

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Саррай Дургхам Халід Абед

УДК 615.322:54.061/.062

ДИСЕРТАЦІЯ

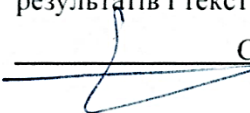
«Фармакогностичне вивчення мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.)»

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


Саррай Дургхам Халід Абед

Науковий керівник Журавель Ірина Олександрівна, доктор фармацевтичних наук, професор

Харків – 2023

АНОТАЦІЯ

Саррай Дургхам Халід Абед Фармакогностичне вивчення мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.). – 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.

Дисертаційна робота присвячена комплексному порівняльному фармакогностичному вивченню листя, стебел і плодів мірабілісу ялапа сортів Іоланта і Ельвіра, одержанню лікарського рослинного засобу з сировини, що досліджувалася, розробці критеріїв стандартизації сировини та лікарського рослинного засобу на її основі.

Вивчення якісного складу об'єктів дослідження проводили хімічними реакціями, хроматографічними та спектральними методами, якими було виявлено різні групи біологічно активних речовин (БАР): амінокислоти, флавоноїди, фенольні кислоти, таніни та інші фенольні сполуки, органічні кислоти, мінеральні речовини, жирні кислоти, вуглеводи, хлорофіли і каротиноїди.

Склад фенольних сполук мірабілісу ялапа досліджували методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Встановлено, що листя мірабілісу досліджуваних сортів не відрізнялося між собою складом ідентифікованих фенольних сполук. У листі було виявлено хлорогенову, неохлорогенову, кофейну, ферулову кислоти, гіперозид і рутин, у найбільшій кількості містилися неохлорогенова кислота, рутин і гіперозид, вміст яких у листі сорту Ельвіра дорівнював 75,26 мкг/мг, 97,26 мкг/мг і 100,20 мкг/мг, у листі сорту Іоланта – 95,89 мкг/мг, 105,64 мкг/мг і 91,36 мкг/мг відповідно. Гіперозид, рутин, неохлорогенову і хлорогенову кислоти містили стебла мірабілісу обох сортів, окрім цього у стеблах сорту Іоланта знайдено

ферулову кислоту, у стеблах сорту Ельвіра – кофейну кислоту. Слід відмітити, що плоди мірабілісу сортів, які вивчалися, також відрізнялися складом фенольних сполук. У плодах сорту Іоланта ідентифіковано 6 сполук фенольної природи, серед яких хлорогенова, неохлорогенова, кофейна кислоти, гіперозид, рутин та ононін, у плодах сорту Ельвіра – 4 сполуки, зокрема хлорогенова і кофейна кислоти, гіперозид і ононін. Хлорогенова кислота домінувала за вмістом серед ідентифікованих фенольних сполук у плодах сортів Іоланта і Ельвіра (39,51 мкг/мг і 51,73 мкг/мг відповідно). За результатами проведеного дослідження встановлено, що більше фенольних сполук накопичувалося у листі, де вміст визначених сполук методом ВЕРХ у сировині сортів Ельвіра та Іоланта склав 326,51 мкг/мг та 373,03 мкг/мг відповідно.

Спектрофотометричним методом проведено кількісне визначення різних груп фенольних сполук. Листя сортів Іоланта і Ельвіра містило 0,39 % та 0,31 % флавоноїдів, 1,97 % та 1,64 % гідроксикоричних кислот, 1,53 % та 1,38 % поліфенолів, 0,79 % та 0,71 % танінів відповідно. Інші види сировини, що досліджувалася, поступалися листю за вмістом цих груп фенольних сполук. Для плодів проведено кількісне визначення суми ізофлавоноїдів, їх вміст коливався у межах 0,18-0,21 %.

Уперше вивчено жирнокислотний склад ліпофільних фракцій сировини мірабілісу методом газової хроматографії (ГХ). У листі обох сортів було ідентифіковано по 14 жирних кислот, у стеблах і плодах мірабілісу сорту Ельвіра – по 13, сорту Іоланта – по 12 жирних кислот. Встановлено, що ненасичені жирні кислоти переважали за вмістом в усіх об'єктах дослідження, найбільшою їх частка була у плодах (81,82 % та 79,70 %) та листі (76,00 % та 74,49 %) мірабілісу сортів Іоланта та Ельвіра відповідно. Вміст ліноленової кислоти у листі мірабілісу сорту Іоланта був 62,33 %, у листі сорту Ельвіра – 58,33 % від суми жирних кислот. У стеблах превалювала лінолева кислота, у плодах – олеїнова кислота.

Компонентний склад амінокислот у листі, стеблах і плодах мірабілісу вивчали методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії. Загалом у досліджуваній сировині після гідролізу ідентифіковано 18 амінокислот. Глутамінова кислота містилася у найбільшій кількості у листі та стеблах, пролін – у плодах обох сортів. Загальний вміст ідентифікованих вільних та зв'язаних амінокислот у листі мірабілісу сортів Іоланта та Ельвіра був 10890,00 мг/100 г та 11730,00 мг/100 г відповідно, що значно перевищувало їх вміст у інших видах сировини. Спектрофотометричним методом проведено кількісне визначення вільних амінокислот у перерахунку на лейцин. Листя, стебла і плоди сорту Ельвіра накопичували 2,66 %, 0,99 % і 0,71 % амінокислот, сорту Іоланта – 2,45 %, 0,90 % і 0,65 % відповідно.

Уперше вивчено елементний склад сировини мірабілісу ялапа сортів Ельвіра та Іоланта. Виявлено 19 елементів, серед яких домінуючими були калій, кальцій та магній, їх вміст у досліджуваній сировині був у межах 1350,00-6490,00 мг/100 г, 335,00-2130,00 мг/100 г та 190,00-831,00 мг/100 г відповідно. Максимальну кількість мінеральних речовин визначено у листі обох сортів. Результати випробування свідчили, що вміст важких металів у сировині мірабілісу ялапа сортів, які досліджувалися, знаходився у межах гранично допустимої норми для лікарської рослинної сировини згідно з вимогами ДФУ.

Проведено кількісне визначення органічних кислот методом титриметрії. Максимальний їх вміст у перерахунку на яблучну кислоту був у листі мірабілісу сорту Іоланта (1,50 %), мінімальний – у плодах сорту Ельвіра (0,46 %).

Визначення кількісного вмісту хлорофілів та каротиноїдів проводили спектрофотометричним методом за методиками, відповідно до яких екстракція проводилась при кімнатній та підвищеній температурі. Більший вихід пігментів з листя мірабілісу (приблизно у 2 рази) спостерігався при нагріванні. У стеблах визначено слідові кількості цих БАР.

Полісахариди, кількісний вміст яких визначали методом гравіметрії, у більшій кількості містилися у листі (18,70 % сорту Іоланта, 17,14 % сорту Ельвіра). Стебла та плоди мірабілісу досліджуваних сортів містили від 12,60 % до 14,85 % полісахаридів.

Для об'єктів дослідження визначено втрату в масі при висушуванні та загальну золу.

Аналіз результатів проведених випробувань показав незначні відмінності якісного складу та кількісного вмісту досліджених груп БАР між сортами мірабілісу ялапа. Враховуючи також кількісну перевагу більшості досліджуваних груп БАР у листі, перспективною сировиною для подальших досліджень вибрано листя суміші сортів мірабілісу.

Вивчено анатомічну будову мірабілісу ялапа листя та встановлено основні діагностичні ознаки сировини: неправильної форми злегка звивистостінні клітини верхньої та нижньої епідерми, прямокутної та округлої форми прямостінні клітини по жилкам, продихи аномоцитного типу, яких більше на нижній епідермі; наявність трихом: простих, головчастих волосків з багатоклітинною ніжкою із коричневим вмістом по жилкам та на верхній епідермі, великих простих багатоклітинних волосків із загостреною термінальною клітиною по краю листкової пластинки, простих 3-, 4- та багатоклітинних тонкостінних волосків із коричневим вмістом на нижній епідермі; призматичні кристали кальцію оксалату по жилкам, пучки рафід на верхній та нижній епідермі листкової пластинки. Ці діагностичні ознаки запропоновано включити до розділу «Ідентифікації В» проєкту методів контролю якості на мірабілісу ялапа листя.

За результатами проведених експериментальних досліджень на 7 серіях листя мірабілісу запропоновано параметри стандартизації сировини: макроскопічні та мікроскопічні ознаки, ідентифікація хлорогенової кислоти та пірогалолу методом ТШХ, випробування на вміст сторонніх домішок (не більше 4,0 % листків іншого кольору; не більше 4,0 % квіток чи плодів; не більше 3,0 % інших сторонніх домішок), втрата в масі при висушуванні (не

більше 11,0 %.), загальна зола (не більше 8,00 %.), кількісне визначення спектрофотометричним методом суми гідроксикоричних кислот (не менше 1,50 % у перерахунку на хлорогенову кислоту і суху сировину) та поліфенолів (не менше 1,00 % у перерахунку на пірогалол і суху сировину).

Визначено основні технологічні параметри листя мірабілісу, які було враховано при одержанні лікарського рослинного засобу.

Результати визначення екстрактивних речовин показали, що найбільша їх кількість з листя мірабілісу вилучалася водою (25,34 %) та 40 % етанолом (22,61 %).

Проведено низку випробувань з визначення оптимальних умов одержання лікарського рослинного засобу на основі мірабілісу ялапа листя, зокрема було досліджено вплив на вихід БАР (гідроксикоричних кислот та поліфенолів) різних екстрагентів, температури екстракції, дисперсності сировини, співвідношення сировини до екстрагенту, тривалості та кратності екстракції. Результати досліджень покладено в основу технології одержання лікарського рослинного засобу – мірабілісу ялапа листя екстракту густого.

Із використанням ПХ та ТШХ у екстракті виявлено органічні кислоти, фенольні сполуки (флавоноїди, гідроксикоричні кислоти та пірогалол), амінокислоти.

Подальше вивчення фенольних сполук у екстракті проводили методом ВЕРХ. Було ідентифіковано фенольні кислоти (бузкову, *n*-кумарову, хлорогенову, ферулову, кофейну, галову, синапову) і флавоноїди (гіперозид, рутин). У значній кількості у екстракті визначено гіперозид (518,22 мкг/мг), рутин (502,37 мкг/мг), бузкову (498,20 мкг/мг), *n*-кумарову (469,65 мкг/мг) та хлорогенову (347,33 мкг/мг) кислоти.

Спектрофотометричним методом у мірабілісу ялапа листя екстракті густому встановлено кількісний вміст гідроксикоричних кислот (4,53 %), поліфенолів (4,12 %), флавоноїдів (1,27 %), амінокислот (5,16 %), органічних кислот (2,34 %).

Вивчено елементний склад одержаного екстракту. Домінували серед 19 ідентифікованих мінеральних речовин калій (7302,00 мг/100 г), кальцій (2954,00 мг/100 г), магній (1024,00 мг/100 г). Визначено вміст важких металів у екстракті листя мірабілісу, за результатами зроблено висновок, що їх вміст не перевищував зазначені норми.

Запропоновано параметри стандартизації мірабілісу ялапа листя екстракту густого: виробництво, властивості (опис), ідентифікація хлорогенової кислоти та пірогалолу методом ТШХ, випробування (втрата в масі при висушуванні (не більше 25,00 %), кількісне визначення спектрофотометричним методом суми гідроксикоричних кислот (не менше 4,00 % у перерахунку на хлорогенову кислоту) та поліфенолів (не менше 3,00 % у перерахунку на пірогалол).

Враховуючи широке розповсюдження інфекційних захворювань та проблему стійкості збудників цих захворювань до протимікробних засобів, було досліджено вплив одержаного екстракту на *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* та *Candida albicans*. Екстракт досліджували у вигляді 1 %, 5 % та 10 % розчинів. Досліджувані штами мікроорганізмів були більш чутливими до 5 % та 10 % розчинів екстракту. Найбільші зони затримки росту зафіксовані при тестуванні 10 % розчину одержаного екстракту на штамх *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Вивчено вплив мірабілісу ялапа листя екстракту густого на формування резистентності *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та встановлено його високий потенціал як лікарського рослинного засобу із антимікробною активністю.

Новизна роботи така: уперше проведено комплексне порівняльне фітохімічне вивчення листя, стебел та плодів мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра, у ході якого досліджено сполуки фенольної природи, жирні кислоти, мінеральні речовини, амінокислоти, вуглеводи, пігменти, органічні кислоти.

Вивчено діагностичні анатомічні ознаки листя мірабілісу ялапа. Запропоновано параметри стандартизації мірабілісу ялапа листя відповідно до вимог ДФУ шляхом аналізу серій сировини, заготовлених у різних областях України.

Уперше одержано мірабілісу ялапа листя екстракт густий, досліджено його хімічний склад, запропоновано параметри його стандартизації. Вивчено протимікробні властивості одержаного екстракту.

Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель «Спосіб одержання екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією».

З огляду на результати проведених фармакогностичних досліджень розроблено проекти МКЯ «Мірабілісу ялапа листя» та «Мірабілісу ялапа листя екстракт густий».

Результати фітохімічного вивчення мірабілісу ялапа впроваджено у науково-дослідну роботу споріднених закладів вищої освіти України.

Ключові слова: мірабіліс ялапа, фармакогностичне дослідження, екстракт густий, стандартизація, протимікробна активність.

Список публікацій здобувача

1. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Мінеральний склад мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.). *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 2. С. 38–40 DOI:10.33617/2522-9680-2019-2-38 (Особистий внесок – огляд джерел літератури, підготовка зразків, узагальнення одержаних результатів, участь у написання статті).

2. HPLC study of phenolic compounds in *Mirabilis jalapa* raw material / D. K. A Sarray., L. Horiacha, I. Zhuravel, A. Fedosov. *Pharmacia*. 2020. Vol. 67 (3). P. 145–152 (*Scopus*) DOI: 10.3897/pharmacia.67.e52585 (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, участь у обробці результатів експерименту, участь у підготовці статті до друку).

3. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Дослідження амінокислот у сировині *Mirabilis jalapa* L. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. № 3. С. 65–68 DOI: 10.5281/zenodo.5499674 (Особистий внесок – огляд джерел літератури, підготовка зразків для експерименту, участь у аналізі одержаних результатів та підготовці статті до друку).

4. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Жирнокислотний склад *Mirabilis jalapa* L. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. № 4. С. 15–20 DOI: 10.5281/zenodo.5761145 (Особистий внесок – підготовка зразків, аналіз одержаних результатів, участь у написанні та оформленні статті).

5. 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. 149093. Україна. № и 2021 05118; заявл. 10.09.2021; опубл. 13.10.2021, Бюл. № 41 (Особистий внесок – проведення інформаційно-патентного пошуку, одержання екстракту, обробка експериментальних даних, участь в оформленні патенту).

6. Саррай Д., Журавель І. О., Горяча Л. М. Ідентифікація амінокислот у *Mirabilis jalapa* L. листі. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: матеріали III міжнародної науково-практичної internet-конференції*, м. Харків, 26-28 листопада 2018 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 190–191.

7. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Результати визначення вмісту танінів у мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.) плодах. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку: матеріали XI науково-практичної INTERNET-конференції*, м. Харків, 24 травня 2019 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 35–36.

8. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Кількісний вміст пігментів у листі та траві *Mirabilis jalapa* L. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських*

засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: матеріали II Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, м. Харків, 11 березня 2020 р. Х.: НФаУ, 2020. С. 158.

9. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Визначення кількісного вмісту поліфенолів у сировині *Mirabilis jalapa* L. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали III Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, м. Харків, 2 квітня 2021 р. Х.: НФаУ, 2021. С. 174.

10. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Результати визначення кількісного вмісту флавоноїдів у сировині *Mirabilis jalapa* L. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету, м. Харків, 10 вересня 2021 р. Х.: НФаУ, 2021. С. 248–249.

11. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Одержання екстракту з листя мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.). *Сучасні досягнення фармацевтичної технології*: матеріали IX міжнародної науково-практичної internet-конференції, м. Харків, 5 листопада 2021 р. Х.: НФаУ, 2021. С. 150.

12. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Дослідження полісахаридів мірабілісу ялапа. *Сучасні аспекти створення лікарських засобів*: матеріали II Міжнародної науково-практичної дистанційної конференції, м. Харків, 1 лютого 2022 р. Харків: НФаУ, 2022. С. 193.

13. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Кількісне визначення гідроксикоричних кислот у листі, плодах та траві *Mirabilis jalapa* L. *Сучасні аспекти створення лікарських засобів*: матеріали II Міжнародної науково-практичної дистанційної конференції, м. Харків, 1 лютого 2022 р. Харків: НФаУ, 2022. С. 194.

14. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Визначення кількісного вмісту фенольних сполук у мірабілісу ялапа листя екстракті густому. *PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА*: матеріали ІІІ науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 180-річчю Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, м. Київ, 18 лютого 2022 р. Київ, 2022. Т. 2. С. 199–200.

ANNOTATION

Sarray Dhurgham Khalid Abed Pharmacognostic study of marvel of Peru (*Mirabilis jalapa* L.). – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for a Doctor of Philosophy degree by specialty 226 «Pharmacy, industrial pharmacy» (22 – Health care). – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2023.

The dissertation work is devoted to a comprehensive comparative pharmacognostic study of the leaves, stems and fruits of the mirabilis jalap of the Iolanta and Elvira varieties, obtaining a medicinal herbal remedy from the studied raw materials, developing criteria for standardization of raw materials and a medicinal herbal remedy based on it.

The study of the qualitative composition of the research objects was carried out by chemical reactions, chromatographic and spectral methods, which revealed various groups of biologically active substances (BAS): amino acids, flavonoids, phenolic acids, tannins and other phenolic compounds, organic acids, minerals, fatty acids, carbohydrates, chlorophylls and carotenoids.

The composition of phenolic compounds of mirabilis jalap was studied by the method of high-performance liquid chromatography (HPLC). It was established that the mirabilis leaves of the studied varieties did not differ among themselves in the composition of the identified phenolic compounds. Chlorogenic, neochlorogenic, caffeic, ferulic acids, hyperoside, and rutin were found in the leaves, the largest amount of neochlorogenic acid, rutin, and hyperoside, the content of which in the leaves of the Elvira variety was equal to 75.26 µg/mg, 97.26 µg/mg, and 100.20 µg/mg, in the leaf of the Iolanta variety – 95.89 µg/mg, 105.64 µg/mg, and 91.36 µg/mg, respectively. Hyperoside, rutin, neochlorogenic and chlorogenic acids were contained in the stems of mirabilis of both varieties, in addition, ferulic acid was found in the stems of the Iolanta variety, and caffeic acid in the stems of the Elvira variety. It should be noted that the mirabilis fruits of the

studied varieties also differed in the composition of phenolic compounds. In the fruits of the *Iolanta* variety, 6 compounds of phenolic nature were identified, including chlorogenic, neochlorogenic, caffeic acids, hyperoside, rutin, and ononin, in the fruits of the *Elvira* variety, 4 compounds were identified, including chlorogenic and caffeic acids, hyperoside, and ononin. Chlorogenic acid dominated in content among the identified phenolic compounds in the fruits of *Iolanta* and *Elvira* varieties (39.51 µg/mg and 51.73 µg/mg, respectively). According to the results of the study, it was established that more phenolic compounds accumulated in the leaves, where the content of compounds determined by HPLC in the raw materials of the *Elvira* and *Iolanta* varieties was 326.51 µg/mg and 373.03 µg/mg, respectively.

Quantitative determination of various groups of phenolic compounds was carried out by the spectrophotometric method. The leaves of *Iolanta* and *Elvira* varieties contained 0.39 % and 0.31 % flavonoids, 1.97 % and 1.64 % hydroxycinnamic acids, 1.53 % and 1.38 % polyphenols, 0.79 % and 0.71 % tannins in accordance. Other types of raw materials studied were inferior to leaves in terms of the content of these groups of phenolic compounds. Quantitative determination of the amount of isoflavonoids was carried out for the fruits, their content ranged from 0.18 to 0.21 %.

For the first time, the fatty acid composition of the lipophilic fractions of *mirabilis* raw materials was studied by gas chromatography (GC). In the leaves of both varieties, 14 fatty acids were identified, in the stems and fruits of *mirabilis* of the *Elvira* variety – 13, and of the *Iolanta* variety – 12 fatty acids. It was established that unsaturated fatty acids prevailed in content in all objects of the study, their largest share was in fruits (81.82 % and 79.70 %) and leaves (76.00 % and 74.49 %) of *mirabilis* varieties *Iolanta* and *Elvira* respectively. The content of linolenic acid in the leaves of *mirabilis* of the *Iolanta* variety was 62.33 %, in the leaves of the *Elvira* variety – 58.33 % of the total amount of fatty acids. Linoleic acid prevailed in the stems, oleic acid prevailed in the fruits.

The component composition of amino acids in leaves, stems and fruits of *mirabilis* was studied by the method of ion-exchange liquid-column chromatography. In total, 18 amino acids were identified in the studied raw material after hydrolysis. Glutamic acid was contained in the largest amount in leaves and stems, proline – in fruits of both varieties. The total content of identified free and bound amino acids in the leaves of *mirabilis* varieties *Iolanta* and *Elvira* was 10890.00 mg/100 g and 11730.00 mg/100 g, respectively, which significantly exceeded their content in other types of raw materials. The spectrophotometric method was used to quantify free amino acids in terms of leucine. The leaves, stems, and fruits of the *Elvira* variety accumulated 2.66 %, 0.99 %, and 0.71 % of amino acids, and the *Iolanta* variety accumulated 2.45 %, 0.90 %, and 0.65 %, respectively.

For the first time, the elemental composition of the raw materials of *mirabilis* jalap varieties *Elvira* and *Iolanta* was studied. 19 elements were detected, among which potassium, calcium and magnesium were dominant, their content in the studied raw materials was within 1350.00-6490.00 mg/100 g, 335.00-2130.00 mg/100 g and 190.00-831.00 mg/100 g respectively. The maximum amount of mineral substances is determined in the leaves of both varieties. The results of the test showed that the content of heavy metals in the raw materials of *mirabilis* jalap of the studied varieties was within the maximum allowable norm for medicinal plant raw materials according to the requirements of the SPU.

Quantitative determination of organic acids was carried out by the method of titrimetry. Their maximum content in terms of malic acid was in the leaves of *mirabilis* of the *Iolanta* variety (1.50 %), the minimum – in the fruits of the *Elvira* variety (0.46 %).

Determination of the quantitative content of chlorophylls and carotenoids was carried out by the spectrophotometric method according to the methods according to which the extraction was carried out at room and elevated temperatures. A greater yield of pigments from *mirabilis* leaves (approximately 2

times) was observed during heating. Trace amounts of these BAS were determined in the stems.

Polysaccharides, the quantitative content of which was determined by the gravimetric method, were contained in larger quantities in the leaves (18.70 % of the Iolanta variety, 17.14 % of the Elvira variety). The stems and fruits of mirabilis of the researched varieties contained from 12.60 % to 14.85 % polysaccharides.

For the objects of the study, the loss in mass during drying and total ash was determined.

The analysis of the results of the conducted tests showed insignificant differences in the qualitative composition and quantitative content of the investigated groups of BAS between the varieties of mirabilis jalap. Also taking into account the quantitative advantage of the majority of the researched BAS groups in the leaves, the leaves of a mixture of mirabilis varieties were selected as a promising raw material for further research.

The anatomical structure of the leaves was studied and the main diagnostic signs were established: irregularly shaped, slightly sinuous-walled cells of the upper and lower epidermis, rectangular and round-shaped straight-walled cells along the veins, anomocytic-type stomata, which are more abundant on the lower epidermis; the presence of trichomes: simple, capitate hairs with a multicellular stalk with brown content along the veins and on the upper epidermis, large simple multicellular hairs with a pointed terminal cell on the edge of the leaf blade, simple 3-, 4- and multicellular thin-walled hairs with brown content on the lower epidermis; prismatic crystals of calcium oxalate along the veins, bundles of raphides on the upper and lower epidermis of the leaf blade. These diagnostic features are proposed to be included in the "Identification B" section of the project of quality control methods for mirabilis jalap leaf.

Based on the results of experimental research on 7 series of mirabilis leaves, parameters for standardization of raw materials are proposed: macroscopic and microscopic features, identification of chlorogenic acid and pyrogallol by TLC method, testing for the content of foreign impurities (no more than 4.0 % of leaves

of a different color; no more than 4.0 % flowers or fruits; no more than 3.0 % of other foreign impurities), loss in mass during drying (no more than 11.0 %), total ash (no more than 8.00 %), quantitative determination by spectrophotometric method of the amount of hydroxycinnamic acids (not less than 1.50 % based on chlorogenic acid and dry raw materials) and polyphenols (not less than 1.00 % based on pyrogallol and dry raw materials).

The main technological parameters of mirabilis leaves, which were taken into account during the preparation of the herbal medicinal product, were determined.

The results of determination of extractive substances showed that the largest amount of them was extracted from mirabilis leaves with water (25.34 %) and 40 % ethanol (22.61 %).

A number of tests were conducted to determine the optimal conditions for obtaining a medicinal plant based on mirabilis jalap leaves, in particular, the influence of different extractants, extraction temperature, dispersion of raw materials, the ratio of raw materials to the extractant, duration and frequency of extraction on the yield of BAS (hydroxycinnamic acids and polyphenols) was investigated. The results of the research are the basis of the technology for obtaining a herbal medicinal product – mirabilis jalap leaf extract thick.

With the use of PC and TLC, organic acids, phenolic compounds (flavonoids, hydroxycinnamic acids and pyrogallol), amino acids were detected in the extract.

Further study of phenolic compounds in the extract was performed by HPLC. Phenolic acids (lilac, *p*-coumaric, chlorogenic, ferulic, caffeic, gallic, sinapic) and flavonoids (hyperoside, rutin) were identified. Hyperoside (518.22 µg/mg), rutin (502.37 µg/mg), lilac (498.20 µg/mg), *p*-coumar (469.65 µg/mg), and chlorogenic (347.33 µg/mg) acid.

The quantitative content of hydroxycinnamic acids (4.53 %), polyphenols (4.12 %), flavonoids (1.27 %), amino acids (5.16 %), organic acids (2.34 %).

The elemental composition of the obtained extract was studied. Potassium (7302.00 mg/100 g), calcium (2954.00 mg/100 g), magnesium (1024.00 mg/100 g) dominated among the 19 identified mineral substances. The content of heavy metals in the extract of mirabilis leaves was determined, based on the results it was concluded that their content did not exceed the specified norms.

The parameters of the standardization of mirabilis jalap leaves thick extract are proposed: production, properties (description), identification of chlorogenic acid and pyrogallol by TLC method, testing (mass loss on drying (not more than 25.00 %), quantitative determination by spectrophotometric method of the amount of hydroxycinnamic acids (not less 4.00 % based on chlorogenic acid) and polyphenols (at least 3.00 % based on pyrogallol).

Taking into account the widespread spread of infectious diseases and the problem of resistance of the causative agents of these diseases to antimicrobial agents, the effect of the obtained extract on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* and *Candida albicans* was investigated. The extract was studied in the form of 1 %, 5 % and 10 % solutions. The investigated strains of microorganisms were more sensitive to 5 % and 10 % solutions of the extract. The largest zones of growth retardation were recorded when testing a 10 % solution of the obtained extract on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Bacillus subtilis* ATCC 6633. The influence of mirabilis jalap leaf thick extract on the formation of resistance of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 was studied and its high potential as a medicinal plant with antimicrobial activity was established.

The novelty of the work is as follows: for the first time, a comprehensive comparative phytochemical study of the leaves, stems and fruits of mirabilis jalap varieties Iolanta and Elvira was conducted, during which phenolic compounds, fatty acids, minerals, amino acids, carbohydrates, pigments, organic acids were investigated.

The diagnostic anatomical features of the leaves of mirabilis jalap were studied. The parameters of mirabilis jalap leaf standardization are proposed in

accordance with the requirements of the SPU by analyzing batches of raw materials harvested in different regions of Ukraine.

A thick extract of mirabilis jalap leaves was obtained for the first time, its chemical composition was investigated, parameters of its standardization were proposed. The antimicrobial properties of the obtained extract were studied.

The novelty of the research is confirmed by the patent of Ukraine for the utility model "Method of obtaining extracts of plant origin with antibacterial action".

Taking into account the results of the pharmacognostic studies, the projects of "Mirabilis jalapa leaves" and "Mirabilis jalapa leaves thick extract" were developed.

The results of the phytochemical study of mirabilis jalap have been incorporated into the research work of related institutions of higher education in Ukraine.

Key words: mirabilis jalap, pharmacognostic research, thick extract, standardization, antimicrobial activity.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	21
ВСТУП	22
РОЗДІЛ 1	КОРОТКА БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД, ВИКОРИСТАННЯ У МЕДИЦИНІ МІРАБІЛІСУ ЯЛАПА
1.1	Ботанічна характеристика
1.2	Хімічний склад
1.3	Використання у медицині
РОЗДІЛ 2	ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕННЯ
2.1	Об'єкти дослідження
2.2	Відомості про реактиви, методи і прилади
2.3	Методики дослідження
РОЗДІЛ 3	ФІТОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ СИРОВИНИ МІРАБІЛІСУ ЯЛАПА
3.1	Визначення втрати в масі при висушуванні
3.2	Визначення загальної золи
3.3	Дослідження фенольних сполук
3.4	Дослідження жирних кислот
3.5	Дослідження амінокислот
3.6	Дослідження мінерального складу
3.7	Дослідження вуглеводів
3.8	Дослідження пігментів
3.9	Дослідження органічних кислот
Висновки до розділу 3	

РОЗДІЛ 4	СТАНДАРТИЗАЦІЯ СИРОВИНИ ТА ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО РОСЛИННОГО ЗАСОБУ. СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ОДЕРЖАНОГО ЛІКАРСЬКОГО РОСЛИННОГО ЗАСОБУ	100
4.1	Вибір перспективної сировини	100
4.2	Визначення діагностичних анатомічних ознак листя мірабілісу ялапа	101
4.3	Стандартизація листя мірабілісу ялапа	104
4.4	Розробка технології одержання лікарського рослинного засобу	117
4.5	Дослідження хімічного складу та стандартизація мірабілісу ялапа листя екстракту густого	123
4.6	Обговорення результатів фармакологічної активності екстракту	132
	Висновки до розділу 4	137
	ВИСНОВКИ	140
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	143
	ДОДАТКИ	161

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР – біологічно активні речовини;
ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;
ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я;
ГХ – газова хроматографія;
ДЗ – досліджуваний зразок;
ДФУ – Державна Фармакопея України;
ЛРС – лікарська рослинна сировина;
МІК – мінімальна інгібуюча концентрація;
МКЯ – методи контролю якості;
ПХ – паперова хроматографія;
РХ – рідинна хроматографія;
СЗ – стандартний зразок;
ТШХ – тонкошарова хроматографія;
х.ч. – хімічно чистий;
ч.д.а. – чистий для аналізу;
УФ-спектр – ультрафіолетовий спектр.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Стійкість бактерій до антибіотиків постійно зростає у всьому світі та ставить під загрозу ефективність протимікробних препаратів [142]. За даними ВООЗ проблема резистентності до антимікробних препаратів є однією з 10 глобальних загроз здоров'ю населення, які стоять перед людством [50]. Понад як у 2 млн людей щорічно розвиваються інфекції, збудниками яких є стійкі до антибіотиків патогени [91]. У Європі та США щорічно це є причиною понад 50 000 смертей. За прогнозами до 2050 р. невирішеність даної проблеми призведе до 10 млн смертей на рік, що більше, ніж усі види раку [72]. Високий рівень лікарської резистентності зареєстрований для *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, які є збудниками багатьох захворювань [72, 141].

На сьогодні гостро стоїть проблема пошуку нових шляхів боротьби з інфекціями. Біологічно активні речовини рослинного походження та екстракти, що їх містять, можуть бути потенціальними протимікробними агентами як для монотерапії, так і для підвищення ефективності інших антимікробних засобів [71]. Рослинні компоненти із протимікробними властивостями можуть пригнічувати ріст бактерій, вірусів та грибів децю іншими шляхами, ніж синтетичні протимікробні лікарські засоби, тому вони цінні при лікуванні резистентних штамів [133]. Біологічно активні речовини рослинних екстрактів здатні зв'язуватися з білковими доменами та впливати на клітинні процеси в організмі людини, зокрема імунну відповідь, апоптоз, мітоз. Це дає їм здатність проявляти не тільки антимікробну активність, а й впливати на перебіг патогенного процесу, за рахунок чого у бактерій, вірусів та грибів знижується здатність розвивати резистентність до активних компонентів рослинного походження [72].

Перш за все, як джерела БАР увагу привертають декоративні рослини, які широко культивуються, легко вводяться у культуру, що забезпечує достатню сировинну базу. До таких рослин відноситься мірабіліс ялапа (*Mirabilis jalapa* L.) – декоративна гарноквітуча рослина, яка вирощується у багатьох країнах світу, у тому числі і в Україні.

Рослина має лікувальні властивості, що підтверджено її тривалим використанням у традиційній медицині різних країн. Фармакологічними дослідженнями, проведеними у різних країнах, зокрема у Індії та Пакистані, встановлена перспективність використання мірабілісу ялапа як сировини із протимікробними властивостями [49, 55, 85, 107, 124, 130].

З точки зору вивченості хімічного складу увагу привертають листя, стебла та плоди, оскільки інші види сировини мірабілісу, зокрема квітки, трава, бульби, досліджені більш ґрунтовно.

До Фармакопеї Африки (2014) включена стаття «*Mirabilis jalapa* L.», у якій наводяться синоніми рослини, короткий ботанічний опис, інформація про географічне поширення, хімічний склад, використання та зберігання мірабілісу ялапа [44]. Отже, сировина рослини потребує розробки сучасних параметрів стандартизації.

Враховуючи вищенаведене, актуальним є фармакогностичне дослідження мірабілісу ялапа, стандартизація сировини та розробка лікарських рослинних засобів на її основі.

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

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

Мета і завдання дослідження

Метою роботи було порівняльне фармакогностичне дослідження листя, стебел та плодів мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра, виявлення перспективної сировини та її стандартизація, одержання та стандартизація лікарських рослинних засобів на основі перспективної сировини.

Для досягнення поставленої мети були поставлені такі завдання:

- Провести аналіз та узагальнення сучасних даних, наведених у джерелах літератури, з питань ботанічної характеристики, хімічного складу та використання у медицині мірабілісу ялапа;
- Дослідити якісний склад БАР у сировині мірабіліту ялапа;
- Визначити кількісний вміст основних груп БАР у листі, стеблах та плодах мірабілісу ялапа досліджуваних сортів;
- Вибрати перспективну сировину для подальших досліджень, спираючись на одержані результати;
- Вивчити основні анатомічні ознаки перспективної сировини та провести її стандартизацію відповідно до вимог ДФУ;
- Одержати лікарський рослинний засіб на основі вибраної сировини мірабілісу ялапа та розробити параметри його стандартизації;
- Дослідити фармакологічну активність одержаного лікарського рослинного засобу.

Об'єкт дослідження – комплексне фармакогностичне дослідження листя, стебел та плодів мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра та лікарського рослинного засобу на основі досліджуваної сировини.

Предмет дослідження – вивчення якісного складу та кількісне визначення БАР у листі, стеблах та плодах мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра, вибір перспективної сировини та розробка параметрів її стандартизації, розробка технології, одержання, стандартизація та вивчення фармакологічної активності лікарського рослинного засобу на основі вибраної сировини мірабілісу ялапа.

Методи дослідження

При виконанні фітохімічних досліджень сировини мірабілісу ялапа використовували хімічні реакції, хроматографію (ПХ, ТШХ, ВЕРХ, ГХ, РХ), спектрофотометрію, титриметрію, гравіметрію, атомно-емісійну спектрометрію.

Анатомічні ознаки сировини вивчали за допомогою світлового мікроскопу та фотокамери.

Дослідження протимікробної активності проводили *in vitro*.

Одержані результати обробляли статистичними методами.

Наукова новизна отриманих результатів

Уперше проведено комплексне порівняльне фітохімічне вивчення листя, стебел та плодів мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра, у ході якого досліджено сполуки фенольної природи, жирні кислоти, мінеральні речовини, амінокислоти, вуглеводи, пігменти, органічні кислоти.

Вивчено діагностичні анатомічні ознаки листя мірабілісу ялапа.

Запропоновано параметри стандартизації мірабілісу ялапа листя відповідно до вимог ДФУ шляхом аналізу серій сировини, заготовлених у різних областях України.

Уперше одержано мірабілісу ялапа листя екстракт густий, досліджено його хімічний склад, запропоновано параметри його стандартизації.

Вивчено протимікробні властивості одержаного екстракту.

Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель № 149093 від 13.10.2021 «Спосіб одержання екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією».

Практичне значення отриманих результатів

З огляду на результати проведених фармакогностичних досліджень розроблено проекти МКЯ «Мірабілісу ялапа листя» та «Мірабілісу ялапа листя екстракт густий».

Обґрунтовано та запропоновано технологію одержання мірабілісу ялапа листа екстракту густого.

Результати фітохімічного вивчення мірабілісу ялапа впроваджено у науково-дослідну роботу: кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»; кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; кафедри природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії Запорізького державного медичного університету; кафедри фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет».

Особистий внесок здобувача

Безпосередньо автором:

- Проведено аналіз даних, наведених у джерелах літератури, щодо ботанічної характеристики, географічного розповсюдження, хімічного складу та використання мірабілісу ялапа;
- Вивчено якісний склад та визначено кількісний вміст БАР у листі, стеблах та плодах мірабілісу двох сортів;
- Проаналізовано динаміку накопичення БАР та вибрано перспективну сировину для подальших досліджень;
- Вивчено основні діагностичні мікроскопічні ознаки листа мірабілісу;
- Запропоновано параметри стандартизації сировини;
- Визначено оптимальні умови та одержано екстракт листа мірабілісу, вивчено його хімічний склад, запропоновано критерії його стандартизації.

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з Журавель І. О., Горячою Л. М., Федосовим А. І., Процькою В. В., Петковою І. Б., Унгурян Л. М., Алрікабі А. Я., Дейнекою А. С.

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.

Апробація матеріалів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: III міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 26-28 листопада 2018 р.); XI науково-практичній INTERNET-конференції «Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку» (Харків, 24 травня 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» (Харків, 11 березня 2020 р.); III Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 2 квітня 2021 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 100-річчю Національного фармацевтичного університету «Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи» (Харків, 10 вересня 2021 р.); IX міжнародній науково-практичній internet-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології» (Харків, 5 листопада 2021 р.); II Міжнародній науково-практичній дистанційній конференції «Сучасні аспекти створення лікарських засобів» (Харків, 1 лютого 2022 р.); III науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 180-річчю Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА» (Київ, 18 лютого 2022 р.).

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 175 сторінках друкованого тексту, складається із анотації, вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 4 додатків. Обсяг основного тексту дисертації

складає 130 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 34 таблицями та 58 рисунками. Список використаних джерел містить 145 найменувань, з них 43 кирилицею та 102 латиницею.

РОЗДІЛ 1

КОРОТКА БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД, ВИКОРИСТАННЯ У МЕДИЦИНІ МІРАБІЛІСУ ЯЛАПА

1.1 Ботанічна характеристика

Мірабіліс ялапа (*Mirabilis jalapa* L.) відноситься до роду Мірабіліс (*Mirabilis* L.) родини Ніктагінові (*Nyctaginaceae*).

До родини Ніктагінові відносять 300-400 видів дерев, кущів та трав'янистих рослин приблизно 30 родів [61, 88, 101].

Рід налічує близько 60 видів, поширених переважно у тропічних та помірних регіонах. Багато видів мірабілісу є декоративними та культивуються у багатьох країнах світу (рис. 1.1) [96, 98, 127].

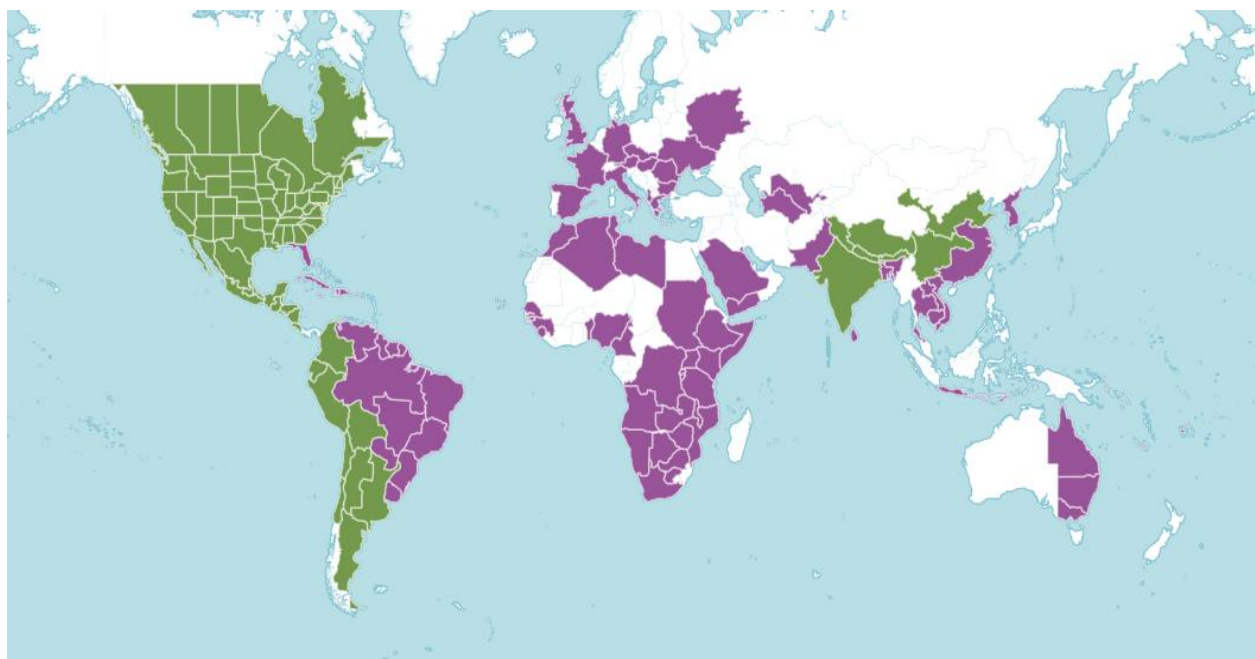


Рис. 1.1 Карта поширення рослин роду Мірабілісу світі



природний ареал



введено у культуру

Рослини роду Мірабіліс – трав'янисті одно- та багаторічні рослини, які мають бульбоподібно чи ріпоподібно потовщені корені. Листки прості, супротивні, сидячі або з черешками. Квітки поодинокі або зібрані у суцвіття, з воронкоподібним віночком рожевого, жовтого, білого, червоного кольору. Плоди капсулоподібні, тверді, не розкриваються [88, 97, 101].

Найбільш популярною та поширеною рослиною в останні роки є мірабіліс ялапа.

Мірабіліс ялапа, або нічна красуня – багаторічна трав'яниста рослина, у культурі – однорічна, кущі якої до 100 см заввишки, округло-повздовжньої форми.

Корені бульбоподібні, роздуті.

Стебло прямостояче, дуже гіллясте, червонуватого кольору та дещо здерев'яніле знизу.

Листки супротивні, черешкові, видовжено-яйцеподібні, цілюнокраї, голі, зелені.

Квітки воронкоподібні, у діаметрі до 2,5 см, по 3-5 у чашеподібній обгортці, зібрані у щиткоподібні суцвіття, духмяні, розкриваються після 16 години та залишаються відкритими до ранку. Квітки мірабілісу рожевого, білого, жовтого, червоного, оранжевого, фіолетового, малинового кольору, можуть бути двокольорові. Рослина рясно цвіте з червня та до заморозків.

Плід однонасінний, великий, має 5 гострих ребер, темно-коричневий [105, 126].

Мірабіліс ялапа – це тепло- та світлолюбива, посухостійка рослина.

До сьогодні досі йдуть дискусії стосовно батьківщини мірабілісу: Мексика, Чилі чи Індія. Сьогодні рослина культивується у багатьох країнах (рис. 1.2) [95, 100].

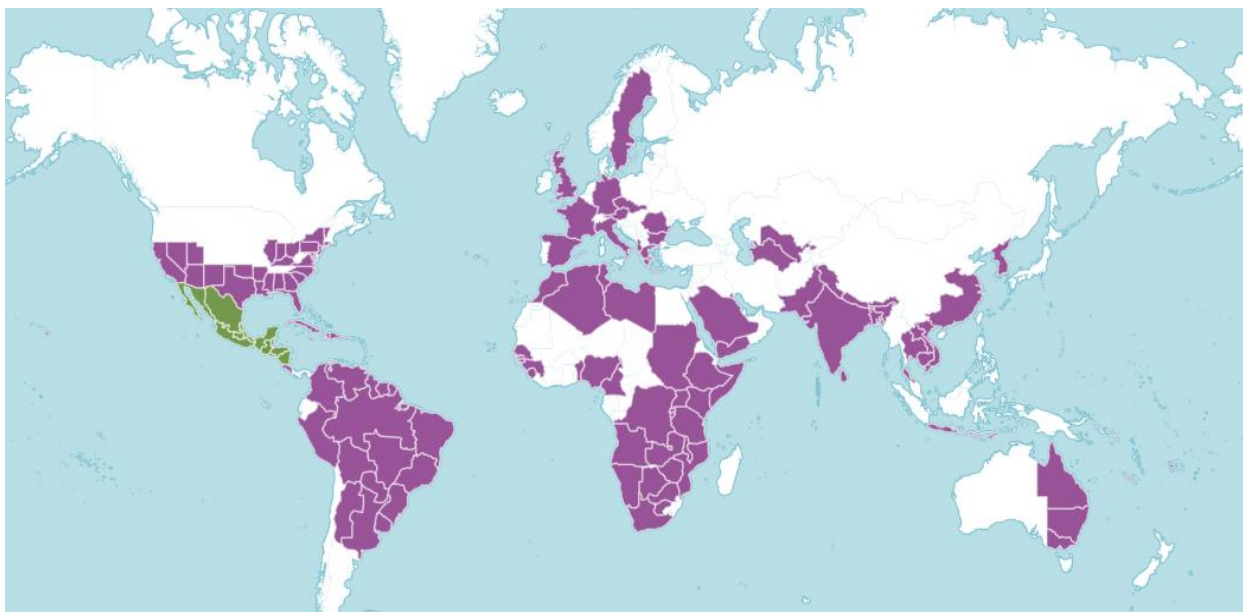
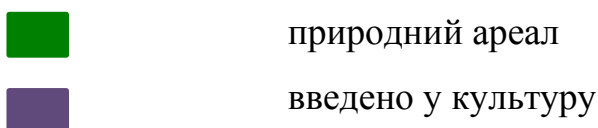


Рис. 1.2 Карта поширення мірабілісу ялапа у світі



1.2 Хімічний склад

Вивченням хімічного складу сировини мірабілісу ялапа займалися дослідники з Індії, Пакистану, Іраку, Китаю, Тунісу та інших країн.

У Іраку проведено дослідження фенольного складу листя мірабілісу, для чого здійснено поступову екстракцію сировини різними розчинниками, збільшуючи їх полярність. Основними компонентами петролейноефірної фракції листя мірабілісу були кумарова кислота (72,3 %), кумарин (19,2 %), кофейна кислота (7,7 %) та рутин (0,8 %), дихлорметанової фракції – кверцетин (32,8 %), кофейна кислота (30,0 %), рутин (10,7 %), кемпферол (10,0 %) та хлорогенова кислота (3,86 %), ацетонової фракції – кумарова кислота (37,8 %), кумарин (18,2 %), рутин (11,3 %), кверцетин (7,5 %), кофейна кислота (4,2 %) та кемпферол (3,6 %), метанольної фракції – рутин (71,0 %), кофейна кислота (10,0 %) та кемпферол (2,0 %) [68, 112]. З листя мірабілісу виділено та ідентифіковано рутин [123]. У листі мірабілісу, культивованого у Бразилії, вміст кверцетину склав 0,19 % [54].

Повідомлялося, що корені мірабілісу ялапа містять 5,7-дигідрокси-2'-метокси-6-метилізофлавон (2'-*O*-метилабронізофлавон) (рис. 1.3), 4'-гідрокси-2,3-дигідрофлавон-7- β -D-глюкопіранозид, β -ситостерол [81, 82, 132].

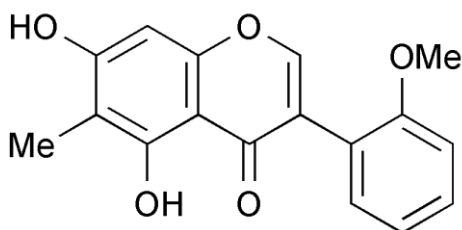


Рис. 1.3 Структурна формула 2'-*O*-метилабронізофлаону

За даними індійських вчених Ванкар та Срівастава вміст антоціанів у рожевих квітках мірабілісу ялапа склав 338,61 мг/кг [139, 140]. В іншому дослідженні встановлено, що сума антоціанів у квітках мірабілісу, заготовлених у Індії, коливалася у межах від 2,31 мг/г до 3,49 мг/г, флавоноїдів – від 10,32 мг/г до 12,04 мг/г, цукрів – від 1,30 мг/г до 1,46 мг/г, протеїнів – від 0,22 мг/г до 0,26 мг/г [43].

З коренів мірабілісу ялапа виділено ротеноїди, які відносяться до ізофлавоноїдів, зокрема мірабіялон А, мірабіялон В (рис. 1.4), мірабіялон С (рис. 1.5), мірабіялон D, 9-*O*-метил-4-гідроксиборавінон В, боравінон В (рис. 1.6), боравінон С, боравінон D, боравінон Е, боравінон F, 1,2,3,4-тетрагідро-1-метилізохінолін-7,8-діол [56, 58, 81, 99].

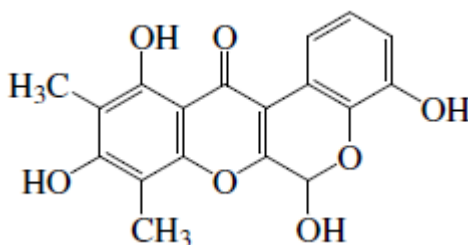


Рис. 1.4 Структурна формула мірабіялону В

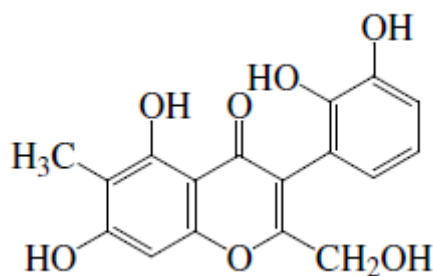


Рис. 1.5 Структурна формула мірабіялону С

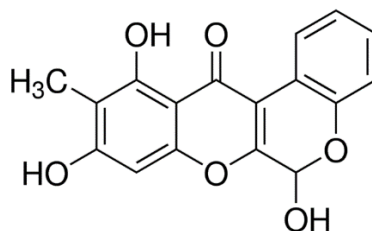


Рис. 1.6 Структурна формула боравінону В

Дослідниками із Тунісу було визначено вміст суми фенольних сполук та флавоноїдів у екстрактах бульб мірабілісу, одержаних різними екстрагентами. Встановлено, що сума фенольних сполук зменшувалася в екстрактах у такому порядку: водний екстракт ($364,60 \pm 6,40$ мг/г), дихлорметановий екстракт ($252,80 \pm 9,60$ мг/г), метанольний екстракт ($232,20 \pm 3,10$ мг/г), ацетоновий екстракт ($181,30 \pm 5,00$ мг/г), петролейноефірний екстракт ($21,45 \pm 2,55$ мг/г), флавоноїдів – у такому: водний екстракт ($71,60 \pm 4,00$ мг/г), метанольний екстракт ($65,20 \pm 4,50$ мг/г), ацетоновий екстракт ($11,80 \pm 2,52$ мг/г), дихлорметановий екстракт ($6,10 \pm 1,50$ мг/г), петролейноефірний екстракт ($5,20 \pm 1,25$ мг/г) [67].

У ході іншого дослідження колориметричним методом у метанольному екстракті бульб мірабілісу ялапа визначено кількісний вміст суми фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту та флавоноїдів у перерахунку на рутин, які склали $218,29$ мг/г та $17,02$ мг/г відповідно [117].

З насіння рослини виділено антимікробні пептиди, зокрема Mj-AMP-1 та Mj-AMP-2 [98, 111].

Амінокислотний склад насіння мірабілісу представлений аланіном, аспарагіноювою кислотою, аргініном, цистеїном, глутаміноювою кислотою,

гліцином, гістидином, ізолейцином, лейцином, лізином, метіоніном, фенілаланіном, проліном, серином, треоніном, тірозином та валіном. За даними дослідників з Індії, у найбільшій кількості містилися аспарагінова та глутамінова кислоти [69]. З листя виділено лейцин, валін, триптофан, аланін та гліцин [94].

Встановлено, що домінуючими вуглеводами у листі мірабілісу є D-пінітол та *O*-метил-інозітол, серед органічних кислот виявлено винну та лимонну кислоти [94].

У складі жирних кислот олії з насіння мірабілісу переважала олеїнова кислота, вміст якої склав понад 55 %, також було ідентифіковано пальмітинову, ліноленову та лінолеву кислоти [56]. Також у насіння виявлено β -ситостерол, β -амірин та β -ситостерин-D-глюкозид [94, 96, 126].

Квітки мірабілісу містять пігменти – беталаїни: міраксантин I (рис. 1.7), міраксантин II, міраксантин III (рис. 1.8), міраксантин V (рис. 1.9), міраксантин VI (рис. 1.10), індикаксантин, вульгаксантин I (рис. 1.11), гістамін-бетаксантин (рис. 1.12), 3-метокситірамін-бетаксантин [66, 86, 94, 108, 110, 126, 135, 136, 138].

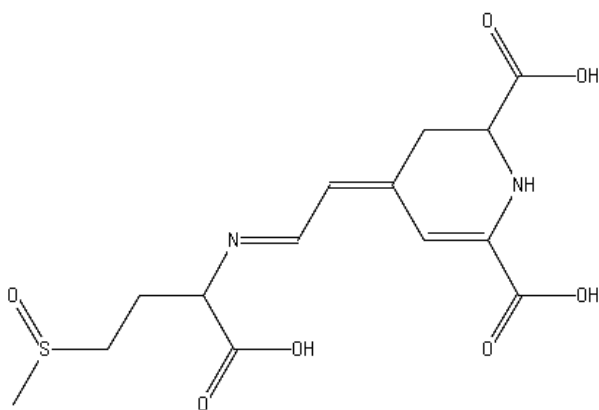


Рис. 1.7 Структурна формула міраксантину I

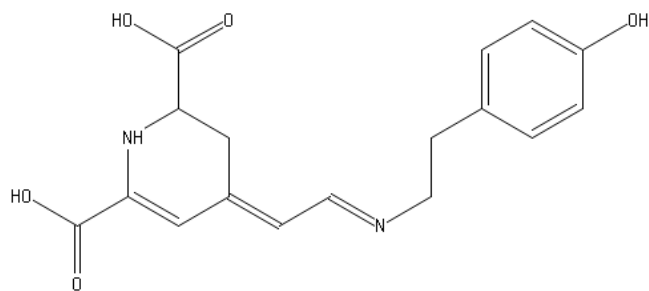


Рис. 1.8 Структурна формула міраксантину III

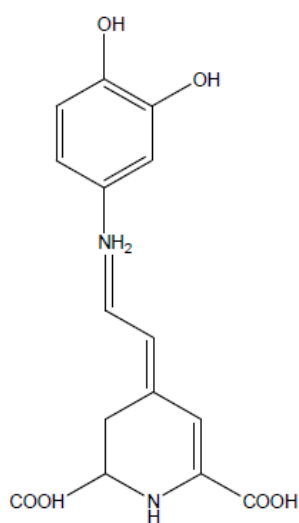


Рис. 1.9 Структурна формула міраксантину IV

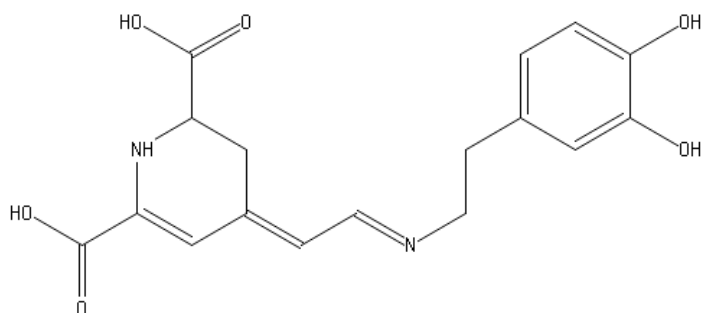


Рис. 1.10 Структурна формула міраксантину V

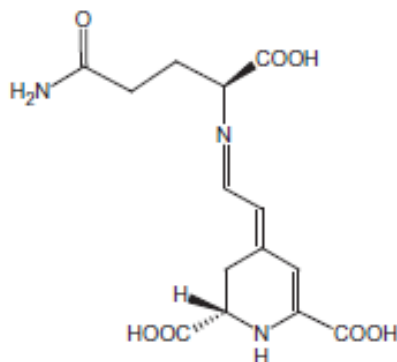


Рис. 1.11 Структурна формула вульгаксантину I

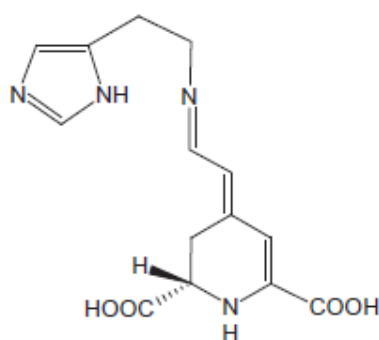


Рис. 1.12 Структурна формула гістамін-бетаксантину

Встановлено, що у жовтих квітках мірабілісу домінуючими пігментами є бетаксантини, а у рожевих – бетаціаніни [90].

Ефіроолійний склад квіток мірабілісу представлений монотерпенами (мірцен, *цис*- β -оцимен, *транс*- β -оцимен), сесквітерпенами (4,8-диметилнона-1,3,7-триєн, α -фарнезен, неролідол), аліфатичними сполуками (*цис*-3-гексенілацетат, *цис*-жасмон (рис. 1.13), *цис*-3-гексен-1-ол, *цис*-3-гексеніл-2-метилбутаноат), бензенвмісними сполуками (метилбензоат, бензилацетат, метилсаліцилат, бензилбутаноат, бензиловий спирт, *цис*-3-гексенілбензоат, бензилбензоат). У значній кількості визначено *транс*- β -оцимен та α -фарнезен [89].

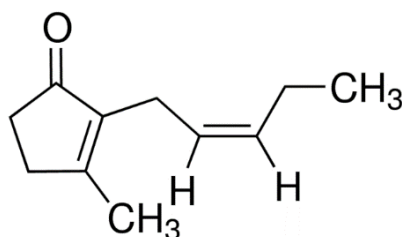


Рис. 1.13 Структурна формула *цис*-жасмону

Спільним дослідженням науковців з Німеччини та Швейцарії було вивчено компонентний склад ефірної олії квіток мірабілісу методом ГХ. У результаті було ідентифіковано β -оцимен, β -мірцен, 3-гексенілацетат, епоксид-оцимен, бензилбензоат [144].

Спектроскопічними методами було досліджено структури виділених з надземної частини мірабілісу сполук, які були ідентифіковані як тролін (рис. 1.14), ізорамнетин та ізорамнетин-3-*O*-глюкозилрамнозид [119].

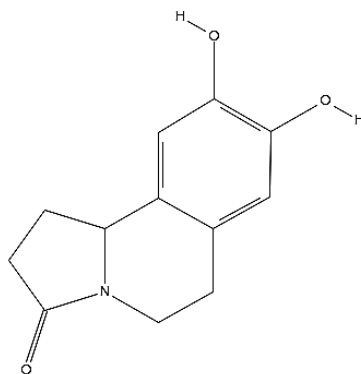


Рис. 1.14 Структурна формула троліну

Дослідниками з Індії розроблено та валідовано визначення тригонеліну (рис. 1.15) з метанольного екстракту листя мірабілісу ялапа методом ВЕРХ [121]. Окрім цього, тригонелін було знайдено і у стеблах, квітках, коренях та насінні мірабілісу [53, 121].

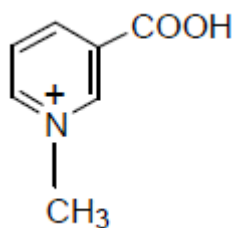


Рис. 1.15 Структурна формула тригонеліну

У дихлорметановому екстракті бульб мірабілісу методом ГХ ідентифіковано 2-бутоксиметилацетат, 2,3,5,6-тетраметилпіразин, 4-гідроксихінолін, піримідин, ізостевіол (рис. 1.16), *n*-пентадеканову та гексадеканову кислоти, октадекан-1-ол, ліноленову та олеїнову кислоти, циклопентасилоксан, холестеран-16-он, лукіанол, прегн-5-ен-20-он, дигідроксистигмастерол, бензен; у метанольному екстракті – 9,12-октадекадієнову кислоту, 9,17-октадекадієналь, холест-5-ен-24-он, стигмастерол, β -ситостерол, холестеран (рис. 1.17) [67].

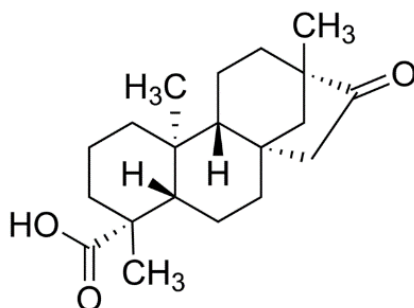


Рис. 1.16 Структурна формула ізостевіолу

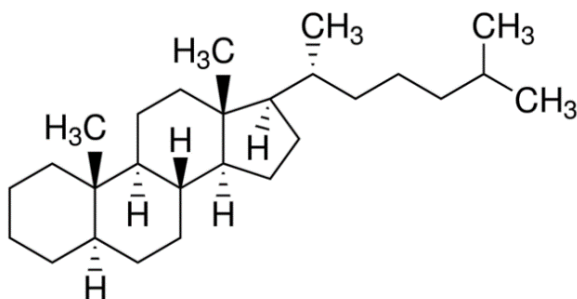


Рис. 1.17 Структурна формула холестерану

У водному екстракті методом ВЕРХ визначено ферулову, дикофейну кислоти, рутин, кверцетин-3-*O*-рамнозид, пеларгонідин-3-*O*-глюкозид, а також похідні проціанідину та ферулової кислоти [67].

Дослідниками із Китаю з коренів мірабілісу колонковою хроматографією виділено та ідентифіковано астрагалозид II (рис. 1.18), астрагалозид III, астрагалозид IV, астрагалозид VI, флазин (рис. 1.19), 4'-гідрокси-2,3-дигідрофлавіон-7- β -D-глюкопіранозид, гінгергліколіпід А (рис. 1.20), 3,4-дигідроксибензальдегід, *n*-гідроксибензальдегід, β -ситостерин, даукостерол [94, 128].

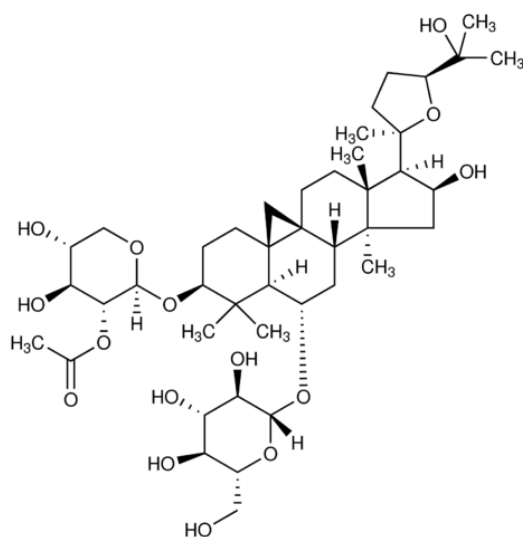


Рис. 1.18 Структурна формула астрагалозиду II

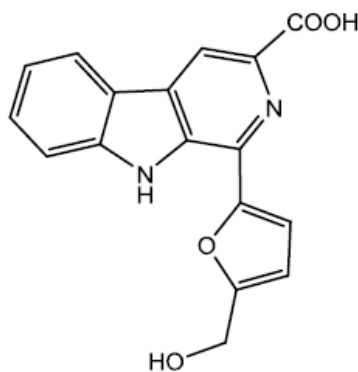


Рис. 1.19 Структурна формула флазину

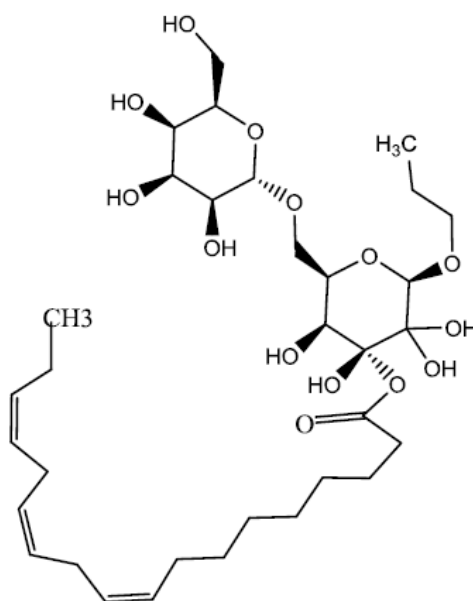


Рис. 1.20 Структурна формула гінгергліколіпиду А

Серед металів у листі та стеблах мірабілісу знайдено манган, ферум, цинк, плумбум, хром та купрум, серед яких у обох видах сировини переважно накопичувався ферум [49].

1.3 Використання у медицині

У Фармакопеї Африки (2014) є стаття «*Mirabilis jalapa* L.», яка містить інформацію стосовно синонімів рослини, короткого ботанічного опису, географічного поширення, хімічного складу, використання та зберігання мірабілісу ялапа [44].

Мірабіліс ялапа здавна використовується у традиційній медицині Гімалаїв: корені – як сечогінний, послаблюючий та репаративний засіб, листя – як протизапальний, антибактеріальний, протигрибковий, спазмолітичний та знеболювальний засіб [113, 143, 145]. Корені застосовуються як афродизіак, стебла – як тонізувальний засіб, а листя – як протизапальний засіб, у тому числі при фурункулах, флегмонах, розтягненнях м'язів [56, 100, 118]. Водні витяжки порошоків коренів та листя мірабілісу використовували при гонореї [134]. Соком свіжого листя лікували жовтяницю, захворювання очей, шкірну

алергію та біль у вухах [56, 118]. Народні цілителі з Ємену мірабілісом лікували інфекційні захворювання шкіри [45, 145]. При екземі та ранах застосовували засоби з листя мірабілісу у Нігерії [92].

У країнах Латинської Америки корені мірабілісу використовували як проносний та блювотний засіб [45]. У Мексиці відвари рослини рекомендували для лікування дизентерії, діареї, коліків, м'язового болю [63, 100, 145].

Медицина Китаю застосовувала фітозасоби на основі сировини мірабілісу ялапа для лікування діабету, запорів, травм та розладів сечовивідної системи [100].

Дослідженням, проведеним в Індії, встановлено високу антиоксидантну активність метанольного екстракту надземної частини мірабілісу ялапа, що містив значну кількість фенольних сполук, зокрема флавоноїдів ($4,41 \pm 0,02$ мг/г) [63]. Результати інших досліджень підтвердили антиоксидантні властивості метанольних екстрактів коренів, листя та трави мірабілісу [80, 104].

Нефропротекторні та антиоксидантні властивості підтверджено для етанольного екстракту листя мірабілісу. У експерименті на щурах на моделі ураження ацетамінофеном (парацетамолом), який змінював рівень маркерних ферментів у сироватці крові, досліджуваний екстракт значно підвищував активність ниркової супероксиддисмутази, каталази, глутатіону та глутатіонпероксидази, знижував вміст малонового діальдегіду, а також показав захисні властивості на тканину нирок [125].

На моделі цукрового діабету у щурів, викликаного стрептозотоцином, водно-етанольний екстракт листя мірабілісу у дозі 200 мг/кг та 400 мг/кг маси тіла знижував рівні глюкози, креатиніну, сечовини, аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази та лужної фосфатази, що свідчило про високу гіпоглікемічну активність екстракту листя. Дослідники пов'язують антидіабетичні властивості екстракту з присутністю стигмастеролу [143]. Дослідженням на щурах підтверджено антидіабетичні

властивості коренів мірабілісу. Дослідниками з Індії встановлено, що етанольний екстракт коренів знижував рівень глюкози у крові, а також підвищений рівень холестерину, тригліцеридів та ліпопротеїнів низької щільності [120]. Гіпоглікемічну та гіполіпідемічну активність в експерименті на мишах встановлено для етанольного екстракту коренів мірабілісу, у якому визначено значну кількість тригонеліну [75]. Метанольний екстракт коренів мірабілісу пригнічував гіперглікемію у щурів, викликану алоксаном [137].

Скринінг петролейноефірного, метанольного та хлороформного екстрактів листя мірабілісу показав, що перспективним цитотоксичним засобом був метанольний екстракт [100]. Цитотоксичну активність відносно клітин раку грудей та шийки матки досліджено для фракції білку, виділеного з листя мірабілісу, слід зазначити, що вона була нетоксичною по відношенню до нормальних клітин [76]. Для противірусного білка, виділеного з коренів мірабілісу, *in vitro* доведено цитотоксичні властивості [84]. Білки, виділені з насіння мірабілісу, показали високу протиракову активність, яка реалізується шляхом апоптозу [115].

Дослідниками із Китаю було протестовано виділені з коренів мірабілісу ротеноїди на здатність інгібувати ріст клітинних ліній лейкемії людини K562 та HL-60, аденокарциноми легень людини A549, гепатоми людини BEL-7402 та раку шлунка людини SGC-7901. Найбільша цитотоксична активність була визначена для мірабіялону В [58].

У результаті іншого дослідження встановлено цитотоксичну активність петролейноефірного екстракту кори коренів мірабілісу у порівнянні з вінкристину сульфатом та антиоксидантну активність метанольного екстракту кори у порівнянні із аскорбіновою кислотою [58, 59].

Спазмолітичні властивості досліджено для метанольного екстракту квіток мірабілісу, ефект якого, ймовірно, може мати серотонінергічний механізм [106]. У іншому дослідженні встановлено, що спазмолітичну активність метанольного екстракту квіток мірабілісу обумовлюють ротеноїди (зокрема боеравінон F), похідні ситостеролу та урсолової кислоти [118].

Скринінгові дослідження водного та етанольного екстрактів листя мірабілісу відносно *Staphylococcus aureus* показали ефективність етанольного екстракту [46]. Дослідженням, проведеним у Індії, у ході якого порівнювали антибактеріальні та протигрибкові властивості хлороформного, етилацетатного, петролейноефірного, етанольного та водного екстрактів листя мірабілісу ялапа, встановлено, що найбільші зони затримки росту були характерні для етанольного екстракту [55]. Ефективним відносно *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* та *Staphylococcus aureus* виявився етанольний екстракт листя мірабілісу, у якому діючими речовинами визначено фенольні сполуки [102]. Дослідниками із Пакистану встановлено, що до етанольного екстракту листя мірабілісу були високочутливі штами *Pseudomonas aeruginosa* та низьку чутливість визначено у *Staphylococcus aureus*. Стосовно чутливості грибів дослідниками відзначено, що до екстракту більш чутливими були штами *Penicillium*, ніж *Rhizopus* [49]. Активність відносно біоплівки, які продукують уропатогенні штами *Escherichia coli*, виявлено у етанольного та метанольного екстрактів листя мірабілісу [124]. Метанольний екстракт бульб мірабілісу показав вищу інгібуючу активність відносно *Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli* при меншій концентрації у порівнянні із екстрактами листя та стебел [107]. Дослідниками з Індії проведено ґрунтовне дослідження антибактеріальної активності екстрактів листя мірабілісу із рожевими, білими, жовтими та оранжевими квітками, одержаних екстракцією метанолом, ацетоном, хлороформом, диетиловим ефіром, та встановлено, що найвища активність була визначена для метанольних та ацетонових екстрактів листя рослин з білими квітками [85]. До етилацетатної фракції екстракту листя мірабілісу були чутливі *Saccharomyces cerevisiae*, до дихлорметанової – *Staphylococcus aureus* [54].

У результаті дослідження активності етанольного екстракту рожевих квіток мірабілісу відносно штамів *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Vibrio cholera*, *Serratia marcescens* та *Pseudomonas aeruginosa* встановлено, що екстракт затримував ріст *Bacillus*

subtilis, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* [118]. У Індії було вивчено протимікробну активність екстрактів квіток мірабілісу, одержаних різними екстрагентами, зокрема водою, метанолом, етанолом, хлороформом, петролейним ефіром, відносно шлунково-кишкових патогенів (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhi* та *Shigella dysenteriae*). Результати дозволили встановити високу активність відносно досліджуваних патогенів етанольного та метанольного екстрактів, тоді як активність водного, хлороформного та петролейноефірного екстрактів була низькою [130].

Екстракти порошку насіння мірабілісу затримували ріст *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Shigella flexneri* та *Salmonella typhi* [87].

Етанольний екстракт листя мірабілісу проявляє цитотоксичну та противірусну активність відносно HSV-1 і VSV [100].

Порівняльний аналіз фармакологічної активності різних екстрактів бульб мірабілісу, проведений у Тунісі, показав, що найвища антиоксидантна активність виявлена у водного та метанольного екстрактів, водний екстракт був ефективнішим відносно штамів бактерій *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* та грибів *Aspergillus niger*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporium*, *Fusarium granularium* [67].

Антигельмінтні властивості на моделі з *Pheretima posthuma* було визначено у метанольного екстракту надземної частини мірабілісу, який викликав параліч паразитів через 12,6 хв та їх смерть – через 13,5 хв, тоді як препарат порівняння альбендазол – через 2,3 хв та 3,24 хв відповідно [77].

Метанольний екстракт листя мірабілісу показав у експерименті протималарійну активність у дозі 50 мг / кг [131].

На моделі набряку лапи у щурів, викликаного карагеніном та формаліном, екстракт листя мірабілісу, одержаний методом холодної

мацерації, пригнічував набряк [47]. Іншим дослідженням, проведеним в Індії, підтверджено протизапальні властивості етанольного екстракту та петролейноефірної фракції, які пригнічували утворення гранульоми [48]. Значно пригнічував набряк лапи у щурів при артриті, викликаному формальдегідом, водно-етанольний екстракт квіток мірабілісу [62]. Здатність сприяти загоєнню ран визначено також для водно-етанольного екстракту коренів мірабілісу, що підтвердило його традиційне використання при ранах та запаленнях [78].

У результаті досліджень *in vitro*, які було проведено у Бразилії, встановлено, що етанольний екстракт трави мірабілісу стимулював ріст кераноцитів. Це дає підставу припустити доцільність використання екстракту як протизапального та репаративного засобу [114]. Репаративні властивості також було визначено для метанольного екстракту коренів та етанольного екстракту листя мірабілісу [65, 74]. Місцеве використання протягом 14 днів на відкритих ранах щурів водного екстракту трави мірабілісу прискорювало загоєння ран [116].

Кровоспинну активність екстракту насіння мірабілісу ялапа визначено в експерименті на кроликах, що дозволило припустити перспективність використання екстракту при захворюваннях, що супроводжуються кровотечами [129].

Антиноцицептивні властивості етанольного екстракту листя мірабілісу були більш вираженими, ніж у екстракту стебел [51].

У ході фармакологічного дослідження впливу етанольного екстракту коренів мірабілісу на гепатотоксичність, викликану парацетамолом, у щурів визначали у сироватці загальний білірубін, загальний білок, аланінамінотрансферазу, аспартатамінотрансферазу, лужну фосфатазу. Встановлено, що ці маркери у сироватці тварин, які одержували парацетамол, були значно завищеними, тоді як у тварин, які одержували досліджуваний екстракт, було визначено зниження сироваткових маркерів, що вказувало на відновлювані властивості екстракту коренів мірабілісу на функціональну

здатність гепатоцитів [52]. Захисну дію на гепатоцити на фоні прийому протитуберкульозних препаратів визначено для етанольного екстракту листя мірабілісу [83].

Противиразкову активність підтверджено для етанольного екстракту листя мірабілісу. Експеримент було проведено на мишах, як препарат порівняння використовували омепразол. Дослідники пов'язують противиразкові властивості екстракту із наявністю у ньому флавоноїдів та дубильних речовин [64].

У експерименті на морських свинках та мишах встановлено, що етанольно-ацетоновий екстракт коренів мірабілісу інгібував еозинофілію, зменшував набряк лапи та захищав тучні клітини від грануляції. Це дозволило прогнозувати антиалергічні та протиастматичні властивості сировини [79].

Для міраксантину III, виділеного з мірабілісу, встановлено здатність активувати нейроглобін, що може бути перспективним при лікуванні інсультів [103].

Міраксантин II, міраксантин III, міраксантин V та вульгаксантин I, що містяться у мірабілісі, можуть інгібувати лактатдегідрогеназу A [122].

Відомо, що настій квіток мірабілісу, який має рожеве забарвлення, у Китаї використовують у виготовленні желе та тортів [100].

Завдяки вмісту антоціанів у квітках мірабілісу проводяться дослідження з можливості використання метанольного екстракту квіток як індикатору у кислотно-лужному титруванні [93].

Крохмаль, одержаний із насіння мірабілісу, можна використовувати у фармацевтичній та косметичній промисловості за рахунок високої адсорбційної здатності [118].

Результати аналізу даних, представлених у сучасних наукових джерелах літератури, свідчать, що науковці з різних країн світу приділяли увагу вивченню мірабілісу, особливо квіток, трави та бульб. Але при

вивченні хімічного складу та фармакологічної активності різних видів сировини цієї рослини не було використано комплексний підхід, відповідно якісний склад рослини детально не досліджено.

Слід зауважити, що низкою фармакологічних досліджень встановлено, що мірабіліс може бути джерелом перспективної лікарської рослинної сировини із антибактеріальними, протигрибковими та противірусними властивостями.

Хоча стаття «*Mirabilis jalapa* L.» включена до Фармакопеї Африки, в ній відсутня інформація стосовно параметрів стандартизації сировини рослини.

Тому комплексне фармакогностичне вивчення сировини мірабілісу ялапа, заготовленої в Україні, розробка методів контролю якості сировини та лікарських рослинних засобів на її основі, особливо протимікробної активності, є актуальним та доцільним.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкти дослідження

Об'єктами дослідження були листя, стебла та плоди мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра (табл. 2.1). Вибрані сорти мірабілісу є найбільш популярними в Україні, невибагливими у догляді, стійкими до захворювань та характеризуються значною фітомасою.

Таблиця 2.1

Коротка характеристика досліджуваних сортів мірабілісу ялапа

Сорт	Коротка характеристика
Іоланта	Кущ округлої форми заввишки 50-60 см. Стебла товсті, вузлуваті, дуже гіллясті у верхній частині. Листки видовженої форми, зелені. Квітки воронкоподібні, середнього розміру, мають яскраве різноманітне забарвлення (рожеве, біле, жовте) зі штрихами та смужками.
Ельвіра	Густий, розлогий кущ середнього розміру. Стебла міцні, гладкі, гіллясті. Листки видовженої форми із загостреною верхівкою, темно-зелені. Квітки великого розміру, мають яскраве різнокольорове забарвлення, зокрема пурпурове, оранжеве, жовте, біле.

Листя та стебла мірабілісу зазначених сортів заготовляли до цвітіння у червні-липні, плоди – під час плодоношення у серпні-вересні 2018-2021 рр. у Харківській області.

Листя та плоди сушили у захищеному від прямих сонячних променів місці, стебла – після попереднього подрібнення у сушарках. Висушену сировину зберігали у скляній тарі.

2.2 Відомості про реактиви, методи і прилади

У ході дослідження використовували методи висхідної одномірної, багаторазової ПХ, ТШХ, ГХ та ВЕРХ.

Для хроматографування застосовували хроматографічний папір FN 1, 3, 7, 14 та хроматографічні пластинки Sorbfil.

Розчинники для приготування рухомих фаз використовували кваліфікації ч.д.а. або х.ч.; співвідношення розчинників, які позначені цифрами, взяті в об'ємних одиницях.

Для хроматографування використовували такі рухомі фази:

№ 1 – н-бутанол – оцтова кислота льодяна – вода (4:1:2);

№ 2 – 15 % оцтова кислота;

№ 3 – мурашина кислота безводна – вода – етилацетат (10:10:80);

№ 4 – етилацетат – оцтова кислота льодяна – мурашина кислота безводна – вода (100:11:11:25);

№ 5 – мурашина кислота безводна – вода – етилформіат (10:10:80);

№ 6 – петролейний ефір – хлороформ (3:1);

№ 7 – петролейний ефір – хлороформ – етилацетат (2:2:1);

№ 8 – гексан – бензол (29:1);

№ 9 – гексан-хлороформ (3:1);

№ 10 – н-бутанол – мурашина кислота безводна – вода (30:5:10);

№ 11 – етанол – хлороформ – розчин аміаку концентрований – вода (70:40:20:2);

№ 12 – етанол – розчин аміаку концентрований (32:9);

№ 13 – оцтова кислота льодяна – вода – хлористоводнева кислота (30:10:3).

На хроматограмах речовини виявляли до і після обробки хромогенними реактивами, за забарвленням у денному світлі, а також за флюоресценцією їх у фільтрованому УФ-світлі:

А – парами аміаку;

Б – 0,1 % етанольним розчином нінгідрину;

В – розчином дихлорхінонхлоріміду у метанолі (10 г/л);

Г – розчином натрію карбонату безводного (20 г/л);

Д – 5 % етанольним розчином алюмінію (III) хлориду;

Е – 10 % етанольним розчином натрію гідроксиду;

Ж – розчином дифенілборної кислоти (10 г/л) аміноетилового ефіру у метанолі;

З – розчином макрогону 400 (50 г/л) у метанолі;

К – 0,4 % етанольним розчином бромкрезолового зеленого.

Дослідження анатомічної будови проводили на мікропрепаратах із свіжозібраної, фіксованої у суміші етанол – гліцерин – вода (1:1:1), та висушеної розмоченої сировини на світловому мікроскопі «Біолам» (при збільшенні у 60-400 разів) із фотофіксацією фотокамерою «Digital camera for microscope DCM 300» (USB 2.0), resolution 10 M pixels.

Дослідження фенольних сполук у сировині проводили на хроматографі «Shimadzu Nexera X2 LC-30AD» («Shimadzu»). Хроматограф складався з четвертинного насоса, оперативного дегазатора, регулятора температури у колонці, автосамплера SIL-30AC («Shimadzu»); термостата CTO-20AC («Shimadzu»), діодно-матричного детектора SPD-M20A (DAD).

Дослідження фенольних сполук у екстракті проводили на хроматографі «Prominence LC-20» («Shimadzu») з діодно-матричним детектором SPD-M20A.

Дослідження метилових естерів жирних кислот проводили методом ГХ на газовому хроматографі «Селміхром-1» із полум'яно-іонізаційним детектором, газохроматографічною колонкою із нержавіючої сталі довжиною 2,5 м та внутрішнім діаметром 4 мм, наповненою нерухомою фазою – інертоном, який оброблений 10 % діетиленглікольсукцинатом (DEGS).

Компонентний склад амінокислот досліджували методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії на автоматичному аналізаторі амінокислот ААА Т-339М.

Вивчення мінерального складу проводили методом атомно-емісійної спектроскопії на спектрографі ДФС-8, інтенсивність ліній у спектрах вимірювали на мікрофотометрі МФ-1.

Оптичну густину розчинів вимірювали на спектрофотометрі Mecasys Optizen POP у кюветах із товщиною шару 10 мм.

Фармакологічні дослідження екстракту вивчали на моделі *in vitro*.

Результати, одержані у ході досліджень, обробляли статистичними методами відповідно до вимог ДФУ.

2.3 Методики дослідження

Визначення втрати в масі при висушуванні

Втрату в масі при висушуванні визначали відповідно до статті «Втрата в масі при висушуванні» [10].

Визначення загальної золи

Загальну золу визначали відповідно до статті «Загальна зола» [10].

Визначення екстрактивних речовин

Вміст екстрактивних речовин визначали за методикою, наведеною у монографії «Чебрець повзучий^N» [11].

Дослідження фенольних сполук

Виявлення флавоноїдів у водно-етанольних витяжках сировини мірабілісу проводили хімічними реакціями: з розчином алюмінію хлориду, з розчином калію гідроксиду, ціанідиною пробою [22].

Ідентифікацію флавоноїдів у досліджуваній сировині проводили методами ПХ та ТШХ у рухомих фазах № 1, 3, 4, хроматограми проявляли реактивами А, Д, Е, Ж, З. Для експерименту використовували СЗ рутину, гіперозиду, кверцетину та кемпферолу [8, 11, 13, 42].

Кількісний вміст суми флавоноїдів у перерахунку на гіперозид визначали методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою ДФУ відповідно до монографії «Глоду листя та квітки^N» [12].

Наявність гідроксикоричних кислот у сировині мірабілісу ялапа підтверджували методами ПХ та ТШХ у рухомих фазах № 1, 2, 4, хроматограми переглядали в УФ-світлі після обробки реактивами А, Ж, З [4, 11, 21, 38]. Паралельно на хроматограми наносили розчини СЗ гідроксикоричних кислот.

Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту визначали методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою ДФУ відповідно до монографії «Кропиви листя» [11].

Дубильні речовини виявляли хімічними реакціями із розчином заліза (III) амонію сульфату, розчином желатину та хініну гідрохлориду [22].

Ідентифікацію пірогалолу та галової кислоти проводили методом ТШХ. Для дослідження використовували етанольні витяжки сировини мірабілісу та розчини СЗ вищезазначених речовин. Після нанесення проб на пластинку її висушували на повітрі та хроматографували у рухомих фазах № 5, 13. Потім пластинку висушували при температурі 100-105 °С протягом 10 хв та

охолоджували. Для виявлення фенольних сполук пластинку обприскували реактивами В, Г та спостерігали появу коричневих зон [11].

Кількісний вміст поліфенолів та танінів у перерахунку на пірогалол визначали методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою ДФУ відповідно до статті «Визначення танінів у лікарській рослинній сировині» [10].

Вміст суми ізофлавоноїдів у перерахунку на ононін у плодах мірабілісу ялапа визначали методом абсорбційної спектрофотометрії за такою методикою: близько 2,0 г подрібнених на порошок плодів поміщали у колбу місткістю 100 мл, додавали 40 мл 70 % етанолу та нагрівали на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 2 год. Після цього колбу охолоджували, її вміст фільтрували крізь паперовий фільтр у мірну колбу місткістю 50 мл та доводили об'єм до позначки 70 % етанолом. 1 мл вихідного розчину переносили у мірну колбу місткістю 50 мл та доводили об'єм до позначки 70 % етанолом.

Оптичну густину вимірювали за довжини хвилі 260 нм, як розчин порівняння використовували 70 % етанол [18, 22].

Кількісний вміст суми ізофлавоноїдів у перерахунку на ононін розраховували за формулою 2.1:

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100}{715 \cdot m \cdot 1 \cdot (100 - W)}, \quad (2.1)$$

де А – оптична густина розчину за довжини хвилі 260 нм;

715 – питомий показник поглинання 70 % етанольного розчину ононіну за довжини хвилі 260 нм;

m – наважка сировини, г;

W – втрата у масі при висушуванні сировини, %.

Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ

Витяжки для аналізу одержували за такою методикою: 0,3 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщали у мірну колбу та екстрагували

10 мл метанолу в ультразвуковій бані при кімнатній температурі (20 ± 2 °C) протягом 20 хв. Одержані витяжки фільтрували крізь мембранний фільтр (0,45 мкм) у мірну колбу місткістю 50 мл та доводили об'єм до позначки метанолом.

Хроматографічне розділення фенольних сполук проводили на колонці ACE C18 (250 мм $\times$ 4,6 мм, 5,0 мкм) за таких умов: швидкість потоку 1 мл/хв; бінарна система розчинників рухомої фази складалася із елюента А (0,1 % водного розчину оцтової кислоти) та елюента В (ацетонітрилу), які фільтрували крізь мембранний фільтр (0,23 мкм) після ультразвукової дегазації; температура колонки – 25 °C; об'єм ін'єкційного розчину зразка – 10 мкл [60, 73].

Застосовували програму лінійного градієнта наступним чином:

Час хроматографування, хв	Елюент А, %	Елюент В, %
0–8	95→85	5→15
8–30	85→80	15→20
30–48	80→60	20→40
48–58	60→50	40→50
58–65	50	50
65–66	50→5	50→95

Розчини порівняння готували із використанням стандартних зразків флавоноїдів та гідроксикоричних кислот («Sigma-Aldrich»).

0,1 г (точна наважка) екстракту поміщали у мірну колбу місткістю 10 мл, додавали 5 мл води очищеної, розчиняли при постійному перемішуванні, фільтрували крізь мембранний фільтр (0,45 мкм) та доводили об'єм до позначки водою очищеною.

Хроматографічне розділення фенольних сполук проводили на колонці Supelcosil C18 (250 $\times$ 4,6, 5 мкм) за таких умов: швидкість потоку 1 мл/хв;

бінарна система розчинників рухомої фази складалася із елюента А (0,1 % водного розчин трифтороцтової кислоти) та елюента В (ацетонітрилу); температура колонки – 40 °С; об'єм ін'єкційного розчину зразка – 20 мкл [1, 39, 40].

Застосовували програму лінійного градієнта наступним чином:

Час хроматографування, хв	Елюент А, %	Елюент В, %
0	95	5
5	95	5
46	0	100
50	0	100
60	95	5
65	95	5

Розчини порівняння готували із використанням стандартних зразків флавоноїдів та гідроксикоричних кислот («Sigma-Aldrich»).

Дослідження жирних кислот

Жирнокислотний склад вивчали методом ГХ. Жирні кислоти визначали у ліпофільних фракціях, для цього сировину мірабілісу ялапа вичерпно екстрагували гексаном.

Для отримання метилових естерів жирних кислот використовували модифіковану методику Пейскера. Метилуюча суміш складалася із хлороформу, метанолу та сірчаної кислоти (100:100:1). У скляні ампули відміряли 30-50 мкл ліпофільної фракції, приливали 2,5 мл метилуючої суміші, запаювали ампули та витримували їх у термостаті протягом 3 год за температури 105° С. Після закінчення метилювання ампули розкривали, вміст переносили в пробірку, додавали на кінчику скальпеля порошкоподібний цинку сульфат, приливали 2 мл води очищеної та 2 мл гексану (для екстракції метилових естерів). Пробірку із вмістом ретельно

збовтували, відстоювали та фільтрували гексанову витяжку, яку використовували для аналізу.

На хроматографі встановлювали такі параметри роботи: температура термостата колонок – 180° С, температура випарника – 230° С, температура детектора – 220° С, швидкість потоку газу носія (азот) – 30 см³/хв, об'єм проби – 2 мм³ розчину метилових естерів кислот у гексані.

Ідентифікацію метилових естерів жирних кислот проводили за часом утримування піків у порівнянні зі стандартною сумішшю. Розрахунок складу метилових естерів проводили методом внутрішньої нормалізації. Як референтні зразки використовували стандарти метилових естерів жирних кислот («Sigma-Aldrich») [2, 57].

Дослідження амінокислот

Вільні амінокислоти вивчали за допомогою ПХ методом багатократного хроматографування у рухомій фазі № 1 з трьома розбіжками. Виявляли амінокислоти після обробки хроматограм реактивом Б та нагрівання у сушильній шафі при температурі 90°С до появи фіолетових або рожево-фіолетових зон амінокислот [9, 15].

Кількісний вміст вільних амінокислот у сировині мірабілісу визначали методом спектрофотометрії. Оптичну густину вимірювали за довжини хвилі 573 нм, перерахунок вели на лейцин [15].

Вільні та зв'язані амінокислоти у сировини мірабілісу ялапа досліджували методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії.

Для проведення гідролізу близько 0,100 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщали на дно пробірки з вогнетривкого скла, додавали 0,5 мл дистильованої води та 0,5 мл хлористоводневої кислоти концентрованої, охолоджували пробірку в рідкому азоті до замерзання її вмісту, відкачували з неї повітря вакуумним насосом (для попередження окиснення амінокислот) та запаювали її. Запаєну пробірку поміщали в термостат і витримували за температури 106 °С протягом 24 год.

Після гідролізу пробірку охолоджували до кімнатної температури, розкривали, вміст її переносили у скляний бюкс і на водяній бані випаровували хлористоводневу кислоту. Потім до вмісту бюксу додавали 3-4 мл деіонізованої води і повторювали процес висушування.

Одержаний зразок розчиняли в 0,3 н літій-цитратному буфері (рН 2,2) і наносили на іонообмінну колонку аналізатора амінокислот.

Ідентифікацію амінокислот проводили методом стандартних добавок. Концентрацію визначали за площею відповідних піків [109].

Дослідження мінеральних речовин

Мінеральний склад мірабілісу ялапа вивчали методом атомно-емісійної спектроскопії. На першому етапі дослідження одержували золу, для цього сировину обробляли сірчаною кислотою концентрованою та витримували у муфельній печі за температури не більш 500 °С. З кратерів графітових електродів проводили випаровування проб у розряді дуги перемінного струму (сила струму 16 А, експозиція 60 с). Одержували та реєстрували спектри на фотопластинках на спектрографі в області 230-330 нм, інтенсивність ліній у спектрах вимірювали на мікрофотометрі. Фотопластинки проявляли, висушували, фотометрували лінії у спектрах проб та градуювальних зразків, розраховуючи різниці почорніння лінії і фону. Після цього будували градуювальний графік, за яким знаходили вміст елемента у золі, а потім розраховували його вміст у сировині.

Враховували нижні межі вмісту домішок:

- Cu – $1 \cdot 10^{-4}$ %;
- Co, Cr, Mo, Mn, V – $2 \cdot 10^{-4}$ %;
- Ag, Ga, Ge, Ni, Pb, Sn, Ti – $5 \cdot 10^{-4}$ %;
- Sr, Zn – $1 \cdot 10^{-2}$ % [3].

Дослідження вуглеводів

Наявність вуглеводів у водних витяжках сировини мірабілісу підтверджували хімічними реакціями із мідно-тартратним реактивом та чотирикратним об'ємом 96 % етанолу [11, 22].

Кількісне визначення полісахаридів проводили методом гравіметрії за методикою ДФУ відповідно до монографії «Алтеї корені» [11].

Дослідження пігментів

Виявлення пігментів у листі та стеблах мірабілісу ялапа проводили методом ТШХ у рухомих фазах № 6-9, після висушування хроматограми переглядали у видимому та УФ-світлі [7, 36].

Кількісний вміст хлорофілів та каротиноїдів визначали методом спектрофотометрії за методиками А та Б [16, 20]:

А. Для одержання витяжки близько 0,1 г (точна наважка) подрібненої сировини мірабілісу ялапа розтирали у фарфоровій ступці з 96 % етанолом із невеликою кількістю магнію карбонату. Отриману витяжку обережно зливали на скляний фільтр, вставлений у колбу Бунзена і фільтрували. Екстракцію повторювали до повного знебарвлення сировини. Фільтрат переносили у мірну колбу місткістю 25 мл і доводили до позначки 96 % етанолом.

Оптичну густину розчину вимірювали на спектрофотометрі за таких довжин хвилі: 441 нм для каротиноїдів, 649 нм для хлорофілу *a*, 665 нм для хлорофілу *b*.

Концентрацію (*C*, мг/л) хлорофілу *a*, хлорофілу *b* та каротиноїдів обчислювали за формулами 2.2 -2.4 відповідно:

$$C_{\text{хл } a} = 13,70 \cdot A_{665} - 5,76 \cdot A_{649}, \quad (2.2)$$

$$C_{\text{хл } b} = 25,80 \cdot A_{649} - 7,60 \cdot A_{665}, \quad (2.3)$$

$$C_{\text{кар}} = 4,695 \cdot A_{441} - 0,268 \cdot (C_{\text{хл.а}} + C_{\text{хл.б}}), \quad (2.4)$$

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

A_{649} – оптична густина розчину за довжини хвилі 649 нм;

A_{441} – оптична густина розчину за довжини хвилі 441 нм;

$(C_{\text{хл.а}} + C_{\text{хл.б}})$ – концентрація хлорофілів a і b у розчині, мг/л.

Кількісний вміст (X , мг/г) хлорофілів та каротиноїдів у витяжці обчислювали за формулою 2.5:

$$X = \frac{V \cdot C \cdot 100}{m \cdot 1000 \cdot (100 - W)}, \quad (2.5)$$

де V – об'єм витяжки, мл;

C – концентрація хлорофілів / каротиноїдів у витяжці, мг/л;

m – наважка сировини, г;

W – втрата у масі при висушуванні сировини, %.

Б. Для одержання витяжки близько 0,1 г (точна наважка) подрібненої сировини мірабілісу ялапа поміщали у колбу та екстрагували 30 мл 96 % етанолу зі зворотним холодильником протягом 30 хв на водяній бані. Екстракцію проводили ще двічі. Отриману витяжку фільтрували у мірну колбу місткістю 100 мл і доводили до позначки 96 % етанолом після охолодження.

5 мл одержаної витяжки переносили у мірну колбу місткістю 25 мл і доводили до позначки 96 % етанолом. Оптичну гуστину розчину вимірювали на спектрофотометрі за таких довжин хвилі: 470 нм, 649 нм та 664 нм.

Концентрацію (C , мг/л) для хлорофілу a та хлорофілу b , а також суми каротиноїдів та ксантофілів обчислювали за формулами 2.6-2.8 відповідно:

$$C_{\text{хл а}} = 13,36 \cdot A_{664} - 5,19 \cdot A_{649}, \quad (2.6)$$

$$C_{\text{хл } b} = 27,43 \cdot A_{649} - 8,12 \cdot A_{664}, \quad (2.7)$$

$$C_{\text{кар+кс}} = \frac{1000 \cdot A_{470} - 2,13 \cdot C_{\text{хл.а}} - 97,64 \cdot C_{\text{хл.б}}}{209}, \quad (2.8)$$

де A_{664} – оптична густина розчину за довжини хвилі 664 нм;

A_{649} – оптична густина розчину за довжини хвилі 649 нм;

A_{470} – оптична густина розчину за довжини хвилі 470 нм.

Кількісний вміст (X, мг/г) хлорофілів та каротиноїдів у витяжці обчислювали за формулою 2.5.

Дослідження органічних кислот

Ідентифікацію вільних органічних кислот у сировині мірабілісу проводили методами ПХ та ТШХ. Хроматографували у рухомих фазах № 10-12, детектування хроматограм проводили після їх обробки реактивом К із наступним нагріванням у сушильній шафі за температури 105 °С протягом 5 хв [14, 17, 35].

Кількісне визначення органічних кислот у сировині мірабілісу проводили методом титриметрії за методикою ДФУ відповідно до монографії «Шипшини плоди^N» [12].

Визначення технологічних параметрів

Основні технологічні параметри сировини мірабілісу ялапа визначали за методиками, наведеними у літературі [6, 19].

РОЗДІЛ 3

ФІТОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ СИРОВИНИ

МІРАБІЛІСУ ЯЛАПА

3.1 Визначення втрати в масі при висушуванні

Втрата в масі при висушуванні – необхідний показник при розрахунку кількісного вмісту БАР у сировині, а також при розробці методів контролю якості на сировину.

Результати визначення даного показника для сировини мірабілісу ялапа наведено у табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Втрата в масі при висушуванні сировини мірабілісу ялапа

Сировина	Втрата в масі при висушуванні, % (m=5)
Сорт Іоланта	
Листя	$9,00 \pm 0,35$
Стебла	$11,17 \pm 0,39$
Плоди	$8,17 \pm 0,34$
Сорт Ельвіра	
Листя	$9,58 \pm 0,37$
Стебла	$10,41 \pm 0,40$
Плоди	$8,99 \pm 0,38$

Встановлено, що найбільша втрата в масі при висушуванні характерна для стебел мірабілісу ялапа. Даний показник для плодів та листя мірабілісу був значно меншим у порівнянні зі стеблами.

3.2 Визначення загальної золи

Результати визначення загальної золи у сировині мірабілісу ялапа наведено у табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Вміст загальної золи у сировині мірабілісу ялапа

Сировина	Загальна зола, % (m=5)
Сорт Іоланта	
Листя	$6,29 \pm 0,27$
Стебла	$5,64 \pm 0,21$
Плоди	$5,07 \pm 0,22$
Сорт Ельвіра	
Листя	$6,77 \pm 0,29$
Стебла	$5,99 \pm 0,23$
Плоди	$4,85 \pm 0,19$

Результати проведеного експерименту свідчили, що загальна зола була більшою у сировині мірабілісу сорту Ельвіра, за винятком плодів, хоча ця перевага була незначною.

Найменше загальної золи визначено у плодах мірабілісу обох сортів, найбільше – у листі.

3.3 Дослідження фенольних сполук

Попереднє виявлення флавоноїдів у сировині мірабілісу проводили хімічними реакціями, результати яких підтвердили присутність даної групи БАР у листі, стеблах та плодах.

На наступному етапі проводили ідентифікацію флавоноїдів хроматографічно методами ПХ та ТШХ. У порівнянні зі СЗ флавоноїдів у водно-етанольних витяжках листя, стебел та плодів мірабілісу було ідентифіковано рутин, гіперозид, кверцетин та кемпферол.

Результати визначення кількісного вмісту флавоноїдів у сировині мірабілісу досліджуваних сортів наведено у табл. 3.3 [27].

Таблиця 3.3

Кількісний вміст флавоноїдів у сировині мірабілісу ялапа

Сировина	Вміст, % у перерахунку на гіперозид та абсолютно суху сировину (m=5)
Сорт Іоланта	
Листя	0,39 ± 0,02
Стебла	0,14 ± 0,01
Плоди	0,11 ± 0,01
Сорт Ельвіра	
Листя	0,31 ± 0,02
Стебла	0,10 ± 0,01
Плоди	0,08 ± 0,01

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

Найбільша сума флавоноїдів була визначена у листі мірабілісу, найменша – у плодах.

Встановлено незначну відмінність у кількісному вмісті флавоноїдів між сортами мірабілісу ялапа – листя, стебла та плоди сорту Іоланта накопичували 0,39 %, 0,14 % та 0,11 % флавоноїдів, сорту Ельвіра – 0,31 %, 0,10 % та 0,08 % відповідно.

Хроматографічно у порівнянні зі СЗ гідроксикоричних кислот хлорогенову та кофейну кислоти було ідентифіковано в усіх досліджуваних об'єктах, ферулову кислоту – у листі.

Результати кількісного визначення гідроксикоричних кислот наведено у табл. 3.4 [31].

Таблиця 3.4

Кількісний вміст гідроксикоричних кислот у сировині мірабілісу ялапа

Сировина	Вміст, % у перерахунку на хлорогенову кислоту та абсолютно суху сировину (m=5)
Сорт Іоланта	
Листя	1,97 ± 0,04
Стебла	0,11 ± 0,01
Плоди	0,42 ± 0,01
Сорт Ельвіра	
Листя	1,64 ± 0,03
Стебла	0,16 ± 0,01
Плоди	0,44 ± 0,01

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

У результаті проведеного дослідження з визначення вмісту гідроксикоричних кислот було встановлено, що їх кількість у листі мірабілісу обох сортів була значно більшою, ніж у плодах та стеблах. Так, у листі сорту Іоланта їх вміст був 1,97 %, у листі сорту Ельвіра – 1,64 %.

Кількісний вміст похідних коричної кислоти у плодах та стеблах був дещо вищим у сировині сорту Ельвіра – 0,44 % та 0,16 % відповідно у порівнянні із 0,42 % та 0,11 % – у сировині сорту Іоланта.

Висновок про присутність дубильних речовин у витяжках листя, стебел та плодів мірабілісу було зроблено з огляду на проведені хімічні реакції.

Виявлення пірогалолу та галової кислоти у сировині мірабілісу проводили методом ТШХ, що дозволило ідентифікувати ці сполуки у листі, стеблах та плодах.

Результати кількісного визначення поліфенолів і танінів наведено у табл. 3.5-3.6.

Таблиця 3.5

Кількісний вміст поліфенолів у сировині мірабілісу ялапа

Сировина	Вміст, % у перерахунку на пірогалол та абсолютно суху сировину (m=5)
Сорт Іоланта	
Листя	1,53 ± 0,04
Стебла	0,99 ± 0,02
Плоди	0,74 ± 0,01
Сорт Ельвіра	
Листя	1,38 ± 0,03
Стебла	0,95 ± 0,02
Плоди	0,69 ± 0,01

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

Кількісний вміст поліфенолів у листі мірабілісу досліджуваних сортів був приблизно у 1,5 рази більшим, ніж у стеблах, та у 2 рази більшим, ніж у плодах. Якщо порівнювати результати між сортами, то більше поліфенолів містила сировина сорту Іоланта, хоча ця перевага була незначна. Як видно із табл. 3.5 у листі сортів Іоланта та Ельвіра було визначено 1,53 % та 1,38 % поліфенолів, у стеблах – 0,99 % та 0,95 %, у плодах – 0,74 % та 0,69 % відповідно [28].

Кількісний вміст танінів у сировині мірабілісу ялапа

Сировина	Вміст, % у перерахунку на пірогалол та абсолютно суху сировину (m=5)
Сорт Іоланта	
Листя	0,79 ± 0,02
Стебла	0,43 ± 0,01
Плоди	0,40 ± 0,01
Сорт Ельвіра	
Листя	0,71 ± 0,02
Стебла	0,41 ± 0,01
Плоди	0,38 ± 0,01

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

Найбільше танінів було визначено у листі, у стеблах та плодах мірабілісу кількісний вміст цих сполук був приблизно однаковим. За вмістом танінів сировина сорту Ельвіра дещо поступалася сорту Іоланта. Так, у листі, стеблах та плодах мірабілісу ялапа сорту Іоланта кількісний вміст танінів був 0,79 %, 0,43 % та 0,40 %, сорту Іоланта – 0,71 %, 0,41 %, 0,38 % відповідно [34].

Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ

Одержані під час дослідження фенольних сполук хроматограми на прикладі листя та плодів мірабілісу ялапа сорту Ельвіра наведені на рис. 3.1-3.2 [73].

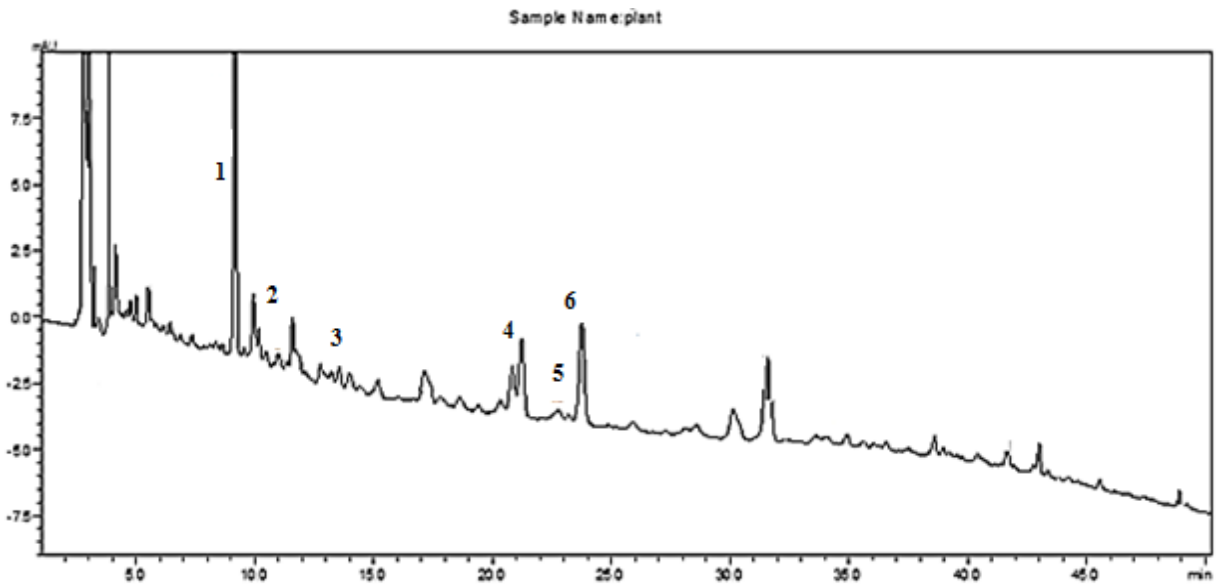


Рис. 3.1 ВЕРХ-хроматограма фенольних сполук листя мірабілісу ялапа сорту Ельвіра (1 – неохлорогенова кислота; 2 – хлорогенова кислота; 3 – кофейна кислота; 4 – рутин; 5 – ферулова кислота; 6 – гіперозид)

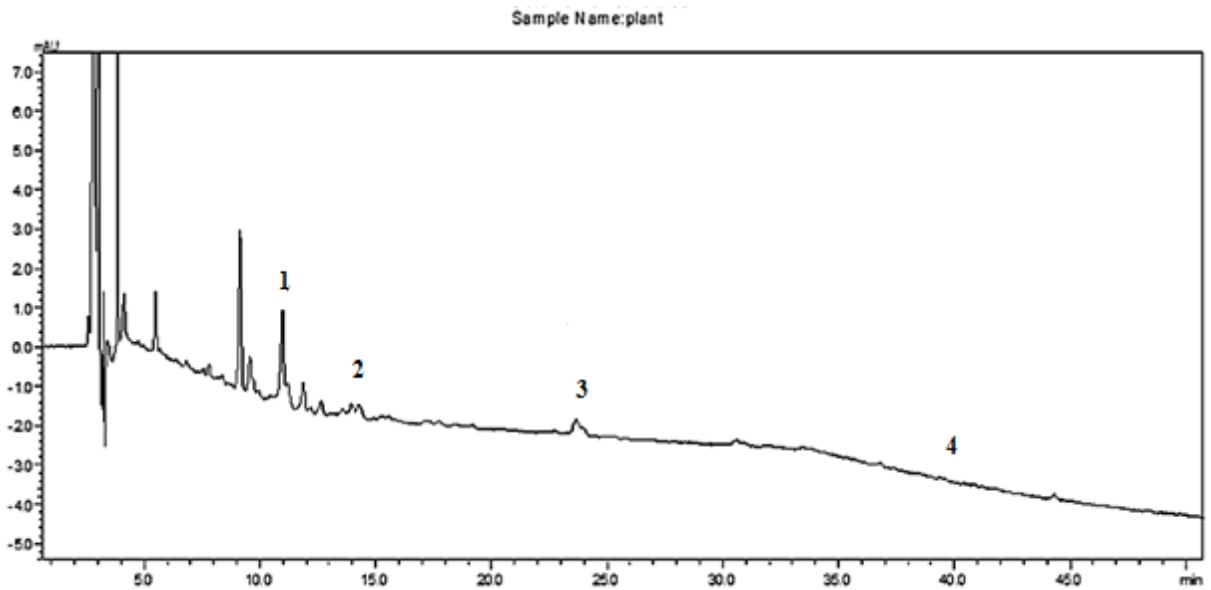


Рис. 3.2 ВЕРХ-хроматограма фенольних сполук плодів мірабілісу ялапа сорту Ельвіра (1 – хлорогенова кислота; 2 – кофейна кислота; 3 – гіперозид; 4 – ононін)

У ході аналізу в об'єктах дослідження ідентифіковано флавоноїди, ізофлавоноїд та гідроксикоричні кислоти (табл. 3.7-3.8).

Таблиця 3.7

**Час утримування фенольних сполук у сировині мірабілісу ялапа
сорту Іоланта**

Сполука	Час утримування, хв		
	Листя	Стебла	Плоди
Неохлорогенова кислота	9,87	9,92	9,93
Хлорогенова кислота	11,30	11,33	11,17
Кофейна кислота	14,15	-	14,19
Рутин	21,24	21,17	21,20
Ферулова кислота	22,76	22,71	-
Гіперозид	23,65	23,77	23,69
Ононін	-	-	39,43

Примітка. «-» – сполуку не виявлено.

Таблиця 3.8

**Час утримування фенольних сполук у сировині мірабілісу ялапа
сорту Ельвіра**

Сполука	Час утримування, хв		
	Листя	Стебла	Плоди
Неохлорогенова кислота	9,95	9,91	-
Хлорогенова кислота	11,32	11,19	10,98
Кофейна кислота	14,03	14,21	14,26
Рутин	21,20	21,13	-
Ферулова кислота	22,76	-	-
Гіперозид	23,79	23,71	23,67
Ононін	-	-	39,41

Примітка. «-» – сполуку не виявлено.

У ході дослідження у листі та стеблах мірабілісу обох сортів було ідентифіковано по 6 та 5 сполук фенольної природи відповідно, у плодах сорту Іоланта – 6 сполук, у плодах сорту Ельвіра – 4 сполуки відповідно.

Гіперозид та хлорогенову кислоту було знайдено в усіх досліджуваних об'єктах. Кофейна кислота була відсутня у стеблах сорту Іоланта, ферулова кислота – у плодах та стеблах сорту Ельвіра та у плодах сорту Іоланта, рутин – у плодах сорту Ельвіра. Ононін було знайдено лише у плодах мірабілісу обох сортів.

Кількісний вміст ідентифікованих фенольних сполук у досліджуваній сировині наведено у табл. 3.9-3.10.

Таблиця 3.9

Вміст фенольних сполук у сировині мірабілісу ялапа сорту Іоланта

Сполука	Вміст, мкг/мг		
	Листя	Стебла	Плоди
Неохлорогенова кислота	95,89 ± 1,94	17,23 ± 0,32	9,52 ± 0,26
Хлорогенова кислота	46,03 ± 0,93	12,66 ± 0,36	39,51 ± 0,82
Кофейна кислота	15,32 ± 0,32	-	15,79 ± 0,31
Рутин	105,64 ± 2,13	37,58 ± 0,77	25,67 ± 0,54
Ферулова кислота	18,79 ± 0,40	8,57 ± 0,27	-
Гіперозид	91,36 ± 1,84	20,64 ± 0,60	10,28 ± 0,22
Ононін	-	-	2,30 ± 0,05

Примітка. «-» – сполуку не виявлено.

Превалюючими за вмістом фенольними сполуками у листі мірабілісу сорту Іоланта були рутин (105,64 мкг/мг), хлорогенова кислота (95,89 мкг/мг) та гіперозид (91,36 мкг/мг), у стеблах – рутин (37,58 мкг/мг) та гіперозид (20,64 мкг/мг), у плодах – хлорогенова кислота (39,51 мкг/мг) та рутин (25,67 мкг/мг).

Таблиця 3.10

Вміст фенольних сполук у сировині мірабілісу ялапа сорту Ельвіра

Сполука	Вміст, мкг/мг		
	Листя	Стебла	Плоди
Неохлорогенова кислота	75,26 ± 0,47	21,52 ± 0,44	-
Хлорогенова кислота	30,16 ± 0,54	13,58 ± 0,26	51,73 ± 1,03
Кофейна кислота	12,54 ± 0,26	9,51 ± 0,20	10,13 ± 0,20
Рутин	97,26 ± 1,86	29,18 ± 0,55	-
Ферулова кислота	11,09 ± 0,23	-	-
Гіперозид	100,20 ± 1,97	16,27 ± 0,34	4,37 ± 0,09
Ононін	-	-	1,69 ± 0,03

Примітка. «-» – сполуку не виявлено.

Листя мірабілісу сорту Ельвіра серед ідентифікованих сполук у найбільшій кількості накопичувало гіперозид, рутин та неохлорогенову кислоту, вміст яких був 100,20 мкг/мг, 97,26 мкг/мг та 75,26 мкг/мг відповідно. Кількісний вміст хлорогенової кислоти у цій сировині склав 30,16 мкг/мг. У найменшій кількості були визначені кофейна (12,54 мкг/мг) та ферулова (11,09 мкг/мг) кислоти.

Як видно із табл. 3.10, стебла мірабілісу сорту Ельвіра накопичували рутин (29,18 мкг/мг) та неохлорогенову кислоту (21,52 мкг/мг) у дещо більшій кількості, ніж інші компоненти, такі як гіперозид, хлорогенова та кофейна кислоти, вміст яких був 16,27 мкг/мг, 13,58 мкг/мг та 9,51 мкг/мг відповідно.

Плоди сорту Ельвіра накопичували хлорогенову кислоту у кількості 51,73 мкг/мг, тоді як інші знайдені сполуки фенольної природи, зокрема кофейна кислота, гіперозид та ононін, містилися у значно меншій кількості.

Загальний вміст ідентифікованих фенольних сполук у об'єктах дослідження наведено на рис. 3.3.

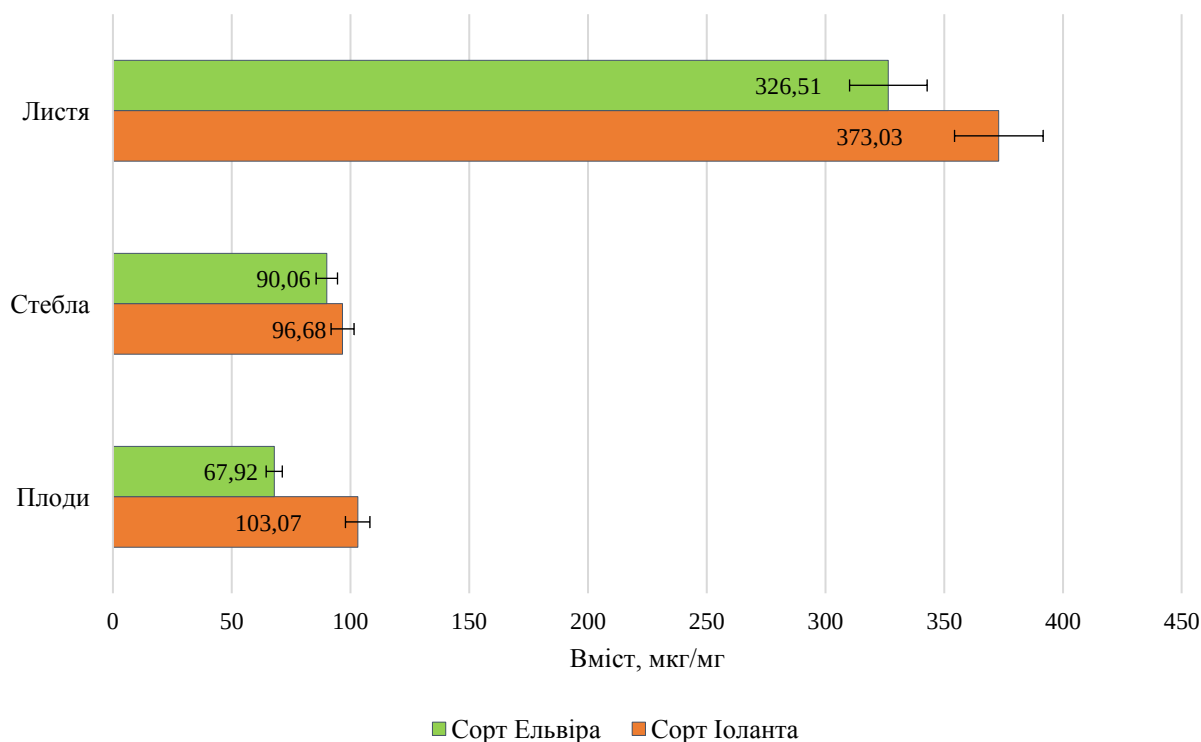


Рис. 3.3 Загальний вміст ідентифікованих фенольних сполук у сировині мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра

Більше фенольних сполук накопичувалось в сировині мірабілісу сорту Іоланта. Листя мірабілісу сорту Іоланта містило на 46,52 мкг/мг, стебла – на 6,62 мкг/мг, плоди – на 35,15 мкг/мг більше ідентифікованих компонентів фенольної природи, ніж сировина сорту Ельвіра. Стебла досліджуваних сортів накопичували майже однакову кількість фенольних сполук.

Зважаючи на те, що у плодах мірабілісу обох сортів ідентифіковано ононін, було доцільним провести кількісне визначення суми ізофлавоноїдів, дослідження проводили методом спектрофотометрії за методикою, яку наведено у п. 2.3 цієї роботи.

Результати експерименту наведено у табл. 3.11. Встановлено, що у плодах мірабілісу сорту Іоланта кількісний вміст суми ізофлавоноїдів був дещо більшим, ніж у плодах сорту Ельвіра.

Таблиця 3.11

Кількісний вміст ізофлавоноїдів у мірабілісу ялапа плодах

Сорт	Вміст, % у перерахунку на ононін та абсолютно суху сировину (m=5)
Юланта	0,21 ± 0,01
Ельвіра	0,18 ± 0,01

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

3.4 Дослідження жирних кислот

Жирнокислотний склад ліпофільних фракцій сировини мірабілісу ялапа визначали методом ГХ [25]. Хроматограми на прикладі ліпофільних фракцій листя, стебел та плодів мірабілісу сорту Юланта наведено на рис. 3.4-3.6.

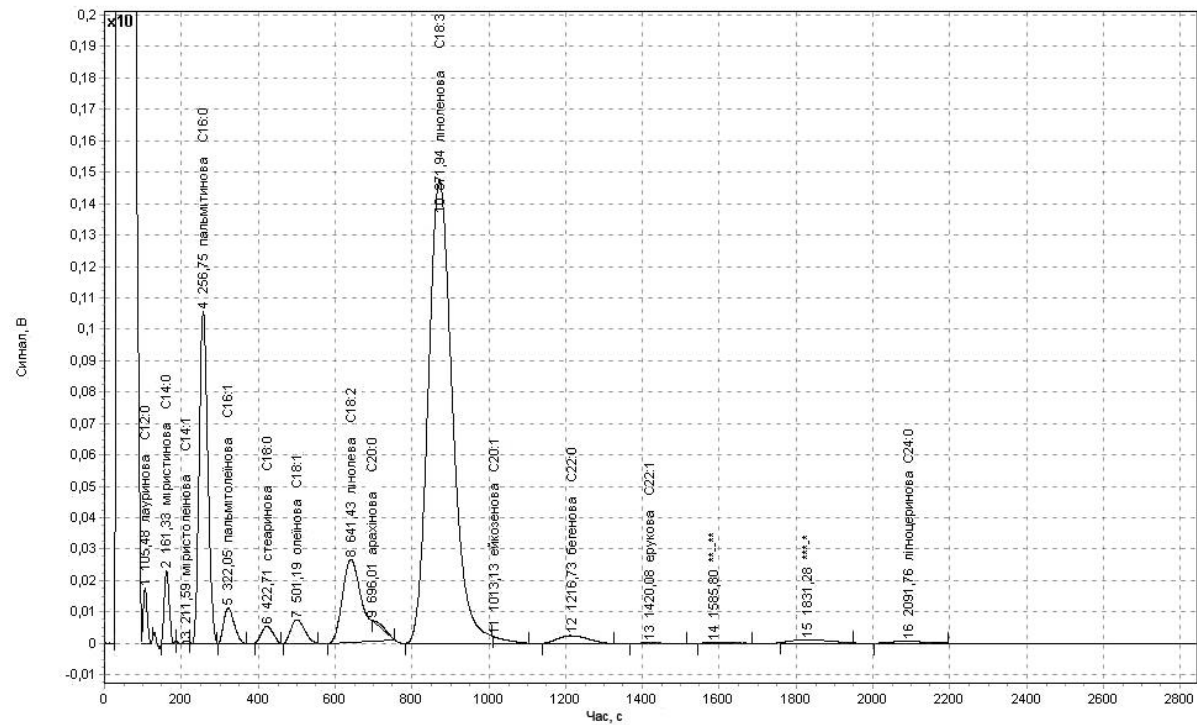


Рис. 3.4 ГХ-хроматограма жирних кислот у ліпофільній фракції листя мірабілісу ялапа сорту Юланта

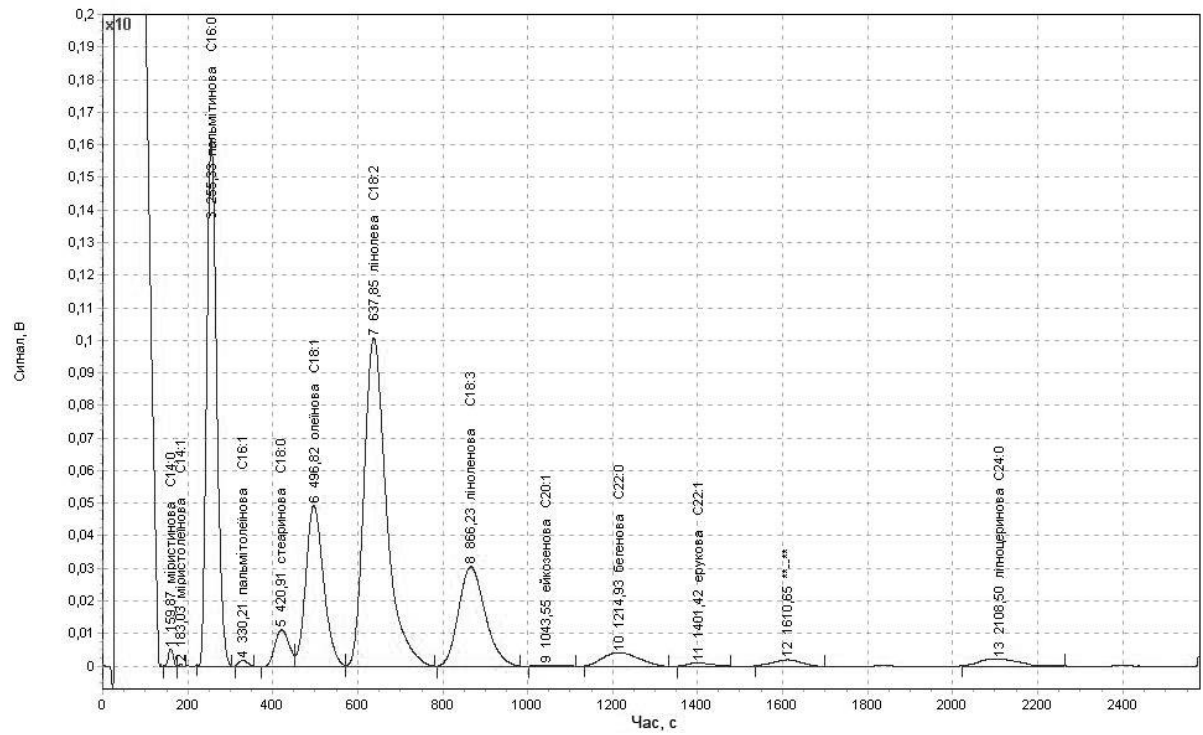


Рис. 3.5 ГХ-хроматограма жирних кислот у ліпофільній фракції стебел мірабілісу ялапа сорту Іюланта

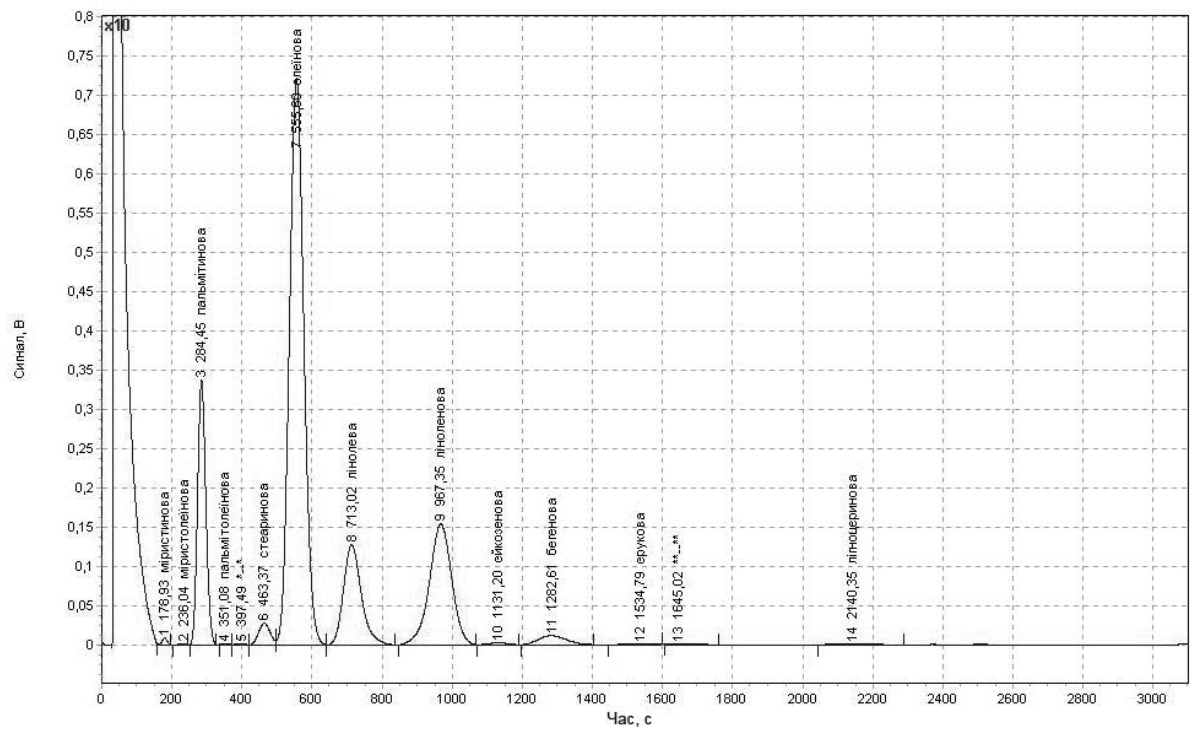


Рис. 3.6 ГХ-хроматограма жирних кислот у ліпофільній фракції плодів мірабілісу ялапа сорту Іюланта

Вміст жирних кислот у ліпофільних фракціях сировини мірабілісу сортів Іоланта та Ельвіра наведено у табл. 3.12 та 3.13 відповідно.

Таблиця 3.12

**Компонентний склад жирних кислот ліпофільних фракцій
сировини мірабілісу ялапа сорту Іоланта**

Жирні кислоти	Загальна формула	Вміст метилових естерів жирних кислот, % від суми		
		Листя	Стебла	Плоди
Лауринова	(C 12:0)	1,22 ± 0,02	-	-
Міристинова	(C 14:0)	2,13 ± 0,05	0,43 ± 0,01	0,20 ± 0,01
Міристолеїнова	(C 14:1)	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,05 ± 0,01
Пальмітинова	(C 16:0)	16,58 ± 0,42	27,18 ± 0,78	14,27 ± 0,37
Пальмітолеїнова	(C 16:1)	2,18 ± 0,05	0,29 ± 0,01	0,07 ± 0,01
Стеаринова	(C 18:0)	1,20 ± 0,03	2,80 ± 0,07	1,64 ± 0,04
Олеїнова	(C 18:1)	1,95 ± 0,04	14,50 ± 0,04	53,18 ± 1,50
Лінолева	(C 18:2)	8,85 ± 0,25	35,60 ± 0,91	11,15 ± 0,29
Ліноленова	(C 18:3)	62,33 ± 1,80	13,45 ± 0,04	17,00 ± 0,48
Арахінова	(C 20:0)	0,10 ± 0,01	-	-
Гондоїнова	(C 20:1)	0,45 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,22 ± 0,01
Бегенова	(C 22:0)	1,35 ± 0,03	2,60 ± 0,06	1,67 ± 0,01
Ерукова	(C 22:1)	0,14 ± 0,01	0,38 ± 0,01	0,15 ± 0,01
Лігноцеринова	(C 24:0)	0,47 ± 0,01	1,55 ± 0,04	0,20 ± 0,01
Сума неідентифікованих жирних кислот		0,95 ± 0,02	0,94 ± 0,02	0,20 ± 0,01

Примітка. «-» – сполуку не виявлено.

У листі мірабілісу сорту Іоланта було ідентифіковано 14 жирних кислот, у стеблах та плодах – по 12 жирних кислот.

Таблиця 3.13

**Компонентний склад жирних кислот ліпофільних фракцій
сировини мірабілісу ялапа сорту Ельвіра**

Жирні кислоти	Загальна формула	Вміст метилових естерів жирних кислот, % від суми		
		Листя	Стебла	Плоди
Лауринова	(C 12:0)	2,14 ± 0,05	-	0,26 ± 0,01
Міристинова	(C 14:0)	1,89 ± 0,07	0,75 ± 0,02	0,27 ± 0,01
Міристолеїнова	(C 14:1)	2,87 ± 0,06	0,29 ± 0,01	0,14 ± 0,01
Пальмітинова	(C 16:0)	13,54 ± 0,37	28,87 ± 0,74	17,21 ± 0,41
Пальмітолеїнова	(C 16:1)	3,66 ± 0,07	0,14 ± 0,01	0,11 ± 0,01
Стеаринова	(C 18:0)	6,57 ± 0,12	1,57 ± 0,02	1,20 ± 0,04
Олеїнова	(C 18:1)	2,01 ± 0,04	18,36 ± 0,46	51,06 ± 1,41
Лінолева	(C 18:2)	6,80 ± 0,14	32,03 ± 0,91	12,99 ± 0,32
Ліноленова	(C 18:3)	58,33 ± 1,20	14,98 ± 0,43	15,10 ± 0,36
Арахінова	(C 20:0)	0,19 ± 0,01	0,22 ± 0,01	-
Гондоїнова	(C 20:1)	0,71 ± 0,02	0,21 ± 0,01	0,17 ± 0,01
Бегенова	(C 22:0)	0,58 ± 0,02	0,94 ± 0,02	1,02 ± 0,02
Ерукова	(C 22:1)	0,11 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,13 ± 0,01
Лігноцеринова	(C 24:0)	0,26 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,17 ± 0,01
Сума неідентифікованих жирних кислот		0,34 ± 0,01	0,75 ± 0,02	0,17 ± 0,01

Примітка. «-» – сполуку не виявлено.

У листі мірабілісу сорту Ельвіра було ідентифіковано 14 жирних кислот, у стеблах та плодах – по 13 жирних кислот.

У результаті вивчення жирнокислотного складу сировини мірабілісу ялапа встановлено, що у ліпофільних фракціях усіх досліджуваних об'єктів

переважали ненасичені жирні кислоти, вміст яких коливався від 64,50 % до 81,82 % (рис. 3.7).

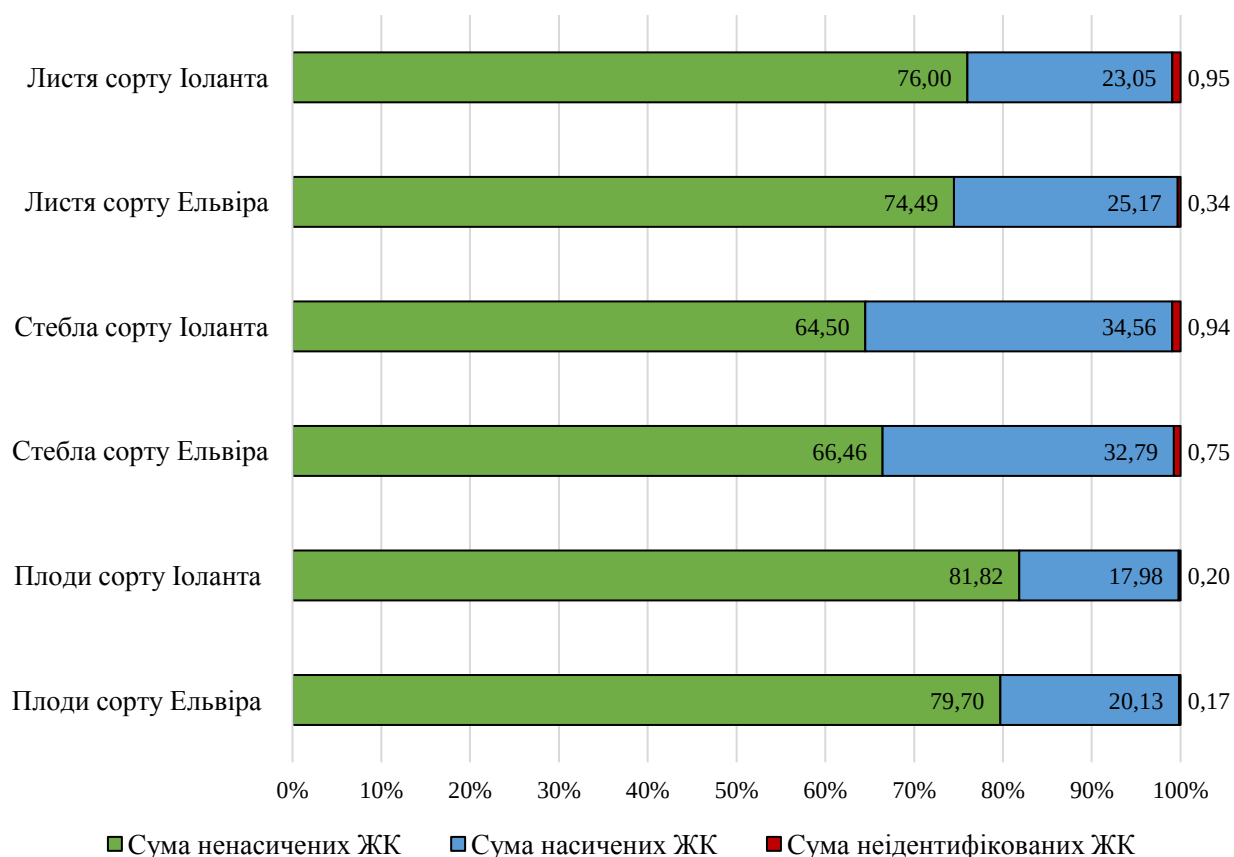


Рис. 3.7 Вміст ненасичених, насичених та неідентифікованих жирних кислот у ліпофільних фракціях сировини мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра

Частка ненасичених жирних кислот була найбільшою у плодах обох сортів, насичених жирних кислот – у стеблах.

Серед насичених жирних кислот в усіх досліджуваних об'єктах за вмістом переважала пальмітинова кислота. Найбільший її вміст від суми жирних кислот визначено у стеблах.

Слід відзначити, що у ліпофільній фракції листя мірабілісу обох сортів із ненасичених жирних кислот більша частина приходилася на ліноленову кислоту, вміст якої у листі сорту Іоланта склав 62,33 %, у листі сорту Ельвіра – 58,33 %.

Вміст лінолевої та олеїнової кислот був значно меншим – 8,85 % та 1,95 % у листі сорту Іоланта, 6,80 % та 2,01 % у листі сорту Ельвіра відповідно.

У стеблах вміст лінолевої кислоти значно переважав за вмістом інші ненасичені жирні кислоти та склав 35,60 % та 32,03 % у сировині сортів Іоланта та Ельвіра відповідно.

Слід відмітити у стеблах достатньо високий вміст пальмітинової, олеїнової та ліноленої кислот.

У плодах, на відміну від листя та стебел, превалюючою за вмістом була олеїнова кислота, визначена у сировині сорту Іоланта 53,18 %, у сировині сорту Ельвіра – 51,06 %. Ліолева, ліноленова та пальмітинова кислоти були визначені у плодах обох сортів у кількості від 11,15 % та 17,21 % від суми жирних кислот відповідно.

Слід відзначити, що лауринова кислота була знайдена тільки у листі обох сортів та у плодах мірабілісу сорту Ельвіра, арахінова кислота – тільки у листі обох сортів та у стеблах сорту Ельвіра, але їх вміст був незначним.

У листі мірабілісу сорту Ельвіра вміст міристолеїнової (2,87 %) та стеаринової (6,57 %) кислот значно перевищував їх вміст у листі сорту Іоланта (0,10 % та 1,20 % відповідно).

Для досліджуваних видів сировини сорту Іоланта відмічено дещо більший вміст бегенової кислоти, ніж у сировині сорту Ельвіра.

3.5 Дослідження амінокислот

Вільні амінокислоти сировини мірабілісу ялапа вивчали методом ПХ.

У результаті у листі, стеблах та плодах у порівнянні зі СЗ амінокислот ідентифіковано лейцин, фенілаланін, метіонін, валін, глютамінову кислоту, треонін, лізин, гістидин, аргінін та цистеїн, у листі – ще і триптофан [23].

Визначення вмісту вільних амінокислот у об'єктах дослідження проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на лейцин.

На рис. 3.8 надано типовий спектр поглинання випробовуваного розчину листа мірабілісу ялапа сорту Ельвіра при визначенні суми амінокислот.

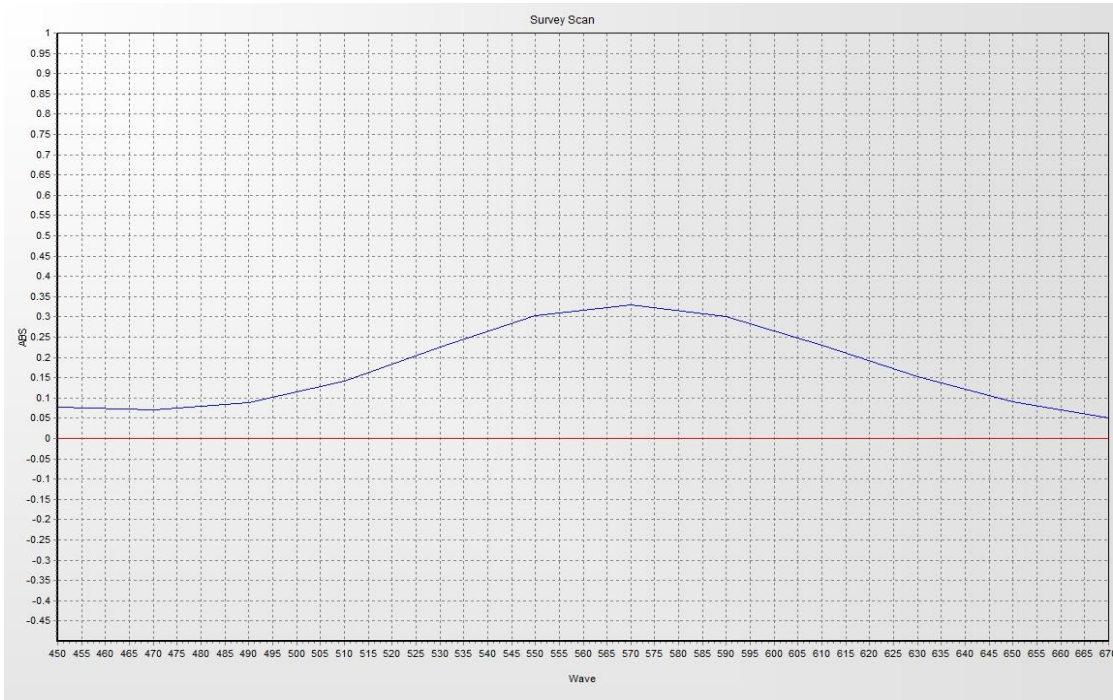


Рис. 3.8 Типовий спектр поглинання випробовуваного розчину листа мірабілісу ялапа сорту Ельвіра в умовах визначення суми амінокислот у видимій ділянці світла

Результати визначення амінокислот наведено у табл. 3.14.

Таблиця 3.14

Кількісний вміст вільних амінокислот у сировині мірабілісу ялапа

Сировина	Вміст, % у перерахунку на лейцин та абсолютно суху сировину (m=5)
1	2
Сорт Іоланта	
Листя	2,45 ± 0,06
Стебла	0,90 ± 0,02
Плоди	0,65 ± 0,02

1	2
Сорт Ельвіра	
Листя	2,66 ± 0,07
Стебла	0,99 ± 0,03
Плоди	0,71 ± 0,02

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

Визначення кількісного вмісту вільних амінокислот показало, що у листі мірабілісу сортів Ельвіра та Іоланта їх вміст був максимальним серед досліджуваних видів сировини та склав 2,66 % та 2,45 % сортів Ельвіра та Іоланта відповідно. Мінімальну кількість цієї групи БАР визначено у плодах обох сортів. Незначну перевагу у кількості вільних амінокислот визначено для листя, стебел та плодів мірабілісу сорту Ельвіра.

Вільні та зв'язані амінокислоти досліджували на амінокислотному аналізаторі, у результаті чого у листі обох сортів та стеблах мірабілісу ялапа сорту Іоланта було ідентифіковано по 18 амінокислот, у плодах обох сортів та у стеблах сорту Ельвіра – по 17 амінокислот (відсутня γ -аміномасляна кислота). Результати вивчення амінокислотного складу сировини мірабілісу амінокислоти наведено у табл. 3.15-3.16 [24].

Таблиця 3.15

Компонентний склад амінокислот сировини мірабілісу ялапа сорту Іоланта

Амінокислоти	Вміст, мг/100 г		
	Листя	Стебла	Плоди
1	2	3	4
γ -Аміномасляна кислота	90,00 ± 1,84	40,00 ± 0,99	-
Аланін	690,00 ± 17,22	150,00 ± 3,42	180,00 ± 3,01

1	2	3	4
Аргінін	490,00 ± 11,76	130,00 ± 3,11	140,00 ± 3,18
Аспарагінова кислота	1110,00 ± 23,32	260,00 ± 5,97	380,00 ± 8,33
Валін	370,00 ± 8,51	90,00 ± 2,26	70,00 ± 1,42
Гістидин	300,00 ± 6,94	40,00 ± 0,86	80,00 ± 1,67
Гліцин	660,00 ± 15,84	140,00 ± 3,22	220,00 ± 4,83
Глутамінова кислота	2230,00 ± 46,81	310,00 ± 7,45	370,00 ± 8,44
Ізолейцин	320,00 ± 7,03	80,00 ± 1,83	80,00 ± 1,85
Лейцин	850,00 ± 18,72	170,00 ± 4,09	190,00 ± 3,95
Лізин	650,00 ± 13,66	140,00 ± 3,51	290,00 ± 6,34
Метіонін	170,00 ± 40,82	10,00 ± 0,24	20,00 ± 0,45
Пролін	760,00 ± 15,94	330,00 ± 6,90	1010,00 ± 20,16
Серин	580,00 ± 13,32	60,00 ± 1,30	140,00 ± 3,07
Тирозин	350,00 ± 8,41	40,00 ± 0,84	60,00 ± 1,47
Треонін	540,00 ± 12,45	30,00 ± 0,62	110,00 ± 2,32
Фенілаланін	580,00 ± 13,90	80,00 ± 1,61	120,00 ± 2,74
Цистин	150,00 ± 3,44	10,00 ± 0,23	30,00 ± 0,65

Примітка. «-» – сполуку не виявлено.

Листя мірабілісу сорту Іоланта у найбільшій кількості накопичувало глутамінову (20,45 %) та аспарагінову (10,23 %) кислоти, лейцин (7,81 %), пролін (6,99 %), аланін (6,37 %), гліцин (6,08 %), лізин (5,93 %), серин (5,34 %), фенілаланін (5,29 %) та треонін (5,00 %) (рис. 3.9).

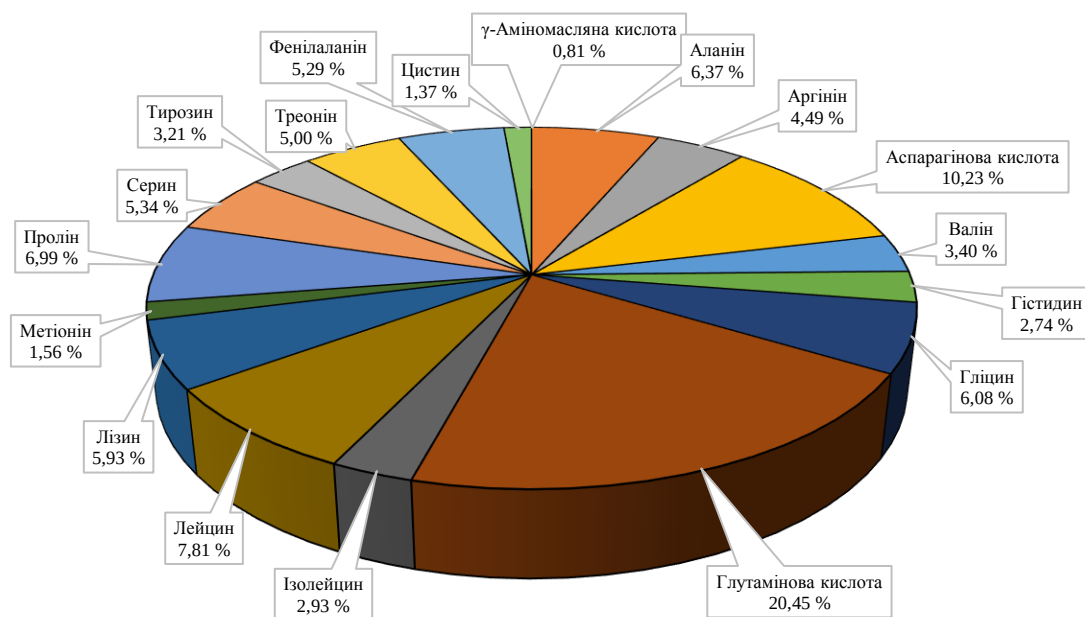


Рис. 3.9 Відсотковий вміст ідентифікованих амінокислот у мірабілісу ялапа сорту Іоланта листі

За вмістом у стеблах мірабілісу сорту Іоланта переважали пролін (15,59 %), глутамінова (14,62 %) та аспарагінова (12,11 %) кислоти, а також лейцин (7,95 %), аланін (7,34 %), гліцин (6,55 %), лізин (6,41 %) та аргінін (6,29 %) (рис. 3.10).

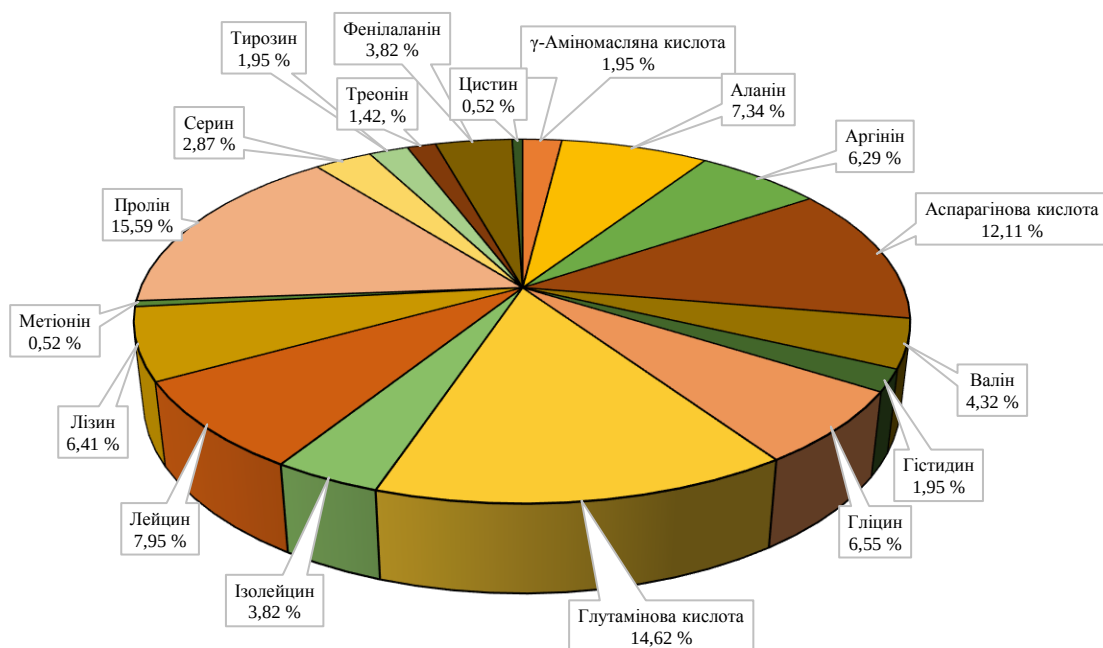


Рис. 3.10 Відсотковий вміст ідентифікованих амінокислот у мірабілісу ялапа сорту Іоланта стеблах

У найбільшій кількості у плодах мірабілісу ялапа сорту Іоланта, так саме як і у стеблах, визначено пролін, вміст якого склав 28,94 %. Також слід відмітити значний вміст у цій сировині аспарагінової (10,89 %) та глютамінової (10,60 %) кислот, лізину (8,31 %), гліцину (6,30 %), лейцину (5,44 %) та аланіну (5,16 %) (рис. 3.11).

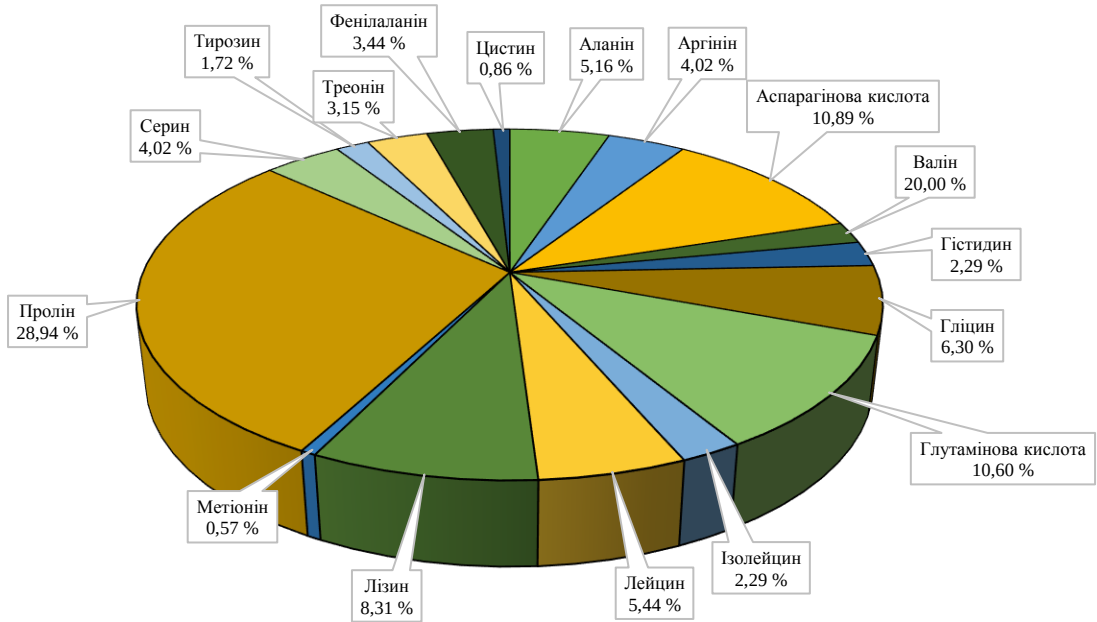


Рис. 3.11 Відсотковий вміст ідентифікованих амінокислот у мірабілісу ялапа сорту Іоланта плодах

Мінорними компонентами у складі амінокислот у сировині мірабілісу сорту Іоланта були γ -аміномасляна кислота, цистин, тирозин, метіонін, ізолейцин, гістидин та валін.

Таблиця 3.16

Компонентний склад амінокислот сировини мірабілісу ялапа сорту Ельвіра

Амінокислоти	Вміст, мг/100 г		
	Листя	Стебла	Плоди
1	2	3	4
γ -Аміномасляна кислота	110,00 $\pm$ 2,47	-	-

Продовж. табл. 3.16

1	2	3	4
Аланін	730,00 ± 14,56	190,00 ± 3,84	210,00 ± 4,76
Аргінін	450,00 ± 9,02	100,00 ± 2,00	130,00 ± 2,74
Аспарагінова кислота	1200,00 ± 25,21	320,00 ± 7,25	450,00 ± 9,34
Валін	310,00 ± 6,79	120,00 ± 2,62	90,00 ± 1,97
Гістидин	360,00 ± 7,57	60,00 ± 1,27	90,00 ± 2,02
Гліцин	720,00 ± 15,13	110,00 ± 2,39	200,00 ± 4,37
Глутамінова кислота	2850,00 ± 56,97	430,00 ± 9,74	380,00 ± 8,61
Ізолейцин	380,00 ± 8,70	100,00 ± 2,08	110,00 ± 2,26
Лейцин	900,00 ± 18,75	150,00 ± 3,33	230,00 ± 4,43
Лізин	580,00 ± 12,17	190,00 ± 3,70	250,00 ± 4,46
Метіонін	140,00 ± 3,20	50,00 ± 1,06	60,00 ± 1,39
Пролін	800,00 ± 16,74	390,00 ± 8,10	1080,00 ± 22,21
Серин	590,00 ± 12,90	40,00 ± 0,93	100,00 ± 1,98
Тирозин	300,00 ± 6,85	70,00 ± 1,55	70,00 ± 1,39
Треонін	590,00 ± 14,14	60,00 ± 1,23	130,00 ± 2,45
Фенілаланін	530,00 ± 10,61	100,00 ± 2,11	170,00 ± 3,30
Цистин	190,00 ± 4,17	90,00 ± 2,07	80,00 ± 1,61

Примітка. «-» – сполуку не виявлено.

Основними амінокислотами листя мірабілісу ялапа сорту Ельвіра були глутамінова та аспарагінова кислоти, які визначені у кількості 24,30 % та 10,23 % від суми ідентифікованих амінокислот відповідно. Відсотковий вміст у цьому об'єкті дослідження аланіну, гліцину, лейцину, проліну, серину та треоніну коливався від 5,03 % до 7,67 % (рис. 3.12).

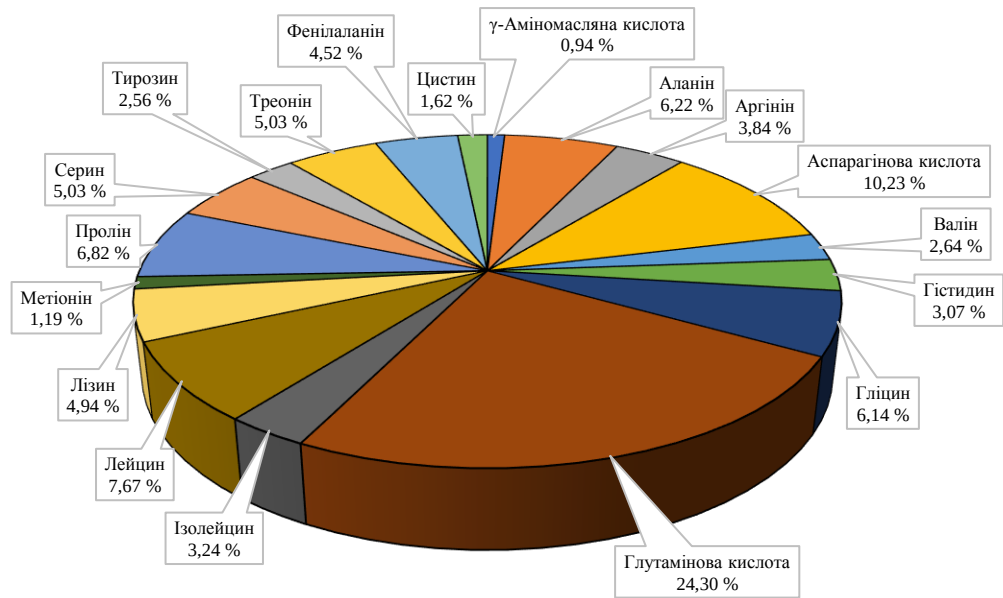


Рис. 3.12 Відсотковий вміст ідентифікованих амінокислот у мірабілісу ялапа сорту Ельвіра листі

Стебла мірабілісу сорту Ельвіра містили у превалюючій кількості глутамінову кислоту, пролін та аспарагінову кислоту, відсотковий вміст який був 16,72 %, 15,18 % та 12,45 % відповідно. Вміст аланіну та лізину у стеблах цього сорту був однаковим (7,39 %) (рис. 3.13).

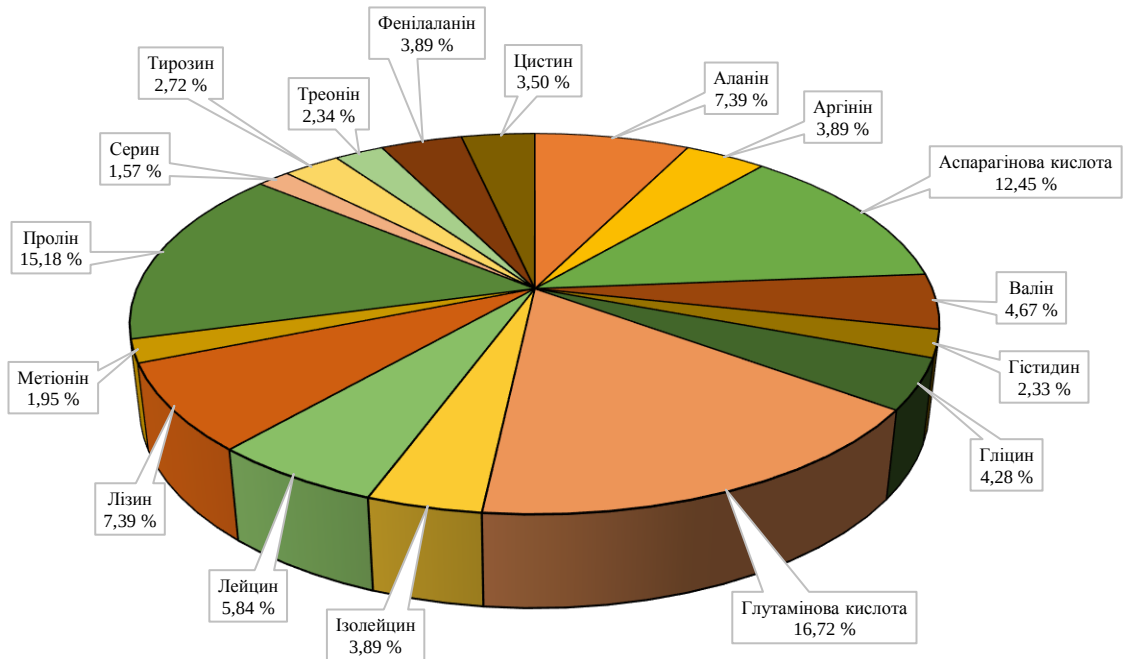


Рис. 3.13 Відсотковий вміст ідентифікованих амінокислот у мірабілісу ялапа сорту Ельвіра стеблах

Вміст проліну у плодах мірабілісу сорту Ельвіра значно перевищував вміст інших амінокислот та склав 28,20 %. Окрім цього у цій сировині визначено аспарагінову та глутамінову кислоти у кількості 11,75 % та 9,92 % відповідно (рис. 3.14).

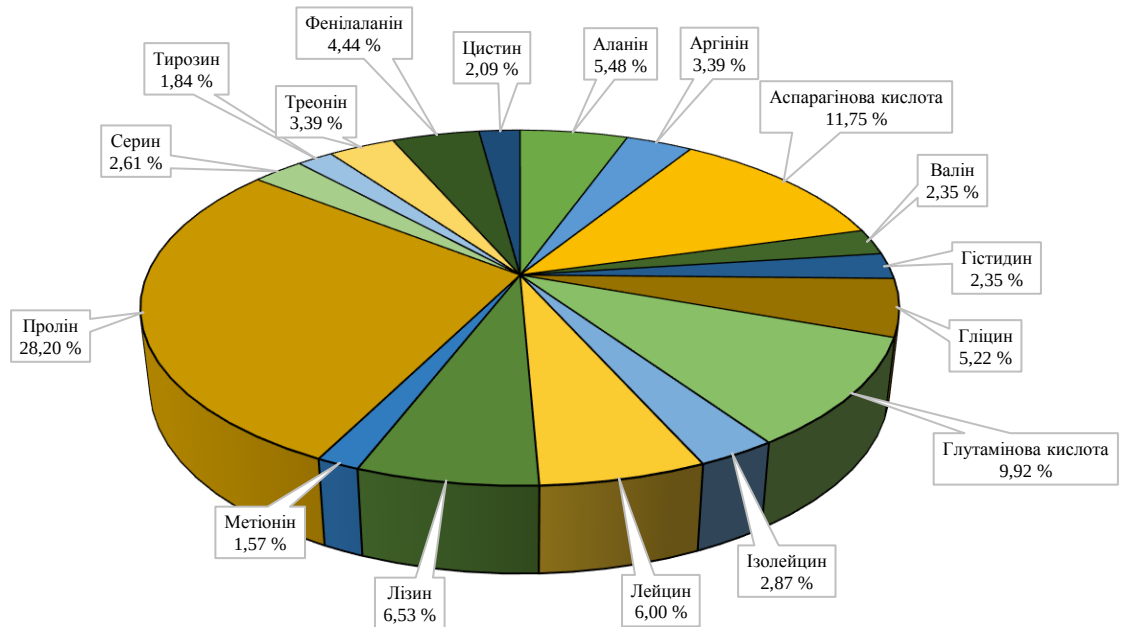


Рис. 3.14 Відсотковий вміст ідентифікованих амінокислот у мірабілісу ялапа сорту Ельвіра плодах

Амінокислоти у сировині мірабілісу обох сортів накопичувалися переважно у листі, значно меншою була їх кількість у плодах та стеблах. Якщо порівнювати кількісний вміст ідентифікованих вільних та зв'язаних амінокислот двох сортів, то встановлено, що більше їх містила сировина мірабілісу ялапа сорту Ельвіра (рис. 3.15).

Слід відмітити, що при меншій загальній кількості амінокислот листя мірабілісу сорту Іоланта містило більше валіну, лізину, метіоніну, тирозину та фенілаланіну, стебла – аргініну, ізолейцину та серину, плоди – гліцину та серину, ніж відповідні види сировини сорту Ельвіра.

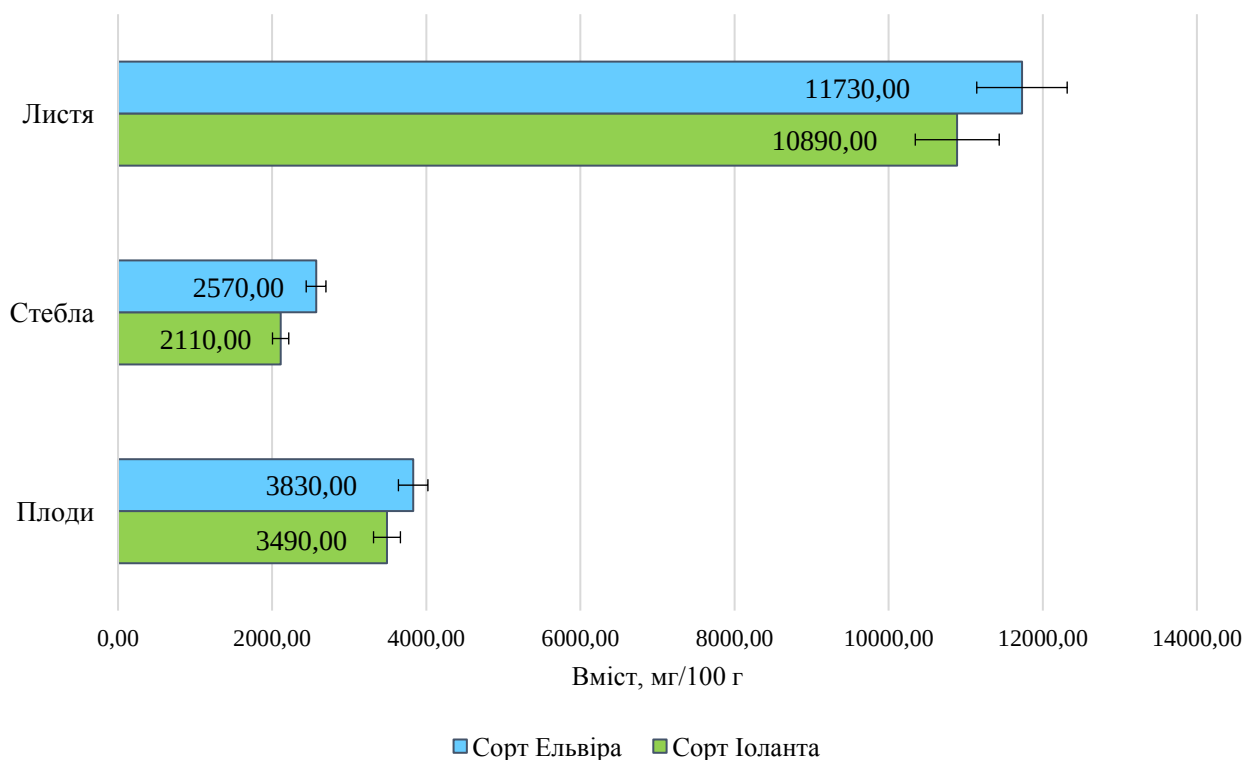


Рис. 3.15 Кількісний вміст ідентифікованих амінокислот у сировині мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра

3.6 Дослідження мінерального складу

У результаті експерименту з вивчення мінерального складу сировини мірабілісу ялапа у досліджуваних об'єктах було виявлено по 19 елементів [33]. Досліджувані види сировини мали схожий мінеральний склад, який відрізнявся кількісним вмістом елементів.

Результати проведеного дослідження наведено у табл. 3.17-3.18.

У листі мірабілісу сорту Іоланта вміст усіх визначених елементів, за винятком натрію, фосфору та стронцію, був вищим, ніж у стеблах та плодах цього ж сорту.

Слід відмітити високий вміст калію (6490,00 мг/100 г та 5360,00 мг/100 г), кальцію (2130,00 мг/100 г та 1750,00 мг/100 г), магнію (831,00 мг/100 г та 430,00 мг/100 г) та силіцію (246,00 мг/100 г та 187,00 мг/100 г) у листі та стеблах сорту Іоланта.

Таблиця 3.17

Мінеральний склад сировини мірабілісу ялапа сорту Іоланта

Елемент	Вміст, мг/100 г		
	Листя	Стебла	Плоди
Калій	6490,00 ± 185,26	5360,00 ± 154,29	1490,00 ± 42,51
Кальцій	2130,00 ± 63,50	1750,00 ± 53,03	460,00 ± 13,14
Натрій	98,00 ± 2,95	170,00 ± 4,79	56,00 ± 1,60
Магній	831,00 ± 25,01	430,00 ± 11,99	220,00 ± 5,97
Силіцій	246,00 ± 7,29	187,00 ± 5,70	49,00 ± 1,38
Фосфор	84,00 ± 2,49	73,00 ± 2,06	107,00 ± 3,00
Ферум	47,00 ± 1,44	31,00 ± 0,90	3,20 ± 0,08
Алюміній	52,00 ± 1,57	15,00 ± 0,41	2,70 ± 0,07
Манган	5,90 ± 0,16	0,90 ± 0,03	0,50 ± 0,01
Цинк	18,10 ± 0,52	11,00 ± 0,30	0,34 ± 0,01
Купрум	0,70 ± 0,02	0,70 ± 0,02	0,40 ± 0,01
Молібден	0,12 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,05 ± 0,01
Стронцій	9,20 ± 0,26	29,00 ± 0,84	0,50 ± 0,01
Плюмбум	<0,03	<0,03	<0,03
Нікол	<0,03	<0,03	<0,03
Кобальт	<0,03	<0,03	<0,03
Кадмій	<0,01	<0,01	<0,01
Арсен	<0,01	<0,01	<0,01
Меркурій	<0,01	<0,01	<0,01

У плодах мірабілісу сорту Іоланта, окрім калію, кальцію та магнію, відмічено значний вміст фосфору (107,00 мг/100 г).

Таблиця 3.18

Мінеральний склад сировини мірабілісу ялапа сорту Ельвіра

Елемент	Вміст, мг/100 г		
	Листя	Стебла	Плоди
Калій	6350,00 ± 191,54	6000,00 ± 180,27	1350,00 ± 40,08
Кальцій	2270,00 ± 68,19	1600,00 ± 46,27	335,00 ± 10,10
Натрій	102,00 ± 3,01	200,00 ± 5,87	30,00 ± 0,87
Магній	795,00 ± 23,12	400,00 ± 12,03	190,00 ± 5,64
Силіцій	227,00 ± 6,30	160,00 ± 4,77	38,00 ± 1,23
Фосфор	91,00 ± 2,79	60,00 ± 1,84	125,00 ± 3,70
Ферум	50,00 ± 1,44	20,00 ± 0,59	2,50 ± 0,06
Алюміній	68,00 ± 1,99	12,00 ± 0,29	3,40 ± 0,09
Манган	6,80 ± 0,22	1,00 ± 0,03	0,70 ± 0,02
Цинк	14,70 ± 0,46	10,00 ± 0,28	0,15 ± 0,01
Купрум	0,62 ± 0,02	0,50 ± 0,01	0,80 ± 0,02
Молібден	0,16 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01
Стронцій	11,30 ± 0,35	36,00 ± 1,01	0,40 ± 0,01
Плюмбум	<0,03	<0,03	<0,03
Нікол	<0,03	<0,03	<0,03
Кобальт	<0,03	<0,03	<0,03
Кадмій	<0,01	<0,01	<0,01
Арсен	<0,01	<0,01	<0,01
Меркурій	<0,01	<0,01	<0,01

Листя та стебла сорту Ельвіра містили приблизно однакову кількість калію (6350,00 мг/100 г та 6000,00 мг/100 г відповідно), тоді як за вмістом кальцію переважало листя (2270,00 мг/100 г), хоча і в стеблах кількість цього елементу була значною (1600,00 мг/100 г). Плоди мірабілісу сорту Ельвіра

поступалися іншим двом досліджуваним видам сировини цього ж сорту за вмістом усіх елементів, за винятком фосфору та купруму, які були визначені на рівні 125,00 мг/100 г та 0,80 мг/100 г, тоді як у листі їх вміст був 91,00 мг/100 г та 0,62 мг/100 г, у стеблах – 60,00 мг/100 г та 0,50 мг/100 г відповідно.

У ході випробування було встановлено, що у найбільшій кількості досліджувана сировина мірабілісу обох сортів накопичувала калій, кальцій, магній та силіцій (рис. 3.16).

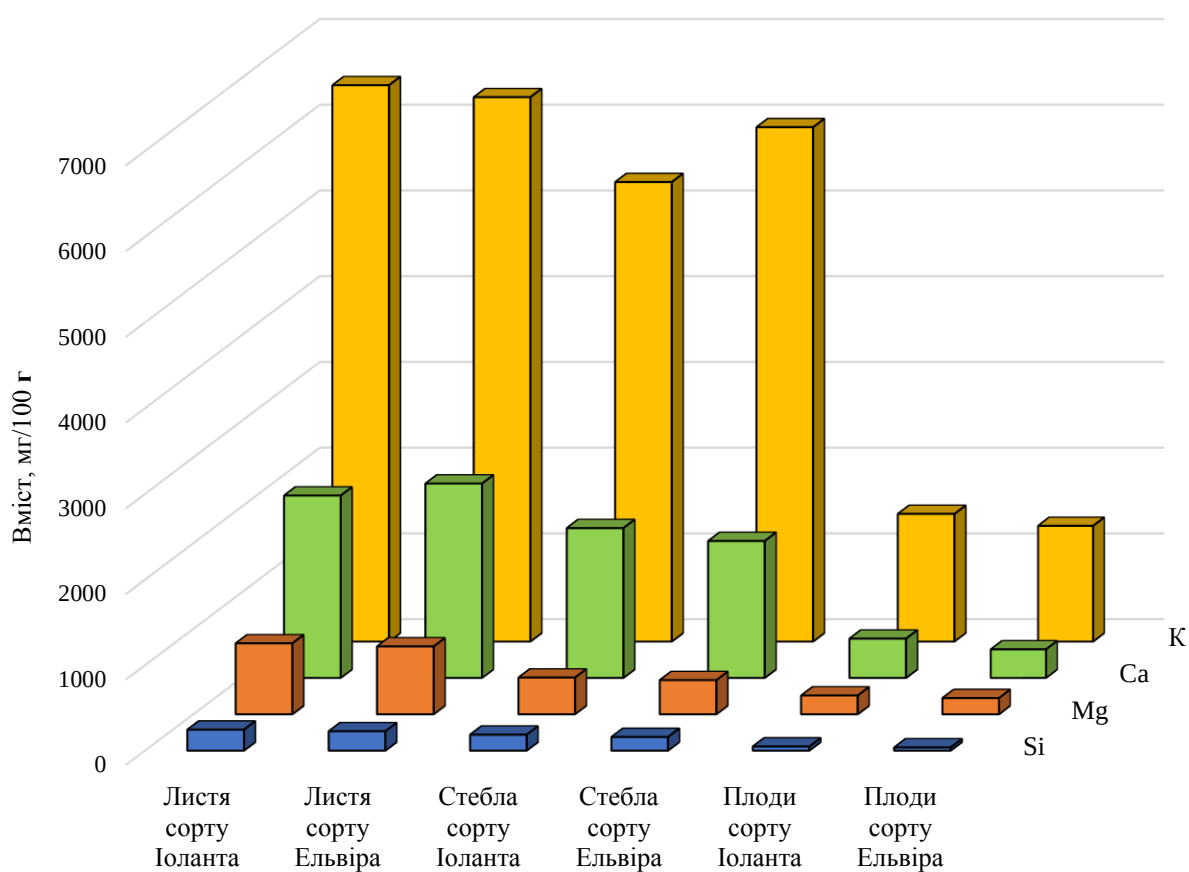


Рис. 3.16 Кількісний вміст домінуючих елементів у сировині мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра

Загалом, у порівнянні із досліджуваними видами сировини обох сортів у листі сорту Іоланта було визначено найбільше калію, магнію, силіцію та цинку, у листі сорту Ельвіра – кальцію, феруму та мангану, у стеблах цього ж сорту – натрію та у плодах – фосфору та купруму.

Результати проведеного експерименту дозволили зробити висновок, що вміст важких металів у сировині мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра знаходився у межах гранично допустимої норми для лікарської рослинної сировини відповідно до вимог ДФУ [10].

3.7 Дослідження вуглеводів

Попереднє виявлення вуглеводів проводили із використанням хімічних реакцій, зокрема з мідно-тарtratним реактивом та 96 % етанолом.

Позитивні результати проведених реакцій підтвердили наявність вільних вуглеводів та полісахаридів у водних витяжках листя, стебел та плодів мірабілісу.

Кількісний вміст полісахаридів у сировині мірабілісу ялапа визначали методом гравіметрії. У табл. 3.19 наведено результати проведеного дослідження [30].

Таблиця 3.19

Кількісний вміст полісахаридів у сировині мірабілісу ялапа

Сировина	Вміст, % у перерахунку на абсолютно суху сировину (m=5)
1	2
Сорт Іоланта	
Листя	18,70 ± 0,57
Стебла	13,91 ± 0,43

1	2
Плоди	14,07 ± 0,42
Сорт Ельвіра	
Листя	17,14 ± 0,61
Стебла	14,85 ± 0,40
Плоди	12,60 ± 0,43

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

Дані, одержані у результаті кількісного визначення, свідчили, що полісахариди накопичувалися переважно у листі мірабілісу, де їх вміст у сорті Іоланта був від 18,70 %, у сорті Ельвіра – 17,14%.

При порівнянні вмісту полісахаридів між сортами у плодах та стеблах, можна зробити висновок, що ця група БАР домінувала у плодах сорту Іоланта (14,07 %) та у стеблах сорту Ельвіра (14,85 %).

3.8 Дослідження пігментів

Виявлення пігментів у листі та стеблах мірабілісу ялапа проводили методом ТШХ. На хроматограмі листя мірабілісу було виявлено щонайменше 5 зон, віднесених до хлорофілів та 3 зони, віднесені до каротиноїдів. За результатами проведеного експерименту зроблено висновок про присутність у стеблах мірабілісу 3 хлорофілів та 2 каротиноїдів.

Кількісний вміст пігментів визначали методом спектрофотометрії, витяжки одержували за методиками А і Б, які наведено у п. 2.3 даної роботи.

Типові спектри поглинання досліджуваних витяжок листя мірабілісу сорту Іоланта в умовах визначення хлорофілів наведено на рис. 3.17-3.18.

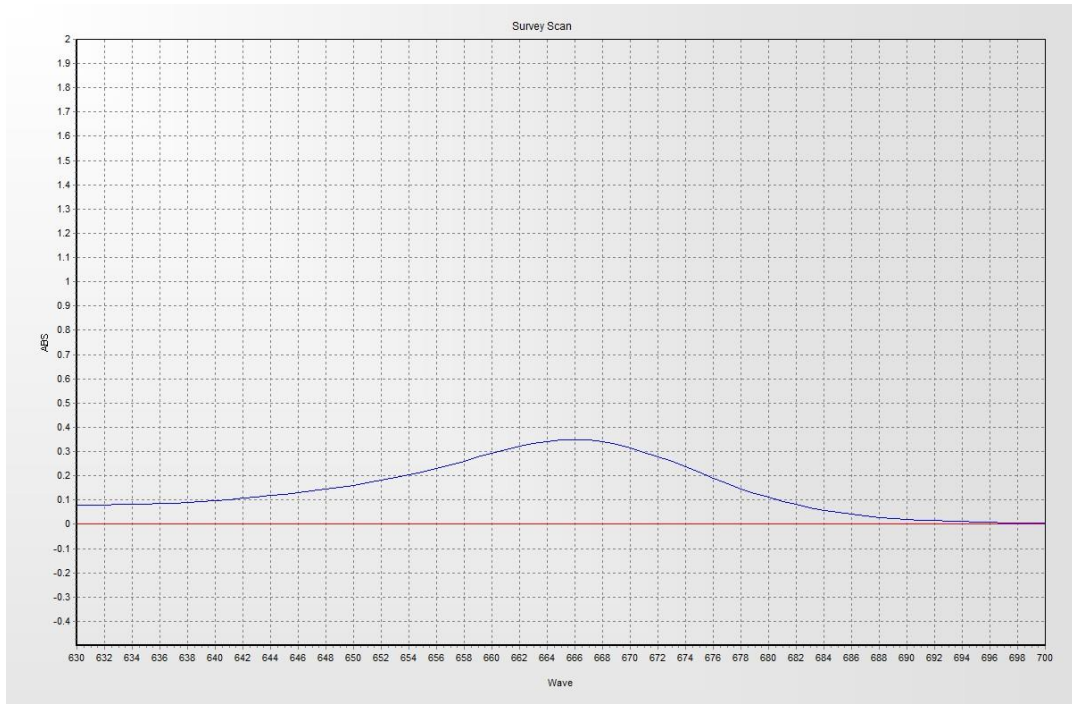


Рис. 3.17 Типовий спектр поглинання випробовуваної витяжки листя мірабілісу сорту Іоланта в умовах визначення хлорофілів шляхом розтирання сировини з етанолом при кімнатній температурі у видимій ділянці світла

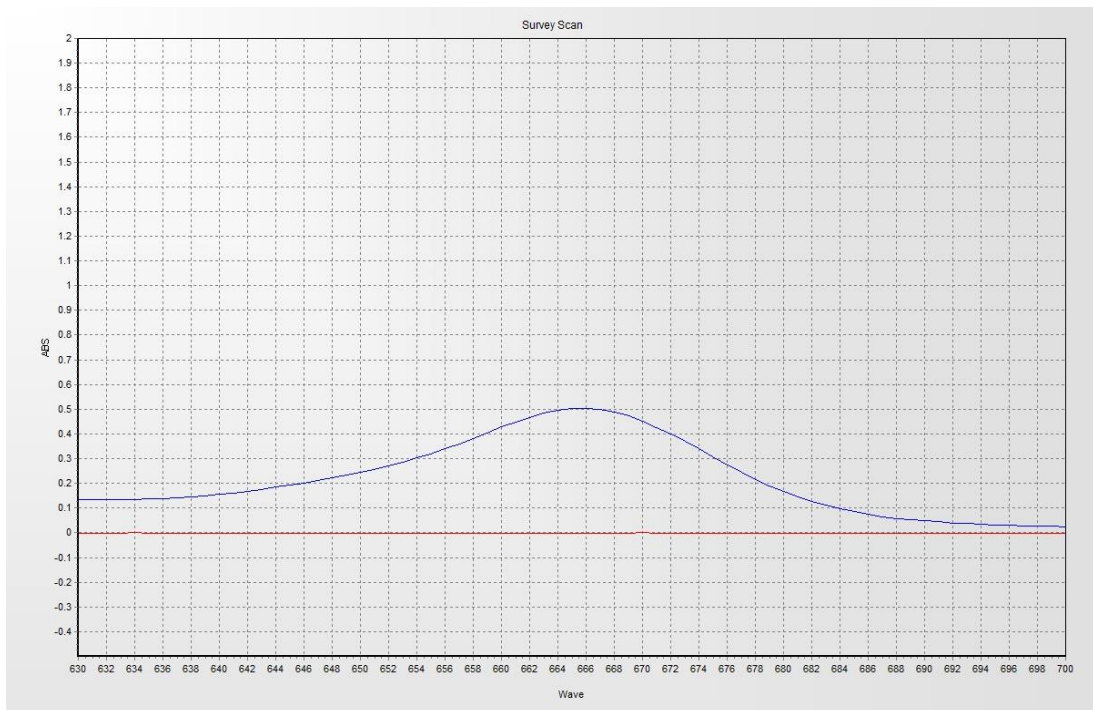


Рис. 3.18 Типовий спектр поглинання випробовуваної витяжки листя мірабілісу сорту Іоланта в умовах визначення хлорофілів шляхом екстракції сировини з етанолом при нагріванні у видимій ділянці світла

Результати кількісного визначення пігментів наведено у табл. 3.20 [32].

Таблиця 3.20

Кількісний вміст пігментів у сировині мірабілісу ялапа

Пігменти	Вміст, % у перерахунку на абсолютно суху сировину (m=5)	
	Листя	Стебла
Сорт Іоланта		
Методика А		
Хлорофіл <i>a</i>	0,27 ± 0,01	сліди
Хлорофіл <i>b</i>	0,11 ± 0,01	сліди
Каротиноїди	сліди	сліди
Методика Б		
Хлорофіл <i>a</i>	0,58 ± 0,02	0,12 ± 0,004
Хлорофіл <i>b</i>	0,22 ± 0,01	сліди
Каротиноїди та ксантофіли	0,16 ± 0,01	сліди
Сорт Ельвіра		
Методика А		
Хлорофіл <i>a</i>	0,35 ± 0,01	0,11 ± 0,01
Хлорофіл <i>b</i>	0,16 ± 0,01	сліди
Каротиноїди	0,12 ± 0,01	сліди
Методика Б		
Хлорофіл <i>a</i>	0,69 ± 0,02	0,20 ± 0,01
Хлорофіл <i>b</i>	0,30 ± 0,01	0,13 ± 0,01
Каротиноїди та ксантофіли	0,27 ± 0,01	0,10 ± 0,01

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

Проведеним дослідженням встановлено, що більше пігментів містилося у листі мірабілісу обох сортів.

Слід зауважити, що порівнюючи результати кількісного визначення пігментів за двома методиками встановлено, що більше хлорофілів та каротиноїдів як із листя, так і зі стебел мірабілісу ялапа вилучалося екстракцією при нагріванні. Окрім цього визначено, що більше вищезазначених пігментів містила сировина мірабілісу ялапа сорту Ельвіра.

3.9 Дослідження органічних кислот

Методами ПХ та ТШХ проводили вивчення органічних кислот у сировині мірабілісу ялапа.

У порівнянні зі СЗ органічних кислот у листі було ідентифіковано щавлеву, лимонну, яблучну, винну, бурштинову, саліцилову та бензойну кислоти. У стеблах, на відміну від листя, не було виявлено бурштинову та щавлеву кислоти. Яблучну, лимонну, винну та бензойну кислоти було знайдено у плодах рослини.

Кількісний вміст суми вільних органічних кислот у перерахунку на яблучну кислоту у сировині мірабілісу ялапа визначали методом титриметрії, результати наведено у табл. 3.21.

Таблиця 3.21

Кількісний вміст органічних кислот у сировині мірабілісу ялапа

Сировина	Вміст, % у перерахунку на яблучну кислоту та абсолютно суху сировину (m=5)
1	2
Сорт Іоланта	
Листя	1,50 ± 0,06
Стебла	0,88 ± 0,03
Плоди	0,49 ± 0,02

1	2
Сорт Ельвіра	
Листя	$1,41 \pm 0,05$
Стебла	$0,83 \pm 0,04$
Плоди	$0,46 \pm 0,02$

Примітка. Вірогідність похибки $P < 0,05$.

У результаті експерименту встановили, що найбільшим кількісний вміст органічних кислот був у листі мірабілісу (1,50 % та 1,41 % у сортах Іоланта та Ельвіра відповідно). Плоди мірабілісу обох сортів, що досліджувалися, містили менше органічних кислот, ніж стебла – відповідно у сировині сорту Іоланта 0,49 % та 0,88 %, у сировині сорту Ельвіра – 0,46 % та 0,83 %.

Висновки до розділу 3

1. Визначено втрату в масі при висушуванні та загальну золу для сировини мірабілісу ялапа. Встановлено, що найбільшою втрата в масі при висушуванні була для стебел ($11,17 \pm 0,39$ % та $10,41 \pm 0,40$ % сортів Іоланта та Ельвіра відповідно), загальна зола – у листі ($6,77 \pm 0,29$ % та $6,29 \pm 0,27$ % сортів Ельвіра та Іоланта відповідно).

2. Попередніми фітохімічними дослідженнями – хімічними реакціями, ПХ та ТШХ у сировині мірабілісу ялапа виявлено флавоноїди, дубильні речовини, гідроксикоричні кислоти, вільні амінокислоти, вуглеводи, полісахариди, хлорофіли, каротиноїди та органічні кислоти. Зокрема, у сировині ідентифіковано пірогалол, галову, хлорогенову, ферулову, кофейну, щавлеву, лимонну, яблучну, винну, бурштинову, саліцилову, бензойну, глютамінову кислоти, лейцин, фенілаланін, триптофан,

метіонін, валін, треонін, лізин, гістидин, аргінін та цистеїн, рутин, гіперозид, кверцетин та кемпферол.

3. Досліджено фенольні сполуки методом ВЕРХ, у результаті у сировині ідентифіковано та визначено вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та ізофлавоноїдів. У листі сортів Іоланта та Ельвіра за вмістом переважали рутин ($105,64 \pm 2,13$ мкг/мг та $97,26 \pm 1,86$ мкг/мг відповідно), гіперозид ($91,36 \pm 1,84$ мкг/мг та $100,20 \pm 1,97$ мкг/мг відповідно) та неохлорогенова кислота ($95,89 \pm 1,94$ мкг/мг та $75,26 \pm 0,47$ мкг/мг відповідно). Рутин ($37,58 \pm 0,77$ мкг/мг) та гіперозид ($20,64 \pm 0,60$ мкг/мг) містилися у найбільшій кількості у стеблах мірабілісу сорту Іоланта, рутин ($29,18 \pm 0,55$ мкг/мг) та неохлорогенова кислота ($21,52 \pm 0,44$ мкг/мг) – у стеблах сорту Ельвіра. У плодах сорту Іоланта серед ідентифікованих фенольних сполук накопичувалися переважно хлорогенова кислота ($39,51 \pm 0,82$ мкг/мг) та рутин ($25,67 \pm 0,54$ мкг/мг), у плодах сорту Ельвіра – хлорогенова кислота ($51,73 \pm 1,03$ мкг/мг).

4. Визначення складу жирних кислот у ліпофільних фракціях сировини методом ГХ показало перевагу ненасичених жирних кислот в усіх об'єктах дослідження. У листі мірабілісу досліджуваних сортів було ідентифіковано по 14 жирних кислот, у стеблах та плодах сорту Ельвіра – по 13, у стеблах та плодах сорту Іоланта – 12 жирних кислот. Листя сортів Іоланта та Ельвіра накопичувало переважно ліноленову кислоту, де її вміст був відповідно 62,33 % та 58,33 % від суми виявлених кислот. У стеблах переважали ліолева (35,60 % та 32,03 %) та пальмітинова (27,18 % та 28,87 %) кислоти у сортах Іоланта та Ельвіра відповідно. Для плодів мірабілісу характерне накопичення олеїнової кислоти, яка у плодах сорту Ельвіра була визначена у кількості 51,06 %, у плодах сорту Іоланта – 53,18 %.

5. Вивчено склад вільних та зв'язаних амінокислот у сировині мірабілісу ялапа, визначено кількісний вміст ідентифікованих амінокислот. Найбільшою сума амінокислот, які було ідентифіковано після гідролізу, була у листі мірабілісу. Максимальний вміст у листі сортів Ельвіра та Іоланта

встановлено для глютамінової (2850,00 мг/100 г та 2230,00 мг/100 г) та аспарагінової (1200,00 мг/100 г та 1110,00 мг/100 г) кислот, у стеблах сортів Ельвіра та Іоланта – для глютамінової кислоти (430,00 мг/100 г та 310,00 мг/100 г), проліну (390,00 мг/100 г та 330,00 мг/100 г) та аспарагінової кислоти (320,00 мг/100 г та 260,00 мг/100 г). У плодах обох сортів вміст проліну значно перевищував вміст інших ідентифікованих амінокислот.

6. У ході визначення мінерального складу листя, стебел та плодів мірабілісу ялапа встановлено, що вміст важких металів у сировині мірабілісу знаходився у межах гранично допустимої норми для лікарської рослинної сировини відповідно до вимог ДФУ. У всіх досліджуваних об'єктах виявлено та встановлено кількісний вміст 19 елементів, серед яких у найбільшій кількості визначено калій, кальцій, магній та силіцій.

7. Визначено кількісний вміст різних груп БАР у досліджуваній сировині мірабілісу ялапа та встановлено, що вміст флавоноїдів був у межах 0,08-0,39 %, гідроксикоричних кислот – 0,11-1,97 %, поліфенолів – 0,69-1,53 %, танінів – 0,38-0,79 %, ізофлавоноїдів – 0,18-0,21 %, вільних амінокислот – 0,65-2,66 %, полісахаридів – 12,60-18,70 %, органічних кислот – 0,46-1,50 %.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Мінеральний склад мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.). *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 2. С. 38–40 DOI:10.33617/2522-9680-2019-2-38 (Особистий внесок – огляд джерел літератури, підготовка зразків, узагальнення одержаних результатів, участь у написання статті).

2. HPLC study of phenolic compounds in *Mirabilis jalapa* raw material / D. K. A. Sarray., L. Horiacha, I. Zhuravel, A. Fedosov. *Pharmacia*. 2020. Vol. 67 (3). P. 145–152 (*Scopus*) DOI: 10.3897/pharmacia.67.e52585 (Особистий внесок

– аналіз джерел літератури, участь у обробці результатів експерименту, участь у підготовці статті до друку).

3. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Дослідження амінокислот у сировині *Mirabilis jalapa* L. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. № 3. С. 65–68 DOI: 10.5281/zenodo.5499674 (Особистий внесок – огляд джерел літератури, підготовка зразків для експерименту, участь у аналізі одержаних результатів та підготовці статті до друку).

4. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Жирнокислотний склад *Mirabilis jalapa* L. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. № 4. С. 15–20 DOI: 10.5281/zenodo.5761145 (Особистий внесок – підготовка зразків, аналіз одержаних результатів, участь у написанні та оформленні статті).

5. Саррай Д., Журавель І. О., Горяча Л. М. Ідентифікація амінокислот у *Mirabilis jalapa* L. листі. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: матеріали III міжнародної науково-практичної internet-конференції*, м. Харків, 26-28 листопада 2018 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 190–191.

6. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Результати визначення вмісту танінів у мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.) плодах. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку: матеріали XI науково-практичної INTERNET-конференції*, м. Харків, 24 травня 2019 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 35–36.

7. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Кількісний вміст пігментів у листі та траві *Mirabilis jalapa* L. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: матеріали II Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції*, м. Харків, 11 березня 2020 р. Х.: НФаУ, 2020. С. 158.

8. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Визначення кількісного вмісту поліфенолів у сировині *Mirabilis jalapa* L.

Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: матеріали III Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, м. Харків, 2 квітня 2021 р. Х.: НФаУ, 2021. С. 174.

9. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Результати визначення кількісного вмісту флавоноїдів у сировині *Mirabilis jalapa* L. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету, м. Харків, 10 вересня 2021 р. Х.: НФаУ, 2021. С. 248–249.*

10. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Дослідження полісахаридів мірабілісу ялапа. *Сучасні аспекти створення лікарських засобів: матеріали II Міжнародної науково-практичної дистанційної конференції, м. Харків, 1 лютого 2022 р. Харків: НФаУ, 2022. С. 193.*

11. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Кількісне визначення гідроксикоричних кислот у листі, плодах та траві *Mirabilis jalapa* L. *Сучасні аспекти створення лікарських засобів: матеріали II Міжнародної науково-практичної дистанційної конференції, м. Харків, 1 лютого 2022 р. Харків: НФаУ, 2022. С. 194.*

РОЗДІЛ 4

СТАНДАРТИЗАЦІЯ СИРОВИНИ ТА ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО РОСЛИННОГО ЗАСОБУ. СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ОДЕРЖАНОГО ЛІКАРСЬКОГО РОСЛИННОГО ЗАСОБУ

4.1 Вибір перспективної сировини

Нами проаналізовано одержані результати у ході проведеного фітохімічного вивчення листя, стебел та плодів мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра для вибору перспективної сировини для подальших досліджень (рис. 4.1).

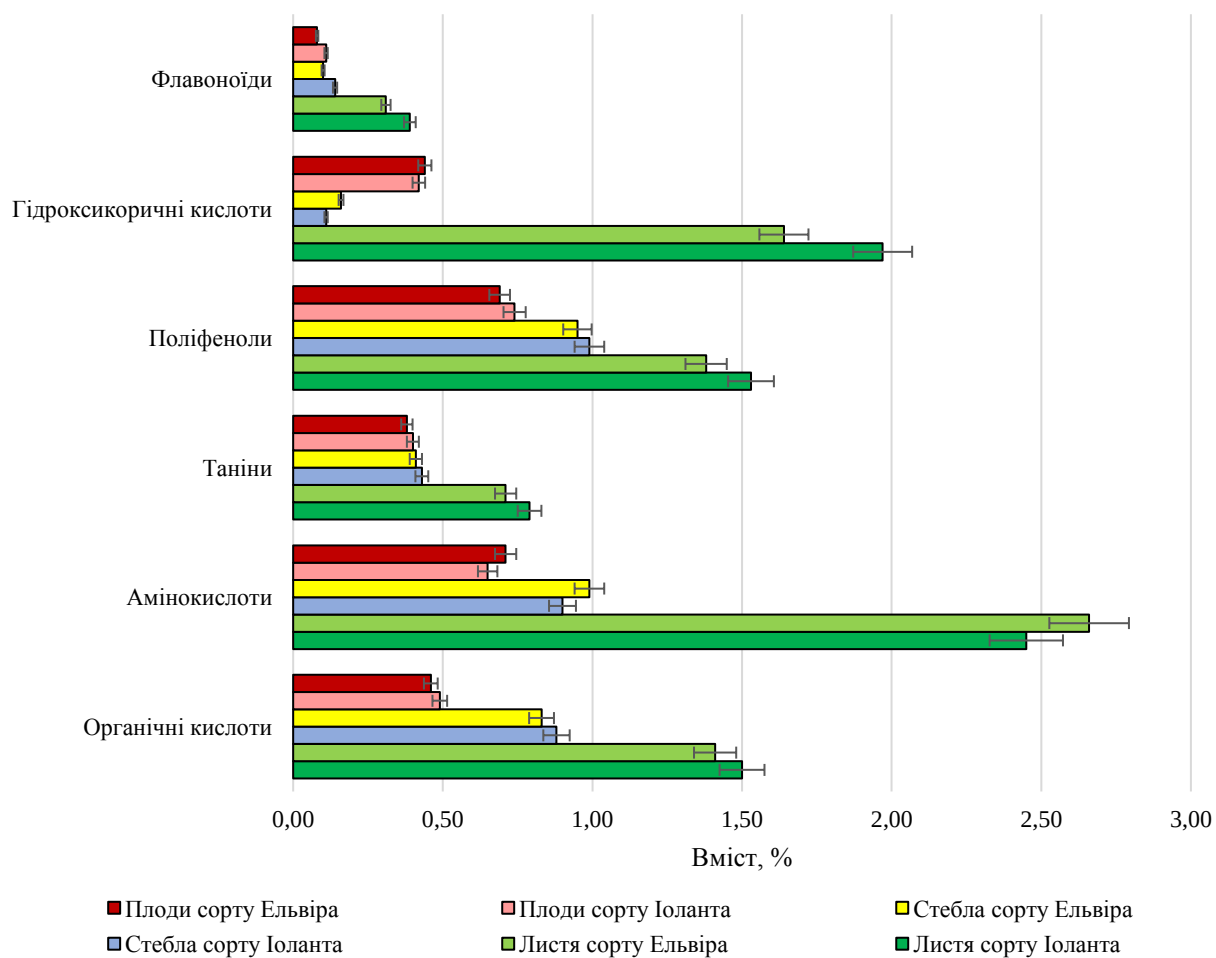


Рис. 4.1 Накопичення основних груп БАР у сировині мірабілісу ялапа

Як видно з рис. 4.1, найбільше БАР накопичувало листя мірабілісу. Також слід відмітити, що не встановлено значної відмінності у якісному складі та кількісному вмісті досліджених груп БАР між сортами мірабілісу ялапа.

Спираючись на вищесказане, нами для подальших досліджень було вибрано листя суміші сортів мірабілісу.

4.2 Визначення діагностичних анатомічних ознак листя мірабілісу ялапа

Для розробки МКЯ на мірабілісу ялапа листя необхідно було визначити основні діагностичні анатомічні ознаки сировини.

Клітини верхньої епідерми листка мірабілісу ялапа неправильної форми, з тонкими, злегка звивистими оболонками (рис. 4.2). Продиховий апарат аномоцитного типу. Клітини по жилці прямокутної та округлої форми, прямостінні, із тонкими оболонками.

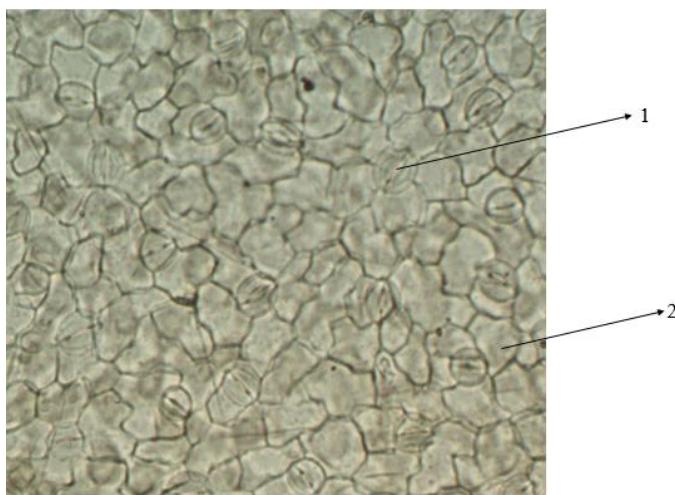


Рис. 4.2 Фрагмент верхньої епідерми листка: 1 – продихи; 2 – клітини епідерми

Жилки верхньої епідерми вкриті багаточисельними простими, головчастими волосками із багатоклітинною ніжкою із коричневим вмістом та округлою кінцевою клітиною (рис. 4.3). Зрідка такі волоски помітні по

всій верхній епідермі. По краю листкової пластинки зустрічаються великі прості багатоклітинні волоски із загостреною термінальною клітиною (рис. 4.4).

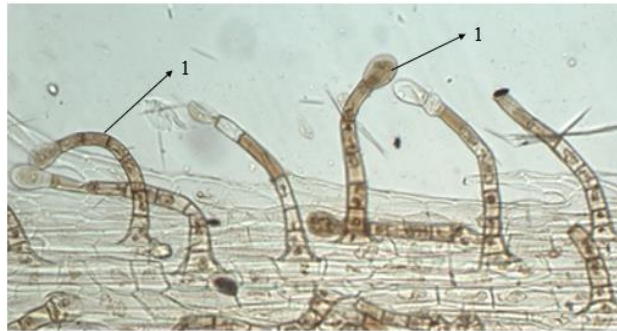


Рис. 4.3 Головчасті волоски по жилці верхньої епідерми листка (1)



Рис. 4.4 Простий багатоклітинний волосок по краю листка з нижнього боку (1)

Клітини верхньої епідерми листка неправильної форми, зі звивистими, тонкими стінками (рис. 4.5). Продихи аномоцитного типу більш чисельні, ніж на верхній епідермі.

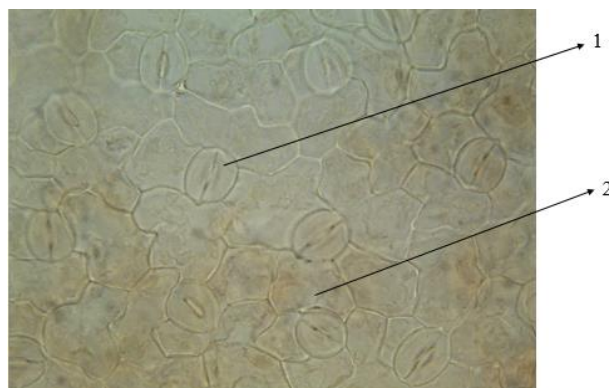


Рис. 4.5 Фрагмент нижньої епідерми листка: 1 – продихи; 2 – клітини

епідерми

На нижній епідермі, по жилкам та краю зустрічаються прості 3-, 4- та багатоклітинні волоски із тонкими стінками та коричневим вмістом (рис. 4.6-4.8).



Рис. 4.6 Головчастий волосок на нижній епідермі листка (1)



Рис. 4.7 Головчасті волоски по жилці на нижній епідермі листка (1)

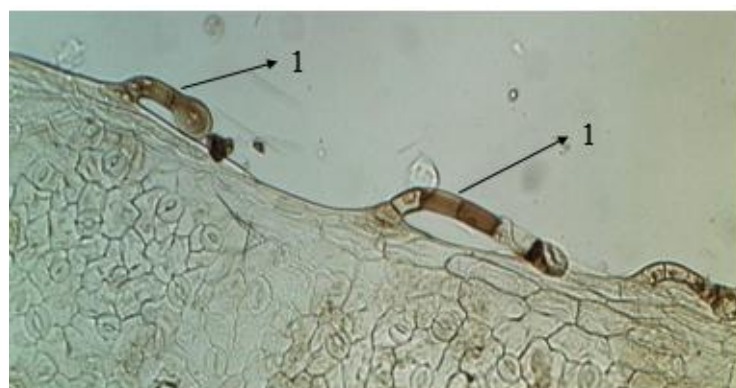


Рис. 4.8 Головчасті волоски по краю листка з верхнього боку (1)

Для обох боків листкової пластинки характерні пучки рафід (рис. 4.9), по жилкам зустрічаються призматичні кристали кальцію оксалату (рис. 4.10).

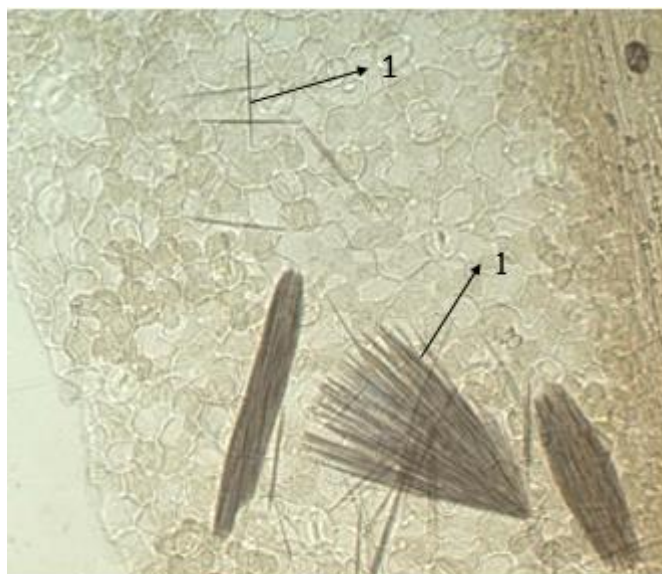


Рис. 4.9 Рафіди у паренхімі листка (1)

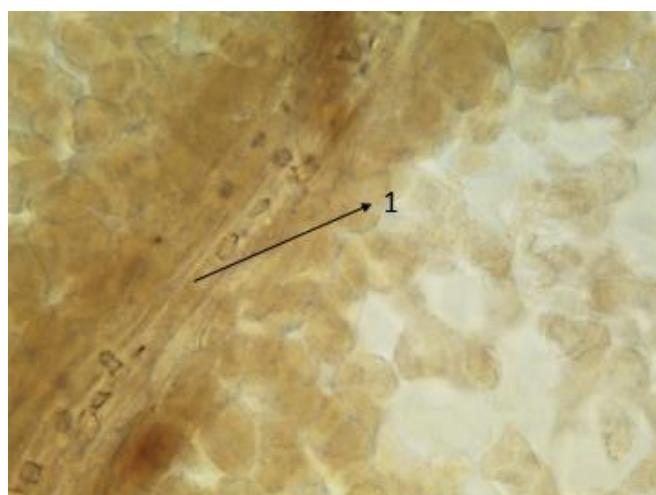


Рис. 4.10 Жилка з кристалоносною обкладкою (1)

4.3 Стандартизація листя мірабілісу ялапа

Для визначення показників якості листя мірабілісу ялапа використовували 7 серій сировини (№ 001-007), заготовленої у Харківській, Одеській, Київській та Хмельницькій областях.

На першому етапі розробки проєкту МКЯ «Мірабілісу ялапа листя» було проведено визначення основних діагностичних макроскопічних ознак у серіях сировини, що аналізувалися (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

**Результати визначення діагностичних морфологічних ознак у
серіях мірабілісу ялапа листя**

Діагностичні ознаки	Серії сировини	Результат
1	2	3
Листки зеленого або темно-зеленого кольору	001	Відповідає
	002	Відповідає
	003	Відповідає
	004	Відповідає
	005	Відповідає
	006	Відповідає
	007	Відповідає
Листки видовженої або видовжено-яйцеподібної форми із округлою основною та загостреною верхівкою	001	Відповідає
	002	Відповідає
	003	Відповідає
	004	Відповідає
	005	Відповідає
	006	Відповідає
	007	Відповідає
Листки із цільним краєм та перистопетлеподібним жилкуванням	001	Відповідає
	002	Відповідає
	003	Відповідає
	004	Відповідає
	005	Відповідає
	006	Відповідає
	007	Відповідає

Продовж. табл. 4.1

1	2	3
Наявність черешка	001	Відповідає
	002	Відповідає
	003	Відповідає
	004	Відповідає
	005	Відповідає
	006	Відповідає
	007	Відповідає

У результаті аналізу зроблено висновок про відповідність усіх серій листя мірабілісу основним морфологічним ознакам.

Запропоновано до розділу «Ідентифікація А» включити такі ознаки: листки прості, черешкові, видовженої або видовжено-яйцеподібної форми, основа листкової пластинки округла, край цільний, верхівка загострена, жилкування перистопетлеподібне. Листки зелені або темно-зелені, жилки та черешки світло-зелені або білуваті.

На наступному етапі було встановлено відповідність досліджуваних серій листя мірабілісу мікроскопічним ознакам (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Результати визначення діагностичних анатомічних ознак у серіях мірабілісу ялапа листя

Діагностичні ознаки	Серії сировини	Результат
1	2	3
Клітини неправильної форми, із тонкими,	001	Відповідає
	002	Відповідає
	003	Відповідає

1	2	3
більше або менше звивистими оболонками	004	Відповідає
	005	Відповідає
	006	Відповідає
	007	Відповідає
Клітини прямокутної та округлої форми, прямоствінні, із тонкими оболонками по жилкам	001	Відповідає
	002	Відповідає
	003	Відповідає
	004	Відповідає
	005	Відповідає
	006	Відповідає
	007	Відповідає
Волоски з багатоклітинними ніжками із коричневим вмістом та округлою кінцевою клітиною (голівкою) на верхньому боці листкової пластинки та по жилкам	001	Відповідає
	002	Відповідає
	003	Відповідає
	004	Відповідає
	005	Відповідає
	006	Відповідає
	007	Відповідає
Великі прості багатоклітинні волоски із загостреною термінальною клітиною по краю листкової пластинки з верхнього боку	001	Відповідає
	002	Відповідає
	003	Відповідає
	004	Відповідає
	005	Відповідає
	006	Відповідає
	007	Відповідає

1	2	3
Прості 3-, 4- та багатоклітинні волоски із тонкими стінками та коричневим вмістом на нижній епідермі, по жилкам та краю	001	Відповідає
	002	Відповідає
	003	Відповідає
	004	Відповідає
	005	Відповідає
	006	Відповідає
	007	Відповідає
Наявність пучків рафід з обох боків листкової пластинки	001	Відповідає
	002	Відповідає
	003	Відповідає
	004	Відповідає
	005	Відповідає
	006	Відповідає
	007	Відповідає
Наявність призматичних кристалів кальцію оксалату по жилкам	001	Відповідає
	002	Відповідає
	003	Відповідає
	004	Відповідає
	005	Відповідає
	006	Відповідає
	007	Відповідає

У результаті дослідження встановлено, що усі серії листя мірабілісу відповідали основним мікроскопічним ознакам. Запропоновано до розділу «Ідентифікація В» включити ознаки, наведені у табл. 4.2.

На наступному етапі необхідно було вибрати БАР для ідентифікації та кількісного визначення. Спираючись на результати проведеного

фітохімічного дослідження, нами були вибрані гідроксикоричні кислоти та поліфенольні сполуки.

У ході вивчення гідроксикоричних кислот листя мірабілісу ялапа було встановлено, що краще їх розділення спостерігалось методом ТШХ у рухомій фазі етилацетат – оцтова кислота льодяна – мурашина кислота безводна – вода (100:11:11:25). Як розчин порівняння використовували розчин хлорогенової кислоти. У результаті ідентифікації хлорогенової кислоти у серіях мірабілісу ялапа листя встановлено, що усі серії відповідали за цим параметром.

Для ідентифікації пірогалолу у листі мірабілісу ялапа нами запропоновано метод ТШХ із хроматографуванням у рухомій фазі оцтова кислота – вода – хлористоводнева кислота (30:10:3). У результаті ідентифікації пірогалолу усі серії мірабілісу листя відповідали за цим параметром.

Кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та поліфенолів у перерахунку на пірогалол у серіях сировини проводили методом абсорбційної спектрофотометрії відповідно до ДФУ – монографії «Кропиви листя» та статті «Визначення танінів у лікарській рослинній сировині» відповідно. Результати дослідження наведено у табл. 4.3.

Таблиця 4.3

Результати кількісного визначення гідроксикоричних кислот та поліфенолів у серіях мірабілісу ялапа листя

Група БАР	Серії сировини	Вміст, %
1	2	3
Гідроксикоричні кислоти	001	1,61 ± 0,03
	002	2,05 ± 0,04

Продовж. табл. 4.3

1	2	3
Гідроксикоричні кислоти	003	$1,69 \pm 0,03$
	004	$1,77 \pm 0,04$
	005	$2,08 \pm 0,04$
	006	$1,95 \pm 0,04$
	007	$1,81 \pm 0,03$
Поліфеноли	001	$1,35 \pm 0,02$
	002	$1,64 \pm 0,02$
	003	$1,39 \pm 0,03$
	004	$1,47 \pm 0,02$
	005	$1,57 \pm 0,03$
	006	$1,52 \pm 0,03$
	007	$1,50 \pm 0,03$

Вміст суми гідроксикоричних кислот у листі мірабілісу має бути не менше 1,50 %, вміст суми поліфенолів – не менше 1,00 %.

Далі було проведено визначення сторонніх домішок, зокрема листків іншого кольору, квіток чи плодів, а також інших сторонніх домішок у серіях сировини (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

**Результати визначення сторонніх домішок у серіях мірабілісу
ялапа листя**

Види домішок	Серії сировини	Результат, %
1	2	3
Листки іншого кольору	001	$1,91 \pm 0,05$

1	2	3
	002	Відсутні
	003	Відсутні
	004	Відсутні
	005	$2,48 \pm 0,06$
	006	$3,40 \pm 0,08$
	007	Відсутні
Квітки чи плоди	001	Відсутні
	002	Відсутні
	003	$3,51 \pm 0,09$
	004	Відсутні
	005	$2,57 \pm 0,08$
	006	Відсутні
	007	$2,50 \pm 0,07$
Інші сторонні домішки	001	Відсутні
	002	Відсутні
	003	Відсутні
	004	$2,37 \pm 0,07$
	005	Відсутні
	006	$1,50 \pm 0,05$
	007	Відсутні

Спираючись на результати проведеного аналізу запропоновано включити до проєкту МКЯ «Мірабілісу ялапа листя» визначення вмісту листків іншого кольору – не більше 4,0 %, квіток чи плодів – не більше 4,0 %, інших сторонніх домішок – не більше 3,0 %.

Обов'язковим показником якості ЛРС є втрата в масі при висушуванні та загальна зола, визначення яких у серіях листя мірабілісу ялапа проводили відповідно до вимог ДФУ (табл. 4.5-4.6).

Таблиця 4.5

**Результати визначення втрати в масі при висушуванні у серіях
мірабілісу ялапа листя**

Показник якості	Серії сировини	Результат, %
Втрата в масі при висушуванні	001	$9,67 \pm 0,30$
	002	$8,46 \pm 0,26$
	003	$8,30 \pm 0,25$
	004	$9,11 \pm 0,29$
	005	$9,53 \pm 0,28$
	006	$8,94 \pm 0,28$
	007	$9,47 \pm 0,30$

За результатами проведеного дослідження запропоновано регламентувати якість листя мірабілісу за показником «Втрата в масі при висушуванні» не більше 11,00 %.

Таблиця 4.6

**Результати визначення загальної золи у серіях мірабілісу ялапа
листя**

Показник якості	Серії сировини	Результат, %
1	2	3
Загальна зола	001	$7,59 \pm 0,21$
	002	$6,18 \pm 0,19$

1	2	3
	003	$6,84 \pm 0,21$
	004	$7,50 \pm 0,23$
	005	$7,03 \pm 0,21$
	006	$6,77 \pm 0,20$
	007	$7,14 \pm 0,22$

Запропоновано включити визначення загальної золи до проєкту МКЯ «Мірабілісу ялапа листя», вміст не повинен перевищувати 8,00 %.

МІРАБІЛІСУ ЯЛАПА ЛИСТЯ

Mirabilis jalapae folium

Цілі або різані, висушені листки *Mirabilis jalapa* L.

Вміст:

- не менше 1.50 % суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту і суху сировину;
- не менше 1.00 % суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол і суху сировину.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Ідентифікація А. Листки прості, черешкові, видовженої або видовжено-яйцеподібної форми, основа листкової пластинки округла, край цільний, верхівка загострена, жилкування перистопетлеподібне. Листки зелені або темно-зелені, жилки та черешки світло-зелені або білуваті.

Ідентифікація В. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *хлоральгідрату розчин Р*. Виявляються такі діагностичні ознаки: клітини неправильної форми, із тонкими, більше або менше звивистими оболонками

на верхній та нижній епідермі; клітини прямокутної та округлої форми, прямостінні, із тонкими оболонками по жилкам; прості, головчасті волоски із багатоклітинною ніжкою із коричневим вмістом та округлою кінцевою клітиною на верхньому боці листкової пластинки та по жилкам; великі прості багатоклітинні волоски із загостреною термінальною клітиною по краю листкової пластинки з верхнього боку; прості 3-, 4- та багатоклітинні волоски із тонкими стінками та коричневим вмістом на нижній епідермі, по жилкам та краю; пучки рафідів з обох боків листкової пластинки; призматичні кристали кальцію оксалату по жилкам.

Ідентифікація С. Тонкошарова хроматографія (2.2.27)

Випробовуваний розчин. До 1 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 10 мл *етанолу Р*, нагрівають на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 10 хв, охолоджують та фільтрують. Одержаний розчин концентрують до об'єму 2 мл.

Розчин порівняння. 1.0 мг *хлорогенової кислоти Р* розчиняють у 10 мл *етанолу Р*.

Пластинка: ТШХ-пластинка із шаром силікагелю *Р*.

Рухома фаза: *етилацетат Р* – *оцтова кислота Р* – *мурашина кислота безводна Р* – *вода Р* (100:11:11:25).

Нанесення: 10 мкл, смугами.

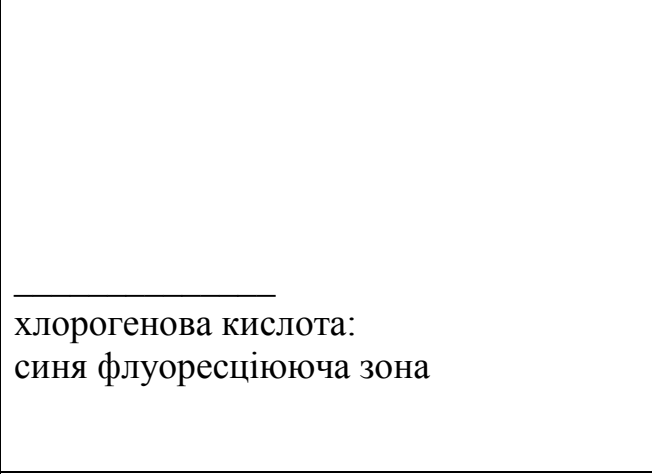
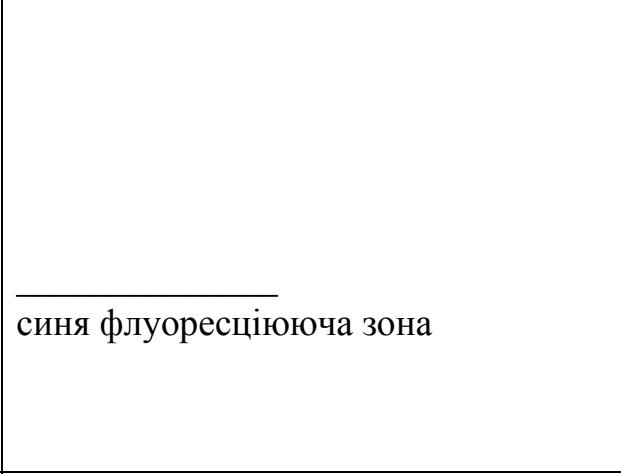
Відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см від лінії старту.

Висушування: при температурі 100-105 °С.

Виявлення: обприскують розчином 10 г/л *дифенілборної кислоти Р аміноетилового ефіру Р* у *метанолі Р*, потім – розчином 50 г/л *макроголу 400 Р* у *метанолі Р*, висушують на повітрі протягом 30 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах розчину порівняння та випробовуваного розчину. На хроматограмі

випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші флуоресціюючі зони.

Верхня частина пластинки	
 хлорогенова кислота: синя флуоресціююча зона	 синя флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

Ідентифікація D. Тонкошарова хроматографія (2.2.27)

Випробовуваний розчин. До 1 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 10 мл *етанолу Р*, нагрівають на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 10 хв, охолоджують та фільтрують. Одержаний розчин концентрують до об'єму 2 мл.

Розчин порівняння. 1.0 мг *пірогалолу Р* розчиняють у 10 мл *етанолу Р*.

Пластинка: ТШХ-пластинка із шаром *силікагелю Р*.

Рухома фаза: *оцтова кислота льодяна Р* – *вода Р* – *хлористоводнева кислота Р* (30:10:3).

Нанесення: 10 мкл, смугами.

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

Висушування: при температурі 100-105 °С.

Виявлення: обприскують розчином 10 г/л *дихлорхінонхлоріміду Р* у *метанолі Р*, а потім – розчином 20 г/л *натрію карбонату безводного Р*. Переглядають у денному світлі.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах розчину порівняння та випробовуваного розчину. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші забарвлені зони.

Верхня частина пластинки	
пірогалол: коричнева зона	коричнева зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (2.8.2). Не більше 4,0 % листків іншого кольору; не більше 4,0 % квіток чи плодів; не більше 3,0 % інших сторонніх домішок.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 11,0 %. 1.000 г здрібненої на порошок (355) (2.9.12) сировини сушать при температурі 105 °С протягом 2 год.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 8,00 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Гідроксикоричні кислоти. Вміст гідроксикоричних кислот визначають методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою ДФУ відповідно до монографії «Кропиви листя».

Сума поліфенолів. Вміст поліфенолів визначають методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою ДФУ відповідно до статті «Визначення танінів у лікарській рослинній сировині». Для дослідження брали 1.000 г сировини.

4.4 Розробка технології одержання лікарського рослинного засобу

На першому етапі було визначено основні технологічні параметри листя мірабілісу (табл. 4.7), які необхідно враховувати при розробці лікарських засобів рослинного походження.

Таблиця 4.7

Технологічні параметри мірабілісу ялапа листя

Технологічні параметри	Результати
Питома маса, г/см ³	1,34 ± 0,07
Насипна маса, г/см ³	0,37 ± 0,02
Об'ємна густина, маса, г/см ³	0,80 ± 0,04
Пористість	0,72 ± 0,04
Порізність	0,48 ± 0,03
Вільний об'єм шару	0,79 ± 0,04
Коефіцієнт поглинання екстрагенту:	
вода очищена	4,56 ± 0,19
20 % етанол	4,74± 0,20
40 % етанол	4,08± 0,18
70 % етанол	5,01± 0,21
96 % етанол	4,87 ± 0,21

Для визначення екстрактивних речовин використовували воду очищену та етанол різної концентрації. Результати визначення наведено у табл. 4.8.

Екстрактивні речовини мірабілісу ялапа листя

Екстрагент	Вихід, %
вода очищена	25,34 ± 1,21
20 % етанол	18,26 ± 0,77
40 % етанол	22,61 ± 0,91
70 % етанол	20,30 ± 0,80
96 % етанол	11,19 ± 0,42

Проведеним дослідженням було встановлено, що значна кількість екстрактивних речовин з листя мірабілісу ялапа вилучалася водою, 20 %, 40 % та 70 % етанолом, найменша – 96 % етанолом. Вибір екстрагенту підтверджували визначенням вмісту БАР, а саме гідроксикоричних кислот і поліфенолів.

Для визначення вмісту гідроксикоричних кислот та поліфенолів методом спектрофотометрії за основу були взяті методики ДФУ, які наведено у монографії «Кропиви листя» та статті «Визначення танінів у лікарській рослинній сировині» відповідно [10, 11].

На наступному етапі вивчали залежність вмісту у витяжках гідроксикоричних кислот та поліфенолів, використовуючи як екстрагент воду та етанол у концентрації 20 %, 40 % та 70 % (рис. 4.11).

Діаграма на рис. 4.11 показує, що найбільший вміст досліджуваних груп БАР було визначено у витяжках, одержаних екстракцією 40 % етанолом.

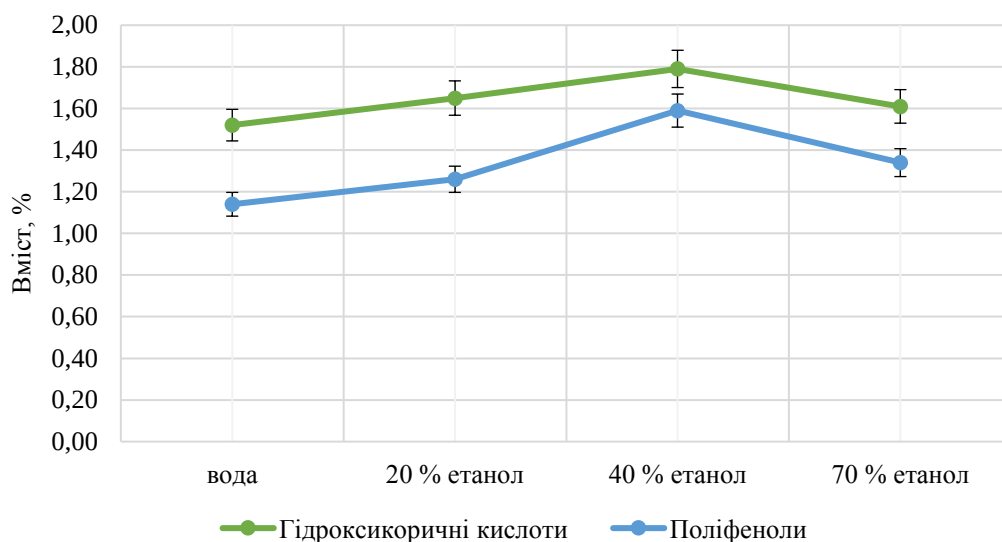


Рис. 4.11 Залежність вмісту у витяжках гідроксикоричних кислот та поліфенолів від екстрагенту

Для вибору оптимальних умов одержання лікарського рослинного засобу на основі мірабілісу листя одержували витяжку методом дробної мацерації, одержані витяжки екстракцією 40 % етанолом, їх фільтрували та об'єднували.

Відомо, що температура екстракції суттєво впливає на кількість БАР, які вилучаються із сировини, тому доцільним було визначити таку залежність на прикладі листя мірабілісу (рис. 4.12).

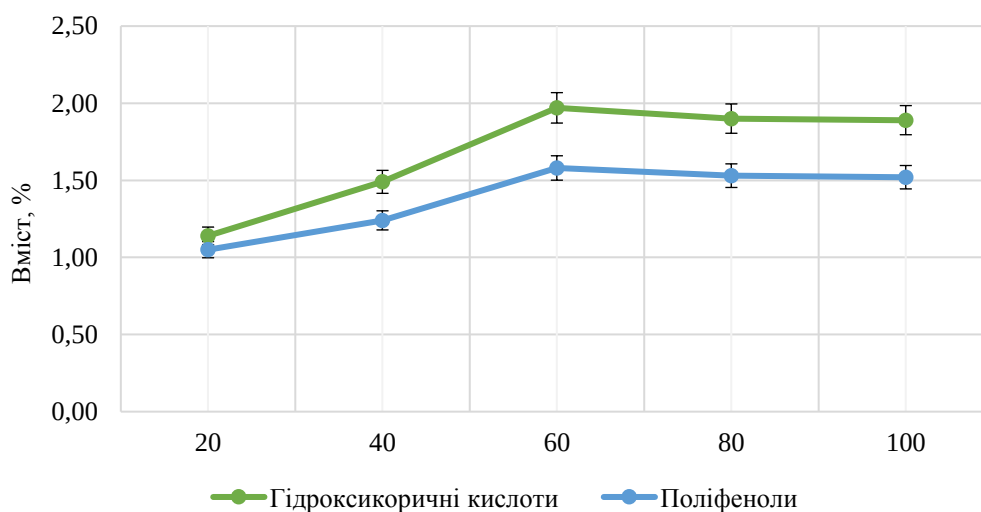


Рис. 4.12 Залежність вмісту у витяжках гідроксикоричних кислот та поліфенолів від температури екстракції

Встановлено, що максимальний вміст гідроксикоричних кислот та поліфенолів був визначений у витяжці, одержаній екстракцією при 60 °С, подальше підвищення температури екстракції суттєво не впливало на вилучення цих БАР із листя мірабілісу.

На рис. 4.13 представлено результати впливу дисперсності сировини на вихід гідроксикоричних кислот та поліфенолів.

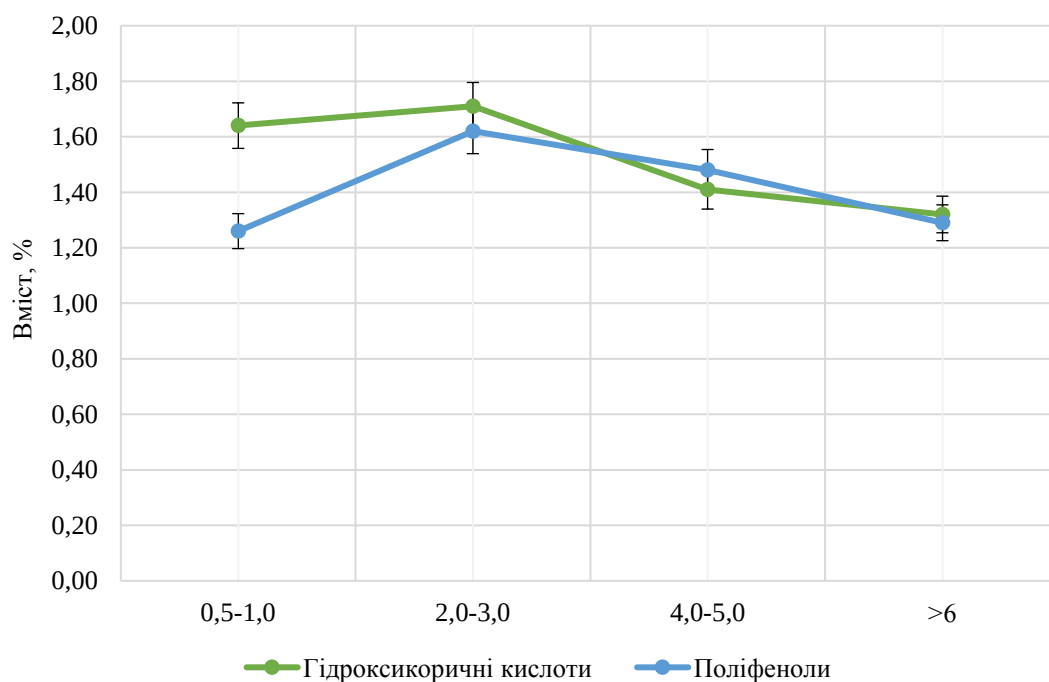


Рис. 4.13 Залежність вмісту у витяжках гідроксикоричних кислот та поліфенолів від дисперсності сировини

Встановлено, що найбільший вміст гідроксикоричних кислот та поліфенолів був при подрібненні сировини до розміру часток 2,0-3,0 мм.

На наступному етапі визначали оптимальне співвідношення сировини до екстрагенту. Результати наведено на рис. 4.14.

Результати експерименту показали доцільність співвідношення сировини до екстрагенту 1:5.

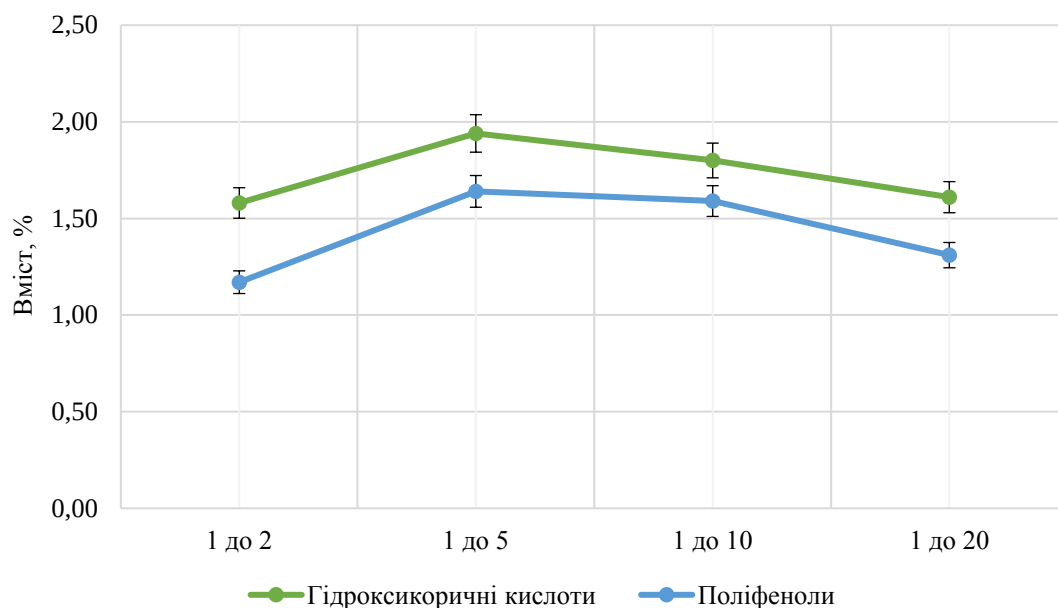


Рис. 4.14 Залежність вмісту у витяжках гідроксикоричних кислот та поліфенолів від співвідношення сировини до екстрагенту

Далі було визначено оптимальну тривалість процесу екстракції (рис. 4.15).

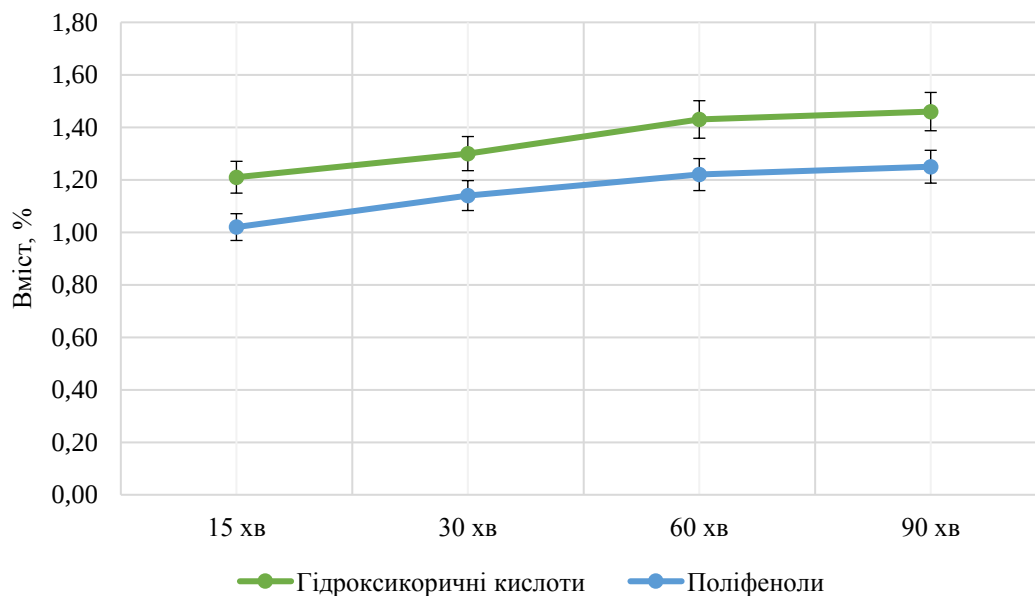


Рис. 4.15 Залежність вмісту у витяжках гідроксикоричних кислот та поліфенолів від тривалості екстракції

У результаті експерименту було встановлено, що найбільшу кількість досліджуваних БАР містили витяжки із тривалістю екстракції 60 хв та 90 хв.

Слід зауважити, що перевага у кількості БАР при екстракції протягом 90 хв у порівнянні із 60 хв була мінімальною, тому, на наш погляд, доречно було вибрати тривалість екстракції 60 хв.

Наступним кроком було логічним дослідити кількісний вміст гідроксикоричних кислот та поліфенолів у витяжках у залежності від кратності екстракції. Результати дослідження наведено на рис. 4.16.

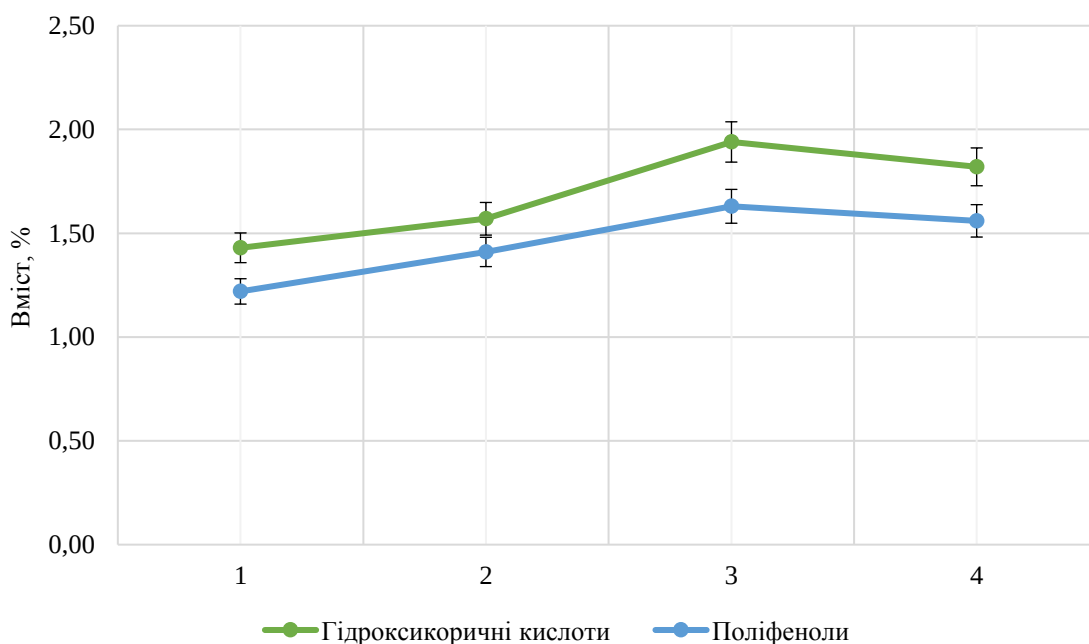


Рис. 4.16 Залежність вмісту у витяжках гідроксикоричних кислот та поліфенолів від кратності екстракції

Діаграма на рис. 4.16 свідчить, що із зростанням кратності екстракції від 1 до 3 йде поступове збільшення кількості суми гідроксикоричних кислот та поліфенолів у витяжках. Подальше четверте екстрагування, навпаки, призводило до незначного зменшення кількості цих БАР у витяжці, тому ми зупинилися на трикратній екстракції.

Отже, проаналізувавши результати проведених досліджень, нами запропоновано одержувати екстракт мірабілісу листа за таких умов: 100 г висушеного листа мірабілісу, подрібненого до розміру часток 2,0-3,0 мм, поміщали в екстрактор, заливали 588 мл 40 % етанолом, при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:5 (з урахуванням коефіцієнта поглинання 4,08 для

першого етапу екстракції), нагрівали на водяній бані при температурі 60 °С протягом 60 хв. Після закінчення першого етапу екстрагування проводили видалення зі шроту залишків екстрагента. Екстрагування сировини проводили ще двічі. Для цього після видалення зі шроту залишків попереднього екстрагента, до шроту додавали по 180 мл 40 % етанолу. Отримані після екстрагування витяжки фільтрували без попереднього охолодження, об'єднували та концентрували при зниженому тиску при температурі 30-40 °С до отримання густого екстракту листя мірабілісу ялапа [26, 37].

Мірабілісу ялапа листя екстракт густий – в'язка маса коричнево-зеленого кольору із ароматним запахом.

Вихід готового продукту 27 % від маси повітряно-сухої сировини.

Технологічну блок-схему одержання густого екстракту наведено на рис. 4.17.

4.5 Дослідження хімічного складу та стандартизація мірабілісу ялапа листя екстракту густого

Якісний склад екстракту листя мірабілісу вивчали методами ПХ та ТШХ. Речовини фенольної природи досліджували у рухомих фазах № 1, 2, 4, 13, хроматограми проявляли реактивами А, В, Г, Д, Ж, З.

У результаті хроматографічного аналізу у порівнянні зі СЗ у екстракті листя мірабілісу було ідентифіковано хлорогенову, кофейну, ферулову кислоти, апігенін, кверцетин, гіперозид, рутин, ізогіперозид та пірогалол.

Методом ВЕРХ вивчено фенольні сполуки екстракту, на рис. 4.18 наведено хроматограму ідентифікованих сполук.

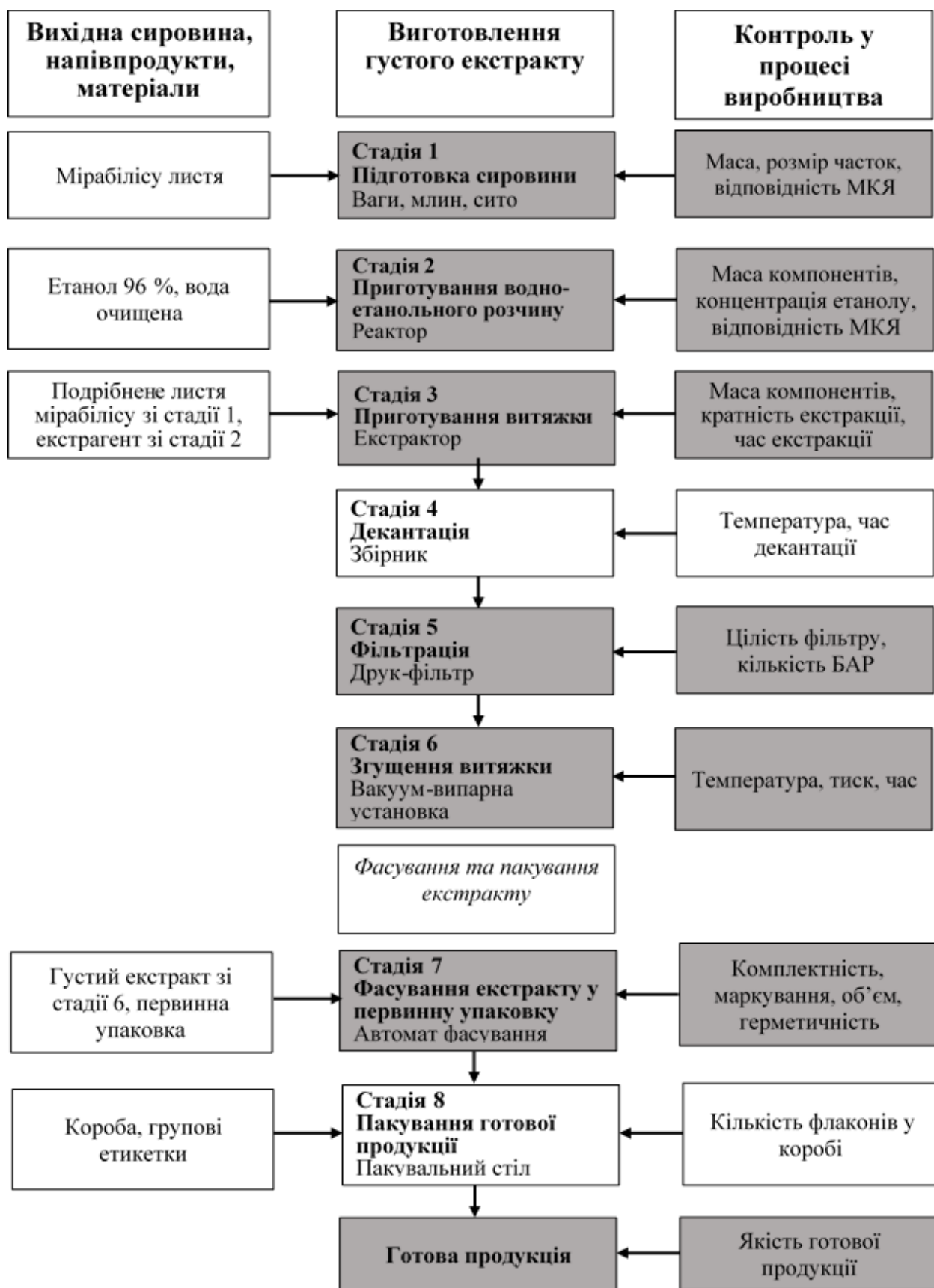


Рис. 4.17 Технологічна блок-схема одержання мірабілісу ялапа листя екстракту густого

<Chromatogram>

mAU

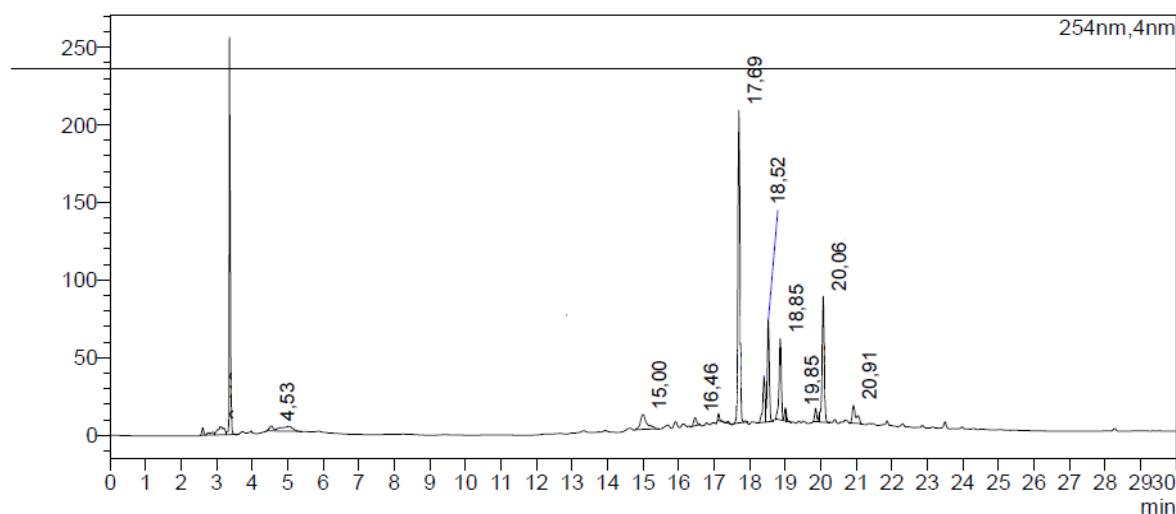


Рис. 4.18 ВЕРХ-хроматограма ідентифікованих фенольних сполук у мірабілісу ялапа листя екстракті густому

Час утримування та вміст ідентифікованих фенольних сполук у екстракті мірабілісу наведено у табл. 4.9 та 4.10 відповідно.

Таблиця 4.9

**Час утримування ідентифікованих фенольних сполук у мірабілісу
ялапа листя екстракті густому**

Сполука	Час утримування, хв
1	2
Галова кислота	4,53
Хлорогенова кислота	15,00
Кофейна кислота	16,46
Бузкова кислота	17,69
Рутин	18,52

Продовж. табл. 4.9

1	2
<i>n</i> -Кумарова кислота	18,85
Синапова кислота	19,85
Гіперозид	20,06
Ферулова кислота	20,91

У мірабілісу ялапа листя екстракті густому було ідентифіковано 9 сполук фенольної природи, зокрема 7 фенольних кислот та 2 флавоноїда.

Таблиця 4.10

Вміст ідентифікованих фенольних сполук у мірабілісу ялапа листя екстракті густому

Сполука	Вміст, мкг/мг
Галова кислота	98,66 ± 1,98
Хлорогенова кислота	347,33 ± 6,99
Кофейна кислота	54,25 ± 1,14
Бузкова кислота	498,20 ± 10,36
Рутин	502,37 ± 9,75
<i>n</i> -Кумарова кислота	469,65 ± 9,69
Синапова кислота	91,54 ± 2,03
Гіперозид	518,22 ± 10,10
Ферулова кислота	315,16 ± 6,59

У екстракті мірабілісу вміст ідентифікованих флавоноїдів гіперозиду та рутину був приблизно однаковим – 518,22 мкг/мг та 502,37 мкг/мг відповідно. Серед фенольних кислот за вмістом переважали бузкова, *n*-кумарова, хлорогенова та ферулова кислоти. Кількісний вміст кофейної,

галової та синапової кислот у екстракті був незначним у порівнянні з іншими виявленими сполуками фенольної природи.

Вільні амінокислоти та органічні кислоти вивчали методами ПХ, ТШХ у рухомих фазах № 1, 10, для їх виявлення хроматограми обробляли реактивами Б, К.

Проведений експеримент дозволив ідентифікувати у екстракті валін, лізин, лейцин, фенілаланін, гістидин, аргінін, цистеїн, глютамінову, яблучну, лимонну, винну, бурштинову, щавлеву, саліцилову, бензойну кислоти.

Визначено кількісний вміст виявлених груп БАР у екстракті (рис. 4.19), зокрема $4,53 \pm 0,09$ % гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту, $1,27 \pm 0,04$ % флавоноїдів у перерахунку на гіперозид, $4,12 \pm 0,11$ % поліфенолів у перерахунку на пірогалол, $2,34 \pm 0,08$ % органічних кислот у перерахунку на яблучну кислоту, $5,16 \pm 0,14$ % вільних амінокислот у перерахунку на лейцин [29].

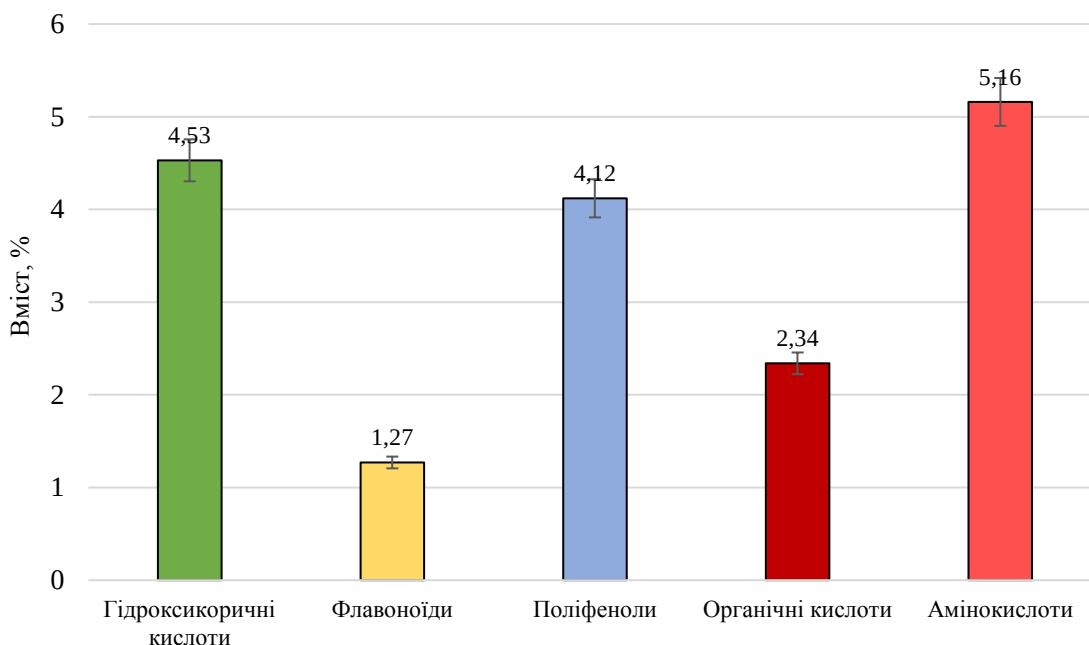


Рис. 4.19 Кількісний вміст БАР у мірабілісу ялапа листя екстракті густому

Вивчено мінеральний склад екстракту листя мірабілісу, виявлено 19 елементів (табл. 4.11).

Таблиця 4.11

Мінеральний склад мірабілісу ялапа листя екстракту густого

Елемент	Вміст, мг/100 г
Калій	7302,00 ± 189,90
Кальцій	2954,00 ± 68,02
Натрій	117,00 ± 2,95
Магній	1024,00 ± 24,01
Силіцій	258,00 ± 6,20
Фосфор	107,00 ± 2,32
Ферум	56,00 ± 1,29
Алюміній	59,00 ± 1,50
Манган	8,30 ± 0,18
Цинк	37,00 ± 0,84
Купрум	1,20 ± 0,03
Молібден	0,18 ± 0,01
Стронцій	10,30 ± 0,28
Плюмбум	<0,03
Нікол	<0,03
Кобальт	<0,03
Кадмій	<0,01
Арсен	<0,01
Меркурій	<0,01

У найбільшій кількості серед мінеральних елементів екстракт листя мірабілісу містив калій, кальцій та магній.

Визначено вміст важких металів у екстракті листя мірабілісу, за результатами зроблено висновок, що їх вміст не перевищував зазначені у ДФУ норми [10].

Нами запропоновано включити до проєкту МКЯ «Мірабілісу ялапа листя екстракт густий» такі параметри: виробництво, властивості (опис), ідентифікація хлорогенової кислоти та пірогалолу, випробування (втрата в масі при висушуванні), кількісне визначення гідроксикоричних кислот та поліфенолів.

МІРАБІЛІСУ ЯЛАПА ЛИСТЯ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ

Mirabilis jalapae folii extractum spissum

Екстракт густий, одержаний із сировини, описаної у проєкті МКЯ «Мірабілісу ялапа листя»

Вміст:

- не менше 4.00 % суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту;
- не менше 3.00 % суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол.

ВИРОБНИЦТВО

Екстракт виробляють підходящим методом із ЛРС, використовуючи *етанол (40 %, об/об) Р*.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. В'язка маса коричнево-зеленого кольору із ароматним запахом.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Ідентифікація А. Тонкошарова хроматографія (2.2.27)

Випробовуваний розчин. До 0.1 г випробовуваного екстракту додають 10 мл *етанолу Р*, струшують протягом 15 хв та фільтрують.

Розчин порівняння. 1.0 мг хлорогенової кислоти *P* розчиняють у 10 мл етанолу *P*.

Пластинка: ТШХ-пластинка із шаром силікагелю *P*.

Рухома фаза: етилацетат *P* – оцтова кислота *P* – мурашина кислота безводна *P* – вода *P* (100:11:11:25).

Нанесення: 10 мкл, смугами.

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

Висушування: при температурі 100-105 °С.

Виявлення: обприскують розчином 10 г/л дифенілборної кислоти *P* аміноетилового ефіру *P* у метанолі *P*, потім – розчином 50 г/л макроголу 400 *P* у метанолі *P*, висушують на повітрі протягом 30 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах розчину порівняння та випробовуваного розчину. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші флуоресціюючі зони.

Верхня частина пластинки	
хлорогенова кислота: синя флуоресціююча зона	синя флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

Ідентифікація В. Тонкошарова хроматографія (2.2.27)

Випробовуваний розчин. До 0.1 г випробовуваного екстракту додають 10 мл етанолу *P*, струшують протягом 15 хв та фільтрують.

Розчин порівняння. 1,0 мг пірогалолу *P* розчиняють у 10 мл етанолу *P*.

Пластинка: ТШХ-пластинка із шаром силікагелю *P*.

Рухома фаза: оцтова кислота льодяна *P* – вода *P* – хлористоводнева кислота *P* (30:10:3).

Нанесення: 10 мкл, смугами.

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

Висушування: при температурі 100-105 °С.

Виявлення: обприскують розчином 10 г/л дихлорхінонхлоріміду *P* у метанолі *P*, а потім – розчином 20 г/л натрію карбонату безводного *P*. Переглядають у денному світлі.

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмах розчину порівняння та випробовуваного розчину. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші забарвлені зони.

Верхня частина пластинки	
_____ пірогалол: коричнева зона	_____ коричнева зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

ВИПРОБУВАННЯ

Сухий залишок (2.8.16). Не менше 25,0 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Гідроксикоричні кислоти. *Вихідний розчин.* 0.100 г випробовуваного екстракту розчиняють в *етанолу (40 %, об/об) Р*, доводять об'єм розчину *етанолом (40%, об/об) Р* до 100,0 мл, перемішують і фільтрують. Далі за методикою ДФУ, яку наведено у монографії «Кропиви листя».

Сума поліфенолів. *Випробовуваний розчин.* 0.100 г випробовуваного екстракту розчиняють в *етанолу (40 %, об/об) Р*, доводять об'єм розчину *етанолом (40%, об/об) Р* до 250,0 мл, перемішують і фільтрують. Далі за методикою ДФУ, яку наведено у статті «Визначення танінів у лікарській рослинній сировині».

4.6 Обговорення результатів фармакологічної активності екстракту

З огляду на гостру проблему поширення інфекційних захворювань та резистентності мікроорганізмів до протимікробних лікарських засобів було актуальним дослідити активність мірабілісу ялапа листя екстракту густого відносно грампозитивних та грамнегативних бактерій, а також грибів роду *Candida* [70, 133, 141, 142].

Дослідження одержаного екстракту проводили на базі лабораторії біохімії та біотехнології ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України» під керівництвом к. біол. н., ст. н. с. Тетяни Павлівни Осолодченко.

У постановці експерименту були використані еталонні тест-культури бактерій різних таксономічних груп, зокрема *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 5922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636. Протигрибкову дію екстракту вивчали на референтному штамі *Candida albicans* ATCC 885-653.

Набір тест-штамів є загальноприйнятим при первинному визначенні протимікробної дії. Тест-культури було надано лабораторією медичної

мікробіології з Музеєм мікроорганізмів ДУ «ІМП ім. І. І. Мечникова НАМН України».

Середовища для культивування застосовували відповідно до виду мікроорганізмів згідно з існуючими методичними розробками і рекомендаціями.

Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводили за допомогою стандарту каламутності (0,5 од. за шкалою McFarland). Використовували прилад Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм).

Суспензію готували згідно з інструкцією до приладу та інформаційного листа про нововведення в системі охорони здоров'я № 163-2006 «Стандартизація приготування мікробних суспензій», м. Київ. Синхронізацію культур проводили за допомогою низької температури (4 °C).

Визначення чутливості досліджуваних штамів мікроорганізмів до антибактеріальних лікарських засобів проводили у відповідності до методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» (Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 05.04.2007 р. № 167) методом колодязів на середовищі Мюллера-Хінтона («HiMedia Laboratories Pvt. Ltd. India»). Середовище готували відповідно до інструкції виробника. Чутливість грибів визначали на середовищі Сабуро-декстрозний агар.

Визначення чутливості досліджуваних зразків проводили на двох шарах поживного середовища, які розливали у чашки Петрі. Нижній шар складався з 10 мл агар-агару, на який встановлювали 3-6 металевих стерильних циліндри (8 мм × 10 мм). Навколо циліндрів заливали верхній шар, який складався з 14 мл поживного середовища та 1 мл мікробного розчину (0,5 од. за шкалою McFarland). Після застигання середовища циліндри виймали стерильним пінцетом та в лунки вносили досліджувані зразки (0,3 мл). Для постановки експерименту використовували етанольні

розчини мірабілісу ялапа листя екстракту густого у концентрації 1 %, 5 % та 10 % [5, 41].

Активність досліджуваних зразків оцінювали, спираючись на діаметри зон затримки росту: 10 мм – мікроорганізми не чутливі до досліджуваного зразка; від 10 мм до 15 мм – мікроорганізми слабо чутливі до досліджуваного зразка; від 15 мм до 25 мм – мікроорганізми чутливі до досліджуваного зразка; від 25 мм та вище – мікроорганізми високочутливі до досліджуваного зразка.

Результати проведеного експерименту наведено на рис. 4.20.

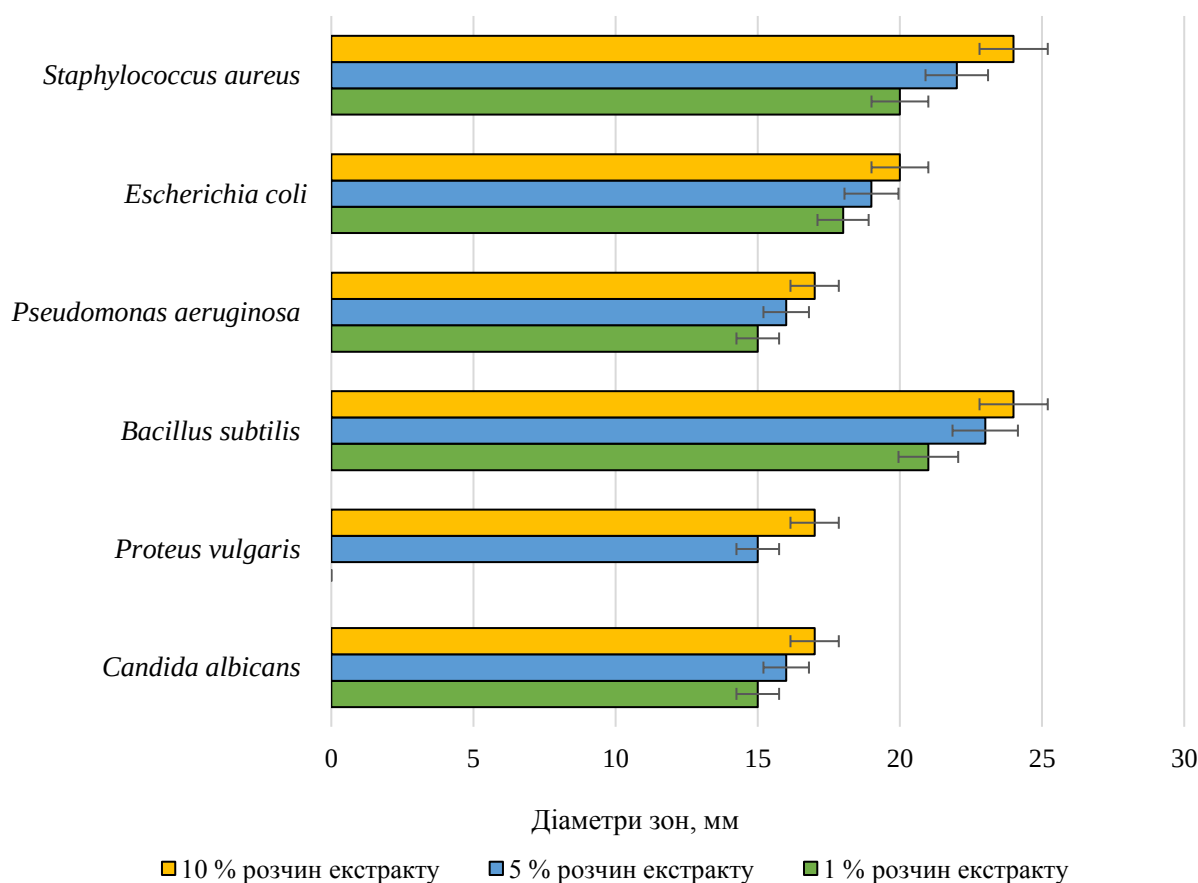


Рис. 4.20 Антимікробна активність мірабілісу ялапа листя екстракту густого по відношенню до тест-штамів

У ході дослідження було встановлено, що тестовані штами *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* та *Candida albicans* були чутливими до 1 %, 5 % та 10 % розчинів

екстракту мірабілісу, на відміну від *Proteus vulgaris* ATCC 4636, на якого не впливав 1 % розчин екстракту, тобто спостерігався ріст.

Слід відмітити, що при тестуванні 10 % розчину екстракту мірабілісу були зафіксовані найбільші зони затримки росту досліджуваних штамів мікроорганізмів. Найефективнішим мірабілісу ялапа листя екстракт густий був по відношенню до *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

Відомо, що стійкість до протимікробних препаратів – вагома проблема охорони здоров'я, яка ускладнює лікування багатьох інфекційних хвороб та є причиною високої смертності населення. ВООЗ відносить *Staphylococcus aureus* до пріоритетних патогенів, які характеризуються високою антибіотикорезистентністю [70]. Це стало підґрунтям для вивчення впливу досліджуваного екстракту на формування резистентності *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Результати дослідження наведено у табл. 4.12.

Таблиця 4.12

Результати вивчення впливу мірабілісу ялапа листя екстракту густого на формування резистентності *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Досліджувані зразки		Початкова концентрація ДЗ, мг/мл	Концентрація після екстракту / n – кількості пасажів					
			5	10	15	20	25	30
1		2	3	4	5	6	7	8
Екстракт	МІК (мг/мл)	125	125	125	125	250	250	500
	кратність збільшення	0	0	0	0	2	2	4

1		2	3	4	5	6	7	8
Цефтріаксон	МІК (мкг/мл)	1,5	1,5	1,5	3,0	3,0	6,0	12,0
	кратність збільшення	0	0	0	2	2	4	8
Цефтріаксон + екстракт	МІК (мкг/мл)	0,5	0,5	0,5	1,0	1,0	2,0	2,0
	кратність збільшення	0	0	0	2	2	4	4

За результатами проведених досліджень виявлено повільне формування резистентності *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 до екстракту листя мірабілісу. До 20-го пасажу не спостерігалось зростання вихідної МІК, а після 20-го пасажу – МІК для *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 збільшилась удвічі у порівнянні з вихідним рівнем (125 мг/мл проти 250 мг/мл). На 30-ому пасажі МІК становила 500 мг/мл.

Для контролю використовували антибактеріальний препарат цефтріаксон. Формування резистентності *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 відбувалось досить швидко. На 15-ому пасажі МІК становила 3,0 мкг/мл, на 25-ому – збільшилась ще удвічі (6,0 мкг/мл), на 30-ому вже дорівнювала 12 мкг/мл.

При комбінації цефтріаксону та екстракту мірабілісу формування резистентності проходило дуже повільно. МІК після 15-го пасажу при комбінації цефтріаксону з екстрактом збільшилась удвічі та становила 1,0 мкг/мл, після 25-ого – 2,0 мкг/мл і до кінця залишалась на такому ж рівні.

Дані, одержані у ході мікробіологічних досліджень, показали високий потенціал мірабілісу ялапа листя екстракту густого як лікарського рослинного засобу з антимікробною активністю. За результатами досліджень одержано патент України на корисну модель № 149093 від 13.10.2021

«Спосіб одержання екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією» [37].

Висновки до розділу 4

1. Проведено аналіз одержаних даних у ході фітохімічного дослідження листя, стебел та плодів мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра, у результаті вибрано перспективну сировину для стандартизації та одержання лікарського рослинного засобу.

2. Визначено основні діагностичні мікроскопічні ознаки листя мірабілісу ялапа, які було використано при розробці МКЯ на цю сировину.

3. Запропоновано параметри стандартизації мірабілісу ялапа листя: ідентифікація А (макроскопічні ознаки), ідентифікація В (мікроскопічні ознаки), ідентифікація С (ідентифікація методом ТШХ хлорогенової кислоти), ідентифікація D (ідентифікація методом ТШХ пірогалолу), випробування (сторонні домішки, втрата в масі при висушуванні, загальна зола), кількісне визначення (спектрофотометричне визначення суми гідроксикоричних кислот та поліфенолів).

4. Визначено технологічні параметри та екстрактивні речовини мірабілісу ялапа листя. Встановлено, що найбільше їх вилучали вода ($25,34 \pm 1,21$ %) та 40 % етанол ($22,61 \pm 0,91$ %), найменше – 96 % етанол ($11,19 \pm 0,42$ %).

5. Проведено дослідження для вибору оптимальних умов одержання лікарського рослинного засобу з листя мірабілісу. Вивчено вплив екстрагенту, температури екстракції, дисперсності сировини, співвідношення сировини до екстрагенту, тривалості та кратності екстракції на вихід діючих речовин. З огляду на одержані результати запропоновано технологію одержання екстракту.

6. Одержано мірабілісу ялапа листя екстракт густий та вивчено його хімічний склад. Хроматографічно у екстракті підтверджено наявність

хлорогенової, кофейної, ферулової кислот, апігеніну, кверцетину, гіперозиду, рутину, ізогіперозиду, пірогалолу, валіну, лізину, лейцину, фенілаланіну, гістидину, аргініну, цистеїну, глутамінової, яблучної, лимонної, винної, бурштинової, щавлевої, саліцилової та бензойної кислот. Визначено кількісний вміст гідроксикоричних кислот ($4,53 \pm 0,09$ %), флавоноїдів ($1,27 \pm 0,04$ %), поліфенолів ($4,12 \pm 0,11$ %), амінокислот ($5,16 \pm 0,14$ %) та органічних кислот ($2,34 \pm 0,08$ %).

7. Запропоновано параметри стандартизації одержаного екстракту відповідно до вимог ДФУ: ідентифікація А (ідентифікація методом ТШХ хлорогенової кислоти), ідентифікація В (ідентифікація методом ТШХ пірогалолу), випробування (втрата в масі при висушуванні), кількісне визначення (спектрофотометричне визначення суми гідроксикоричних кислот та поліфенолів).

8. Для мірабілісу ялапа листя екстракту густого проведено комплекс мікробіологічних досліджень, у тому числі вплив екстракту на формування резистентності *Staphylococcus aureus*. Встановлено, що до екстракту чутливі *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* та *Candida albicans*. Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель «Спосіб одержання екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією».

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. 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. 149093. Україна. № у 2021 05118; заявл. 10.09.2021; опубл. 13.10.2021, Бюл. № 41 (Особистий внесок – проведення інформаційно-патентного

пошуку, одержання екстракту, обробка експериментальних даних, участь в оформленні патенту).

2. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Одержання екстракту з листя мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.). *Сучасні досягнення фармацевтичної технології*: матеріали ІХ міжнародної науково-практичної internet-конференції, м. Харків, 5 листопада 2021 р. Х.: НФаУ, 2021. С. 150.

3. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Визначення кількісного вмісту фенольних сполук у мірабілісу ялапа листя екстракті густому. *PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА*: матеріали ІІІ науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 180-річчю Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, м. Київ, 18 лютого 2022 р. Київ, 2022. Т. 2. С. 199–200.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено вирішення наукової задачі, що виявляється у комплексному порівняльному фармакогностичному дослідженні листя, стебел і плодів мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра, стандартизації сировини та одержанні екстракту на її основні, фітохімічному вивченні та розробці критеріїв стандартизації екстракту.

1. У листі, стеблах та плодах мірабілісу ялапа за допомогою хімічних реакцій та хроматографічних методів (ПХ, ТШХ) встановлено наявність амінокислот (лейцину, валіну, лізину, гістидину, аргініну, фенілаланіну, глютамінової кислоти, триптофану, метіоніну, треоніну, цистеїну), флавоноїдів (кемпферолу, кверцетину, рутин, гіперозиду), фенольних кислот (галової, саліцилової, бензойної, хлорогенової, ферулової, кофейної), дубильних речовин, органічних кислот (щавлевої, лимонної, яблучної, винної, бурштинової), вуглеводів, хлорофілів та каротиноїдів.

2. Досліджено жирні кислоти методом ГХ, у результаті у листі мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра ідентифіковано по 14 жирних кислот, у стеблах та плодах сорту Ельвіра – по 13, у стеблах та плодах мірабілісу сорту Іоланта – 12 жирних кислот. Ненасичені жирні кислоти кількісно переважали в усіх об'єктах, зокрема ліноленова кислота – у листі мірабілісу, лінолева – у стеблах, олеїнова – у плодах. Амінокислотний склад сировини мірабілісу ялапа вивчено методом іонообмінної рідинно-колункової хроматографії. У плодах та стеблах мірабілісу ялапа сорту Ельвіра, у плодах сорту Іоланта виявлено по 17 амінокислот, у листі обох сортів та стеблах сорту Іоланта – по 18 амінокислот. За результатами експерименту зроблено висновок, що амінокислоти переважно накопичуються у листі мірабілісу сортів Ельвіра та Іоланта, де їх вміст складав 11730,00 мг/100 г та 10890,00 мг/100 г відповідно.

3. Вивчено мінеральний склад сировини мірабілісу ялапа методом атомно-емісійної спектроскопії. Із 19 виявлених елементів усі об'єкти

дослідження містили калій у найбільшій кількості: у листі мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра 6490,00 мг/100 г та 6350,00 мг/100 г, у стеблах 5360,00 мг/100 г та 6000,00 мг/100 г, у плодах 1490,00 мг/100 г та 1350,00 мг/100 г відповідно. Встановлено, що вміст важких металів у сировині мірабілісу ялапа знаходився у межах гранично допустимої норми для лікарської рослинної сировини відповідно до вимог ДФУ.

4. Методом ВЕРХ у листі мірабілісу обох сортів та у плодах сорту Іоланта ідентифіковано по 6 сполук фенольної природи, у стеблах обох сортів – по 5 сполук, у плодах сорту Ельвіра – 4 сполуки, серед яких флавоноїди, ізофлавоноїди та гідроксикоричні кислоти. У листі та стеблах мірабілісу гіперозид, рутин та неохлорогенова кислота знайдені у найбільшій кількості ($91,36 \pm 1,84$ мкг/мг, $105,64 \pm 2,13$ мкг/мг та $95,89 \pm 1,94$ мкг/мг у листі сорту Іоланта; $100,20 \pm 1,97$ мкг/мг, $97,26 \pm 1,86$ мкг/мг та $75,26 \pm 0,47$ мкг/мг у листі сорту Ельвіра; $20,64 \pm 0,60$ мкг/мг, $37,58 \pm 0,77$ мкг/мг та $17,23 \pm 0,32$ мкг/мг у стеблах сорту Іоланта; $16,27 \pm 0,34$ мкг/мг, $29,18 \pm 0,55$ мкг/мг та $21,52 \pm 0,44$ мкг/мг у стеблах сорту Ельвіра відповідно). У плодах обох сортів домінувала хлорогенова кислота, окрім цього тільки ця сировина містила ононін.

5. За результатами кількісного визначення БАР у досліджуваній сировині зроблено висновок, що листя мірабілісу ялапа сортів Іоланта та Ельвіра накопичувало значну кількість гідроксикоричних кислот (1,97 % та 1,64 %), поліфенолів (1,53 % та 1,38 %), танінів (0,79 % та 0,71 %), флавоноїдів (0,39 % та 0,31 %), органічних (1,50 % та 1,41 %), амінокислот (2,45 % та 2,66 %) та полісахаридів (18,70 % та 17,14 % відповідно).

6. Проаналізувавши результати проведених фітохімічних досліджень листя мірабілісу ялапа вибрано для подальших досліджень як найбільш перспективну сировину. Визначено діагностичні анатомічні ознаки листя мірабілісу. Запропоновано параметри стандартизації сировини відповідно до вимог ДФУ та розроблено проєкт МКЯ «Мірабілісу ялапа листя».

7. Експериментальний шляхом визначено оптимальні умови для одержання мірабілісу ялапа листя екстракту густого. Проведено фітохімічне вивчення одержаного екстракту, у якому визначено кількісний вміст гідроксикоричних кислот (4,53 %), флавоноїдів (1,27 %), поліфенолів (4,12 %), органічних кислот (2,34 %) та амінокислот (5,16 %). Методом ВЕРХ у екстракті ідентифіковано та визначено вміст галової (98,66 мкг/мг), хлорогенової (347,33 мкг/мг), кофейної (54,25 мкг/мг), бузкової (498,20 мкг/мг), *n*-кумарової (469,65 мкг/мг), синапової (91,54 мкг/мг) та ферулової (315,16 мкг/мг) кислот, рутину (502,37 мкг/мг) та гіперозиду (518,22 мкг/мг). Досліджено елементний склад екстракту та встановлено, що вміст важких металів не перевищував зазначені норми.

8. Запропоновано параметри стандартизації мірабілісу ялапа листя екстракту густого та розроблено проєкт МКЯ «Мірабілісу ялапа листя екстракт густий». Мікробіологічними дослідженнями встановлено чутливість до екстракту *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* та *Candida albicans*, визначено вплив екстракту на формування резистентності *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бурда Н., Погодіна Л., Кисличенко В. Визначення біологічно активних речовин у траві хвилівнику звичайного (*Aristolochia clematitis* L.) методом ВЕРХ та визначення антимікробної активності цієї сировини. *Анали Мечниковського Інституту*. 2021. № 3. С. 52–57.
2. Бурда Н. Є. Вивчення жирнокислотного складу плодових тіл базидіальних грибів. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2013. Том 8, № 1. С. 256–258.
3. Бурда Н. Є., Журавель І. О. Вивчення елементного складу грибів кордіцепс, шиїтаке, рейши та майтаке. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2016. Вип. 26. С. 308–312.
4. Вивчення гідроксикоричних кислот в бульбах ряду сортів роду жоржина / Т. М. Гонтова, Н. І. Ільїнська, І. В. Грищенко, Я. С. Кічимасова. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2015. Вип. 24 (5). С. 109–113.
5. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: метод. рек. МОЗ України / Ю. Л. Волянський, І. С. Грищенко, В. П. Широбоков та ін. К.: ДФЦ МОЗ України, 2004. 38 с.
6. Гарна С. В., Ветров П. П., Георгіянц В. А. Взаємозв'язок основних технологічних параметрів рослинної сировини. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. № 1 (8) С. 54–57.
7. Дослідження антиоксидантів у рослинних добавках, отриманих за кріогенними технологіями / О. Ф. Аксьонова, І. С. Пілюгіна, М. В. Артамонова, Н. В. Шматченко. *Вісник НТУ «ХПІ»*. 2016. № 19. С. 25–33.
8. Дем'яненко Д. В. Дослідження якісного складу фенольних сполук у зрідженогазових екстрактах із суцвіть липи. *Вісник фармації*. 2011. Т. 3 (67). С. 54–57.

9. Демешко О. В., Ковальов В. М., Ковальов С. В. Вивчення амінокислотного складу трави еспарцету піщаного. *Український біофармацевтичний журнал*. 2015. № 2 (37). С. 75–78.
10. 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.
11. 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.
12. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., 1 допов. Х.: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.
13. Дослідження фенольних сполук спиртового екстракту з пагонів *Ledum palustre* / Т. В. Упир, М. А. Комісаренко, А. М. Ковальова, О. М. Кошовий. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2012. Т. 7, № 3. С. 186–189.
14. Дученко М. А., Демешко О. В., Романова С. В. Якісне та кількісне визначення органічних кислот *Gleditsia triacanthos*. *Зб. наук. прац. співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2017. № 27. С. 55–60.
15. Кисличенко О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту суми амінокислот у сировині моркви посівної сортів «Яскрава», «Нантська харківська», «Оленка», «Комет» та «Афалон». *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 1. С. 41–45.
16. 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. № 30. С. 16–25.

17. Кисличенко О. А. Вивчення органічних кислот шлунковому зборі. *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 4. С. 27–30.
18. Кречун А. В., Михайленко О. О. Дослідження вмісту ізофлавоноїдів у сировині сортових півників. *Perspectives of science and education: Proceedings of the 11th International youth conference*. New York, 2019. С. 113–117.
19. Маркив В. И., Ткачук О. Ю., Вишневская Л. И. Исследования технологических параметров семян моркови дикой. *Вестник КазНМУ*. 2013. № 5. С. 13–16.
20. Пінкевич В., Журавель І., Осолодченко Т. Дослідження фотосинтезувальних пігментів сировини матіоли дворогої (*Matthiola bicornis* (Sibth. & Sm.) DC.) та антимікробної активності екстрактів на її основі. *Анали Мечниковського Інституту*. 2021. № 3. С. 69–72.
21. Петкова І. Б., Унгурян Л. М., Горяча Л. М. Визначення якісного складу гідроксикоричних кислот у сировині волошки синьої. *PLANTA+, НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції*, м. Київ, 19 лютого 2021 р. Київ, ПАЛИВОДА А. В., 2021. С. 160–161.
22. Практикум по фармакогнозии: учеб. пособие для студ. вузов / В. Н. Ковалев и др. Х. : Золотые страницы, 2003. 640 с.
23. Саррай Д., Журавель І. О., Горяча Л. М. Ідентифікація амінокислот у *Mirabilis jalapa* L. листі. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: матеріали III міжнародної науково-практичної internet-конференції*, м. Харків, 26-28 листопада 2018 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 190-191.
24. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Дослідження амінокислот у сировині *Mirabilis jalapa* L. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. № 3. С. 65–68.

25. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Жирнокислотний склад *Mirabilis jalapa* L. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. № 4. С. 15–20.
26. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Одержання екстракту з листя мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.). *Сучасні досягнення фармацевтичної технології*: матеріали ІХ міжнародної науково-практичної internet-конференції, м. Харків, 5 листопада 2021 р. Х.: НФаУ, 2021. С. 150.
27. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Результати визначення кількісного вмісту флавоноїдів у сировині *Mirabilis jalapa* L. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету, м. Харків, 10 вересня 2021 р. Х.: НФаУ, 2021. С. 248–249.
28. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Визначення кількісного вмісту поліфенолів у сировині *Mirabilis jalapa* L. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали ІІІ Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, м. Харків, 2 квітня 2021 р. Х.: НФаУ, 2021. С. 174.
29. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Визначення кількісного вмісту фенольних сполук у мірабілісу ялапа листя екстракті густому. *PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА*: матеріали ІІІ науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 180-річчю Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, м. Київ, 18 лютого 2022 р. Київ, 2022. Т. 2. С. 199–200.
30. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Дослідження полісахаридів мірабілісу ялапа. *Сучасні аспекти створення лікарських*

- засобів: матеріали II Міжнародної науково-практичної дистанційної конференції, м. Харків, 1 лютого 2022 р. Харків: НФаУ, 2022. С. 193.
31. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Кількісне визначення гідроксикоричних кислот у листі, плодах та траві *Mirabilis jalapa* L. *Сучасні аспекти створення лікарських засобів*: матеріали II Міжнародної науково-практичної дистанційної конференції, м. Харків, 1 лютого 2022 р. Харків: НФаУ, 2022. С. 194.
 32. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Кількісний вміст пігментів у листі та траві *Mirabilis jalapa* L. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали II Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, м. Харків, 11 березня 2020 р. Х.: НФаУ, 2020. С. 158.
 33. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Мінеральний склад мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.). *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 2. С. 38–40.
 34. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Результати визначення вмісту танінів у мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.) плодах. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку*: матеріали XI науково-практичної INTERNET-конференції, м. Харків, 24 травня 2019 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 35–36.
 35. Сахно К. В., Новосел О. М. Ідентифікація і визначення вмісту органічних кислот у миколайчиків пласких траві, листі та суцвіттях. *PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА*: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, м. Київ, 19 лютого 2021 р. Київ, ПАЛИВОДА А. В., 2021. С. 170–171.
 36. Смойловська Г. П., Малюгіна О. О. Дослідження хімічного складу ліпофільного екстракту *Tagetes patula* L. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації*: тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф.,

- м. Запоріжжя, 18-25 квітня 2018 р., 30 травня 2018 р. Запоріжжя, 2018. С. 162.
37. Спосіб одержання екстрактів рослинного походження з антибактеріальною дією: пат. 149093 України: МПК (2021.01) А61К 36/73 (2006.01) А61Р 29/00. № у 2021 05118; заявл. 10.09.2021; опубл. 13.10.2021, Бюл. № 41.
 38. Тимофєєва С. В., Журавель І. О. Дослідження гідроксикоричних кислот в кореневищі канни садової. *Хімія природних сполук*: матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р. Тернопіль: ТДМУ, 2016. С. 56.
 39. Тулуб І., Бурда Н. Вивчення фенольних сполук методом ВЕРХ у сировині Цинії елегантної. *Анали Мечниковського Інституту*. 2022. № 2. С. 88–90.
 40. Цикало Т. О. Дослідження фенольних сполук рижію посівного (*Camelina sativa* (L.) Crantz) та рижію дрібноплодою (*Camelina microcarpa* Andr.). *Фармацевтичний часопис*. 2020. № 4. С. 18–24.
 41. Чутливість до антибактеріальних препаратів збудників позалікарняних інфекцій / Т. П. Осолодченко, І. Д. Андрєєва, Н. П. Завада та ін. *Анали Мечниковського інституту*. 2015. № 1. С. 29–38.
 42. Шостак Т. А., Калинюк Т. Г., Вронська Л. В. Ідентифікація та кількісне визначення флавоноїдів комплексного густого екстракту трави звіробою та квіток нагідок. *Фармацевтичний журнал*. 2017. № 3-4. С. 71–79.
 43. Adhikary S. P. Analysis of various floral components at different developmental stages of the flower. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2017. Vol. 6, Is. 7. P. 2053–2068.
 44. African Pharmacopoeia. Vol. 1, second ed. Abuja, Nigeria 2014. 533 p.

45. Anti Oxidant Activity and Anthocyanin Content in Flower of *Mirabilis jalapa* L. Collected from Yemen / N. Ebrahim, R. M. Kershi, M. Butnariub et al. *World Applied Sciences Journal*. 2014. Vol. 29 (2). P. 247–251.
46. Antibacterial activities of genetic variants of *Mirabilis jalapa* / U. Naveed, A. Habib, A. A. Haq et al. *Pharmacognosy Journal*. 2010. Vol. 2, Is. 7. P. 181–184.
47. Anti-inflammatory activity of aqueous extract of *Mirabilis jalapa* Linn. leaves / M. Singh, V. Kumar, I. Singh et al. *Pharmacognosy Research*. 2010. Vol. 2, Is. 6. P. 364–367.
48. Anti-inflammatory activity of *Mirabilis jalapa* Linn. Leaves / R. N. Lekshmi, K. P. Manjunath, R. V. Savadi, K. S. Akki. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*. 2010. Vol. 001, Is. 002. P.93–96.
49. Antimicrobial activities, essential element analysis and preliminary phytochemical analysis of ethanolic extract of *Mirabilis jalapa* / S. M. Salman, I. U. Din, G. Lutfullah et al. *International Journal of Biosciences*. 2015. Vol. 7, № 4. P. 186–195.
50. Antimicrobial resistance. World Health Organization [Electronic resource] / Access mode: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance?fbclid=IwAR3X-PovuCVJY6jRtXUWozt1M5dDwuJWL2 UVkFV4UQ7jlSxJpvq2PEf_wAg (date of request: 27.09.2021). Title from the screen.
51. Antinociceptive activity of *Mirabilis jalapa* in mice / C. I. Walker, G. Trevisan, M. F. Rossato et al. *J Ethnopharmacol*. 2008. Vol. 120 (2). P. 169–175.
52. Anusha S., Fathima S. N. Effect of ethanolic extract of *Mirabilis jalapa* roots against paracetamol induced hepatotoxicity. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical sciences*. 2017. Vol. 4, Is. 12. P. 728–731.
53. Ashihara H., Watanabe S. Accumulation and function of trigonelline in non-leguminous plants. *Natural Product Communications*. 2014. Vol. 9, № 6. P. 795–798.

54. Atividade farmacológica e teor de quercetina de *Mirabilis jalapa* L. / C. I. B. Walker, C. Z. Zanotto, C. S. Ceron et al. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2009. Vol. 28 (2). P. 241–246.
55. Chakraborty G. S. Antibacterial and Antifungal Studies of *Mirabilis jalapa* Leaf Extracts. *J. Pharm. Sci. & Res*. 2009. Vol. 1 (2). P. 79–82.
56. Chemical constituents and pharmacological activities of *Mirabilis jalapa* - A review / A. E. Al-Snafi, T. A. Talab, W. M. Jabbar, A. M. Alqahtani. *International Journal of Biological and Pharmaceutical Sciences Archive*. 2021. Vol. 01 (02). P. 034–045.
57. Composition of fatty acids in *Centaurea cyanus* (L.) / I. B. Pietkova, L. M. Unhurian, L. M. Horiacha et al. *Česká a slovenská farmacie*. 2020. № 69 (4). P. 194–197.
58. Cytotoxic rotenoids from *Mirabilis jalapa* / J.-J. Xu, C. Qing, Y. Lv et al. *Chemistry of Natural Compounds*. 2010. Vol. 46, № 5. P. 792–794.
59. Cytotoxicity and antioxidant activity of extractives from *Mirabilis jalapa* / N. N. Rumzhum, M. M. Rahman, M. S. Islam et al. *Stamford Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008. Vol. 1 (1&2). P. 85–88.
60. Development of the procedure of quantitative determination of the biological active substances in the extract of a *Bupleurum aureum* in the composition of a combined dosage form / A. Glushchenko, I. Bezruk, N. Bevz et al. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»*. 2019. Vol. 1 (17). P. 11–16
61. Douglas N., Spellenberg R. A new tribal classification of Nyctaginaceae. *Taxon*. 2010. Vol. 59 (3). P. 905–910.
62. Effect of *Mirabilis jalapa* Linn flowers in experimentally induced arthritis and consecutive oxidative stress / B. Augustine, S. Dash, M. Lahkar et al. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013. Vol. 5 (2). P. 190–193.
63. Evaluation of antioxidant and total flavanoid content of *Mirabilis jalapa* Linn using *in vitro* models / S. M. Zachariah, N. A. Aleykutty, B. Jaykar et

- al. *International research journal of pharmacy*. 2012. Vol. 3 (3). P. 187–192.
64. Evaluation of anti-ulcer activity of ethanolic extract of leaves of *Mirabilis jalapa* on ethanol induced gastric ulcer in albino rats / L. Ganta, R. K. Dogiparthi, P. R. Pulusu et al. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 2014. Vol. 3, Is. 5. P. 1384–1393.
 65. Evaluation of wound healing activity of leaves of *Mirabilis jalapa* L in experimentally induced diabetic rats / M. Vazir, K. Bindhu, T. Kalaikovan, A. Subedi. *Intercontinental journal of pharmaceutical Investigations and Research*. 2016. Vol. 3 (1). P. 95–98.
 66. Gandia-Herrero F., Garcia-Carmona F. Biosynthesis of betalains: yellow and violet plant pigments. *Trends in Plant Science*. 2013. Vol. 18, Is. 6. P. 334–343.
 67. GC/MS and LC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts from *Mirabilis jalapa* tubers / M. Hajji, R. Jarraya, I. Lassoued et al. *Process Biochemistry*. 2010. Vol. 45. P. 1486–1493.
 68. GC-MS determination of bioactive compounds of *Mirabilis jalapa* / R. Mahalingam, R. Bhirathidasan, V. Ambikapathy, A. Panneerselvam. *Asian Journal of Plant Science and Research*. 2012. Vol. 2 (3). P. 224–227.
 69. Ghosh A., Nayak A., Banerji J. Chemical characterization of seed proteins of *Mirabilis jalapa* L. (Nyctaginaceae). *International Journal of Food Properties*. 2014. Vol. 17. P. 559–569.
 70. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. Antimicrobial Resistance Collaborators. *Lancet*. 2022. Vol. 399 (10325). P. 629–655.
 71. Guglielmi P., Pontecorvi V., Rotondi G. Natural compounds and extracts as novel antimicrobial agents. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2020. Vol. 30 (12). P. 949–962.

72. Gupta P. D., Birdi T. J. Development of botanicals to combat antibiotic resistance. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 2017. Vol. 8. P. 266–275.
73. HPLC study of phenolic compounds in *Mirabilis jalapa* raw material / D. K. A. Sarray, L. Horiacha, I. Zhuravel, A. Fedosov. *Pharmacia*. 2020. Vol. 67 (3). P. 145–152
74. Hypertrophic scar formation on application of terpenoid fraction of tuberous root of *Mirabilis jalapa* L. on excision wound model in Wistar albino rats / J. Gogoi, K. S. Nakhuru, P. Chattopadhyay et al. [Electronic resource] / *Int Sch Res Notices*. 2014. Access mode: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27379322/> (date of request: 07.10.2021). Title from the screen.
75. Hypoglycemic and Hypolipidemic Effects of Ethanolic Extract of *Mirabilis jalapa* L. Root on Normal and Diabetic Mice / Z. Ji Yin, Z. Shi Wen, Z. Sheng Ya et al. *Evidence-Based Complementary and Alternative Med*. 2012. P. 1–9.
76. Ikawati Z., Sudjadi, Sismindari. Cytotoxicity against tumor cell lines of a ribosome-inactivating protein (Rip)-like protein isolated from leaves of *Mirabilis jalapa* L. *Malaysian J Pharm Sci*. 2006. Vol. 4 (1). P. 31–41.
77. In vitro anthelmintic activity of aerial parts of *Mirabilis jalapa* Linn / S. M. Zachariah, N. A. Aleykutty, B. Jayakar et al. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2012. Vol. 12, Is. 1. P. 107–110.
78. In vivo evaluation of cutaneous wound healing activity of *Mirabilis jalapa* L radix / J. Gogoi, K. S. Nakhuru, P. Chattopadhyay et al. *Orient Pharm Exp Med*. 2014. Vol. 14. P. 103–109.
79. Inhibition of histamine mediated responses by *Mirabilis jalapa*: confirming traditional claims made about antiallergic and antiasthmatic activity / A. Maxia, C. Sanna, B. Salve et al. *Natural Product Research*. 2010. Vol. 24, № 18. P. 1681–1686.

80. In-vitro antioxidant potential of methanolic extracts of *Mirabilis jalapa* Linn / S. M. Zachariah, N. A. Aleykutty, V. Viswanad et al. *Free Radicals and Antioxidants*. 2011. Vol. 1, Is. 4. P. 82–86.
81. Isoflavonoids in non-leguminous families: an update / J. Reynaud, D. Guilet, R. Terreux et al. *Nat. Prod. Rep.* 2005. Vol. 22. P. 504–515.
82. Isolation and characterization of bioactive components from *Mirabilis jalapa* L. radix / J. Gogoi, K. S. Nakhuru, R. S. Policegoudra et al. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2016. Vol. 6. P. 41–47.
83. Jyothi B., Mohanalakshmi S., Anitha K. Protective effect of *Mirabilis jalapa* leaves on anti-tubercular drugs induced hepatotoxicity. *Asian J Pharm Clin Res*. 2013. Vol. 6, Suppl. 3. P. 221–224.
84. Kale D. K. C., Mukundan U. Cytotoxicity against tumor cell lines of a purified mirabilis antiviral protein isolated from root of *Mirabilis jalapa*. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2015. Vol. 4, Is. 2. P. 1696–1710.
85. Kale D. K. C., Mukundan U. Phytochemicals analysis and antibacterial activities of genetic variants of *Mirabilis jalapa*. *International Journal of Recent Scientific Research*. 2015. Vol. 6, Is. 12. P. 7696–7702.
86. Khan M. I., Giridhar P. Plant betalains: Chemistry and biochemistry. *Phytochemistry*. 2015. Vol. 117. P. 267–295.
87. Kusamba C., Byamana K., Mbuyi W. M. Antibacterial activity of *Mirabilis jalapa* seed powder. *J Ethnopharmacol*. 1991. Vol. 35 (2). P. 197–199.
88. Le Duc A. A revision of *Mirabilis* section *Mirabilis* (Nyctaginaceae). *Contributions to Botany*. 1995. Vol. 16, № 4. P. 613–648.
89. Levin R. A., Raguso R. A., McDade L. A. Fragrance chemistry and pollinator affinities in Nyctaginaceae. *Phytochemistry*. 2001. Vol. 58. P. 429–440.
90. Lineage-specific gene radiations underlie the evolution of novel betalain pigmentation in Caryophyllales / S. F. Brockington, Y. Yang, F. Gandia-Herrero et al. *New Phytologist*. 2015. Vol. 207. P. 1170–1180.

91. Lushniak B. D. Antibiotic resistance: a public health crisis. *Public Health Rep.* 2014. Vol. 129 (4). P. 314–316.
92. Medicinal plants used in the treatment of infant diseases in South Western Nigeria / P. O. Fatoba, S. B. Adeyemi, A. A. Adewole, M. T. Fatoba. *Nigerian Journal of Basic and Applied Science.* 2018. Vol. 26 (1). P. 14–22.
93. Methanolic extracts of flowers and seeds: natural resource as indicator in acidimetry and alkalimetry / K. Tilekar, P. N. Jagtap, S. S. Kalaskar et al. *International journal of advances in pharmacy, biology and chemistry.* 2015. Vol. 4 (2). P. 447–457.
94. *Mirabilis Jalapa* – A Review / M. Singh, Akash, S. K. Mittal, A. N. Kalia. *International Journal of Pharmaceutical, Medical and Applied Sciences.* 2012. Vol. 1, Is. 3. P. 22–43.
95. *Mirabilis jalapa* L. [Electronic resource] / Access mode: <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:162591-2> (date of request: 30.10.2021). Title from the screen.
96. *Mirabilis jalapa*: A review of ethno and pharmacological activities / F. I. Liya, Mt. F. Yasmin, N. S. Chowdhury et al. *Advancement in Medicinal Plant Research.* 2021. Vol. 9 (1). P. 1–10.
97. *Mirabilis* Linnaeus, Sp. Pl. 1: 177. 1753. *Flora of China.* 2003. Vol. 5. P. 432.
98. *Mirabilis Riv. ex* L. [Electronic resource] / Access mode: <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:326862-2> (date of request: 30.10.2021). Title from the screen.
99. New Rotenoids from Roots of *Mirabilis jalapa* / Y.-F. Wang, J.-J. Chen, Y. Yang et al. *Helvetica Chimica Acta.* 2002. Vol. 85 (8). P. 2342–2348.
100. Nidavani R. B., Mahalakshmi A. M. An ethanopharmacological review of four o'clock flower plant (*Mirabilis jalapa* Linn.). *Journal of Biological & Scientific Opinion.* 2014. Vol. 2 (6). P. 344–348.
101. Nyctaginaceae. *Flora of China.* 2003. №. 5. P. 430–434.

102. Oladunmoye Kola M. Comparative evaluation of antimicrobial activities of leaf extract of *Mirabilis jalapa* and microbial toxins on some pathogenic bacteria. *Trends in Medical Research*. 2007. Vol. 2. P. 108–112.
103. Pangestu A. P., Indarto D., Balgis. Neuroglobin activator in silico found from *Mirabilis jalapa* for stroke treatment [Electronic resource] / *The 8th Annual Basic Science International Conference*. 2018. Access mode: <https://aip.scitation.org/doi/pdf/10.1063/1.5062800> (date of request: 08.10.2021). Title from the screen.
104. Pharmacognostic, phytochemical and pharmacological investigation on leaf and root of *Mirabilis jalapa* Linn (Nyctaginaceae) / A. N. Aher, B. Kavita, M. Sunanda, B. Shubhangi. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 2016. Vol. 40 (2). P. 132–136.
105. Pharmacognostical and phytochemical studies of *Mirabilis Jalapa* Linn. leaves / R. Nath Lekshmi, K. P. Manjunath, R. V. Savadi, K. S. Akki. *Pharmacognosy Journal*. 2009. Vol. 1, Is. 2. P. 111–115.
106. Pharmacological study of antispasmodic activity of *Mirabilis jalapa* Linn flowers / K. Aoki, A. R. Cortes, M. D. C. Ramirez et al. *Journal of Ethnopharmacology*. 2008. Vol. 116. P. 96–101.
107. Phytochemical screening and *in-vitro* antimicrobial studies of *Mirabilis jalapa* against pathogenic microorganisms / G. Harish, M. Sandhya Rani, B. Rajkamal et al. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 2014. Vol. 3, Is. 9. P. 852–856.
108. Piattelli M., Minale L., Nicolaus R. A. Pigments of centrospermae – V.: Betaxanthins from *Mirabilis jalapa* L. *Phytochemistry*. 1965. Vol. 4, Is. 6. P. 817–823.
109. Pietkova I. B., Unhurian L. M., Horiacha L. M. Study of amino acids *Centaurea cyanus* L. *Medical and clinical chemistry*. 2020. № 22 (3). P. 94–98.
110. Polturak G., Aharoni A. «La Vie en Rose»: Biosynthesis, sources, and applications of betalain pigments. *Molecular Plant*. 2018. Vol. 11. P. 7–22.

111. Prasad B. D., Jha S., Chattoo B. B. Transgenic indica rice expressing *Mirabilis jalapa* antimicrobial protein (Mj-AMP2) shows enhanced resistance to the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Plant Science*. 2008. Vol. 175. P. 364–371.
112. Preliminary phytochemical screening with evaluation of antioxidant activity of *Mirabilis jalapa* leaves cultivated in Iraq / D. A. Alshammaa, M. H. Zalzal, N. S. Jaafar, M. N. Hamad. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 2021. Vol. 13, Is. 1. P. 5464–5469.
113. Preliminary screening of phytochemicals and antioxidants in ayurvedic medicinal plant *Mirabilis jalapa* Linn. / A. Kumar, P. Chaudhary, P. Tyagi, A. Kushwaha. *International Journal of Applied Ayurved Research*. 2016. Vol. 2, Is. 7. P. 882–893.
114. Proliferative effect of plants used for wound healing in Rio Grande do Sul state, Brazil / G. C. Alerico, A. Beckenkamp, M. Vignoli-Silva et al. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015. Vol. 176. P. 305–310.
115. Proteins from *Mirabilis jalapa* possess anticancer activity via an apoptotic pathway / R. Watthanachaiyingcharoen, P. Utthasin, T. Potaros, P. Suppakpatana. *J Health Res*. 2010. Vol. 24 (4). P. 161–165.
116. Puspasari P., Saputri F. C. Effect of the water extract of the four o'clock herb (*Mirabilis jalapa* L.) on the healing of open wounds in rats. *Int J App Pharm*. 2018. Vol. 10, Special Is. 1. P. 155–158.
117. Rathanavel C., Thillai Arasu P. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Indian medicinal plants. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*. 2014. Vol. 3 (9). P. 830–838.
118. Rozina R. Pharmacological and biological activities of *Mirabilis jalapa* L. *International Journal of Pharmacological Research*. 2016. Vol. 6, Is. 05. P. 160–168.
119. Sadiq M. E. Isolation and spectroscopic identification of some constituents of bioactive fractions of aerial parts of *Mirabilis jalapa*. *IOSR Journal of Applied Chemistry*. 2016. Vol. 9, Is. 4, Ver. II. P. 12–17.

120. Sarkar P., Mahmud A. K., Mohanty J. P. Antidiabetic activity of ethanolic extract of *Mirabilis jalapa* roots. *International Journal Of Pharmacy&Technology*. 2011. Vol. 3, Is. 7. P. 1470–1479.
121. Sathe P. S., Dighe V. V. HPLC method development and validation for quantitation of trigonelline from *Mirabilis jalapa* Linn. leaves and enhancement in extraction yield from ultra fine powder. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 2017. Vol. 9, Is. 1. P. 62–66.
122. Secondary metabolites of *Mirabilis jalapa* structurally inhibit lactate dehydrogenase A in silico: a potential cancer treatment / R. Kusumawati, A. H. Nasrullah, R. N. Pesik et al. [Electronic resource] / *International Conference on Advanced Materials for Better Future 2017*. IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering 333. 2018. Access mode: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/333/1/012078/pdf> (date of request: 17.10.2021). Title from the screen.
123. Sellameena P., Santhi G. Screening of bioactive compounds and structural elucidation from leaves of *Mirabilis jalapa* L. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2018. Vol. 7, Is. 8. P. 659–669.
124. Selvakumar P., Kaniakumari D., Loganathan V. Phytochemical screening and antioxidant activity of red flowered *Mirabilis jalapa* leaf in different solvents. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2012. Vol. 3 (4). P. 440–446.
125. Shaik S., Dhanalakshmi M., Jayasree T. Nephroprotective activity of leaves of *Mirabilis jalapa* L. by acetaminophen induced nephrotoxicity. *International Journal Of Pharmacy&Technology*. 2012. Vol. 4, Is. 3. P. 4616–4629.
126. Shaik S., Rajendra Y., Chandra reddy P. J. Phytochemical and pharmacological studies of *Mirabilis jalapa* Linn. *International Journal Of Pharmacy&Technology*. 2012. Vol. 4, Is. 2. P. 2075–2084.

127. Struwig M., Klaassen E. S., Kwembey E. G. Nyctaginaceae: A taxonomic treatment for the Flora of Namibia. *Phytotaxa*. 2015. Vol. 238 (2). P. 101–135.
128. Studies on chemical constituents from roots of *Mirabilis jalapa* / G.-F. Lai, S.-D. Luo, J.-X. Cao, Y.-F. Wang. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2008. Vol. 33 (1). P. 42–46.
129. Studies to evaluate the effect of seeds of *Mirabilis jalapa* on blood clotting and bleeding time in rabbit / Uhammad Anis Alam, Syed Muhammad Shamim, Syed Muhammad Masood Ali et al. *Pakistan Journal of Medical and Health Sciences*. 2012. Vol. 6, № 3. P. 637–639.
130. Sumithra P., Varalakshmi S., Devasena K. Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Mirabilis jalapa* flower against gastro intestinal pathogens. *International Journal of Science and Research*. 2014. Vol. 3, Is. 12. P. 1167–1170.
131. The antimalaria effect of *Momordica charantia* L. and *Mirabilis jalapa* leaf extracts using animal model / A. O. Christy, C.-O. C. Mojisola, E. O. Taiwo, O. O. Ola. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2016. Vol. 10 (24). P. 344–350.
132. Three new phenolic compounds from a manipulated plant cell culture, *Mirabilis jalapa* / S.-W. Yang, R. Ubillas, J. McAlpine et al. *J. Nat. Prod.* 2001. Vol. 64. P. 313–317.
133. Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: a review study on challenges and future perspectives / N. Vaou, E. Stavropoulou, C. Voidarou et al. *Microorganisms*. 2021. Vol. 9. 2041. 28 p.
134. Traditional phytomedicines for gynecological problems used by tribal communities of Mohmand Agency near the Pak-Afghan border area / M. A. Aziz, A. H. Khan, Habib Ullah et al. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2018. Vol. 28. P. 503–511.

135. Transcriptome and metabolic profiling provides insights into betalain biosynthesis and evolution in *Mirabilis jalapa* / G. Polturak, U. Heinig, N. Grossman et al. *Molecular Plant*. 2018. Vol. 11. P. 189–204.
136. Transposon-mediated mutation of CYP76AD3 affects betalain synthesis and produces variegated flowers in four o'clock (*Mirabilis jalapa*) / M. Suzuki, T. Miyahara, H. Tokumoto et al. *Journal of Plant Physiology*. 2014. Vol. 171. P. 1586–1590.
137. Treatment with methanol root extract of *Mirabilis jalapa* suppresses postprandial hyperglycemia and dyslipidemia in diabetic rats / M. E. Sadiq, A. L. Abubakar, H. Y. Abubakar, H. Adio. *Nigerian Journal of Basic and Applied Science*. 2018. Vol. 26 (2). P. 59–66.
138. Use of *Mirabilis jalapa* L flower extract as a natural indicator in acid base titration / M. N. Shishir, J. R. Laxman, P. N. Vinayak et al. *Journal of Pharmacy Research*. 2008. Vol. 1, Is. 2. P. 159–162.
139. Vankar P. S., Srivastava J. A review-canna the wonder plant. *Journal of Textile Engineering & Fashion Technology*. 2018. Vol. 4, Is. 2. P. 158–162.
140. Vankar P. S., Srivastava J. Evaluation of anthocyanin content in red and blue flowers. *International Journal of Food Engineering*. 2010. Vol. 6, Is. 4. Article 7.
141. Ventola L. C. The antibiotic resistance crisis Part 1: Management strategies and new agents. *Pharmacy and therapeutics*. 2015. Vol. 40, № 4. P. 277–283.
142. Ventola L. C. The antibiotic resistance crisis Part 2: Management strategies and new agents. *Pharmacy and therapeutics*. 2015. Vol. 40, № 5. P. 344–352.
143. Victor Arokia Doss. D., Sowndarya R., Moorthi N. Anti diabetic activity of hydroethanolic extracts of *Mirabilis jalapa* leaves in streptozotocin induced diabetic rats. *Ijppr. Human*. 2015. Vol. 4 (2). P. 331–338.

144. Volatile composition, emission pattern, and localization of floral scent emission in *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae) / U. Effmert, J. Große, U. S. Röse et al. *American Journal of Botany*. 2005. Vol. 92 (1). P. 2–12.
145. Zant M. K. V. Review of the economic and ethnobotany of the family Nyctaginaceae. *Atlas Journal of Biology*. 2016. P. 249–266.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Мінеральний склад мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.). *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 2. С. 38–40 DOI:10.33617/2522-9680-2019-2-38 (Особистий внесок – огляд джерел літератури, підготовка зразків, узагальнення одержаних результатів, участь у написання статті).
2. HPLC study of phenolic compounds in *Mirabilis jalapa* raw material / D. K. A Sarray., L. Horiacha, I. Zhuravel, A. Fedosov. *Pharmacia*. 2020. Vol. 67 (3). P. 145–152 (*Scopus*) DOI: 10.3897/pharmacia.67.e52585 (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, участь у обробці результатів експерименту, участь у підготовці статті до друку).
3. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Дослідження амінокислот у сировині *Mirabilis jalapa* L. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. № 3. С. 65–68 DOI: 10.5281/zenodo.5499674 (Особистий внесок – огляд джерел літератури, підготовка зразків для експерименту, участь у аналізі одержаних результатів та підготовці статті до друку).
4. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Жирнокислотний склад *Mirabilis jalapa* L. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. № 4. С. 15–20 DOI: 10.5281/zenodo.5761145 (Особистий внесок – підготовка зразків, аналіз одержаних результатів, участь у написанні та оформленні статті).
5. 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. 149093. Україна. № и 2021 05118; заявл. 10.09.2021; опубл. 13.10.2021, Бюл. № 41 (Особистий внесок – проведення інформаційно-патентного пошуку, одержання екстракту, обробка експериментальних даних, участь в оформленні патенту).

6. Саррай Д., Журавель І. О., Горяча Л. М. Ідентифікація амінокислот у *Mirabilis jalapa* L. листі. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: матеріали III міжнародної науково-практичної internet-конференції*, м. Харків, 26-28 листопада 2018 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 190–191.

7. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Результати визначення вмісту танінів у мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.) плодах. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку: матеріали XI науково-практичної INTERNET-конференції*, м. Харків, 24 травня 2019 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 35–36.

8. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Кількісний вміст пігментів у листі та траві *Mirabilis jalapa* L. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: матеріали II Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції*, м. Харків, 11 березня 2020 р. Х.: НФаУ, 2020. С. 158.

9. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Визначення кількісного вмісту поліфенолів у сировині *Mirabilis jalapa* L. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: матеріали III Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції*, м. Харків, 2 квітня 2021 р. Х.: НФаУ, 2021. С. 174.

10. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Результати визначення кількісного вмісту флавоноїдів у сировині *Mirabilis jalapa* L. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету*, м. Харків, 10 вересня 2021 р. Х.: НФаУ, 2021. С. 248–249.

11. Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Одержання екстракту з листя мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.). *Сучасні*

досягнення фармацевтичної технології: матеріали IX міжнародної науково-практичної internet-конференції, м. Харків, 5 листопада 2021 р. Х.: НФаУ, 2021. С. 150.

12. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Дослідження полісахаридів мірабілісу ялапа. *Сучасні аспекти створення лікарських засобів*: матеріали II Міжнародної науково-практичної дистанційної конференції, м. Харків, 1 лютого 2022 р. Харків: НФаУ, 2022. С. 193.

13. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Кількісне визначення гідроксикоричних кислот у листі, плодах та траві *Mirabilis jalapa* L. *Сучасні аспекти створення лікарських засобів*: матеріали II Міжнародної науково-практичної дистанційної конференції, м. Харків, 1 лютого 2022 р. Харків: НФаУ, 2022. С. 194.

14. Саррай Дургхам Халід Абед, Журавель І. О., Горяча Л. М. Визначення кількісного вмісту фенольних сполук у мірабілісу ялапа листя екстракті густому. *PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА*: матеріали III науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 180-річчю Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, м. Київ, 18 лютого 2022 р. Київ, 2022. Т. 2. С. 199–200.

Продовж. дод. А

Апробація результатів дисертації

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

1. III міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 26-28 листопада 2018 р., форма участі – публікація тез);
2. XI науково-практичній INTERNET-конференції «Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку» (Харків, 24 травня 2019 р., форма участі – публікація тез);
3. II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 11 березня 2020 р., форма участі – публікація тез);
4. III Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 2 квітня 2021 р., форма участі – публікація тез);
5. науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 100-річчю Національного фармацевтичного університету «Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи» (Харків, 10 вересня 2021 р., форма участі – публікація тез);
6. IX міжнародній науково-практичній internet-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології» (Харків, 5 листопада 2021 р., форма участі – публікація тез);
7. II Міжнародній науково-практичній дистанційній конференції «Сучасні аспекти створення лікарських засобів» (Харків, 1 лютого 2022 р., форма участі – публікація тез);
8. III науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 180-річчю Національного медичного університету імені

О.О. Богомольця «PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА» (Київ,
18 лютого 2022 р., форма участі – публікація тез).

Додаток Б

ПРОЄКТ

Проректор з науково-педагогічної

роботи НФаУ, професор

Інна ВЛАДИМИРОВА

«20» «вересня» 2022 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Mirabilis jalapae folium

Мірабілісу ялапа листя

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

Продовж. дод. Б

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

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Антимікробний засіб.

Доктор фармацевтичних наук,
професор кафедри хімії природних
сполук і нутриціології



Ірина ЖУРАВЕЛЬ

« 15 » вересня 2022 р.

Аспірант кафедри хімії
природних сполук і нутриціології



Саррай Дургхам Халід АБЕД

« 15 » вересня 2022 р.

Продовж. дод. Б

ПРОЄКТ

Проректор з науково-педагогічної

роботи НФаУ, професор

Інна ВЛАДИМИРОВА

« вересня » 2022 р.



Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Mirabilis jalapae folii extractum spissum
Мірабілісу ялапа листя екстракт густий

Продовж. дод. Б

МАРКУВАННЯ

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

ЗБЕРІГАННЯ

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

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Антимікробний засіб.

Доктор фармацевтичних наук,
професор кафедри хімії природних
сполук і нутриціології



Ірина ЖУРАВЕЛЬ

« 15 » вересня 2022 р.

Аспірант кафедри хімії
природних сполук і нутриціології



Саррай Дургхам Халід АБЕД

« 15 » вересня 2022 р.

Додаток В



Додаток Г



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати вивчення мінерального складу трави, плодів та коренів мірабілісу ялапа.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології,
Автори: Д.Х.А. Саррай, Журавель І. О.
3. **Джерела інформації:** Дургхам Халід Абед Саррай, Журавель І. О., Горяча Л. М. Мінеральний склад мірабілісу ялапа (*Mirabilis jalapa* L.). *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 2. С. 38-40.
4. **Рекомендовано впровадити:** у навчальний процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології у лекційний курс «Фармакогнозія», «Фармацевтична хімія».
5. **Терміни впровадження:** 2019-2020 навч. рік.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
7. **Зауваження, пропозиції:** продовжувати роботу по вивченню мінерального складу трави, плодів та коренів рослинної сировини.

Завідувач кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології, заслужений діяч науки і техніки України, д.х.н., професор

В.П. Новіков

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
та інноваційНаціонального медичного університету
ім. О.О. Богомольця

проф. С.В. Земсков

» 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати, дослідження фенольних сполук мірабілісу ялапа.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант – Дургхам Халід Абед Саррай.
3. **Джерела інформації:** HPLC study of phenolic compounds in Mirabilis jalapa raw material / Dhurgham Khalid Abed Sarray, Liliia Horiacha, Iryna Zhuravel, Andrii Fedosov. *Pharmacia*. 2020. Vol. 67 (3). P. 145–152
4. **Де впроваджено:** кафедра 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. **Терміни впровадження:** 2021-2022 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 21 від 25.05.21

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри фармакогнозії та ботаніки
Національного медичного університету
ім. О.О. Богомольця,
д.біол.н, професор

В. М. Мінарченко

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор Закладу вищої освіти з наукової роботи

проф. Валерій ТУМАНСЬКИЙ

» 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Результати дослідження жирнокислотного складу мірабілісу ялапа.
- 2. Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант – Дургхам Халід Абед Саррай.
- 3. Джерела інформації:**
Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О.
Жирнокислотний склад *Mirabilis jalapa* L. *Annals of Mechnikov Institute*.
2021. № 4. С. 15–20.
- 4. Де впроваджено:** кафедра природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії.
- 5. Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
- 7. Терміни впровадження:** 2021-2022 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 7 від 24.01.2022 /мну

Відповідальний за впровадження:

Професор закладу вищої освіти кафедри
природничих дисциплін для іноземних
студентів та токсикологічної хімії
Запорізького державного медичного
університету

д.фарм.н., професор



Володимир ПАРЧЕНКО

ДТВЕРДЖУЮ
н.ч. у кадрів Запорізького
державного медичного університету
20 р. Підпис

Курч Б.І.

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор ПВНЗ «Київський медичний
університет»д. мед. н., проф. Івнєв Б.Б.
« 13 » « *листопад* » 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати дослідження амінокислотного складу мірабілісу ялапа.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант – Дургхам Халід Абед Саррай.
3. **Джерела інформації:**
Саррай Дургхам Халід Абед, Горяча Л. М., Журавель І. О. Дослідження амінокислот у сировині *Mirabilis jalapa* L. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. № 3. С. 65–68.
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 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 3 від 05.10.2021р.

Відповідальний за впровадження:

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

О.Ю. Коновалова