cristata* L. / H.C. Zhang, T.T. Zhang, B. Du, D.Y. Cheng et al. *Chinese Trad. Patent Med.* 2014. № 36. P. 122–125.
55. Cheng Q.L., Li H.L., Huang Z.Q. Study on apoptosis of HepG2 cell induced by celosin A from *Celosia Semen* and its mechanism. *Chinese J. Exp. Tradit. Med. Form.* 2013. № 19. P. 200–204.
56. Comparative study on the phenolic content, antioxidant properties and HPLC fingerprinting of three varieties of *Celosia* species / O. R. Molehin, S. A. Adefegha, G. Oboh, J. A. Saliu et al. *J. Food Biochem.* 2014. № 38. P. 575–583.
57. Deyneka A., Protska V., Zhuravel I. The study of qualitative composition and quantitative content of steroid compounds of Cockscorn raw materials. *100 років успіху та якості : матеріали міжнар. наук.-практ. симпозіуму, присвяченого 100-річчю кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету (18 жовтня 2021 р., м. Харків) =*

100 years of success and quality: materials of the international scientific and practical symposium, dedicated to the 100th anniversary of pharmaceutical chemistry department of National University of Pharmacy (October, 18, 2021, Kharkiv). X. 2021. C. 84.

58. Diversity of pharmacological properties in Chinese and European medicinal Plants: Cytotoxicity, antiviral and antitrypanosomal screening of 82 herbal drugs / F. Herrmann, M. R. Romero, A. G. Blazque, D. Kaufmann et al. *Diversity*. 2011. № 3. P. 547-580.

59. Effect of Pigments, Phenol Content and Postharvest Life on Application of Plant Growth Retardants in Celosia Spp. / A. Srinivasan, K. R. Rajadurai, S. S.P. Thamarai, P. Jeyakumar. *Chemical Science Review and Letters*. 2017. № 6 (23). P. 1769-1772.

60. Eseoghene O., Kola K. A. Antimicrobial activity of Celosia argentea L. Amaranthaceae. *Am J Res Commun*. 2015. № 3. P. 123-133.

61. Establishment and optimization of sequence-related amplified polymorphism system for Celosia Argentea / Q.H. Guo, M.L. Guo, Q. Xue, N. Feng et al. *Chinese Trad. Herbal Drug*. 2008. № 39. P. 264–266.

62. Ethnobotanical study on medicinal plants around Limu Mountains of Hainan Island / X.L. Zheng, J.H. Wei, W. Sun, R.T. Li et al. *China. J. Ethnopharmacol*. 2013. № 148. P. 964–974.

63. Evaluation of antioxidant potential of Celosia argentea extracts / R. A. Rub, M.J. Patil, P. Ghorpade, A. Siddiqui. *Pharmacogn. J*. 2019. № 5. P. 140–141.

64. Evaluation of the antiurolithiatic activity of methanolic extract of Celosia argentea roots in rats/ N. R.Kachchhi, R. K. Parmar, P. R. Tirgar et al. *Int J Phytopharm*. 2012. № 3. P. 249–255.

65. Free radical scavenging and cytotoxic potential of Celosia argentea / R. A. Rub, M. J. Patil, A. A. Siddiqui et al. *Pharmacogn J*. 2015. № 7. P. 191–197.

66. Genetic diversity and population structure of Celosia argentea and related species revealed by SRAP / N. Feng, Q. Xue, Q. H. Guo, R. Zhao et al. *Biochem. Genet*. № 47. P. 521–532.

67. Gholizadeh A., Kapoor H. C. Modifications in the purification protocol of *Celosia cristata* antiviral proteins lead to protein that can be N-terminally sequenced. *Protein Pept Lett.* 2004. № 11(6). P. 551-561.
68. Gholizadeh A., Kapoor H. Modifications in the purification protocol of *Celosia cristata* antiviral proteins lead to protein that can be N-terminally sequenced. *Protein Pept. Lett.* 2004. № 11. P. 555–561.
69. Haribabu S, Adupa S. K. Phytochemical screening and hepatoprotective activity of *Celosia argentea* Linn. *J Pharm Res.* 2014. № 8. P. 405-409.
70. Herbal healing: an old practice for healthy living among Khumi, Marma and Tripura communities of Thanchi upazila, Bangladesh / M. A. Motaleb, M. M. Abdullah-Al-Mamun, M. K Hossain., M. K. Alam et al. *European J Med Plants.* 2015. № 5. P. 23–52.
71. HPLC fingerprints in seed of *Celosia argentea* / Y. Wang, M. L. Guo, X. K. Wang, J. Yin *China J. Chinese Mater. Med.* 2018. № 33. P. 51–53.
72. Huang, Z.Q., Jiao, L.Y. Determination of seven metal elements in Gannan Semen *Celosiae* by atomic absorption spectrometry. *Chemistry.* 2013. № 20. P. 6–9.
73. Hypoglycemic effect of *Celosia argentea* fractions in alloxan-induced diabetic mice / J. J. Shan, J. W. Ren, J. Yang, Y. M. Zhao *China Pharm. J.* 2018. № 40. P. 18-27.
74. Immunomodulating activity of *Celosia argentea* Linn aerial parts / S. V. Devhare, S. A. Nirmal, R. A. Rub, V. V. Dhasade, et al. *Lat. Am. J. Pharm.* 2011. № 30. P. 168–171.
75. Impact of *Celosia cristata* Extract on Adipogenesis of Native Human CD34+/CD31- Cells / R. Fitoussi, D. Estève, A. Delassus, K. Vié *JCDSA.* 2013. № 3 (3B). P. 55-63.
76. Islam S., Shajib M.S., Ahmed T. Antinociceptive effect of methanol extract of *Celosia cristata* Linn. in mice. *BMC Complement Altern Med.* 2016. №16. P. 400-404.

77. Iweala E. E. J., Ogidigo J.O. Effect of *Celosia argentea* F. Cristata Schinz. on prostate specific antigen, antioxidant status and hematological parameters in rats induced with benign prostate hyperplasia. *Asian J Biochem.* 2015. № 10. P. 42–51.
78. Kumar PS. Phytochemical and pharmacological overview of *Celosia cristata* and future perspective as potential phytotherapeutic agent. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences.* 2018. № 5 (1). P. 829-834.
79. Liu H., Cao J., Jiang W. Evaluation of physiochemical and antioxidant activity changes during fruit on-tree ripening for the potential values of unripe peaches. *Sci Horticult.* 2015. № 193. P. 32-39.
80. Lystvan K.V. Study of influence of ascorbic acid, reducing sugars and methyldopa on betalains content in *Celosia cristata* callus. *Faktori Eksperimental Noi Evolucii Organizmiv.* 2019. № 25. C. 266-271.
81. Ma X.G., Comparative study on Semen *Celosiae*, Semen *critata* and Semen *amarathus*. *Strait Pharm. J.* 2012. № 24. P. 27–30.
82. Maggini S., Pierre A., Calder P.C. Immune function and micronutrient requirements change over the life course. *Nutrients.* 2018. № 17. P. 1531-1537.
83. Malomo S. O., Ore A., Yakubu M. T. In vitro and in vivo antioxidant activities of the aqueous extract of *Celosia argentea* leaves. *Indian J Pharmacol.* 2011. № 43. P. 278–85.
84. Methanolic extract of *Celosia argentea* var. *Crista* leaves modulates glucose homeostasis and abates oxidative hepatic injury in diabetic rats. / R. U. Hamzah, A. R. Lawal, F. M. Madaki, O. L. Erukainure *Comp. Clin. Pathol.* 2018. № 27. P. 1065-71.
85. Mn accumulation and tolerance in *Celosia argentea* Linn.: a new Mn-hyperaccumulating plant species / J. Liu, W. W. Shang, X. H. Zhang, Y.N. Zhu, J *Hazard Mater.* 2014. № 267 (1). P. 136–141.
86. New antimitotic bicyclic peptides, celogentins D–H, and J, from the seeds of *Celosia argentea* / S. Hayato., M. Hiroshi, I. Shigeo, K. Jun'chi *Tetrahedron.* 2013. № 59. P. 5307–5315.

87. New oleanane-type triterpenoid saponins isolated from the seeds of *Celosia argentea* / X. Pang, H.-X. Yan, Z.-F. Wang, M.-X. Fan et al. *Asian Nat. Prod. Res.* 2014. № 16. P. 240–247.
88. Nidavani R. B., Mahalakshmi A., Shalawadi A. M. Towards a better understanding of an updated ethnopharmacology of *Celosia argentea* L. *Int J Pharm Pharm Sc.* 2013. № 5 (3). P. 54-59.
89. Novel neuroprotective and hepatoprotective effects of citric acid in acute malathion intoxication / O. M. E. Abdel-Salam, E. R. Youness, N. A. Mohammed, N. N. Yassen *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 2016. № 9 (12). P. 1181-1194.
90. Novel triterpenoid saponins from the seeds of *Celosia argentea* L. / Q.B. Wu, Y. Wang, L. Liang, Q. Jiang et al. *Nat. Prod. Res.* 2013. № 27. P. 1353–1360.
91. Nutritional and chemical characterization of edible petals and corresponding infusions: valorization as new food ingredients / T.C. Pires, M.I. Dias, L. Barros, I.C. Ferreira 2017. *Food Chem.* № 220. P. 337–343.
92. Ogungbenle H. N., Otemuyiwa F. F. Food properties and amino acid composition of *Celosia Spicata* leaves. *Adv Anal Chem.* 2015. № 5. P. 1–7.
93. Ogungbenle H.N., Sanusi D.S. Extraction, Physicochemical, Phytosterols and Fatty Acid of *Celosia spicata* Leaves. *British Journal of Research.* 2015. № 21. P. 9-20.
94. Ojieh A.E., Adegbor E.C., Lawrence E.O. Preliminary phytochemical screening and antiinflammatory properties of *Celosia isertii*. *European J Med Plants.* 2013. № 3. P. 369–380.
95. Okpako E., Ajibesin K. Antimicrobial activity of *Celosia argentea* L. *Amaranthaceae. Am J Res Comm.* 2015. № 3. P. 123–133.
96. Pavlenko-Badnaoui M., Protska V., Zhuravel I. The study of the mineral composition of *Heliopsis helianthoides*. *Norwegian Journal of development of the International Science.* 2019. № 31. P. 50-53.

97. Pharma-economical world of herbal antitussive- An overview / D. Prashar, S. Saklani, Y. Barshiliya, M. Sharma et al. *Asian J Res Pharm Sci.* 2012. № 2 (2). P. 48-51.
98. Pharmacognostic standardisation of whole plant of *Celosia argentea*, var. *cristata* (L). / S.N. Surse, B. Shrivastava, P. Sharma, J. Sharma et al. *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars.* 2014. № 3 (1-3). P. 2277-7873.
99. Phytoextraction of cadmium-contaminated soils: comparison of plant species and low molecular weight organic acids / Y. Guo, L. Jie, Y. Long, Z. Chen et al. *International Journal of Phytoremediation.* 2019. № 1. P. 1-10.
100. Purification and properties of growth stage-dependent antiviral proteins from the leaves of *Celosia cristata* / A. Balasubrahmanyam, V.K. Baranwal, M.L. Lodha, A. Varma et al. *Plant Sci.* 20001. № 54 (1). P. 13-21.
101. Pyo Y. H., Yoon M. Y., Han Y. S. Anti-inflammatory activity of *Celosia cristata* L. *J Korean Soc Esthetics Cosmeceutics.* 2011. № 6. P. 165–72.
102. Qiang F. Effect of Malate-oligosaccharide Solution on Antioxidant Capacity of Endurance Athletes. *The Open Biomedical Engineering Journal.* 2015. Vol. 9. P. 326-329.
103. Quantitative elemental analysis of *Celocia argentea* leaves by ICP-OES technique using various digestion methods / A.G. Markandeya, N.P. Firke, S.S. Pingale, S. Salunke-Gawali *Int. J. Chem. Anal. Sci.* 2016. № 4. P. 175–181.
104. Rahman A.H.M., Gulshana M.I.A. Taxonomy and medicinal uses on amaranthaceae family of Rajshahi, Bangladesh. *Appl Ecol Environ Sci.* 2014. № 2. P. 54–59.
105. Research of *Celosia cristata* on increasing immunity and suppressor tumor of S180 ascites cancer mice / X. M. Jiang, , H. Guo, W. Q. Sun, D. Q. Tong. *J. Beihua Univ. (Natural Science).* 2017. № 4. P. 123–124.
106. Rubini D., Sudhahar D., Anandarajagopal K. Phytochemical investigation and anthelmintic activity of *Celosia cristata*. *IRJP.* 2012. № 3(5). P. 335-337.

107. Saqib F., Janbaz K.H., Sherwani M. K. In vitro inhibitory potential of methanolic extract of *Celosia argentea* var. *cristata* on tyrosinase, acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes. *Bangladesh J Pharmacol.* 2015. № 10. P. 449–54.
108. Satyanarayana V., Pradesh A. Preliminary phytochemical screening and TLC profile of selected four plants of *Celosia argentea* in Chitoor district, *J Pharmacogn Phytochem.* 2016. № 5. P. 259-264.
109. Sayeed R., Thakur M. Comparative studies on extraction methods of betalain content and anti-oxidant activity of biocolorant obtained from *Celosia cristata* L. flowers. *Med. Plants.* 2019. № 11. P. 367–371.
110. Sayeed R., Thakur M., Ahmad M. *Celosia cristata* Linn. flowers as a new source of nutraceuticals- A study on nutritional composition, chemical characterization and in-vitro antioxidant capacity. *Heliyon.* 2020. № 6 (12). P. 05792-05800.
111. Sharma D., Sharma L. The Chemical Composition and Pharmaceutical Effect of *Celosia cristata*: A Review on Nutritional Aspect. *International Journal of Innovative Science and Research Technology.* 2021. Vol. 6 (7). P. 218-223.
112. Simultaneous Determination of Two Major Triterpenoid Saponins Celosin I and Celosin II in *Celosiae* Semen by HPLC-ELSD / R.B. Chen, Y.Y. Zhang, J.M. He, W.D. Wu *Chinese J. CHM.* 2015. № 7. P. 185–190.
113. Simultaneous hyperaccumulation of cadmium and manganese in *Celosia argentea* Linn. / J. Liu, L. Y. Mo, X. H. Zhang, S. Y. Yao. *Int J Phytorem.* 2018. № 20 (11). P. 1106–1112.
114. Sreevani B., Patil R. S., Kammar M. Antimicrobial activity of *Celosia argentea* L. In the Hyderabad Karnataka region. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* 2018. № 7 (5). P. 2041-2047.
115. State Committee of Pharmacopeia, Pharmacopoeia of the People's Republic of China, vol. I. China Medicine Science and Technology and Publisher, Beijing. 2010. p. 184.

116. Study on Chemical constituents of *Celosia cristata* seed / C. Xiang, G. M. Li, S. Hui, C. Yadan *Journal of Jilin Agricultural University*. 2010. № 32(6). P. 657-660.
117. Study on chemical constituents of *Celosia cristata* seed / C. Xiang, G. Meili, S. Hui, D. C. Ya *J Jilin Agric Univ*. 2010. № 32. P. 657–60.
118. Study on chemical constituents of *Celosia cristata* seed / Chi X., Guo M.L., Song H., Chen Y.D. *J. Jilin Agric. Univ*. 2010. № 32. P. 657–660.
119. Study on chemical constituents of *Celosia cristata* seed / X. Chi, M. Guo, H. Song, Y. Chen *J. Jilin Agric. Univ*. 2010. № 32. P. 657–660.
120. Sujogya K.P., Ethno-medicinal uses and screening of plants for antibacterial activity from Similipal Biosphere Reserve, Odisha, India. *J. Ethnopharmacol*. 2019. № 151. P. 158–175.
121. Supercritical Fluid Extraction and Hydrodistillation of *Celosia Argentea* Essential Oil / M. S. Nobandegani, T. Darbandi, B. Honarvar, M. et al. *International Conference on Advances in Agricultural, Biological & Environmental Sciences*. 2014. № 5. P.97-102.
122. Taha R.M., Wafa S.N. Plant regeneration and cellular behaviour studies in *Celosia cristata* grown in vivo and in vitro. *Sci. World J*. 2012. № 2012. P. 359413-359430.
123. Tang Y., Xin H.L., Guo M.L. Review on research of the phytochemistry and pharmacological activities of *Celosia argentea*. *Rev Bras Farmacogn*. 2016. № 26. P. 787–796.
124. Tanga Y., Xina H., Mei-li G. Review on research of the phytochemistry and pharmacological activities of *Celosia argentea*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2016. № 285. P. 1-10.
125. The clinical observation of treatment of 20% water extracts of Semen *Celosiae* on senile cataract / A. Liu, M.F. Cao, C.Y. Xu, W.E. Jin et al. *J. Fujian College TCM*. 2017. № 17. P. 10–11.
126. The determination of polyphenolic compounds quantitative content in raw material of *Celosia cristata* (L.) Kuntze, *Gomphrena globosa* L. and *Aerva lanata*

L. / A. Deyneka, P. Viktoriia, I. Zhuravel, A. Fedosov *Contemporary Pharmacy: Issues Challenges and Expectations 2021 and 11th Conference: Pharmacy Science and Practice*: abs. The Joint International Pharmacy Symposium (Kaunas, Lithuania, 22nd October 2021). Kaunas. 2021. P. 41.

127. The Effect of *Celosia cristata* L. ethanol Extract on Anti-oxidant and Anti-aging Activity / Y. H. Pyo, M. Y. Yoon, J. H. Son, T.B. Cho et al. *Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering*. 2008. № 23 (5). P. 431-438.

128. The nutritional components of *Celosia cristata* L cv Plumosa / W. D. Bao, G. Da, X. Y. Jie, W. Qin. *Journal of Plant Resources & Environment*. 1994. № 3(3). P. 32-35.

129. The study for apoptosis of human cervical cancer HeLa cell induced by celosin A from *Celosiae* Semen and its mechanisms / Z.Q. Huang, Q.L. Cheng, H.L. Li, C. Huang. *Acta Pharmacol. Sin*. 2013. № 34. P.1-7.

130. The study in cockscomb mineral composition / A. S. Deyneka, V. V. Protska, I. O. Zhuravel, O. A. Kyslychenko, V. Yu. Kuznietsova. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. № 2. С. 194-199.

131. The study of fatty acid composition in Cockscomb (*Celosia cristata* (L.) Kuntze) / A. Deyneka, V. Protska, I. Zhuravel, O. Kyslychenko. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci*. 2022. Vol. 35. № 4. P. 176-182.

132. The Study of *Hosta sieboldiana*, *Hosta ventricosa* and *Hosta lancifolia* herb polyphenolic compounds by high performance liquid chromatography technique / O. A. Kyslychenko, V. V. Protska, I. O. Zhuravel, A. I. Fedosov et al. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2019. No 10. P. 1161-116.

133. Tsykalo T. O., Trzhetsynskyi S. D. Investigation of phenolic compounds of *Camelina sativa* (L.) Crantz and *Camelina microcarpa* Andr. *Pharmaceutical review*. 2020. № 4. P. 18-24.

134. Two new compounds from Semen *Celosiae* and their protective effects against CCl₄-induced hepatotoxicity / Q. Xue, Z.L. Sun, M.L. Guo, Y. Wang et al. *Nat. Prod. Res*. 2011. № 25. P. 772–780.

135. Two new hepaprotective saponins from Semen Celosiae / Z. L. Sun, Y. Wang, M. L. Guo, Y. X. Li. *Fitoterapia*. 2010. № 81. P. 375–380.
136. Varadharaj V., Muniyappan J. Phytochemical and Phytotherapeutic Properties of Celosia species- A Review. *Phytopathology*. 2017. № 9 (6). P. 820-825.
137. Vetrichelvan T., Jegadeesan M., Devi B.A.U. Anti-diabetic activity of alcoholic extract of Celosia argentea Linn.: seeds in rats. *Biol Pharm Bull*. 2002. № 25. P. 526–528.
138. Wang J.J., Zhang X.M., Huang Z.W. Simultaneous determination of quercetin, luteolin and kaempferol in Celosia cristata L, by RP-HPLC. *Northwest Pharm. J*. 2018. № 3. P. 354–356.
139. Wang Y. Chemical Constituents and Bioactivities of Celosia Cristata L. and Penthorum Chinense Pursh. Ph D thesis, Second Military Medical University, 2012. 112 p.
140. Wang Y., Guo M.L., Wang X.K.J.Y. HPLC ELSD in determination of celosin A and celosin B contents in Semen Celosiae. *Acad. J. Second Military Med. Univ*. 2017. № 28. P. 1245–1247.
141. Warhade M. I., Badere R. S. Isolation of callus lines of Celosia cristata L. with variation in betalain content. *Indian Botanical Soc*. 2015. № 94. P. 89–96.
142. Wen Y., Islam M. T., Tahara S. Phenolic constituents of Celosia cristata L. susceptible to spinach root rot pathogen Aphanomyces cochlioides. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2006. № 70. P. 2567–70.
143. Wen Y., Islam M.T., Tahara S. Phenolic constituents of Celosia cristata L. susceptible to Spinach root rot pathogen Aphanomyces cochlioides. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 2006. № 70(10). P. 2567-2570.
144. Wu Q., Wang Y., Guo M. Triterpenoid saponins from the seeds of Celosia argentea and their anti-inflammatory and antitumor activities. *Chem. Pharm. Bull*. 2012. № 59. P. 666–671.
145. Xue Q., Guo M., Zhang G. Study of chemical constituents of Semen Celosia. *Pharm. Care Res*. 2016. № 6. P. 345–347.

146. Yaolin W., Tofazzal I., Satoshi T. Phenolic constituents of *Celosia cristata* L. susceptible to Spinach root rot pathogen *Aphanomyces cochlioides*. *Biotechnology and Biochemistry*. 2010. № 70(10). P. 2567-2570.
147. Yizhong C., Sun M., Corke H. HPLC Characterization of Betalains from Plants in the Amaranthaceae. *Journal of Chromatographic Science*. 2005. Vol. 43. P. 454-460.
148. Zhu, D., Xu, Q. Analysis on fatty acid in *Celosia Argentea* L. seed oil by gas chromatography. *Chinese J. J. jiangxi Normal University (natural sciences edition)*. 2012. № 26. P. 110–112.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. The study in cockscomb mineral composition / A. S. Deyneka, V. V. Protska, I. O. Zhuravel, O. A. Kyslychenko, Viktoriia Yu. Kuznietsova. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. № 2. С. 194-199. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.2.230561> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, в обробці результатів дослідження та підготовці статті до друку).
2. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у сировині целозії гребінчастої. *Annals of Mechnikov's Institute*. 2022. № 1. С. 98-102. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6350017> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обробці результатів дослідження та підготовці статті до друку)
3. Дейнека А. С., Журавель І. О. Розробка технології одержання екстракту із квіток целозії гребінчастої шляхом застосування методу математичного планування експерименту. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 2. С. 41-46. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6634779> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обговоренні та узагальненні результатів дослідження, підготовці статті до друку).
4. Дейнека А. С., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту фенольних сполук методом ВЕРХ у квітках целозії гребінчастої. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 3. С. 28-31. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7070948> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, обговоренні та узагальненні результатів дослідження, підготовці статті до друку).

5. The study of fatty acid composition in Cockscomb (*Celosia cristata* (L.) Kuntze) / A. Deyneka, V. Protska, I. Zhuravel, O. Kyslychenko. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci.* 2022. Vol. 35. № 4. P. 176-182. (Scopus Q3) <https://doi.org/10.2478/cipms-2022-0032> (Особистий внесок – участь у плануванні та проведенні експерименту, в обробці результатів дослідження).

6. Процька В. В., Петкова І. Б., Унгурян Л. М., Алрікабі А. Я., Саррай Д. Х.А., Дейнека А. С., Горяча Л. М., Журавель І. О. Спосіб одержання екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією: пат. на кор. мод. 149093 Україна. № u 202105118; заявл. 10.09.2021; опубл. 13.10.2021; Бюл. No 41. (Особистий внесок – огляд джерел літератури, проведення патентного пошуку, одержання та стандартизація екстракту з квіток целозії гребінчастої).

7. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження фенольних сполук целозії гребінчастої та целозії перистої. *Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації*: матеріали наук.-практ. internet-конф., (м. Харків, 22-23 жовтня 2019 р.). Х. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 276.

8. Дейнека А.С., Процька В.В., Журавель І.О. Визначення кількісного вмісту суми вільних амінокислот у сировині целозії гребінчастої. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*: збірник наукових праць (м. Харків, 7 – 8 листопада 2019 р.). Випуск 6. Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 171.

9. Дейнека А.С., Процька В.В., Журавель І.О. Дослідження амінокислот целозії гребінчастої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет - конференції (м. Харків, 14-15 листопада 2019 р.) Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 84.

10. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Визначення числових показників якості сировини целозії гребінчастої згідно вимог ДФУ. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (11 березня 2020 р., м. Харків). Х.: НФаУ, 2020. С. 57.

11. Дейнека, А. С. Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження вуглеводів у сировині целозії гребінчастої. *Застосування методів лікування і аніпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці*: матеріали міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, (м. Харків, 25 берез. 2020 р.) Харків. 2020. С. 94-95.

12. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І.О. Визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот у сировині целозії гребінчастої. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження*: мат. науково-практичної дистанційної міжнародної конференції, м. Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р. Івано-Франківськ. 2020. С. 158-159.

13. Дейнека А.С., Процька В.В., Журавель І.О. Дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту органічних кислот у сировині целозії гребінчастої. *Управління якістю в фармації*: мат. XIV наук.-практ. конф. (м. Харків, 22 трав. 2020 р.). Х.: НФаУ, 2020. С. 42.

14. Дейнека А.С., Процька В.В., Журавель І.О. Визначення кількісного вмісту поліфенольних сполук у сировині Целозії гребінчастої. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку* : матеріали XII наук.- практ. INTERNET-конф., м. Харків, 22 травня 2020 р. 2020. С. 239.

15. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту флавоноїдів у сировині целозії гребінчастої. *PLANTA+. наука, практика та освіта*: мат. Міжнародної науково-практичної конференції (19 лютого 2021 р., м. Київ). Київ. 2021. С. 73-74.

16. Дейнека А. С., Єгоркіна Д. М., Процька В. В., Журавель І. О. Визначення кількісного вмісту суми стероїдних сполук у сировині целозії гребінчастої. *Актуальні питання: «здоров'я і довголіття – фундаментальні і клінічні дослідження, впровадження. комплементарні методи, як здоровий спосіб життя*: науковий симпозіум з міжнародною участю, залученням молодих вчених, студентів. (м. Київ, 22-23 жовтня 2021). Київ. 2021. С. 90-91.

17. Deyneka A., Protska V., Zhuravel I. The study of qualitative composition and quantitative content of steroid compounds of Cockscornb raw materials. *100 років успіху та якості* : матеріали міжнар. наук.-практ. симпозіуму, присвяченого 100-річчю кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету (18 жовтня 2021 р., м. Харків) = *100 years of success and quality: materials of the international scientific and practical symposium, dedicated to the 100th anniversary of pharmaceutical chemistry department of National University of Pharmacy* (October, 18, 2021, Kharkiv). X. 2021. С. 84.

18. Deyneka A., Viktoriia P., Zhuravel I., Fedosov A. The determination of polyphenolic compounds quantitative content in raw material of Celosia cristata (L.) Kuntze, Gomphrena globosa L. and Aerva lanata L. *Contemporary Pharmacy: Issues Challenges and Expectations 2021 and 11th Conference: Pharmacy Science and Practice*: abs. The Joint International Pharmacy Symposium (Kaunas, Lithuania, 22nd October 2021). Kaunas. 2021. P. 41.

19. Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження хлорофілів та каротиноїдів у сировині целозії гребінчастої. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*: матеріали ІХ Міжнародної науково-практичної конференції (м. Харків, 11-12 листопада 2021 р.). Х. 2021. С. 104.

Апробація результатів дисертації

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

1. І Міжнародна науково-практична internet-конференція «*Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації: матеріали*» (м. Харків, 22-23 жовтня 2019 р., форма участі – публікація тез);
2. VIII Міжнародна науково-практична конференція «*Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*» збірник наукових праць (м. Харків, 7 – 8 листопада 2019 р., форма участі – публікація тез).
3. IV Міжнародна науково-практична інтернет - конференція «*Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*» (м. Харків, 14-15 листопада 2019 р., форма участі – публікація тез);
4. II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «*Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*» (11 березня 2020 р., м. Харків, форма участі – публікація тез);

Продовж. дод. А

5. Міжнародна науково-практична конференція, присвячена пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова *«Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці»* (м. Харків, 25 берез. 2020 р., форма участі – публікація тез);
6. Науково-практична дистанційна міжнародна конференція *«Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження»* (м. Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р., форма участі – публікація тез);
7. XIV науково-практична конференція *«Управління якістю в фармації»* (м. Харків, 22 трав. 2020 р., форма участі – публікація тез);
8. XII науково-практична INTERNET-конференція *«Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку»* (м. Харків, 22 травня 2020 р., форма участі – публікація тез);
9. Міжнародна науково-практична конференція *«PLANTA+. наука, практика та освіта»* (м. Київ, 19 лютого 2021 р., форма участі – публікація тез);
10. Науковий симпозіум з міжнародною участю із залученням молодих вчених, студентів *«Актуальні питання: «здоров'я і довголіття – фундаментальні і клінічні дослідження, впровадження. комплементарні методи, як здоровий спосіб життя»* (м. Київ, 22-23 жовтня 2021, форма участі – публікація тез);
11. Міжнародний науково-практичний симпозіум, присвячений 100-річчю кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету *«100 років успіху та якості»* (м. Харків, 18 жовтня 2021 р., форма участі – публікація тез);

Продовж. дод. А

12. The Joint International Pharmacy Symposium «*Contemporary Pharmacy: Issues Challenges and Expectations 2021 and 11th Conference: Pharmacy Science and Practice*» (Kaunas, Lithuania, 22nd October 2021, форма участі – публікація тез);

13. IX Міжнародна науково-практична конференція «*Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології*» (м. Харків, 11-12 листопада 2021 р., форма участі – публікація тез).

Додаток Б



ПРОЄКТ

Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного
фармацевтичного університету
Інна ВЛАДИМИРОВА

« 15 » « лютого » 2023 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна
Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Celosiae cristatae folia

Целозії гребінчастої листя

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

Продовж. дод. Б

СПЕЦИФІКАЦІЯ
на целозії гребінчастої листя

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
Ідентифікація		
А	Цільні листки або їх частини лінійної або широкоовальної форми із клиноподібною основою і загостреною верхівкою, 3-5 см завдовжки та до 5 см завширшки. Листки голі, зеленого, буро-зеленого або бурого кольору. Тип жилкування перисте, жилки більше виступають із нижнього боку. Листки короткочерешкові, черешок тонкий 1-3 см довжиною та 0,2 – 0,5 мм у діаметрі.	МКЯ п. 1.1
В	На поперечному перерізі мають одношарову епідерму, два-три шари коленхіми і паренхіма, в якій розташовуються п'ять овальних провідних пучків закритого колатерального типу. У паренхімі зустрічаються клітини з друзами кальцію оксалату. Листки амфістоматичного типу. Продихи еліпсоїдні, поверхневі, аномоцитного, іноді анізоцитного типу. На абаксіальній поверхні присутні залозисті трихоми. Вони складаються із 3-5 клітинної ніжки та одноклітинної секреторної голівки. Двоклітинні та багатоклітинні прості волоски зустрічаються на обох поверхнях листка. На адаксіальній поверхні присутні залозисті волоски з одноклітинною ніжкою та багатоклітинною голівкою. На поперечному перерізі черешок целозії гребінчастої чашоподібної форми, ззовні вкритий однорядною епідермою з продихами аномоцитного типу та простими дво-три клітинними волосками. Під епідермою з адаксіального боку розташовані два-три шари коленхіми, яка потовщується з абаксіального боку. Провідна система утворюється п'ятьма провідними пучками закритого колатерального типу. Провідні пучки у паренхімі розташовуються у формі напівмісяця. Усі вони приблизно однакового розміру, овальної форми.	МКЯ п. 1.2
С Фенольні сполуки	ТШХ у порівнянні з <i>ФСЗ кверцетину Р</i> , <i>ФСЗ рутину Р</i> і <i>ФСЗ хлорогенової кислоти Р</i> у метанолі <i>Р</i> . Рухома фаза: <i>етилацетат Р</i> – <i>оцтова кислота льодяна Р</i> – <i>мурашина кислота Р</i> – <i>вода Р</i> (100:11:11:27). Виявлення: в УФ-світлі після обробки розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру <i>Р</i> у метанолі <i>Р</i> , потім розчином 50 г/л макрогону 400 <i>Р</i> у метанолі <i>Р</i> . У середній частині хроматограми одна під одною мають проявлятися оранжева та блакитна флуоресціюючі зони кверцетину та хлорогенової кислоти. У нижній частині хроматограми має проявлятися жовто-коричнева флуоресціююча зона рутину.	ДФУ 2.0.3, «Липи квітки» МКЯ п.1.3

Продовж. дод. Б

Показники якості		
екстрактивні речовини екстракції при 70 % етанолом	Не менше 25,00 %	ДФУ 2.0.3 «Полин гіркий ^N » МКЯ п.2
втрата в масі при висушуванні	Не більше 12,0 %	ДФУ 2.0.1, 2.2.32 МКЯ п.2
загальна зола	Не більше 8,0 %	ДФУ 2.0.1, 2.4.16 МКЯ п. 2
зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті	Не більше 1,0 %	ДФУ 2.0.1, 2.4.16 МКЯ п. 2
Кількісне визначення		
Сума гідроксикоричних кислот	Не менше 2,0 %.	ДФУ 2.0.1., 2.8.14 МКЯ п. 3

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

1. Ідентифікація

1.1. А. Цільні листки або їх частини лінійної або широкоовальної форми із клиноподібною основою і загостреною верхівкою, 3-5 см завдовжки та до 5 см завширшки. Листки голі, зеленого, буро-зеленого або бурого кольору. Тип жилкування перисте, жилки більше виступають із нижнього боку. Листки короткочерешкові, черешок тонкий 1-3 см довжиною та 0,2 – 0,5 мм у діаметрі.

1.2 В. На поперечному перерізі мають одношарову епідерму, два-три шари коленхіми і паренхіму, в якій розташовуються п'ять овальних провідних пучків закритого колатерального типу. У паренхімі зустрічаються клітини з друзами кальцію оксалату.

Листки амфістоматичного типу. Продихи еліпсоїдні, поверхневі, аномоцитного, іноді анізоцитного типу. На абаксіальній поверхні присутні залозисті трихоми. Вони складаються із 3-5 клітинної ніжки та одноклітинної секреторної голівки. Двоклітинні та багатоклітинні прості волоски зустрічаються на обох поверхнях листка. На адаксіальній поверхні присутні залозисті волоски з одноклітинною ніжкою та багатоклітинною голівкою.

На поперечному перерізі черешок целозії гребінчастої чашоподібної форми, ззовні вкритий однорядною епідермою з продихами аномоцитного типу та простими дво-три клітинними волосками. Під епідермою з адаксіального боку розташовані два-три шари коленхіми, яка потовщується з абаксіального боку. Провідна система утворюється п'ятьма провідними пучками закритого колатерального типу. Провідні пучки у паренхімі розташовуються у формі напівмісяця. Усі вони приблизно однакового розміру, овальної форми.

1.3. С. Фенольні сполуки. Визначення проводять методом ТШХ.

Випробовуваний розчин. До 0,50 г подрібненої сировини додають 10 мл метанолу Р, нагрівають на водяній бані при температурі 60°C протягом 10 хв, охолоджують і фільтрують.

Розчин порівняння. 2,0 мг ФСЗ кверцетину Р, 2,0 мг ФСЗ рутину Р і 2,0 мг ФСЗ хлорогенової кислоти Р розчиняють у 10 мл метанолу Р.

Пластика: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

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

Об'єм проб: 10 мкл, смугами.

Продовж. дод. Б

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

Висушування: при температурі (100-105)°С протягом 5 хв.

Виявлення: теплу пластинку обприскують розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р у метанолі Р, потім розчином 50 г/л макрогону 400 Р у метанолі Р, після висихання переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: На хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння в УФ-світлі мають проявлятися зони у такій послідовності:

Верхня частина пластинки	
кверцетин: оранжева флуоресціююча зона	оранжева флуоресціююча зона
хлорогенова кислота: блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона
рутин: жовто-коричнева флуоресціююча зона	жовто-коричнева флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

У середній частині хроматограми одна під одною мають проявлятися оранжева та блакитна флуоресціюючі зони кверцетину та хлорогенової кислоти. У нижній частині хроматограми має проявлятися жовто-коричнева флуоресціююча зона рутину. Вище або нижче описаних зон можуть проявлятися інші зони фіолетового, синього, блакитного або жовтого кольору.

2. Показники якості. Екстрактивні речовини при екстракції 70 % етанолом не менше 25,0 %. (ДФУ 2.0.3 «Полин гіркий^N»), втрата в масі при висушуванні не більше 12,0 % (ДФУ 2.0.1, 2.2.32), загальної золи не більше 8,0 % (ДФУ 2.0.1, 2.4.16), зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті не більше 1,0 % (ДФУ 2.0.1, 2.4.16).

3. Кількісне визначення.

Сума гідроксикоричних кислот. Визначення кількісного вмісту гідроксикоричних кислот проводять за методикою монографії «Кропиви листя» ДФУ 2.0.3.

Випробовуваний розчин (а). 1,0 г сировини екстрагують 90 мл етанолу Р (50 %, об/об) і доводять об'єм розчину до позначки тим же розчинником у мірній колбі на 100,0 мл.

Випробовуваний розчин (б). До 1,0 мл випробовуваного розчину (а) додають 2,0 мл 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти та розчину, який готують шляхом розчинення 10 г натрію нітриту Р і 10 г натрію молібдату Р у 100 мл води Р, потім додають 2,0 мл натрію гідроксиду розчину розведеного Р, доводять об'єм розчину водою Р до 10,0 мл.

Оптичну густину випробовуваного розчину вимірюють при довжині хвилі 525 нм. Як компенсаційний розчин використовують розчин, який складається з 1,0 мл випробовуваного розчину, 2,0 мл 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти, 2,0 мл натрію гідроксиду розчину розведеного Р доведених

Продовж. дод. Б

водою Р у мірній колбі до 10,0 мл.

Вміст гідроксикоричних кислот у перерахунку на *хлорогенову* кислоту (X, %) та абсолютно суху сировину обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \times 5,3}{m},$$

де А – оптична густина випробовуваного розчину при довжині хвилі 525 нм;

m – маса наважки сировини, г.

Використовують питомий показник поглинання *хлорогенової* кислоти, який становить 188.

УПАКОВКА

Здрібнену сировину упаковують у мішки з тканини або льно-джуто-кенафні не більше 25 кг.

МАРКУВАННЯ

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

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Противмікробний засіб

Професор ЗВО кафедри хімії
природних сполук і нутриціології,
доктор фармацевтичних наук,
професор



Ірина ЖУРАВЕЛЬ

« 12 » лютого 2023 р.

Аспірант кафедри хімії
природних сполук і нутриціології



Аліна ДЕЙНЕКА

« 12 » лютого 2023 р.

Продовж. дод. Б

ПРОЄКТ



Зареєстрований проєкт з науково-педагогічної роботи Національного фармацевтичного університету
Інна ВЛАДИМИРОВА

« _____ » « лютого » 2023 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна
Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Celosiae cristatae flores

Целозії гребінчастої квітки

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

Продовж. дод. Б

СПЕЦИФІКАЦІЯ
на целозії гребінчастої квітки

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
Ідентифікація		
А	Частини суцвіття завдовжки та завширшки до 5 см. Суцвіття – гребенеподібний колос із бахромою, численними, дрібними квітками та бутонами, які щільно розташовуються на плоскому квітколожі. Бахрома складчаста, утворена з численними дрібними частками, схожими на приквітники, які мають кремову основу та яскраво-малинові загострені кінці. Яскраво-жовта смуга розділяє дві сторони бахром. Із цієї жовтої тканини відростають численні тонкі, дрібні волоски. Бутони веретеноподібні, квітки двостатеві, п'ятичленні правильні, пелюстки оцвіттини вільні, вузькоеліптичні, видовжені, плівчасті, довжиною до 1 см, тичинки зрощені біля основи, зав'язь верхня, одногніздна, маточок 2-3, дуже короткі. Пильовики стрілоподібні, кремового кольору, маточки довгі, ниткоподібні, яскраво-рожевого кольору. Квіти розташовані віддалено на вузькому «краї» трикутної частини квітколожя.	МКЯ п. 1.1
В	На епідермі чашечки квітки целозії гребінчастої з обох боків зрідка зустрічаються продихи аномоцитного типу. Судинні пучки чашолистків досягають верхівки та країв, у паренхімі присутні друзи. По краях і верхівці чашолистків виявлено дво-три клітинні, товстостінні, секреторні волоски та сосочкоподібні вирости епідерми. На зовнішній епідермі пелюстки зустрічаються дрібні головчасті волоски. Пилкові зерна дрібні, шароподібної форми з тонкою, щільною екзиною, однотипною по всій поверхні з невеликими виступами.	МКЯ п. 1.2
С Фенольні сполуки	ТШХ у порівнянні з <i>ФСЗ лутеоліну Р</i>, <i>ФСЗ рутину Р</i> і <i>ФСЗ кофейної кислоти Р</i> у метанолі <i>Р</i>. Рухома фаза: <i>етилацетат Р</i> – <i>оцтова кислота льодяна Р</i> – <i>мурашина кислота Р</i> – <i>вода Р</i> (100:11:11:27). Виявлення: в УФ-світлі після обробки розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру <i>Р</i> у метанолі <i>Р</i>, потім розчином 50 г/л макрогону 400 <i>Р</i> у метанолі <i>Р</i>. У верхній частині хроматограми має проявлятися синя флуоресціююча зона кофейної кислоти, у середній частині – жовта флуоресціююча зона лутеоліну. У нижній частині хроматограми має проявлятися жовто-коричнева флуоресціююча зона рутину.	ДФУ 2.0.3, «Липи квітки» МКЯ п.1.3
Показники якості		
екстрактивні речовини екстракції етанолом 70 при %	Не менше 25,00 %	ДФУ 2.0.3 «Полин гіркий ^N » МКЯ п.2

Продовж. дод. Б

втрата в масі при висушуванні	Не більше 10,0 %	ДФУ 2.0.1, 2.2.32 МКЯ п.2
загальна зола	Не більше 10,0 %	ДФУ 2.0.1, 2.4.16 МКЯ п. 2
зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті	Не більше 1,0 %	ДФУ 2.0.1, 2.4.16 МКЯ п. 2
Кількісне визначення		
Сума флавоноїдів	Не менше 1,0 %.	ДФУ 2.0.1., 2.8.14 МКЯ п. 3

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

1. Ідентифікація

1.1. А. Частини суцвіття завдовжки та завширшки до 5 см. Суцвіття – гребенеподібний колос із бахромою, численними, дрібними квітками та бутонами, які щільно розташовуються на плоскому квітколожі. Бахрома складчаста, утворена з численними дрібними частками, схожими на приквітники, які мають кремову основу та яскраво-малинові загострені кінці. Яскраво-жовта смуга розділяє дві сторони бахром. Із цієї жовтої тканини відростають численні тонкі, дрібні волоски. Бутони веретеноподібні, квітки двостатеві, п'ятичленні правильні, пелюстки оцвіттини вільні, вузькоеліптичні, видовжені, півчасті, довжиною до 1 см, тичинки зрощені біля основи, зав'язь верхня, одногніздна, маточок 2-3, дуже короткі. Пильовики стрілоподібні, кремового кольору, маточки довгі, ниткоподібні, яскраво-рожевого кольору. Квіти розташовані віддалено на вузькому «краї» трикутної частини квітколожка.

1.2 В. На епідермі чашечки квітки целозії гребінчастої з обох боків зрідка зустрічаються продихи аномоцитного типу. Судинні пучки чашолистків досягають верхівки та країв, у паренхімі присутні друзи. По краях і верхівці чашолистків виявлено дво-три клітинні, товстостінні, секреторні волоски та сосочкоподібні вирости епідерми. На зовнішній епідермі пелюстки зустрічаються дрібні головчасті волоски. Пилкові зерна дрібні, шароподібної форми з тонкою, щільною екзиною, однотипною по всій поверхні з невеликими виступами.

1.3. С. Фенольні сполуки. Визначення проводять методом ТШХ.

Випробовуваний розчин. До 0,50 г подрібненої сировини додають 10 мл метанолу Р, нагрівають на водяній бані при температурі 60°C протягом 10 хв, охолоджують і фільтрують.

Розчин порівняння. 2,0 мг ФСЗ лютеоліну Р, 2,0 мг ФСЗ рутину Р і 2,0 мг ФСЗ кофейної кислоти Р розчиняють у 10 мл метанолу Р.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

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

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 ефіру Р у метанолі Р, потім розчином 50 г/л макрогону 400 Р у метанолі Р, після висихання переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: На хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння в УФ-

Продовж. дод. Б

світлі мають проявлятися зони у такій послідовності:

Верхня частина пластинки	
кофейна кислота: синя флуоресціююча зона	синя флуоресціююча зона
лютеолін: жовта флуоресціююча зона	жовта флуоресціююча зона
рутин: жовто-коричнева флуоресціююча зона	жовто-коричнева флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

У верхній частині хроматограми має проявлятися синя флуоресціююча зона кофейної кислоти, у середній частині – жовта флуоресціююча зона лютеоліну. У нижній частині хроматограми має проявлятися жовто-коричнева флуоресціююча зона рутину. Вище або нижче описаних зон можуть проявлятися інші зони фіолетового, синього, блакитного, оранжевого або жовтого кольору.

2. Показники якості. Екстрактивні речовини при екстракції 70 % етанолом не менше 25,0 %. (ДФУ 2.0.3 «Полин гіркий^N»), втрата в масі при висушуванні не більше 10,0 % (ДФУ 2.0.1, 2.2.32), загальної золи не більше 10,0 % (ДФУ 2.0.1, 2.4.16), зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті не більше 1,0 % (ДФУ 2.0.1, 2.4.16).

3. Кількісне визначення.

Сума флавоноїдів. Дослідження проводять методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою монографії «Софори бутони» ДФУ 2.1.

Вихідний розчин. До 1,0 г целозії гребінчастої квіток додають 90 мл метанолу *P* і доводять об'єм розчину до позначки тим же розчинником у мірній колбі на 100,0 мл.

Випробовуваний розчин. 10,0 мл вихідного розчину доводять розчином 20 г/л алюмінію хлориду *P* у метанолі *P* до об'єму 100,0 мл.

Компенсаційний розчин. 10,0 мл вихідного розчину доводять метанолом *P* до об'єму 100,0 мл.

Оптичну густину випробовуваного та компенсаційного розчинів вимірюють при довжині хвилі 410 нм через 15 хвилин після приготування.

Вміст флавоноїдів (*X*, %), у перерахунку на *рутин* та абсолютно суху сировину обчислюють за формулою:

Продовж. дод. Б

$$X = \frac{A \times 1000}{m \times 37},$$

де А – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 410 нм;
 m – маса наважки сировини, г.

Використовують питомий показник поглинання рутину, який дорівнює 370.

УПАКОВКА

Здрібнену сировину упаковують у мішки з тканини або льно-джуто-кенафні не більше 25 кг.

МАРКУВАННЯ

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

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Протимікробний засіб

Професор ЗВО кафедри хімії
 природних сполук і нутриціології,
 доктор фармацевтичних наук,
 професор



Ірина ЖУРАВЕЛЬ

« 12 » лютого 2023 р.

Аспірант кафедри хімії
 природних сполук і нутриціології



Аліна ДЕЙНЕКА

« 12 » лютого 2023 р.

Продовж. дод. Б

ПРОЄКТ



Директор з науково-педагогічної
роботи Національного
фармацевтичного університету
Інна ВЛАДИМИРОВА

«10» «лютого» 2023 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет,
Україна

Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Celosiae cristatae florum extractum spissum

Целозії гребінчастої квіток екстракт густий

Лікарський рослинний засіб у флаконах із темного скла

Продовж. дод. Б

СПЕЦИФІКАЦІЯ
на целозії гребінчастої квіток екстракт густий

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
Виробництво		
Спосіб одержання	Для виготовлення густого екстракту використовують 1 частину целозії гребінчастої квіток та 5 частин етанолу (70%, об/об) Р. Екстракт готують методом дробної мацерації при температурі близько 60°C та згущують витяжку під зниженим тиском.	МКЯ п. 1
Ідентифікація		
А. Органолептичні показники	Густа, в'язка маса бурого кольору зі специфічним запахом.	МКЯ п. 2.1
С. Фенольні сполуки	ТШХ у порівнянні з <i>ФСЗ кофейної кислоти Р</i> , <i>лютеоліну Р</i> , <i>рутину Р</i> , <i>кверцетину Р</i> . Рухома фаза: <i>етилацетат Р</i> – <i>оцтова кислота льодяна Р</i> – <i>мурашина кислота Р</i> – <i>вода Р</i> (100:11:11:27). В УФ-світлі після обробки розчином 1 г/л <i>дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р</i> в <i>етилацетаті Р</i> , розчином 5 г/л <i>макроголу 400 Р</i> у метиленхлориді Р у верхній частині хроматограми випробовуваного розчину в УФ-світлі мають проявлятися синя флуоресціююча зона кофейної кислоти та оранжева флуоресціююча зона кверцетину. У середній частині хроматограми має проявлятися зона із жовтою флуоресценцією, яка відповідає зоні лютеоліну. У нижній частині хроматограми має проявлятися зона рутину із жовто-коричневою флуоресценцією. Вище та нижче описаних зон можуть проявлятися інші зони із синьою, фіолетовою, блакитною, оранжевою та жовтою флуоресценцією.	ДФУ 2.0.3, «Липи квітки» МКЯ п.2.2
Показники якості		
Сухий залишок	Не менше 80,0 %	ДФУ 2.0.1, 2.8.16 МКЯ п.3.
загальна зола	Не більше 12,0 %	ДФУ 2.0.1, 2.4.16 МКЯ п.3.
важкі метали	Не більше 0,01 %	ДФУ 2.0.1, п. 2.4.8 МКЯ п.3.
мікробіологічна чистота	В 1 г екстракту допускається наявність не більше 1000 бактерій і 100 дріжджових та пліснявих грибів (у сумі). Не допускається наявність штамів <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella spp.</i>	ДФУ 2.0.1, 5.1.4 МКЯ п.3.
Кількісне визначення		
Сума флавоноїдів	Не менше 5,0 %	ДФУ 2.1, «Софори бутони» МКЯ п. 3

Продовж. дод. Б

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ

1. Виробництво. Для виготовлення густого екстракту використовують 1 частину целозії гребінчастої квіток та 5 частин етанолу (70%, об/об) Р. Екстракт готують методом дробної мацерації при температурі близько 60°C та висушують витяжку під зниженим тиском.

2. Ідентифікація

2.1. А Органолептичні показники. Густа, в'язка маса бурого кольору зі специфічним запахом.

2.2. С. Фенольні сполуки. Визначення проводять методом ТШХ.

Випробовуваний розчин. 0,1 г розчиняють у 5 мл метанолу Р.

Розчин порівняння. 2,0 мг кофейної кислоти Р, 2,0 мг лютеолін Р, 2,0 мг рутину Р та 2,0 мг кверцетину Р розчиняють у 10 мл метанолу Р.

Пластика: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

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

Об'єм проб: 10 мкл, смугами.

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

Висушування: при температурі (100-105)°С протягом 5 хв.

Виявлення: нагрівають протягом 5 хв при температурі 100-105°C, обробляють розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р в етилацетаті Р, потім розчином 50 г/л макрогелю 400 Р у метанолі Р і висушують на повітрі протягом 30 хв. Переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: на хроматограмі зони мають проявлятися у такій послідовності:

Верхня частина пластинки	
кофейна кислота: синя флуоресціююча зона	синя флуоресціююча зона
кверцетин: жовтогаряча флуоресціююча зона	жовтогаряча флуоресціююча зона
лютеолін: жовта флуоресціююча зона	жовта флуоресціююча зона
рутин кислота: жовто-коричнева флуоресціююча зона	жовто-коричнева флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

У верхній частині хроматограми випробовуваного розчину в УФ-світлі мають проявлятися синя флуоресціююча зона кофейної кислоти та оранжева флуоресціююча зона кверцетину. У середній частині хроматограми має проявлятися зона із жовтою флуоресценцією, яка відповідає зоні лютеоліну. У нижній частині хроматограми має проявлятися зона рутину із жовто-коричневою флуоресценцією. Вище та нижче описаних зон можуть проявлятися інші зони із синьою, фіолетовою, блакитною, оранжевою та жовтою флуоресценцією.

3. Числові показники. Сухий залишок не менше 80,0 % (ДФУ 2.0.1, 2.8.16), загальної золи не більше 12,0 % (ДФУ 2.0.1, 2.4.16), важких металів не більше 0,01% (ДФУ 2.0.1, п. 2.4.8), мікробіологічна чистота в 1 г екстракту допускається наявність не більше 1000 бактерій і 100

Продовж. дод. Б

дріжджових та пліснявих грибів (у сумі). Не допускається наявність бактерій *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus aureus*, бактерій роду *Salmonella*. (ДФУ 2.0.1, 5.1.4).

4. Кількісне визначення.

Сума флавоноїдів. Дослідження проводять за методикою монографії «Софори бутони» ДФУ 2.1.

Вихідний розчин. 0,2 г целозії гребінчастої квіток екстракту густого розчиняють у 10 мл етанолу *P* (70 %, об/об) і доводять об'єм розчину до позначки тим же розчинником у мірній колбі на 25,0 мл.

Випробовуваний розчин. 10,0 мл вихідного розчину доводять розчином 20 г/л алюмінію хлориду *P* у метанолі *P* до об'єму 100,0 мл.

Компенсаційний розчин. 10,0 мл вихідного розчину доводять метанолом *P* до об'єму 100,0 мл.

Оптичну густину випробовуваного та компенсаційного розчинів вимірюють при довжині хвилі 410 нм через 15 хвилин після приготування.

Вміст флавоноїдів (X, %), у перерахунку на рутин та абсолютно суху сировину обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \times 1000}{m \times 37},$$

де А – оптична густина випробовуваного розчину при довжині хвилі 410 нм;
m – маса наважки сировини, г.

Використовують питомий показник поглинання рутина, який дорівнює 370.

УПАКОВКА

Густий екстракт упаковують у скляні флакони не більше 50 г нетто.

МАРКУВАННЯ

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

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Протимікробний засіб

Професор ЗВО кафедри хімії
природних сполук і нутриціології,
доктор фармацевтичних наук,
професор

Аспірант кафедри хімії
природних сполук і нутриціології

Ірина ЖУРАВЕЛЬ

« 12 » лютого 2023 р.

Аліна ДЕЙНЕКА

« 12 » лютого 2023 р.

Додаток В



Додаток Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор ПВНЗ «Київський медичний
університет»

 д. мед. н., проф. Івнев Б.Б.
« В » « листопада » 2021 р.

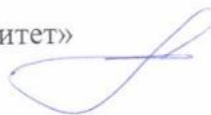
АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати дослідження мінерального складу целозії гребінчастої.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра хімії природних сполук і нутриціології, 61002, м. Харків, вул Пушкінська, 53., аспірант Аліна ДЕЙНЕКА.
3. **Джерела інформації:** The study in cockscomb mineral composition / A. S. Deineka, V. V. Protska, I. O. Zhuravel, O. A. Kyslychenko, V. Yu. Kuznietsova *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Т. 14. № 2 (36). С. 194-199.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет».
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
7. **Терміни впровадження:** 2021-2022 н. р.

Затверджено на засіданні кафедри
протокол № 3 від «05» «10» 2021 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри фармацевтичної і
біологічної хімії, фармакогнозії
ПВНЗ «Київський медичний університет»
д. фарм. н., професорка



Коновалова О.Ю.

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи та інновацій
 Національного медичного університету
 імені О.О. Богомольця
 д.мед.н., професор Земсков С.В.
 «26» _____ 2022 р.



1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту фенольних сполук методом ВЕРХ у квітках целозії гребінчастої.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра хімії природних сполук і нутриціології, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. Аспірант Дейнека А. С.
3. **Джерела інформації:** Дейнека А. С., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту фенольних сполук методом ВЕРХ у квітках целозії гребінчастої. Annals of Mechnikov Institute. 2022. № 3. С. 28-31. DOI: 10.5281/zenodo.7070948
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 хімічного складу лікарської рослинної сировини.
7. **Строки впровадження:** 2022-2023 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 9 від 14.12.2022__

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

 В.М. Мінарченко

Продовж. дод. Г

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор закладу вищої освіти з
науково-технічної роботи Тернопільського
національного медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
проф. І.М. Кліщ
«23» «жовтня» 2022 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати розробки технології одержання екстракту із квіток целозії гребінчастої за допомогою методу математичного планування.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра хімії природних сполук і нутриціології, 61002, м. Харків, вул Пушкінська, 53. Аспірант Аліна ДЕЙНЕКА
3. **Джерела інформації:** Дейнека А. С., Журавель І. О. Розробка технології одержання екстракту із квіток целозії гребінчастої шляхом застосування методу математичного планування експерименту. *Annals of Mechnikov Institute*, 2022. № 2. С. 42-46.
4. **Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського.
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
7. **Строки впровадження:** 2021-2022 н. р.

Завідувачка кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного медичного
університету імені І.Я. Горбачевського
д.фарм.н, професорка

 Світлана МАРЧИШИН

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
 з наукової роботи Тернопільського
 національного медичного університету
 імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
 д.б.о.т.н., професор Кліш І.М.
 15.11.2022 р.



1. Найменування пропозиції для впровадження: результати вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту амінокислот у сировині целозії гребінчастої.
2. Установа, автор: Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра хімії природних сполук і нутриціології, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. Аспірант Дейнека А. С.
3. Джерела інформації: Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О. Вивчення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у сировині целозії гребінчастої. *Annals of Mechnikov's Institute*, 2022, № 1, С. 98-102. DOI: 10.5281/zenodo.6350017
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 і питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
7. Строки впровадження: 2022-2023 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 11 від 15.11.2022

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

Людмила ФІРА