

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

Фармацевтичний факультет
Кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри
Марчишин Світлана
Михайлівна

«___» _____ 2021р.

УДК 615.014.074:615.322:582.661

МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА

На тему:

«ФІТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МИЛЬНЯНКИ ЛІКАРСЬКОЇ (*SAPONARIA*
OFFICINALIS L.)»

Виконала студентка 5 курсу

денної форми навчання

спеціальності “Фармація”

Ляшенко Людмила Юріївна

Науковий керівник:

доктор фармацевтичних наук, професор

Марчишин Світлана Михайлівна

ТЕРНОПІЛЬ – 2021

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	4
ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1 БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ РОСЛИН РОДУ МИЛЬНЯНКА У НАРОДНІЙ ТА ТРАДИЦІЙНІЙ МЕДИЦИНІ (огляд літератури).....	8
1.1 Ботанічна характеристика рослин роду Мильнянка (<i>Saponaria</i>).....	8
1.2 Хімічний склад мильнянки лікарської.....	10
1.3 Застосування мильнянки лікарської у народній і науковій медицині та різних галузях народного господарства.....	12
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	18
2.1 Виявлення біологічно активних речовин первинного синтезу.....	18
2.1.1 Визначення органічних кислот.....	18
2.1.2 Визначення жирних кислот.....	20
2.1.3 Дослідження полісахаридів.....	21
2.2. Біологічно активні речовини вторинного синтезу.....	23
2.2.1 Визначення флавоноїдів.....	23
2.2.2 Визначення гідроксикоричних кислот.....	27
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ І КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН МИЛЬНЯНКИ ЛІКАРСЬКОЇ.....	29
3.1 Виявлення і визначення кількісного вмісту органічних кислот.....	29
3.2 Виявлення жирних кислот.....	33
3.3 Визначення вуглеводів.....	36
3.3.1 Визначення цукрів за допомогою якісних реакцій.....	36
3.3.2 Виявлення водорозчинних полісахаридів.....	36
3.3.3 Виявлення пектинових речовин.....	37
3.3.4 Визначення кількісного вмісту водорозчинних полісахаридів і пектинових речовин у мильнянки лікарської траві та кореневищах.....	37
3.3.5 Виявлення вільних та зв'язаних цукрі.....	38

3.4 Виявлення і визначення кількісного вмісту флавоноїдів.....	42
3.5. Виявлення гідроксикоричних кислот і визначення їх кількісного вмісту у сировині мильнянки лікарської.....	44
ВИСНОВКИ	48
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	50

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР – біологічно активні речовини;

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;

ВРПС – водорозчинні полісахариди;

ГХ/МС – газова хроматографія з мас-спектрометричним детектором;

ДФУ – Державна Фармакопея України;

ЛЗ – лікарські засоби;

ЛРС – лікарська рослинна сировина;

НАН України – Національна академія наук України;

ПР – пектинові речовини;

ТШХ – тонкошарова хроматографія;

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Вивчення лікарської рослинної сировини (ЛРС) в Україні, пошук біологічно активних речовин (БАР) рослинного походження і створення на їх основі нових вітчизняних лікарських засобів (ЛЗ) з широким спектром фармакологічної активності є актуальним для сучасної фармацевтичної і медичної науки.

Лікувальна дія лікарських рослин пов'язана зі специфічними БАР, що містяться в них. Враховуючи те, що будова рослинної і тваринної клітини спільні, організм реагує на ЛЗ рослинного походження меншою мірою, ніж на синтетичні препарати, і вони більш фізіологічно включаються у біохімічні процеси людського організму. Вплив природних сполук більш м'який у порівнянні з ксенобіотичними препаратами синтетичного походження.

У зв'язку з вищенаведеним важливе науково-практичне значення має представник родини гвоздикові (*Caryophyllaceae*), зокрема роду Мильнянка (*Saponaria*), мильнянка лікарська (*Saponaria officinalis*), яка використовується у народній медицині як протизапальний, відхаркувальний, протикашльовий, антимікробний, антивірусний, протиревматичний, сечогінний, жовчогінний, потогінний і болезаспокійливий засіб.

Таким чином, всебічне фітохімічне вивчення мильнянки лікарської трави і кореневищ, які широко застосовуються у народній медицині, є актуальним.

Мета та завдання дослідження

Комплексне фітохімічне дослідження мильнянки лікарської трави та кореневищ як нових перспективних джерел біологічно активних речовин.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі **завдання**:

- здійснити аналіз вітчизняних і закордонних джерел літератури щодо ботанічної характеристики, розповсюдження, хімічного складу та застосування рослин роду Мильнянка у медичній практиці;
- провести фітохімічний аналіз мильнянки лікарської трави та кореневищ;

- визначити кількісний вміст основних груп біологічно активних речовин у траві та кореневищах досліджуваної рослини.

Об'єкт дослідження – комплексне фітохімічне дослідження мильнянки лікарської трави та кореневищ.

Предмет дослідження – якісний та кількісний аналіз БАР мильнянки лікарської трави та кореневищ.

Методи дослідження

При виконанні магістерської роботи було використано фармакопейні методи аналізу БАР – ТШХ, ГХ/МС, ВЕРХ та якісні реакції. Кількісний вміст флавоноїдів і гідроксикоричних кислот досліджували спектрофотометричним методом на спектрофотометрі *Lambda 25 Perkin Elmer* (США).

Наукова новизна одержаних результатів

Робота є першим в Україні фітохімічним дослідженням маловивченого виду роду Мильнка – мильнянки лікарської (*Saponaria officinalis*). У траві та кореневищах досліджуваного виду методами якісного та хроматографічного аналізу встановлено наявність та визначено кількісний вміст речовин фенольної природи – гідроксикоричних кислот і флавоноїдів, а також органічних і жирних кислот.

Досліджено полісахаридні комплекси мильнянки лікарської та визначено їх мономерний склад. Вперше методом ВЕРХ у мильнянки лікарської трави було ідентифіковано та встановлено кількісний вміст винної, піровиноградної, ізолімонної, бурштинової та фумарової кислот, у підземних органах – піровиноградної, ізолімонної, лимонної, бурштинової та фумарової кислот.

Методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) у траві та кореневищах мильнянки лікарської ідентифіковано та встановлено кількісний вміст індивідуальних речовин: флавоноїдів (у траві ізокверцитрину і кемпферолу, у кореневищах – кверцетину), гідроксикоричних кислот (хлорогенової, кофейної, транс-ферулової, гідроксифенілацетатної, сирінгової, синапової, транс-цинамової і хінної). У кореневищах виявлено галову кислоту.

Практичне значення одержаних результатів

Обґрунтовано перспективність подальшого дослідження мильнянки лікарської та використання її БАР у медицині та фармації, а також створення на їх основі нових вітчизняних ЛЗ.

Публікації

За матеріалами дисертації опубліковано 4 наукових роботи, з них 1 стаття у фаховому журналі, рекомендованому МОН України, 3 тез доповідей.

Структура та обсяг дисертації

Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, двох розділів експериментальних досліджень. Робота викладена на 49 сторінках основного тексту, ілюстрована 8 таблицями та 14 рисунками. Список використаних джерел літератури включає 56 найменувань, з яких 32 кирилицею та 24 латиною.

РОЗДІЛ І

БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ РОСЛИН РОДУ МИЛЬНЯНКА У НАРОДНІЙ ТА ТРАДИЦІЙНІЙ МЕДИЦИНІ (огляд літератури)

1.1 Ботанічна характеристика рослин роду Мильнянка (*Saponaria*)

Рід Мильнянка (*Saponaria*) належить до рослин родини гвоздикові (*Caryophyllaceae*). Види роду Мильнянка представлені трав'янистими однорічними, дворічними або багаторічними рослинами з супротивно-сидячими листками без прилистків. Листки бувають цільними, широколанцетними, лінійно-ланцетними, овальними, лопатоподібними або довгастими, тупими або гострими, сидячими або звуженими при основі. Стебла у рослин даного роду бувають голі або опушені, їх висота сягає від 10 см до 90 см. Квітки великі, правильної форми, згруповані по 3-7 у кінцевих щиткоподібних суцвіттях на головному стеблі і гілках. Квітки 5-пелюсткові, білого, рожевого або пурпурового кольору. Пелюстки, зазвичай, з довгими нігтиками. Плоди – багатосім'яні коробочки, довгастої форми, розкриваються 4 зубцями. Цвіте мильнянка з кінця червня до середини серпня. До ґрунтів не вимоглива, але краще росте на рихлому, злегка вологому, бідному (не любить надлишку азоту), в міру удобреному, добре дренованому, удобреному вапном (доломітове борошно), лужному ґрунті. Не виносить ґрунтової вогкості. Морозостійка [30].

Рід Мильнянка поширений в Європі та Азії. Близько 40 видів зростає у помірній зоні, головним чином у Середземномор'ї та Ірано-Туранейській області [39]. *Saponaria officinalis* присутня від Південної Європи до середини Скандинавії [47]. В Україні зустрічається повсюдно *Saponaria glutinosa* і *Saponaria officinalis* [28].

Рід налічує від 30 до 40 видів. Види, що позначені зірочкою (*), поширені в Україні [20, 28].

- *Saponaria bargylia*
- *Saponaria bellidifolia*

- *Saponaria caespitosa*
- *Saponaria calabrica*
- *Saponaria glutinosa* – Собаче мило клейке*
- *Saponaria karapinarensis*
- *Saponaria kotschyi*
- *Saponaria lutea*
- *Saponaria ocymoides*
- *Saponaria officinalis* – Собаче мило лікарське*
- *Saponaria pamphylica*
- *Saponaria pumila*
- *Saponaria pumilio*
- *Saponaria sicula*
- *Saponaria suffruticosa*

Назва роду походить від латинського слова 'sapo' – мило, через здатність коренів цих рослин утворювати піну [27].

Найпоширенішим в Україні видом є мильнянка лікарська (*Saponaria officinalis*) (рис. 1.1).



Рис. 1.1 Мильнянка лікарська

У народі мильнянку називають мильний корінь, собаче мило, мильна трава, дике мило, мидлянка, мило коров'яче, милиця, піно мило [26].

Мильнянка лікарська – трав'яниста багаторічна рослина заввишки 30-90 см з повзучим, розгалуженим, червоно-бурим кореневищем і прямим, голим або опушеним короткими шорсткуватими волосками стеблом. Листки у мильнянки лікарської супротивні, звужені біля основи у короткий черешок, довгасті або еліптичні, на них добре видно три повздовжні рельєфні жилки. Край у листків з шерстистим опушенням. Листки темно-зеленого кольору. Квітки правильні, двостатеві, білі або блідо-рожеві, зібрані у щиткоподібно-волотисті суцвіття. Плід – коробочка. Цвіте у червні-вересні [25].

Дикоросла мильнянка лікарська зростає на долинах річок, узліссях, заплавах луках, у заростях чагарників, інколи на пустищах. Мильнянку лікарську часто розводять у палісадниках як декоративну і лікарську.

Росте мильнянка лікарська у Західній Європі, Малій Азії, на Кавказі та в Україні (по всій території серед чагарників, на узліссях, піскуватих луках, у долинах річок, біля будинків і шляхів) [24, 25, 26].

Мильнянка лікарська входить до Фармакопеї Франції, Німеччини, Голландії, Фінляндії та Португалії [26]. Сировина була включена до I-IV Фармакопей ЄС [25].

1.2 Хімічний склад мильнянки лікарської

Кореневу систему мильнянки називають червоним мильним коренем. До складу кореня входять вуглеводи і тритерпенові глікозиди.

У кореневищах і коренях мильнянки міститься багато сапонінів – від 2,5 % до 25 %, в основному, тритерпенові – сапоназиди А, В, С і D, вуглеводи. У листках містяться тритерпеновий сапонін сапонарозид, глікозид сапонарин та аскорбінова кислота (вітамін С) – до 1 % [16, 30].

У листках мильнянки містяться алкалоїди, аскорбінова кислота і флавоноїди: вітексин, сапонарин, сапонаретин [16].

S. officinalis є багатим джерелом тритерпенових глікозидів [56], серед яких такі аглікони як гіпсогенна, гідроксигіпсогенна та килейна кислоти, що переважно зустрічаються у вигляді бісдесмозидів.

З коренів *Saponaria officinalis* L. Moniuszko-Szajwaj В. і співав. [48] виділено нові тритерпенові сапоніни. Були виділені вакарозид D та діанхіненозид В та сім інших: сапонаріозид С, D, F, G, I, K та L. Було встановлено структуру сапонінів – 3-О-бета-D-ксилопіранозил-1бальфа-гідроксигіпсогенна кислота-28-О- [бета-D-глюкопіранозил- (1->6) -бета-D-глюкопіранозид, 3-О-бета-D-ксилопіранозил-1бальфа-гідроксигіпсогенна кислота-28-О- [бета-D-глюкопіранозил- (1 -> 3)] - [альфа-D-галактопіранозил- (1 -> 6) -альфа-D-галактопіранозил- (1 -> 6) -бета-D-глюкопіранозил- (1->6)] - бета-D-глюкопіранозид та 3-О-бета-D-ксилопіранозил- гіпсогенна кислота-28-О- [бета-D-глюкопіранозил- (1 -> 3)] - [6-О- (3-гідрокси-3-метилглутарил) -бета-D-глюкопіранозил- (1 -> 6)] - бета-D-глюкопіранозид. Їх структури були висвітлені за допомогою екстенсивних спектроскопічних методів.

Окрім сапонінів, *Saponaria officinalis* L. містить флавоноїди, квайлову кислоту, жирні кислоти та різні фенольні сполуки [38].

G. M. Petrović та ін. встановили, що пагони мильнянки лікарської містять ефірну олію, основними компонентами якої є фітол, трикозан-6,8-діон, спирт пачулі та трикозан, тоді як спирт пачулі, геней-козан і трикозан домінують в ефірній олії з квіток цієї рослини [49].

Єндонова Г. Б. і співав. [8] у листках мильнянки лікарської встановили наявність органічних кислот, водорозчинних вітамінів та фенольних сполук. Авторами встановлено наявність 8 органічних кислот – щавлевої, мурашиної, фумарової, бурштинової, яблучної, лимонної, ацетатної і бензойної та з вітамінів – рибофлавіну (вітаміну В₂), кальцієвої солі пантотенової кислоти (вітаміну В₃) і фолієвої кислоти (вітаміну В_с). Окрім того, методом ВЕРХ ідентифіковано 5 сполук агліконової і глікозидної природи: оріентир, ізооріентин, ізовітексин, ізовітексин-7-О-глікозид і оріентин-7-О-глікозид, а також встановлено їх кількісний вміст.

Мильнянка лікарська, окрім речовин сапонінової природи, містить пектинові речовини, в коренях містяться вуглеводи (генціобіоза, сапонароза, олігосахариди), дубильні речовини, ефірна олія, слиз, смоли, мінеральні речовини (кальцій, купрум, манган, цинк) [31].

1.3 Застосування мильнянки лікарської у народній і науковій медицині та різних галузях народного господарства.

Окрім емульгуючи та піноутворюючих властивостей, багата сапонінами мильнянка лікарська проявляє сильну біологічну активність. Тому її використовують як відхаркувальний засіб при бронхітах або при шкірних та ревматичних розладах [45]. Сапоніни мильнянки пригнічують ріст пухлинного раку молочної залози людини та раку простати [38]. Численні сапоніни проявляють гемолітичну або цитотоксичну активність, що пов'язано з їх спорідненістю до ліпідів мембран і особливо до стеринів (наприклад, холестерину) [41, 54].

Отже, фармакологічні властивості мильнянки лікарської визначаються її хімічним складом, зокрема сапонінами. Мильнянка є сильним відхаркувальним і протикашльовим засобом при легневих захворюваннях (бронхіт, пневмонія, коклюш, болісний кашель) [24]. Вона проявляє протизапальну, антимікробну, антивірусну і протиревматичну лікувальні дії.

У джерелах літератури є інформація, що засоби на основі БАР мильнянки лікарської сприяють посиленню видільних функцій слизових оболонок верхніх дихальних шляхів і травного каналу, розріджують густе мокротиння і слизисті виділення, полегшують відхаркування, проявляють потогінну, жовчогінну й діуретичну властивості, виводять з організму токсичні продукти обміну, які утворюються під час нормальних метаболічних процесів, і тих, що утворюються при патологічних змінах у різних органах, тобто мають кровоочисну активність [26].

БАР мильнянки мають здатність зв'язувати холестерол і таким чином протидіють утворенню каменів у жовчному міхурі. Вони полегшують всмоктування в травному каналі їжі й лікарських речовин, знижуючи поверхневий натяг травних соків та прискорюючи емульгування жирів, проявляють протинабрякові властивості, прискорюють процес загоєння ран [17, 26].

Мильнянку рекомендують застосовувати при хронічних катарах верхніх дихальних шляхів, особливо при запаленнях трахеї, при бронхітах, при сухому кашлі, коли є утруднене відкашлювання. Її також застосовують при лікуванні пневмонії та коклюші.

Ряд авторів вважають, що мильняну слід використовувати як допоміжний засіб при лікуванні бронхіальної астми, при силікозі, інтоксикації організму після перенесеної бактеріальної інфекції, при літіазах, жовтяниці, захворюваннях селезінки, дерматозах та подагрі [24, 26].

Зовнішньо мильнянку використовують при себорейі й лупі, допомагає вона при випадінні волосся.

У народній медицині кореневище і траву мильнянки лікарської використовують перш за все як засіб проти кашлю. Також її використовують як відхаркувальний, сечогінний (водянка, набряки ниркового походження), жовчогінний (при жовтяниці), потогінний і болезаспокійливий засіб [24].

Водні витяжки з коренів і надземної частини мильнянки лікарської широко використовуються як потогінний і послаблюючий засіб [24].

Водний настій з коренів і листя призначають всередину при порушеннях обміну речовин – подагрі, екземі, ексудативному діатезі, фурункульозі, лускатому лишайі, дерматозах. Настій кореневищ з коренями застосовуються при ревматизмі, подагрі, болях в суглобах, жовтяниці, хронічних гепатитах, холециститах, хворобах шлунка і кишечника (особливо при метеоризмі), нудоті, хворобах селезінки, печії. Мильнянку застосовують як сечогінний засіб при асциті. Також кореневища мильнянки використовують при аденомі простати.

Мильнянку лікарську застосовують не тільки всередину у вигляді відварів і настоїв, але і зовнішньо у вигляді примочок, компресів, ванночок [11, 24].

Місцево (у вигляді ванн, примочок, кашки з порошку, мазі) рослина лікує коросту, екзему, псоріаз, гнійні рани, фурункульоз, золотуху, різні шкірні висипи, дерматити. Кашку (подрібнені корені з невеликою кількістю гарячої кип'яченої води) місцево використовують для лікування гнійних ран, бешихових запалень, екзем. Запарене свіже листя у вигляді компресів застосовують також для лікування гнійних ран і виразок.

Корінь мильнянки жують при зубному болю. Відваром кореня полощуть горло при ангіні. При гаймориті теплий відвар кореня простягають через ніс, а також нюхають сухий порошок з кореня, щоб викликати чхання і очистити гайморові пазухи.

При герпесі відваром мильнянки обмивають уражені місця. Відваром кореневища і кореня мильнянки миють голову (2 рази на тиждень) при жирній себорейі. Для запобігання випаданню і стимулювання росту волосся концентрований відвар мильнянки ватним тампоном втирають в шкіру голови (за 1-2 години до миття) або споліскують після миття.

У народній косметиці пінистим гарячим водним настоєм кореневища і кореня мильнянки лікарської вмиваються для пом'якшення шкіри.

Мильнянка не знайшла широкого використання у гомеопатії, використовують її дуже рідко (при апатії, відчутті натиснення на око, повільному пульсі); використовують відвари висушених коренів [17].

У ветеринарії мильнянку використовують при лікуванні хвороб шлункового-кишкового тракту і як глистогінний та блювотний засіб.

Лікувальні властивості мильнянки лікарської використовуються, в основному, народною медициною, а в науковій медицині мильнянка застосовується мало – рослина вважається отруйною, при надмірному вживанні виникає блювота, пронос, болі в животі та інші ознаки отруєння, тому потрібне строге дотримання дозування.

Інформації про застосування мильнянки лікарської у науковій медицині дуже мало. Рідко застосовують кореневища з коренями рослини як відхаркувальний засіб при захворюваннях дихальних шляхів.

При вживанні в помірній кількості засоби на основі мильнянки можуть надати такі корисні дії:

1. Забезпечувати виведення мокротиння, пригнічувати кашель.
2. Проявляти жовчогінну дію.
3. Виступати сечогінним засобом.
4. Збільшувати потовиділення.
5. Допомогати при закрепах.
6. Нормалізувати метаболізм.
7. Надавати протизапальний ефект.
8. Лікувати шкірні захворювання.
9. Відновлювати жировий баланс шкіри.
10. Стимулювати ріст волосся.

Мильнянка лікарська – рослина отруйна! Сапоніни мильнянки лікарської викликають місцеву подразнювальну дію. При прийомі всередину великих доз мильнянки виникають нудота, блювота, біль у животі, пронос, кашель. Сигналом про отруєння мильнянкою служить солодкуватий присмак у роті, який змінюється відчуттям печіння з відчуттям слизу. Передозування препаратами мильнянки лікарської спричинює подразнення шлунка та кишечника. Спостерігається озноб, сухість у ротовій порожнині, частковий параліч язика, нудота, блювання, сонливість. Може проявлятися отруєння мильнянкою кривавий проносом, непритомністю і судинним колапсом.

Слід пам'ятати, що препарати мильнянки протипоказані при кровотечах з травного каналу, гострих катарах шлунка та кишечника, безпосередньо після операцій на кишечнику, жовчних і сечових шляхах [17].

Передозування препаратами мильнянки лікарської може призвести до розладів шлунково-кишкового тракту, болів шлунка і блювоти [11].

З джерел літератури відомо, що сапоніни *S. officinalis* має проявляють протизапальну активність *in vitro* на моделі індукованого карагенаніну набряку лапи у щурів та пригнічують простагландинсинтетазу [56]. Очищені сапоніни також проявляють гіпохолестеринемічний ефект у дослідах *in vitro*, що пов'язують із здатністю сапонінів утворювати нерозчинний комплекс з холестерином, запобігаючи його всмоктуванню з тонкої кишки. Сапоніни мають сперміцидну активність, що може бути результатом їх гемолітичної властивості [55].

Окрім того, сапоніни *S. officinalis* мають протиракові, імуномодулюючі та цитотоксичні властивості [40].

Czaban J. І співав. у своїх дослідженнях довели протигрибкову активність сапонінової фракції *S. officinalis* проти *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* та *Fusarium culmorum*, які паразитують на злакових рослинах, та її антимікробні властивості [42]. Припускають, що екстракти, одержані з цієї рослини, можуть бути використані як природні консерванти у фармацевтичній та харчовій промисловості.

Російськими науковцями досліджено антиоксидантну активність водних екстрактів з листків мильнянки лікарської, яка обумовлена значним вмістом у рослині сполук флавоноїдної природи [8].

Корені мильнянки лікарської входять до «Пектосолу» - засобу для усунення кашлю, де сапоніни мильнянки сприяють розрідженню густого бронхіального слизу. Настойку кореня мильнянки містить «Пектолван» - препарат, який застосовують у складі комплексного лікування гострих респіраторних захворювань, бронхітів та захворювань легень, що супроводжуються утрудненим відходженням мокротиння, кашлем, у тому числі сухим, болісним.

Мильнянка лікарська знайшла застосування як харчова, фарбувальна, декоративна рослина.

Кореневища з коренями рослини знайшли застосування у харчовій промисловості: для приготування білого рахат-лукуму, халви і кремів (надають

блиск, відбілюють і емульгують нерозчинні речовини) у кондитерському виробництві [9], при виробництві шипучих вин і пива, а також при випіканні хліба у хлібопекарській справі.

Наявність глюкозиду сапоніну у коренях мильнянки дала можливість використовувати її для виробництва сурогатів мила, яке застосовують для відбілювання і миття шовку, вовни і тканин, для яких не можна використовувати звичайне лужне мило. У фарбувальній промисловості коренями мильнянки фарбують шовкові і шерстяні тканини, у парфумерній галузі їх використовують для виробництва шампунів.

Мильнянка лікарська введена в культуру і сьогодні її вирощують як декоративну рослину. Вона має махрові форми, рекомендується для клумб і для букетів.

На жаль, крім корисного впливу, мильнянка лікарська токсична для жуйних тварин.

Сапоніни мильнянки лікарської виявляють акарицидну активність проти кліщів *Tetranychus urticae* [41].

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами для досліджень були мильнянки лікарської трава та кореневища. Траву заготовляли у фазу масового цвітіння рослини на території Чернівецької області, підземні органи – після відмирання надземної частини.

Першим етапом наших досліджень було фітохімічне вивчення мильнянки лікарської з використанням якісних реакцій та методів хроматографічного аналізу (ТШХ, ВЕРХ, ГХ/МС).

2.1. Виявлення біологічно активних речовин первинного синтезу

Якісний склад та кількісний вміст БАР визначали фармакопейними методами [3, 4, 15, 29].

2.1.1 Визначення органічних кислот

У водних витяжках мильнянки лікарської трави і кореневищ визначали якісний склад органічних кислот, використовуючи ТШХ. Рухома фаза – 95 % етанол Р – концентрований розчин амоніаку (16:4,5), пластинки хроматографічні «Sorbifol»-ПТСХ-А-УФ. Стандартними зразками були бурштинова, лимонна, винна, яблучна, саліцилова, бензойна і щавлева кислоти. Хроматограми добре висушували та обробляли етанольним розчином бромкрезолового зеленого. При наявності у досліджуваній сировині органічних кислот при нагріванні хроматограм у сушильній шафі появлялися жовті плями на блакитному тлі [4].

Методом титриметрії визначали кількісний вміст органічних кислот у сировині мильнянки лікарської [3, 21].

Вміст вільних органічних кислот у перерахунку на лимонну кислоту в абсолютно сухій сировині обчислювали за формулою 2.1:

$$X = \frac{V \times 0,0067 \times 250 \times 100 \times 100}{m \times 10 \times (100 - W)}, \quad (2.1)$$

де: V – об'єм розчину натрію гідроксиду, який пішов на титрування;
 0,0067 – кількість лимонної кислоти, що відповідає 1 мл натрію гідроксиду;
 m – маса сировини;
 W – втрата в масі при висушуванні.

Компонентний склад органічних кислот досліджували методом ВЕРХ [34] на хроматографі Agilent 1200 (Agilent Technologies, USA). Рухома фаза – ацетонітрил (А) і 0,1% розчин фосфорної кислоти у воді (В) (1:99). Елюювання проводили в ізократичному режимі. Використовували хроматографічну колонку Zorbax SB-Aq (4,6 мм±150 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies, USA). Швидкість потоку через колонку – 0,5 мл/хв., температура термостата – 30 °С, об'єм інжекції – 3 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 210 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [51].

Підготовка проб для аналізу: 0,2-1,0 г досліджуваної сировини кожної проби екстрагували в 5 мл 0,1 % розчину фосфорної кислоти на ультразвуковій бані при 80 °С впродовж 4 год у скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Одержаний екстракт центрифугували при 3 тис об/хв і фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Ідентифікацію та кількісний аналіз індивідуальних органічних кислот проводили використовуючи стандартні розчини винної, піровиноградної, ізолимонної, лимонної, бурштинової, яблучної, щавлевої кислот.

Вміст органічних кислот (X) (мг/г) визначали за формулою:

$$X = c \cdot V / (m \cdot 1000), \quad (2.2)$$

де c – концентрація сполуки, визначена хроматографічним методом, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, з якої проводили екстракцію, г;

1000 – коефіцієнт перерахунку мкг в мг.

2.1.2 Визначення жирних кислот

Наважку сировини, розтертої до порошкоподібного стану, поміщали в скляну віалу та додавали 2,0 мл 2 % розчину ацетилхлориду в метанолі та розчин внутрішнього стандарту (нонадеканову кислоту). Суміш ретельно перемішували та поміщали на ультразвукову баню при 80 °С. Метилування жирних кислот проводили впродовж 2 год. Одержані метилові естери жирних кислот екстрагували гексаном. Аліквоту екстракту використовували для хроматографічного дослідження.

Хроматографічне розділення здійснювали на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA), де використовували капілярну колонку HP-5ms (30m×0,25mm×0,25µm, Agilent technologies, USA). Температура випаровувача – 250 °С, температура інтерфейсу – 280 °С. Розділення проводили в режимі програмування температури – початкову температуру 150 °С витримували впродовж 4 хв, піднімали температуру з градієнтом 5 °С/хв до 300 °С. Кінцеву температуру витримували впродовж 6 хв. Пробу об'ємом 1 мкл вводили в режимі поділу потоку 1:50. Детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z). Швидкість потоку газу носія через колонку становила 1,0 мл/хв.

Ідентифікацію метилових естерів жирних кислот проводили з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02.

Кількісний аналіз здійснювали шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту (20 мкг/зразок) до досліджуваних проб [33, 35].

2.1.3 Дослідження полісахаридів

Підтвердження наявності полісахаридів у досліджуваних зразках мильнянки лікарської проводили такими реакціями ідентифікації:

- з 95 % етанолом Р: до 10 мл витяжки додавали 30 мл 95 % етанолу Р;
- з реактивом Фелінга після кислотного гідролізу [29].

Кількісний вміст полісахаридів у сировині мильнянки лікарської визначали гравіметричним методом за ДФУ 2.0, монографія «Подорожника великого листа» [5, 29].

У перерахунку на абсолютно суху сировину вміст полісахаридів у відсотках (X) обчислювали за формулою 2.3:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 500 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot 25 \cdot (100 - W)}, \quad (2.3)$$

де m_2 – маса фільтра з осадом, г;

m_1 – маса фільтра, г;

m – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні, % [13].

Ідентифікацію моноцукрів у досліджуваній рослинній сировині проводили методом ГХ/МС.

Принцип методу.

Метод заснований на екстракції вільних моноцукрів та повному кислотному гідролізі сировини для визначення загального моноцукрового складу та отриманні ацетатів їх альдонітрильних похідних з подальшим аналізом методом ГХ/МС.

Обладнання та умови хроматографічного розділення.

Для хроматографічного розділення використовували газову хромато-мас-спектрометричну систему Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA) і капілярну колонку HP-5ms (30m×0,25mm×0,25mkm, Agilent technologies, USA).

Температура випаровувала становила 250 °С, температура інтерфейсу – 280 °С. Розділення проводили в режимі програмування температури – початкову температуру 160 °С витримували впродовж 8 хв., піднімали температуру з градієнтом 5 °С/хв до 240 °С. Кінцеву температуру витримували впродовж 6 хв. Пробу об'ємом 1 мкл вводили в режимі поділу потоку 1:50. Детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z). Швидкість потоку газу носія через колонку становила 1,2 мл/хв.

Ідентифікували цукри за часом утримання їх стандартів і використовували бібліотеку мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання до досліджуваних проб розчину внутрішнього стандарту (сорбітолу).

1. Пробопідготовка та аналіз рослинної сировини.

Вільні моноцукри.

Рослинну сировину перетирали до порошкоподібного стану в скляній ступці. Наважку ЛРС поміщали в віалу, додавали 10 мл розчину 80 % етанолу. Екстракцію вільних моноцукрів проводили на ультразвуковій бані за температури 80 °С впродовж 4 год. Екстракт відбирали, упарювали досуха та ресуспендували додаванням водного розчину внутрішнього стандарту із розрахунку 2 мг на пробу.

Загальний моноцукровий склад:

До наважки ЛРС додавали 2 мл 2М трифтороцтової кислоти. Гідроліз проводили при температурі 100 °С, впродовж 6 год. Відбирали 2 мл гідролізату упарювали та промивали водою очищеною до видалення трифтороцтової кислоти. Ресуспендували додаванням водного розчину внутрішнього стандарту із розрахунку 2 мг на пробу.

Отримання альдонітрильних похідних:

Для отримання альдонітрильних похідних моноцукрів екстракт/гідролізат упарювали досуха на роторному випаровувачі та додавали 0,3 мл дериватизуючого реактиву (32 мг/мл гідроксиламіну хлористоводневого в суміші піридин/метанол (4:1 v/v)). Розчинений екстракт витримували впродовж 25 хв при 75 °С. Ацетилювання альдонітрильних похідних моноцукрів

проводили впродовж 15 хв при 75 °С. До реакційної суміші додавали 1 мл дихлоретану, надлишок дериватизаційних реагентів видаляли подвійною екстракцією 1N розчином хлористоводневої кислоти та води очищеної. Дихлоретановий шар висушували досуха та розчиняли в 300 мкл суміші гептан/етилацетат (1:1 v/v).

2. Ідентифікацію моноцукрів досліджуваної суміші проводили шляхом порівняння часів утримування стандартних моноцукрів та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту до досліджуваних проб. Як внутрішній стандарт використовували розчин сорбітолу.

Масу моноцукру на 1 кг ЛРС в мг розраховували за формулою 2.4:

$$X = \frac{S_x \times C_{\text{вст}} \times V_{\text{роз}} \times 1000}{S_{\text{вст}} \times m \times V_{\text{екстр}}} \quad (2.4)$$

де:

S_x – площа піку моноцукру;

$C_{\text{вст}}$ – концентрація внутрішнього стандарту;

$V_{\text{роз}}$ – об'єм розчинника для екстракції/гідролізу проби;

$S_{\text{вст}}$ – площа піку внутрішнього стандарту;

m – наважка препарату;

$V_{\text{екстр}}$ – об'єм екстракту для аналізу [19, 37, 44].

2.2. Біологічно активні речовини вторинного синтезу

2.2.1 Визначення флавоноїдів

Для визначення флавоноїдів використовували етанольно-водну витяжку, яку готували таким чином: 3 г подрібненої сировини мильнянки лікарської поміщали у колбу на 100 мл зі зворотним холодильником, заливали 35 мл 70 % етанолу Р і нагрівали, періодично перемішуючи суміш, на киплячій водяній бані

впродовж 20 хв. Екстракт охолоджували, фільтрували та очищали. Фільтрат наносили на колонку з діаметром 1 см, заповнену поліамідом (1,0 г), промивали 50 мл води очищеної Р і флавоноїди з колонки вимивали 70 % етанолом Р. Відбирали фракції, які були забарвлені у жовтий колір. Очищений екстракт упарювали до 1/2 об'єму і використовували для проведення якісних реакцій на флавоноїди, порівнюючи результати з 0,1 % розчином рутину:

- 1) ціанідинава проба: до 1 мл очищеного екстракту (і 0,1 % розчину рутину) додавали 2-3 краплі хлористоводневої кислоти і щіпку порошку металічного магнію; поява рожевого забарвлення свідчила про наявність флавоноїдів у досліджуваній сировині мильнянки лікарської;
- 2) реакція з лугом: до 1 мл екстракту додавали 1-2 краплі 10 % етанольно-водного розчину калій гідроксиду; при наявності флавоноїдів спостерігали появу жовтого забарвлення;
- 3) реакція з ферум (III) хлоридом: до 1 мл екстракту додавали 1-2 краплі 10 % розчину ферум (III) хлориду; наявність флавоноїдів підтверджувалася появою зеленого забарвлення;
- 4) реакція з плюмбум ацетатом: до 1 мл екстракту додавали 3-5 крапель 10 % розчину плюмбум ацетату; утворювався осад жовтого кольору, що свідчить про наявність флавоноїдів [29].

Наступним етапом досліджень було визначити склад етанольно-водної витяжки мильнянки лікарської коренів методом ТШХ. Як рухомих фаз використовували н-бутанол-ацетатна кислота-вода очищена (4:1:2). Після висушування хроматограми розглядали при денному і УФ-світлі за довжини хвилі 366 нм до та після обробки розчином амоніаку [2].

Кількісний вміст суми флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі Lambda 25 Perkin Elmer у перерахунку на рутин [3]

Вихідний розчин. Точну наважку подрібненої сировини (1,00 г), яку просіювали крізь сито з діаметром отворів 2 мм, поміщали у колбу зі шліфом об'ємом 100 мл, додавали 30 мл етанолу (70 %, об/об) Р та зважували. Колбу із

зворотним холодильником нагрівали на водяній бані протягом 2 год, періодично струшували для змивання часток сировини зі стінок. Колбу охолоджували до кімнатної температури і зважували. При необхідності додавали етанол 70 % P до первинної маси. Витяжку фільтрували крізь паперовий фільтр і перші 20 мл відділяли.

Випробовуваний розчин. 1 мл вихідного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 2 мл розчину 30 г/л алюмінію хлориду P в етанолі 96 % P, доводили об'єм розчину етанолом 96 % P до позначки і перемішували.

Компенсаційний розчин. 1 мл вихідного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл і доводили етанолом 96 % P до позначки, перемішували.

Оптичну густину випробовуваного розчину вимірювали через 40 хв за довжини хвилі 415 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Паралельно вимірювали оптичну густину розчину ФСЗ рутину, який готували аналогічно як досліджуваний розчин.

Вміст суми флавоноїдів (X), у відсотках, у перерахунку на рутин і абсолютно суху сировину, обчислювали за формулою 2.5:

$$X = \frac{A \times m_0 \times 30 \times 100 \times 100}{A_0 \times m \times (100 - W) \times 100}, \quad (2.5)$$

де: A – оптична густина випробуваного розчину;

A_0 – оптична густина ФСЗ рутину;

m – маса наважки сировини, г;

m_0 – маса наважки ФСЗ рутину, г;

W – втрати в масі при висушуванні сировини, %.

Приготування стандартного зразка рутину: 0,050 г (точна наважка) ФСЗ рутину, попередньо висушеного за температури 130 °C протягом 3 год, розчиняли в етанолі 70 % P у мірній колбі на 100 мл, доводили до позначки.

Визначення і встановлення кількісного вмісту індивідуальних флавоноїдних сполук у мильнянки лікарської трав і кореневищах проводили методом ВЕРХ [16] на хроматографі Agilent 1200 (Agilent Technologies, USA).

Наважку сировини кожної проби (0,2-0,6 г) екстрагувалася в 10 мл 70 % етанолу на ультразвуковій бані при 80 °С впродовж 5 год у скляних герметичних віалах із тefлоновою кришкою. Одержаний екстракт центрифугували при 3000 об/хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Використовували: рухома фаза – ацетонітрил (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти в воді (В). Елюювали в градієнтному режимі: 0 хв – А (30 %) : В (70 %); 20 хв – А (70 %) : В (30 %); 22 хв – А (100 %) : В (0 %); 30 хв – А (100 %) : В (0 %). Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150 x 4,6 мм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку – 0,25 мл/хв., температура термостата – 30 °С, об'єм інжекції – 4 мкл. Детекцію проводили на діодно-матричному детекторі з реєстрацією сигналу при 280 нм та 365 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [2, 46].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів таких флавоноїдів – рутину, кверцетин-3-*b*-глікозиду (ізокверцитрину), нарінгіну, неогесперідину, кверцетину, нарінгеніну, кемпферолу, лютеоліну та апігеніну.

Кількість вміст індивідуальних флавоноїдів (X) у мкг/г обчислювали за формулою 2.6:

$$X = \frac{C \times V}{m}, \quad (2.6)$$

де С – концентрація сполуки, визначена хроматографічним методом, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, г.

2.2.2 Визначення гідроксикоричних кислот

Гідроксикоричні кислоти виявляли у етанольно-водній (20 % етанол Р) витяжці мильнянки лікарської трави і кореневищ, використовуючи 1 % розчин феруму (III) хлориду. Про наявність фенольних сполук у досліджуваних об'єктах, в тому числі і гідроксикоричних кислот, свідчила поява сіро-зеленого забарвлення розчину [12].

Гідроксикоричні кислоти виявляли також методом ТШХ. Використовували рухому фазу н-бутанол – ацетатна кислота – вода очищена Р (4:1:2) і ФСЗ гідроксикоричних кислот – хлорогенову, неохлорогенову, кофейну, ферулову, розмаринову, *p*-кумарову та хінну. Хроматограму висушували у витяжній шафі і розглядали при денному та УФ-світлі до і після обробки парами розчину амоніаку [6].

Кількісний вміст суми гідроксикорисних кислот визначали в перерахунку на хлорогенову кислоту та обчислювали за формулою 2.7. На спектрофотометрі Lambda 25 Perkin Elmer за довжини хвилі 327 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм вимірювали оптичну густину розчину. Для порівняння використовували 20 % етанол Р.

$$X = \frac{A \times 250 \times 50 \times 100}{E^{1\%}_{1cm} \times m \times 1 \times (100 - W)}, \quad (2.7)$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину;

250 – об'єм розчину, мл;

m – маса сировини, г;

$E^{1\%}_{1cm}$ – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти (531);

W – втрата в масі при висушуванні сировини, % [14].

Індивідуальні гідроксикоричні кислоти виявляли та визначали у мильнянки лікарської трави і кореневищах методом ВЕРХ на хроматографі Agilent Technologies 1200 (Agilent Technologies, USA). Розділяли їх на

хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150 x 4,6 мм) (Agilent Technologies, USA) [36, 50].

0,1-1,0 г кожної проби екстрагувалася 5-10 мл 60 % розчину метанолу на ультразвуковій бані при 80 °С впродовж 4 год у скляних герметичних віалах із тefлоновою кришкою. Екстракт центрифугували при 3 тис об/хв і фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Для визначення індивідуальних гідроксикоричних кислот використовували рухоми фазу – метанол (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти у воді очищеній Р (В). Елюювали в градієнтному режимі: 0 хв – А (25 %) : В (75 %); 25 хв – А (75 %) : В (25 %); 27 хв – А (100 %) : В (0 %); 35 хв – А (100 %) : В (0 %). Детекцію проводили, використовуючи діодно-матричний детектор з реєстрацією сигналу при 250 нм та 275 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм.

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів фенольних сполук (галової, гідроксифенілацетатної, хлорогенової, кофеїної, сирінгової, *p*-кумарової, транс-ферулової, синапової, транс-цинамової та хінної кислот).

Кількісний вміст індивідуальних гідроксикоричних кислот (X) у мкг/г визначали за формулою 2.8:

$$X = \frac{C \times V}{m}, \quad (2.8)$$

де С – концентрація сполуки, визначена хроматографічним методом, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, г.

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ І КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН МИЛЬНЯНКИ ЛІКАРСЬКОЇ

Аналіз джерел літератури показав, що природні ресурси та потенціал БАР мильнянки лікарської у фармацевтичній і медичній практиці використовуються недостатньо, тому фітохімічне вивчення сировини даного виду є актуальним.

3.1 Виявлення і визначення кількісного вмісту органічних кислот

Методом ТШХ було проаналізовано одержані водні екстракти мильнянки лікарської трави та кореневищ з метою виявлення вільних органічних кислот, результати яких представлено на рисунку 3.1.

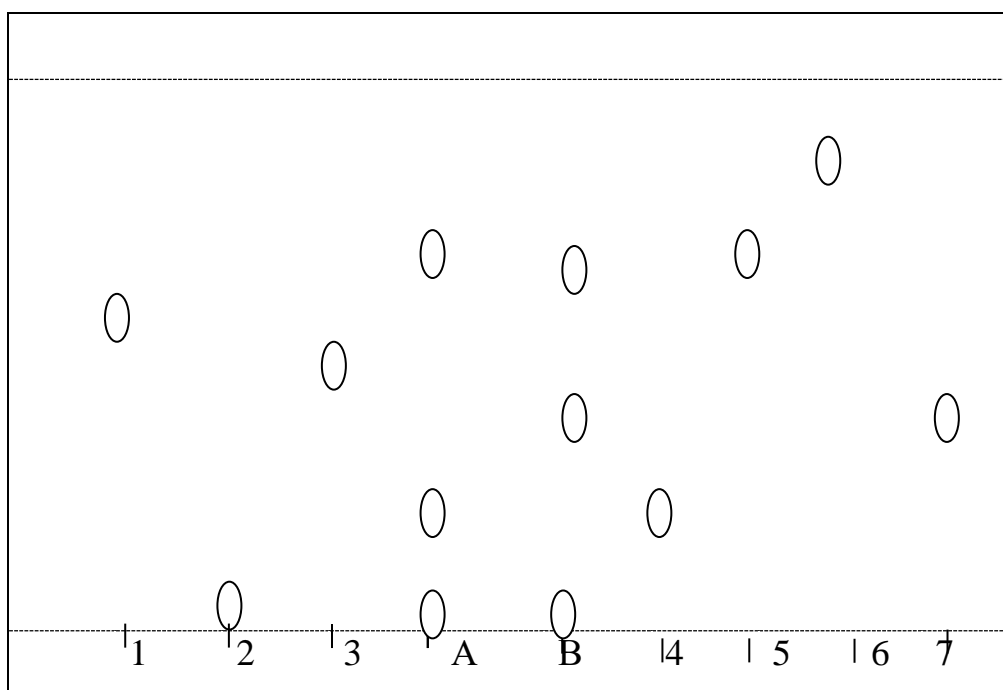


Рис. 3.1 Схема ТШХ вільних органічних кислот мильнянки лікарської: А – екстракт мильнянки лікарської трави, В – екстракт мильнянки лікарської кореневищ, 1 – бензойна кислота, 2 – щавлева, 3 – яблучна, 4 – винна, 5 – бурштинова, 6 – саліцилова, 7 – лимонна.

Рухома фаза: 95 % етанол Р – концентрований розчин амоніаку (16:4,5)

У мильнянки лікарської траві виявлено винну, бурштинову і сліди щавлевої кислоти, у кореневищах – щавлеву, лимонну і бурштинову кислоти.

Методом ВЕРХ у мильнянки лікарської траві було ідентифіковано та встановлено кількісний вміст винної, піровиноградної, ізолимонної, бурштинової та фумарової кислот, у підземних органах – піровиноградної, ізолимонної, лимонної, бурштинової та фумарової кислот.

Хроматограми органічних кислот трави та кореневищ досліджуваної мильнянки лікарської наведено на рисунках 3.2 і 3.3.

Результати визначення компонентного складу органічних кислот мильнянки лікарської наведено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

**Кількісний вміст органічних кислот у траві та підземних органах
мильнянки лікарської**

БАР	Час утримування, хв	Кількісний вміст у траві, мг/г	Кількісний вміст у кореневищах, мг/г
винна кислота	1.930	0,26	н/в
піровиноградна кислота	2.299	25,14	0,07
ізолимонна кислота	2.436	120,83	0,02
лимонна кислота	3.004	н/в	0,19
бурштинова кислота	3.198	10,95	0,79
фумарова кислота	4.631	0,04	0,02

Примітка. н/в – не виявлено.

Серед органічних кислот у мильнянки лікарської траві домінуючими компонентами були ізолимонна та піровиноградна кислоти, вміст яких становив 120,83 мг/г та 25,14 мг/г, відповідно. У підземних органах *Saponaria officinalis* L. в найбільшій кількості було визначено бурштинової кислоти (0,79 мг/г). У підземних органах мильнянки лікарської встановлено низький вміст органічних кислот.

Як видно із таблиці 3.1, мильнянка лікарська синтезує винну, піровиноградну, ізолимонну, лимонну, фумарову та бурштинову кислоти, які є каталізаторами біохімічних процесів і активаторами тканинного дихання як у рослинних, так і в тваринних організмах [1].

У досліджуваній траві мильнянки лікарської не виявлено лимонної кислоти, а у кореневищах – винної [7].

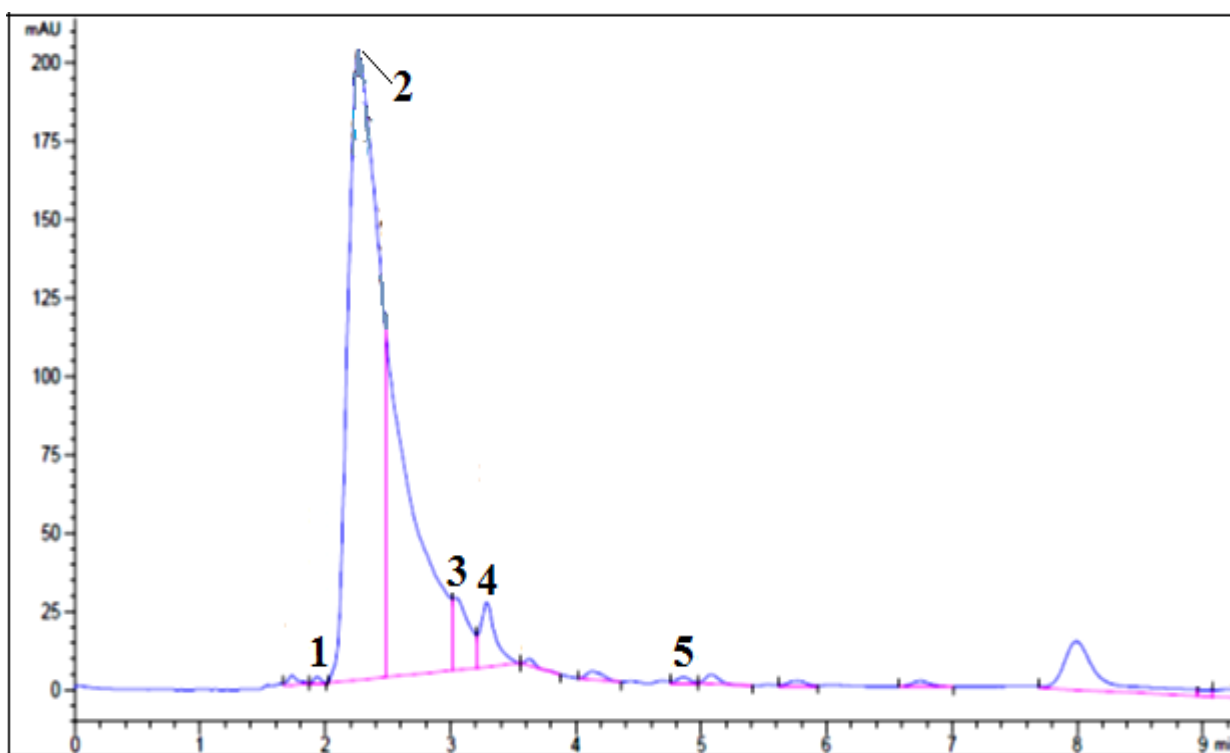


Рис. 3.2 ВЕРХ-хроматограма органічних кислот у траві *Saponaria officinalis* L.: 1 – винна, 2 – піровиноградна, 3 – ізолимонна, 4 – бурштинова, 5 – фумарова кислоти

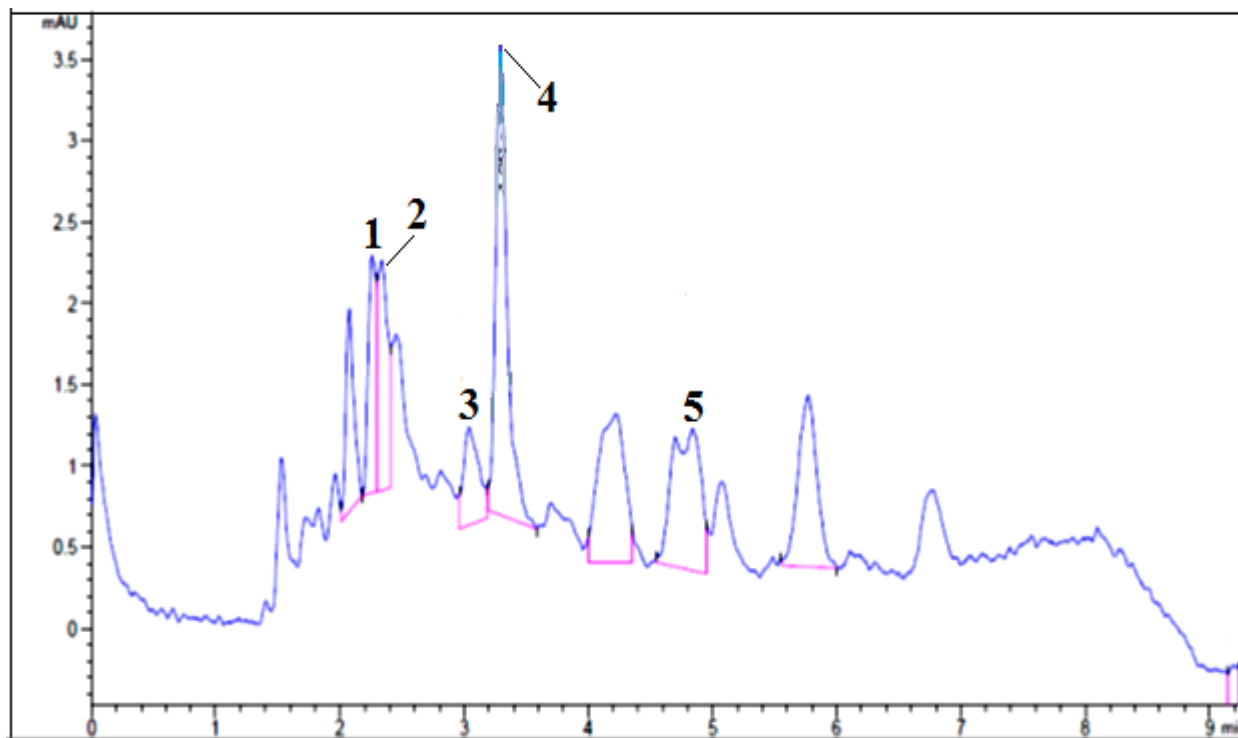


Рис. 3.3 ВЕРХ-хроматограма органічних кислот у підземних органах *Saponaria officinalis* L.: 1 – пірвіноградна, 2 – ізолимонна, 3 – лимонна, 4 – бурштинова, 5 – фумарова кислоти

Результати визначення кількісного вмісту суми органічних кислот, методика якого наведена у розділі 2, у мильнянки лікарської трави та кореневищах наведено у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Кількісний вміст суми вільних органічних кислот у сировині мильнянки лікарської (n = 5)

Сировина	Кількісний вміст суми органічних кислот, % в перерахунку на абсолютно суху сировину (n=5)
Кореневища	0,89 ± 0,01
Трава	1,04 ± 0,02

Кількісний вміст суми вільних органічних кислот у траві мильнянки лікарської становив $1,04 \pm 0,02$ % у перерахунку на абсолютно суху сировину, у кореневищах – $0,89 \pm 0,01$ % .

Одержані результати створюють основу для подальшого хімічного та фармакологічного дослідження мильнянки лікарської та враховуватимуться при розробці методів контролю якості при стандартизації даної рослинної сировини.

3.2 Виявлення жирних кислот

У мильнянки лікарської траві та кореневищах встановлено наявність насичених і ненасичених жирних кислот (методика – див. розд. 2).

Результати аналізу наведено на рисунках 3.4 і 3.5 та у таблиці 3.3.

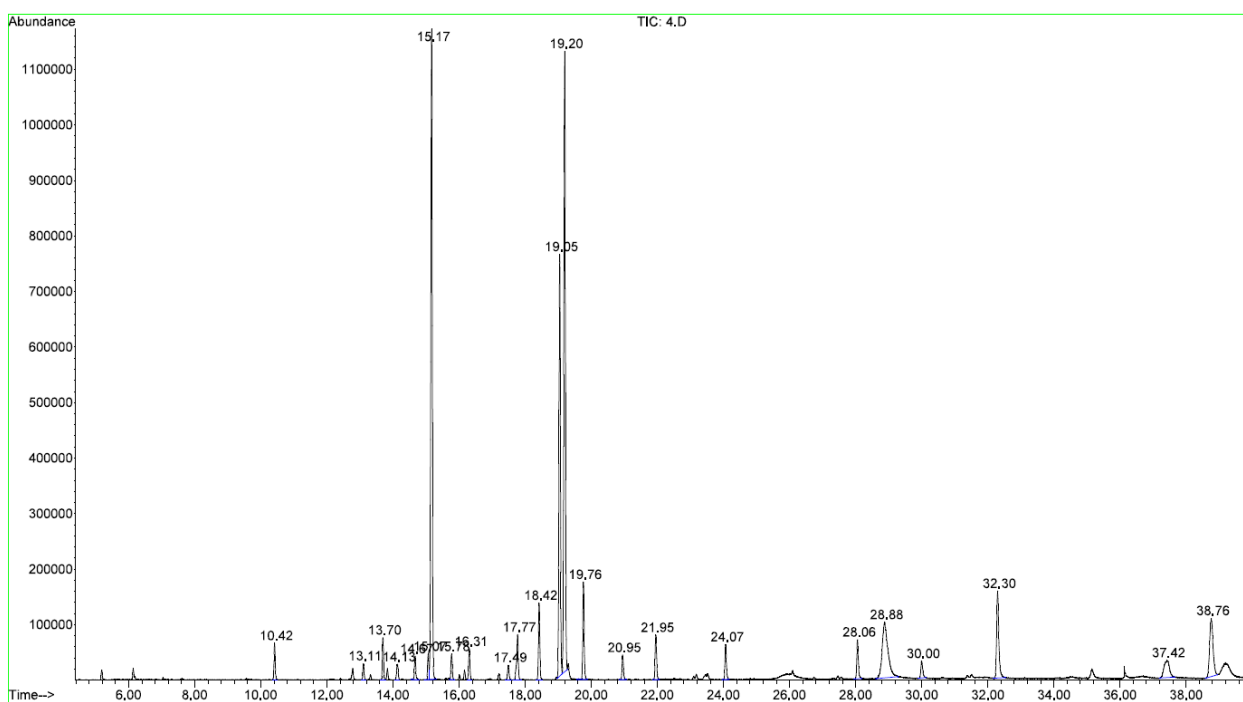


Рис. 3.4 Хроматограма ГХ-МС-аналізу метилових естерів жирних кислот мильнянки лікарської трави

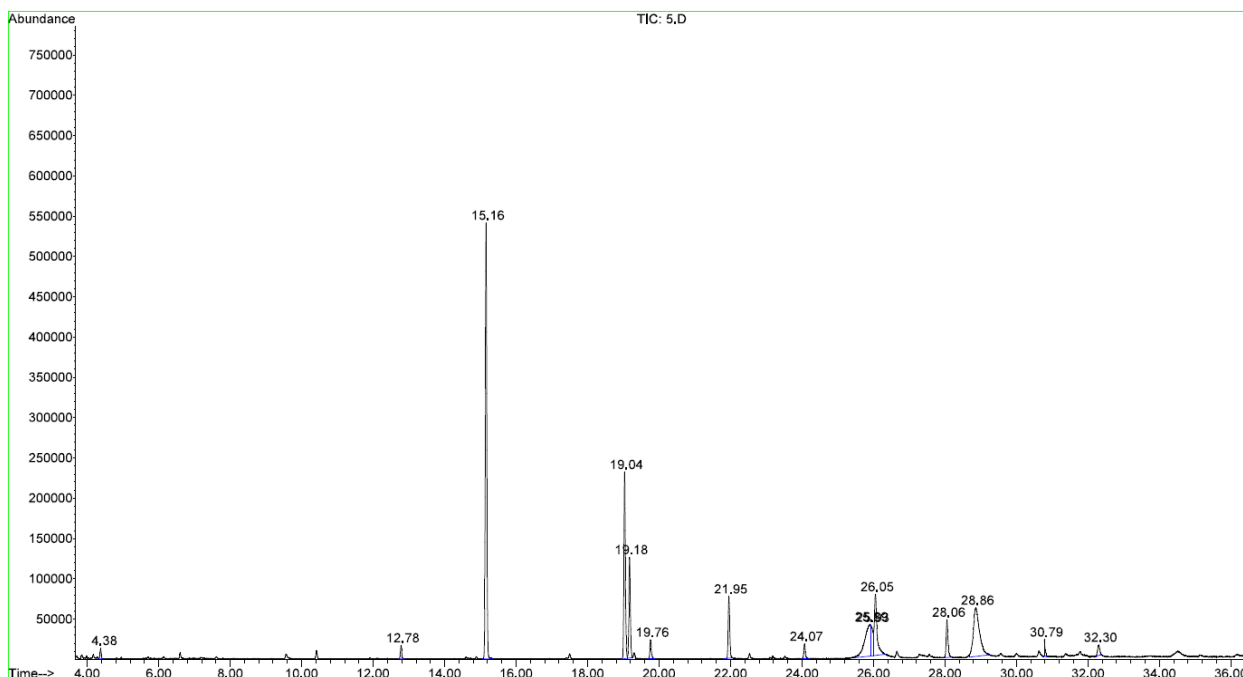


Рис. 3.5 Хроматограма ГХ-МС-аналізу метилових естерів жирних кислот мильнянки лікарської кореневищ

У мильнянки лікарської трави ідентифіковано 10 жирних кислот. Вміст у траві насичених жирних кислот становив 1,9 мг/г; (60,70 % від загальної кількості усіх виявлених кислот). Вміст ненасичених жирних кислот становив 1,23 мг/г (39,30 % від загальної кількості усіх виявлених кислот). Основними компонентами з ненасичених кислот у траві були ліноленова (1,15 мг/г; 36,28 % від загальної кількості усіх виявлених кислот) і лінолева (0,75 мг/г; 23,66 % від загальної кількості усіх виявлених кислот) кислоти [10].

З джерел наукової літератури відомо [18, 53], що ліноленова кислота бере участь у синтезі ряду простагландинів, має здатність нормалізувати артеріальний тиск і рівень холестерину в крові. Жирні кислоти є специфічними регуляторами внутрішньоклітинних метаболічних перетворень, а також беруть участь у проведенні нервового імпульсу та скороченні м'язів.

Лінолева кислота належить до поліненасичених омега-6 жирних кислот. При її дефіциті в організмі спостерігається розтягнення шкіри, випадає волосся та поганого загоюються рани [52]. Лінолева кислота впливає на жировий та білковий обміни, сприяє нейтралізації насичених жирів, запобігає накопиченню

холестерину в судинах, перешкоджає виникненню тромбів, захищає від передчасного старіння, позитивно впливає на ряд функцій нервової системи, підвищує засвоєння жиророзчинних вітамінів і вітамінів групи В. При недостатньому надходженні в організмі есенціальних жирних кислот спостерігається порушення обміну ліпідів, виникає атеросклероз та інші проблеми серцево-судинної системи, онкологічні захворювання [32].

Таблиця 3.3

Якісний склад і кількісний вміст жирних кислот у сировині мильнянки лікарської (метод ГХ/МС)

Назва кислот	RT	Вміст у мг/г		RT	Вміст у мг/г	
		корене- вища	МС, %		трава	МС, %
Пентадеканова* C15:1	12.78	0,01	98	12,78	н/в	н/в
Пальмітинова C16:0	15.19	0,38	98	15.17	н/в	н/в
Гептадеканова C17:0	17.49	н/в	н/в	17.49	0,03	96
Лінолева* C18:2n9,12	19.07	0,16	99	19.07	0,75	99
Ліноленова* 18:3n9,12,15	19.20	0,09	99	19.20	1,15	97
Стеаринова C18:0	19.78	0,02	96	19.78	0,16	99
Арахінова C20:0	24.08	0,01	97	24.08	0,08	96
Бегенова C22:0	28.07	0,04	98	28.07	0,07	97
Генейкозанова C21:0	28.87	н/в	н/в	28.87	0,38	96
Трикозанова C23:0	30.03	н/в	н/в	30.03	0,04	97
Лігноцеринова C24:0	32.33	0,01	97	32.30	0,23	99
Церитова C26:0	38.77	н/в	н/в	38.77	0,24	99
Сума насичених кислот		0,46			1,23	
Сума ненасичених кислот		0,26			1,90	

Примітки: 1. * – кислоти жирні ненасичені; 2. н/в – не виявлено.

У кореневищах мильнянки лікарської ідентифіковано 8 жирних кислот. У підземних органах домінували насичені жирні кислоти, вміст яких становив 63,89 % від їх загального вмісту. Переважала у кореневищах пальмітинова кислота – 0,38 мг/г (52,78 % від загальної кількості усіх виявлених кислот).

Пальмітинова кислота є однією з найпоширеніших жирних кислот. Вона входить до складу великої кількості рослинних олій, а також до складу гліцеридів жирних кислот. Найбільший її вміст спостерігається в пальмовій олії, яка і дала назву сполуці (38-48 %). Пальмітинова кислота здебільшого застосовується для отримання солей, які входять до складу мила [22].

3.3 Визначення вуглеводів

3.3.1 Визначення цукрів за допомогою якісних реакцій

Для проведення якісних реакцій готували водні витяжки з досліджуваних об'єктів мильнянки лікарської. Підтвердженням наявності полісахаридів у досліджуваних зразках сировини були якісні реакції з 95 % етанолом R. Спостерігали появу пластинчастих згустків, які з часом випадали в осад.

Позитивна реакція з реактивом Фелінга після кислотного гідролізу (поява цеглянисто-червоного осаду) свідчило про наявність нейтральних (відновлюваних цукрів) у мильнянки лікарської траві та кореневищах.

3.3.2 Виявлення водорозчинних полісахаридів

ВРПС з концентрованого екстракту осаджували 60 мл 96 % етанолу R. Осад відокремлювали, промивали невеликою кількістю 70 %, а потім 96 % етанолу R, висушували у сушильній шафі за температури 50-55 °С.

ВРПС мильнянки лікарської – аморфні порошки коричневого кольору, розчинні у воді та водних розчинах лугів і кислот, не розчинні в органічних розчинниках.

3.3.3 Виявлення пектинових речовин

Із шроту, що залишився після вилучення ВРПС, виділяли ПР.

Одержані ПР – аморфні порошки світло-коричневого кольору, розчинні у очищеній воді Р, утворюючи колоїдні в'язкі мутні розчини, рН яких становить 4-5. Водні розчини ПР утворюють пектати з 1 % розчином алюмінію сульфату.

Наведені вище результати показали наявність у досліджуваній сировині мильнянки лікарської ВРПС і ПР.

3.3.4 Визначення кількісного вмісту водорозчинних полісахаридів і пектинових речовин у мильнянки лікарської траві та кореневищах

Результати кількісного визначення ВРПС і ПР у сировині мильнянки лікарської наведено у таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

Кількісний вміст водорозчинних полісахаридів і пектинових речовин у сировині мильнянки лікарської (n=5)

Сировина	ПС	Вихід ПС, %
Трава	ВРПС	7,45 ± 0,44
	ПР	5,62 ± 0,23
Кореневища	ВРПС	8,55 ± 0,33
	ПР	5,35 ± 0,24

Результати дослідження свідчать, що у мильнянки лікарської траві дещо вищий вміст ПР, у кореневищах – ВРПС. Вміст ВРПС у траві становив (7,45 ± 0,44) %; у кореневищах був у 1,2 рази вищий і становив (8,55 ± 0,33) %. Вміст

ПР у мильнянки лікарської трави і кореневищах був майже однаковий і становив $(5,62 \pm 0,23) \%$ і $(5,35 \pm 0,24) \%$ відповідно.

3.3.5 Виявлення вільних та зв'язаних цукрів

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту моноцукрів і сахарози у мильнянки лікарської трави та кореневищах проводили методом ГХ/МС (див. розд. 2).

Результати якісного і кількісного визначення цукрів у мильнянки лікарської трави та кореневищах наведено у таблиці 3.5.

Таблиця 3.5

Якісний склад і кількісний вміст цукрів у сировині мильнянки лікарської

Цукри	Вміст у рослинній сировині, мг/г			
	Кореневища		Трава	
	цукри після гідролізу	вільні цукри	цукри після гідролізу	вільні цукри
1	2	3	4	5
L-Арабіноза	1,66	н/в	2,93	н/в
D-Фукоза	5,28	н/в	7,18	н/в
D-Ксилоза	0,73	н/в	н/в	н/в
D-Маноза	2,25	н/в	1,65	н/в
D-Глюкоза	23,08	0,73	30,25	3,65
D-Галактоза	33,91	2,18	9,17	0,29
Інозит	н/в	н/в	2,62	н/в
Сорбітол	Вн. стандарт			
D-Фруктоза	10,79	н/в	3,69	0,20

<i>Продовж. табл. 3.5</i>				
1	2	3	4	5
Сахароза	н/в	25,39	н/в	3,72
Сума	77,70	26,3	57,49	7,86

Хроматограми цукрів сировини мильнянки лікарської наведено на рисунках 3.6-3.9.

У складі полісахаридних комплексів кореневищ мильнянки лікарської встановлено наявність, визначено кількісний вміст та ідентифіковано 7 моноцукрів після кислотного гідролізу; вільних цукрів виявлено 9, ідентифіковано 3 компонент – D-глюкозу, D-фруктозу і дицукор – сахарозу [10].

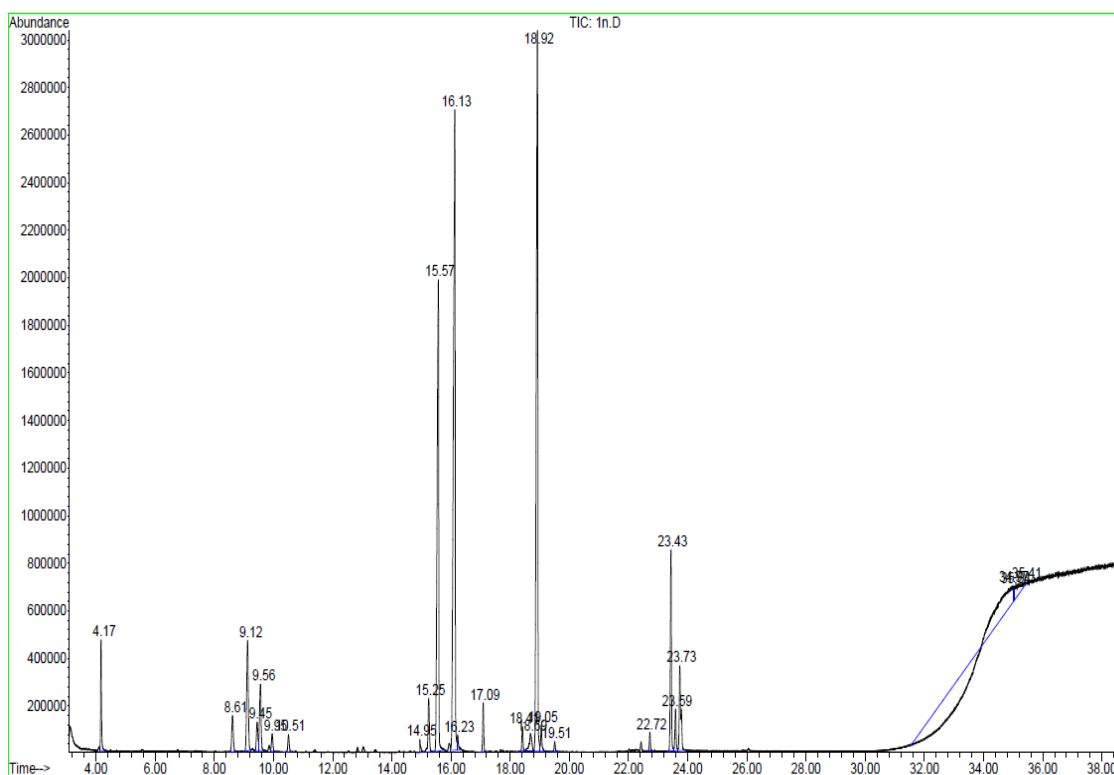


Рис. 3.6 Хроматограма ГХ/МС моноцукрів після кислотного гідролізу кореневищ мильнянки лікарської

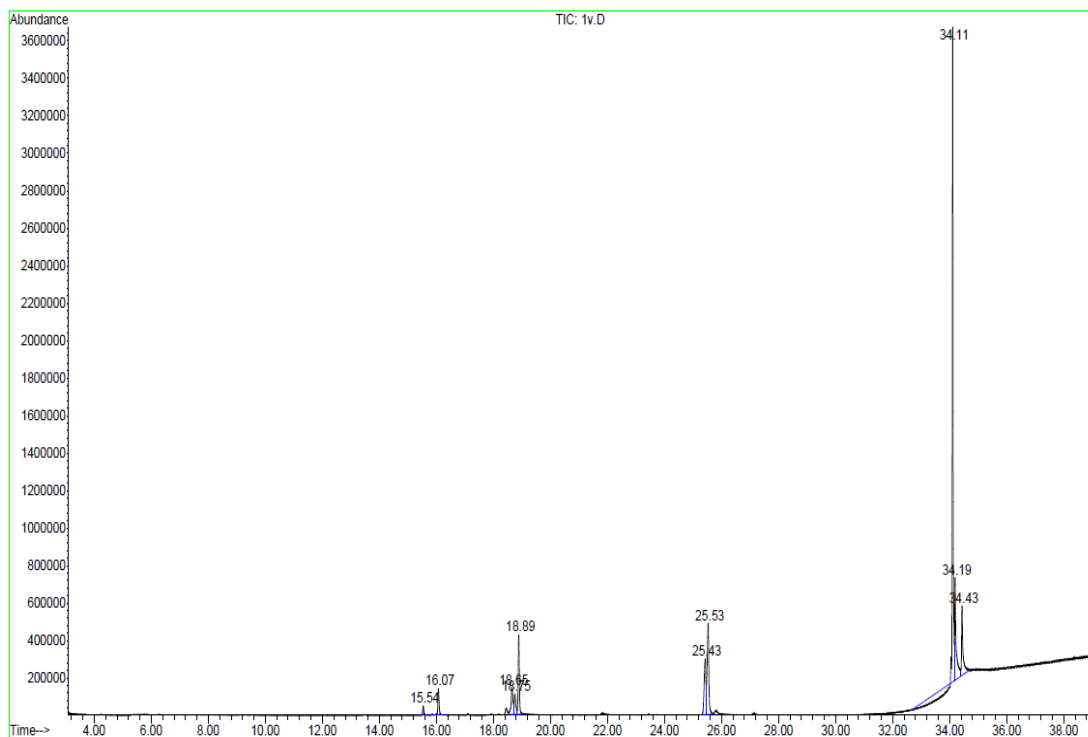


Рис. 3.7 Хроматограма ГХ/МС вільних моноцукрів і сахарози кореневищ мильнянки лікарської

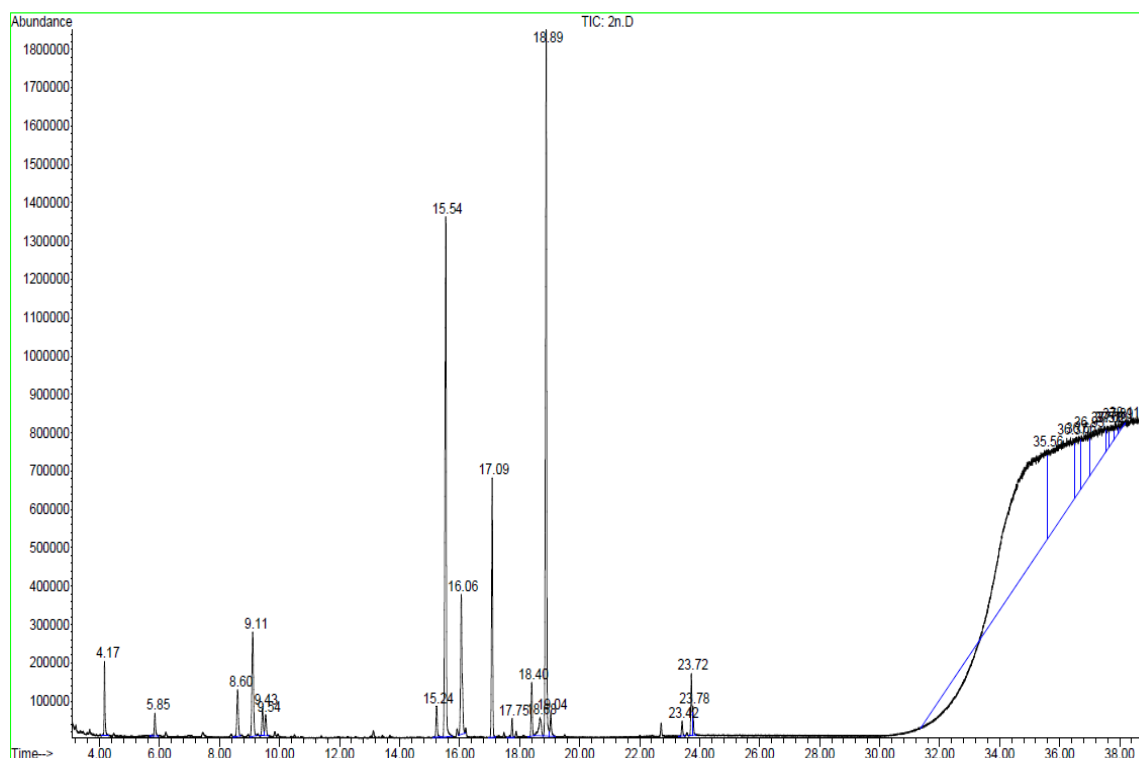


Рис. 3.8 Хроматограма ГХ/МС моноцукрів після кислотного гідролізу мильнянки лікарської трави

У складі полісахаридних комплексів мильнянки лікарської трави встановлено наявність та визначено кількісний вміст 8 моноцукрів після кислотного гідролізу, з яких ідентифіковано 7; вільних цукрів виявлено 10, ідентифіковано 4 компонент – D-глюкозу, D-галактозу, D-фруктозу і дицукор – сахарозу.

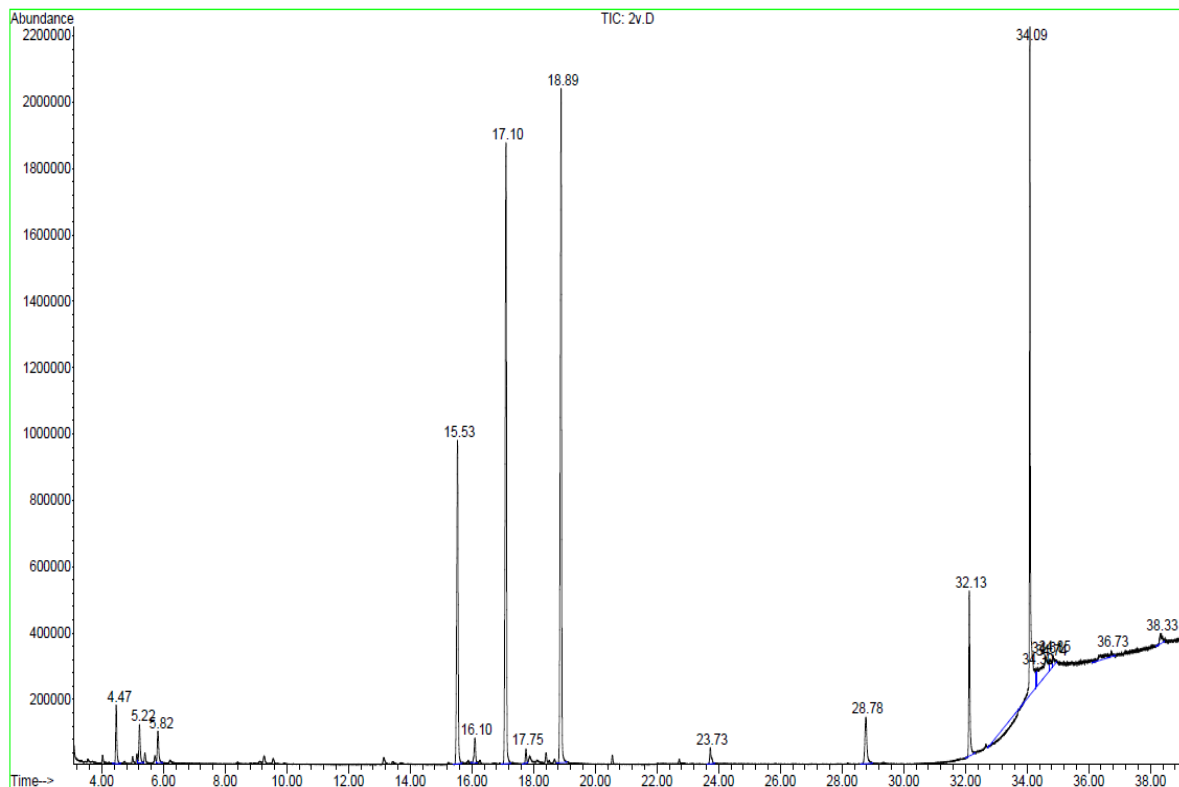


Рис. 3.9 Хроматограма ГХ/МС вільних моноцукрів і сахарози мильнянки лікарської трави

Вищий вміст моноцукрів після кислотного гідролізу спостерігали у кореневищах мильнянки лікарської. У підземних органах найбільше виявлено галактози (33,91 мг/г) і глюкози (23,08 мг/г); у траві – глюкози (30,25 мг/г). В обох досліджуваних об'єктах з вільних цукрів міститься **D**-глюкоза, **D**-галактоза і дицукор сахароза. Вміст сахарози був вищий у кореневищах мильнянки лікарської і становив 25,39 мг/г. Вміст сахарози у траві був у 6,8 рази менший і становив 3,72 мг/г.

3.4 Виявлення і визначення кількісного вмісту флавоноїдів

В етанольно-водних витяжках проводили виявлення якісного складу флавоноїдів у досліджуваній сировині мильнянки лікарської готували. Для порівняння використовували 0,1 % етанольний розчин рутину.

Ціанідінова проба (реакція з хлористоводневою концентрованою кислотою та металічним магнієм), при якій спостерігали появу рожевого забарвлення; реакція з 10 % розчином лугу, при якій спостерігали появу жовтого забарвлення; реакція з 10 % розчином ферум (III) хлориду, при якій спостерігали зелене забарвлення, та реакція з розчином плюмбуму ацетату середнім, при якій спостерігали утворення драглистого осаду жовтуватого кольору, підтвердили наявність сполук флавоноїдної природи у досліджуваній сировині мильнянки лікарської [29].

Результати ТШХ аналізу показали, що трава мильнянки лікарської містить ізокверцитрин і кемпферол; кореневища – кверцетин (див. розділ 2).

Результати кількісного визначення суми флавоноїдів наведено у таблиці 3.6.

Таблиця 3.6

Кількісний вміст суми флавоноїдів у сировині мильнянки лікарської

Сировина	Кількісний вміст суми флавоноїдів, %, на абсолютно суху сировину (n=5)
Кореневища	0,69±0,07
Трава	2,86±0,11

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

За результатами проведених досліджень кількісний вміст суми флавоноїдів у мильнянки лікарської траві 2,86 % у перерахунку на абсолютно суху сировину; у кореневищах був у 4.2 рази меншим і становив 0,69 %.

За результатами ВЕРХ-аналізу у досліджуваних об'єктах мильнянки лікарської ідентифіковано і встановлено кількісний вміст сполук флавоноїдної природи (рис 3.10 і 3.11 та табл. 3.8).

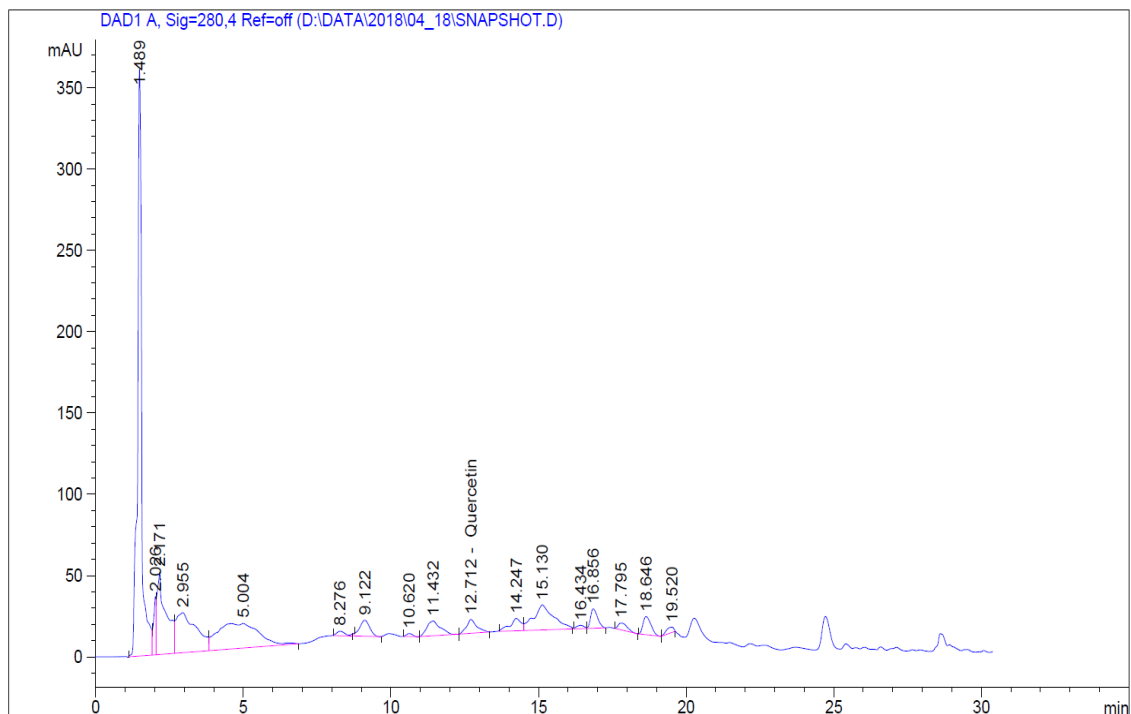


Рис.3.10 ВЕРХ-хроматограма мильнянки лікарської кореневищ при $\lambda = 280$ нм

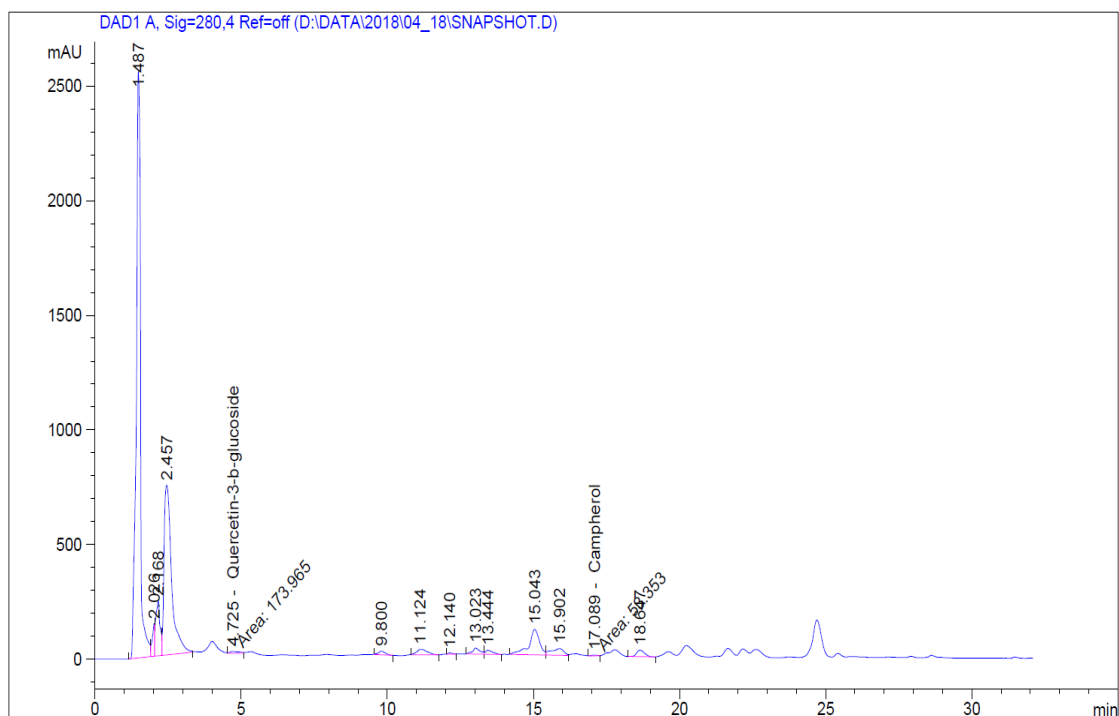


Рис.3.11 ВЕРХ-хроматограма мильнянки лікарської трави при $\lambda = 280$ нм

Результати дослідження показали, що у підземній частині мильнянки лікарської ідентифіковано кверцетин, вміст якого становив 109,98 мкг/г.

Одним із найпоширеніших флавоноїдів, що накопичується у вигляді глікозидів багатьма лікарськими рослинами, є кверцетин. Він є скавенджером вільних радикалів та має здатність активувати ферменти власного антиоксидантного захисту організму. Кверцетин має здатність проявляти протизапальну активність, що механізм якої забезпечується блокадою ліпооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти, при якому спостерігається зниження синтезу лейкотрієнів, серотоніну та інших медіаторів запалення. Підвищення кверцетином активності фагоцитів, Т- і В-лімфоцитів та продукції антитіл, забезпечує прояви вторинного імунодефіциту [23].

У надземній частині мильнянки лікарської виявлено ізокверцитрин (62,93 мкг/г) і кемпферол (4,85 мкг/г).

Слід відмітити, що досліджувана рослина містить незначну кількість сполук флавоноїдної природи [43].

3.5. Виявлення гідроксикоричних кислот і визначення їх кількісного вмісту у сировині мильнянки лікарської

Для виявлення даної групи сполук використовували етанольно-водні витяжки (на 20 % етанолі) та проводили реакцію з ферум (III) хлоридом. У результаті проведення даної реакції спостерігали зелено-сіре забарвлення розчину, що свідчило про наявність у сировині мильнянки лікарської сполук фенольної природи, в тому числі гідроксикоричних кислот.

Методом ТШХ в етанольно-водному екстракті мильнянки лікарської трави та кореневищ виявлено хлорогенову, неохлорогенову, кофейну, *p*-кумарову кислоти. Під впливом УФ-світла гідроксикоричні кислоти набували блакитного забарвлення різної інтенсивності, яке посилюється або змінюється під дією парів амоніаку, що характерно для похідних коричної кислоти.

Результати кількісного визначення суми гідроксикоричних кислот у сировині мильнянки лікарської наведено у таблиці 3.7.

Таблиця 3.7

Кількісний вміст гідроксикоричних кислот сировині мильнянки лікарської

Сировина	Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот, % у перерахунку на абсолютно суху сировину (n=5)
Кореневища	0,52±0,06
Трава	3,88±0,09

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

За результатами ВЕРХ-аналізу у досліджуваних об'єктах мильнянки лікарської ідентифіковано та визначено кількісний вміст індивідуальних гідроксикоричних кислот (рис 3.12 і 3.13, табл. 3.8).

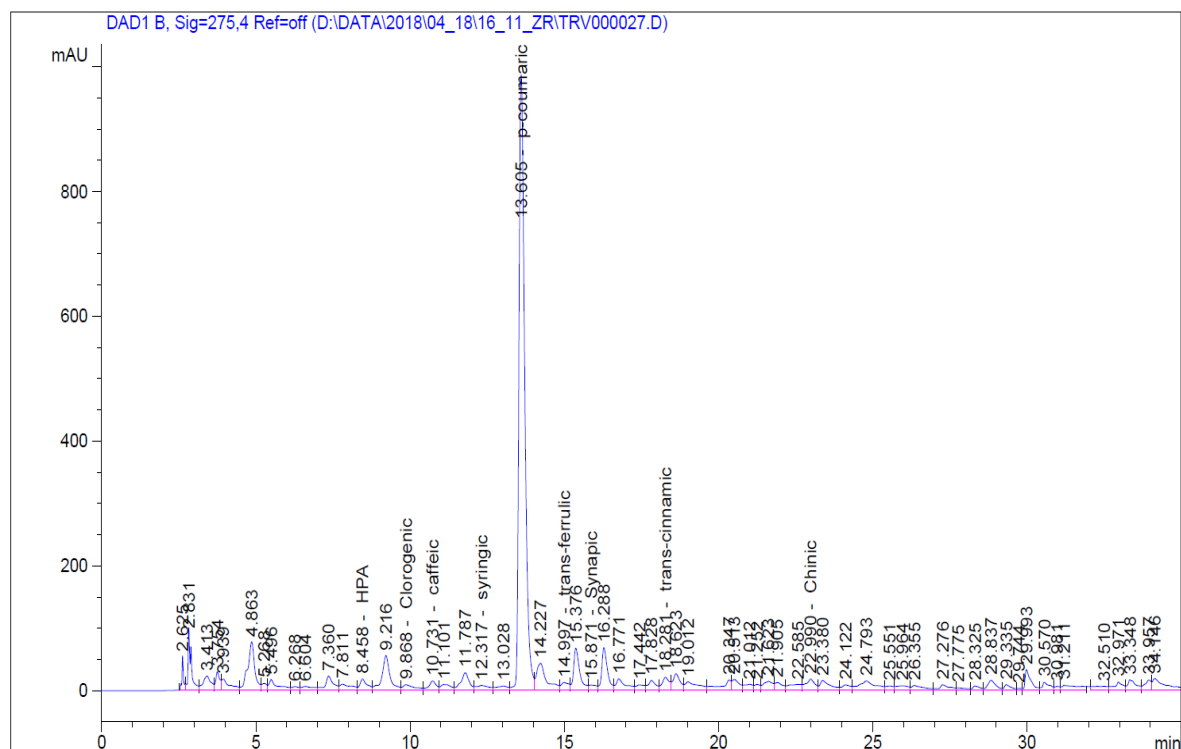


Рис.3.12 ВЕРХ-хроматограма мильнянки лікарської трави при $\lambda = 275$ nm

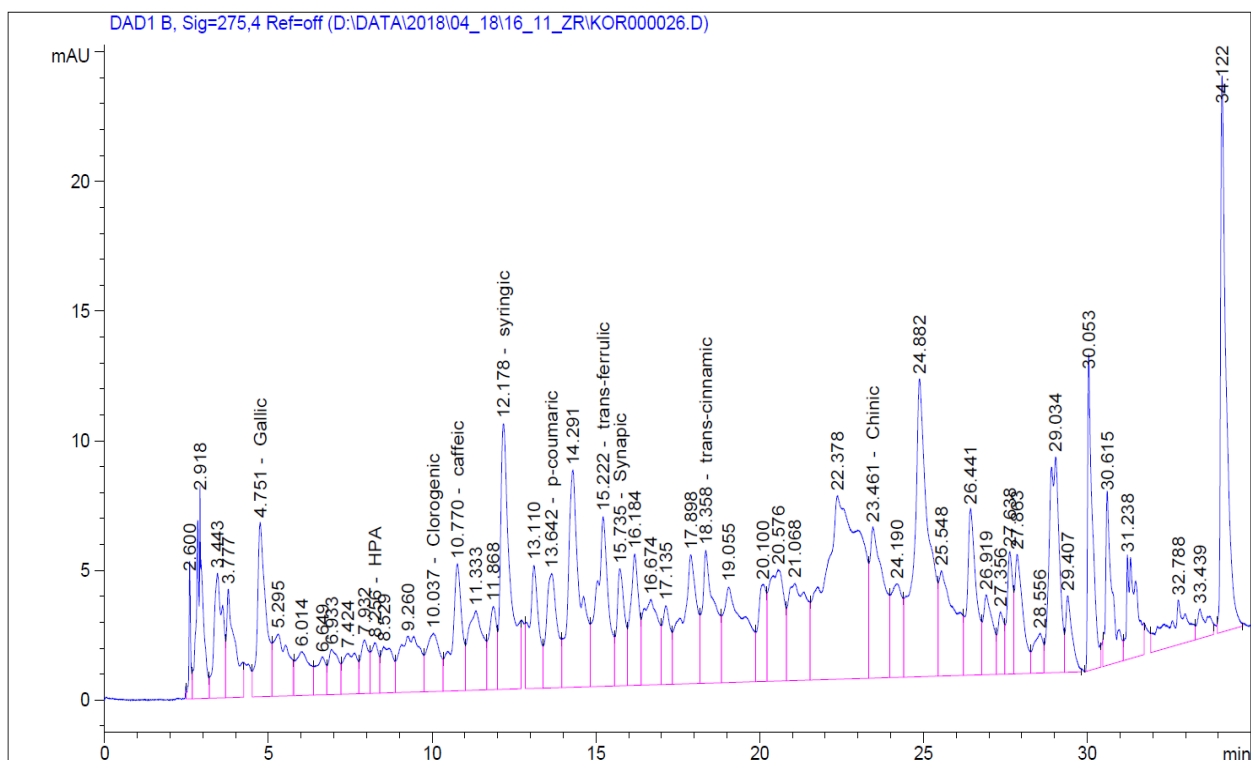


Рис.3.13 ВЕРХ-хроматограма мильнянки лікарської кореневищ при $\lambda = 275$ нм

Таблиця 3.8

**Компонентний склад індивідуальних фенольних сполук у сировині
мільнянки лікарської (метод ВЕРХ, мкг/г)**

Фенольні сполуки	Види сировини	
	Кореневища	Трава
1	2	3
Флавоноїди		
Кверцетин	109,98	н/в
Ізокверцитрин (кверцетин-3- D-глюкозид)	н/в	62,93
Кемпферол	н/в	4,85
Гідроксикоричні кислоти		
Хлорогенова кислота	129,20	480,41
Галова кислота	45,05	н/в
Кофейна кислота	60,40	149,13

<i>Продовж. табл. 3.8</i>		
1	2	3
Транс-ферулова кислота	54,36	75,55
<i>p</i> -Кумарова кислота	34,33	4420,20
Сирінгова кислота	64,27	70,44
Синапова кислота	20,98	41,39
Транс-цинамова кислота	16,58	42,54
Хінна кислота	3760,45	8840,74
Гідроксифенілацетатна кислота	13,13	124,49

Примітка. н/в – не виявлено.

Результати проведених досліджень показали, що мильнянки лікарської трава та кореневища мають значний вміст гідроксикоричних кислот.

У траві також ідентифіковано та визначено кількісний вміст 9 гідроксикоричних кислот. Найбільший вміст складала *p*-кумарока кислота, вміст якої становив 4420,20 мкг/г, найменше виявлено синапової кислоти – 41,39 мкг/г. У траві виявлено значний вміст хінної кислоти – 8840,74 мкг/г. Не виявлено у траві фенілкарбонової галової кислоти.

У підземних органах ідентифіковано та визначено кількісний вміст 10 сполук. Найбільше виявлено у кореневищах хінної кислоти, вміст якої становив 3760,45 мкг/г, найменше – гідроксифенілацетатної (13,13 мкг/г). У кореневищах виявлено 45,05 мкг/г галової кислоти.

У траві вміст гідроксикоричних кислот був вищий ніж у кореневищах.

Отже, сировину мильнянки лікарської можна рекомендувати для подальших технологічних та фармакологічних досліджень з метою створення на основі її БАР нових ефективних лікарських засобів.

ВИСНОВКИ

1. Проведено комплексне фітохімічне дослідження мильнянки лікарської трави та кореневищ. Встановлено наявність вільних цукрів, полісахаридів, органічних і жирних кислот, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот.

2. Досліджено полісахаридні комплекси мильнянки лікарської трави та кореневищ, виділено фракції ВРПС і ПР, кількісний вміст яких становив: ВРПС – трава – $(7,45 \pm 0,44)$ %, кореневища – $(8,55 \pm 0,33)$ %; ПР – трава – $(5,62 \pm 0,23)$ %, кореневища – $(5,35 \pm 0,24)$ %. Методом ГХ/МС встановлено моноцукровий склад і вміст сахарози у траві та кореневищах мильнянки лікарської. Встановлено у кореневищах найбільше галактози (33,91 мг/г) і глюкози (23,08 мг/г); у траві – глюкози (30,25 мг/г).

3. Методом ТШХ встановлено якісний склад органічних кислот у сировині мильнянки лікарської і виявлено у траві винну, бурштинову і сліди щавлевої кислоти, у кореневищах – щавлеву, лимонну і бурштинову кислоти. Визначено кількісний вміст суми вільних органічних кислот у мильнянки лікарської трави та кореневищах. Їх вміст становив $(1,04 \pm 0,02)$ % і $(0,89 \pm 0,01)$ %, відповідно. Методом ВЕРХ у мильнянки лікарської трави було ідентифіковано та встановлено кількісний вміст винної, піровиноградної, ізолимонної, бурштинової та фумарової кислот, у підземних органах – піровиноградної, ізолимонної, лимонної, бурштинової та фумарової кислот.

4. Методом ГХ/МС встановлено якісний склад і кількісний вміст жирних кислот у досліджуваній сировині мильнянки лікарської. У траві виявлено 10 кислот жирних, у кореневищах – 8. Кількісно у траві переважають поліненасичені кислоти жирні лінолева і ліноленова; у кореневищах – насичена кислота пальмітинова.

5. У мильнянки лікарської трави та кореневищах встановлено якісний склад та визначено кількісний вміст речовин фенольної природи: суми флавоноїдів – $(2,86 \pm 0,11)$ % і $(0,69 \pm 0,07)$ % і суми гідроксикоричних кислот – $(3,88 \pm 0,09)$ % і $(0,52 \pm 0,06)$ % у перерахунку на абсолютно суху сировину, відповідно.

6. Методом ВЕРХ виявлено, ідентифіковано та встановлено кількісний вміст у траві гідроксикоричних кислот (хлорогенової, кофейної, транс-ферулової, гідроксифенілацетатної, сирінгової, синапової, транс-цинамової і хінної), флавоноїдів (ізокверцитрину і кемпферолу); у кореневищах – гідроксикоричних кислот (галової, гідроксифенілацетатної, хлорогенової, кофейної, сирінгової, *p*-кумарової, транс-ферулової, синапової, транс-цинамової і хінної), флавоноїдів (кверцетину) відповідно. У траві не виявлено галової кислоти.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Верещагин А. Л., Кропоткина В. В., Хмелева А. Н. О механизме ростостимулирующего действия сверхмалых доз природных органических кислот. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2006. № 1. С. 46-48.

2. Дахим І. С., Гусак Л. В. Вміст окиснюваних фенолів і флавоноїдів у траві стокроток багаторічних культивованих. *Науково-технічний прогрес та оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*, 27-28 вересня 2013 р.: матеріали конференції. Тернопіль: ТДМУ, 2013. С. 36-37.

3. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., доп. 1. Х.: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.

4. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 2-е вид., Т. 3. Х.: Держ. п-во «Науково- експертний фармакопейний центр», 2014. 732 с.

5. Дослідження вмісту амінокислот і полісахаридів у надземних і підземних органах первоцвіту весняного / Л. Г. Шостак, С. М. Марчишин, М. І. Луканюк, О. Л. Демидяк. *Медична та клінічна хімія*. 2015. Т. 17. № 4. С. 47-53.

6. Дослідження гідроксикоричних кислот підземних органів катрану серцелистого та катрану коктебельського / О. Я. Скринчук, С. М. Марчишин, Л. В. Слободянюк, М. М. Когут. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22. № 4. С. 91-95.

7. Дослідження органічних кислот у траві та підземних органах *Saponaria officinalis* L. / Л. В. Костишин, Л. В. Слободянюк, С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, Л. Ю. Ляшенко. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22. № 4. С. 77-82.

8. Ендонова Г. Б., Анцупова Т. П., Жамсаранова С. Д. Химический состав и антиоксидантная активность экстрактов мыльнянки лекарственной. *Химия растительного сырья*. 2018. № 1. С. 137-143.

9. Ключкова, И. С., Юдина Т. П., Черевач Е. И. Экстракт *Saponaria officinalis* L. в технологии производства сбивных кондитерских изделий. *Кондитерское производство*. 2011. № 2. С. 12-15.

10. Костишин Л. В., Марчишин С. М., Ляшенко Л. Ю. Порівняльний аналіз якісного складу та кількісного вмісту речовин первинного синтезу у надземних і підземних органах мильнянки лікарської. *PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції* (Київ, 19 лютого 2021 р.). Електрон. дані. Київ, ПАЛИВОДА А. В., 2021. С. 113-114.

11. Куреннов И. П. Энциклопедия лекарственных растений. Самолечбник. / Изд. 2-е, испр. и доп. М.: Мартин, 2008. С. 193-194.

12. Марчишин С. М., Гусак Л. В., Бердей Т. С. Дослідження кислот гідроксикоричних трави чистецю Зібольда. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18, № 3. С. 13-16.

13. Марчишин С.М., Козачок С.С. Визначення вмісту вуглеводів у зборі антиалергійному. *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 3. С.78-82.

14. Марчишин С.М., Стойко Л. І., Дахим І. С. Визначення якісного складу та кількісного вмісту кислот гідроксикоричних у тирличу хрещатого трави (*Gentiana cruciata* L.). *Фармацевтичний журнал*. 2016. № 3-4. С. 76-81.

15. Методика підготовки та проведення лабораторних занять з фармакогнозії: навч.-метод. посіб. : у 2 т. / В. С. Кисличенко, С.М. Марчишин, З. І. Омельченко [та ін.]; за ред. В. С. Кисличенко, С. В. Огарь. Тернопіль : ТДМУ, 2016. Т. 1. 395 с.

16. Мильнянка (сапонарія) лікарська корисні властивості, застосування, протипоказання [Електронний ресурс]. М. І. Рабинович. Лікарські рослини у ветеринарній практиці, 1987. Режим доступу до інф.:<http://medbib.in.ua/myilnyanka-lekarstvennaya-saponaria.html> (дата звернення: 28.04.2021). Назва з екрану.

17. Мильнянка лікарська [Електронний ресурс] Травник. Режим доступу до інф.:
<http://dna.com.ua/4358-milnyanka-lkarska.html> (дата звернення: 28.04.2021). Назва з екрану.

18. Москаленко А. М., Попова Н. В. Дослідження складу жирних кислот безсмертника приквіткового (*Helichrysum bracteatum*). *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 4 (57). С. 64-68.

19. Оленников Д. Н., Танхаева Л. М. Методика количественного определения группового состава углеводного комплекса растительных объектов. *Химия растительного происхождения*. 2006. № 4. С. 29-33.

20. Определитель высших растений Украины / Акад. наук Украинской ССР; Ин-т ботаники им. Н. Г. Холодного; Редкол.: Ю. Н. Прокудин, Д. Н. Доброчаева, Б. В. Заверуха, В. И. Чопик; Авт.: М. И. Котов, Ю. Н. Прокудин, А. И. Барбарич и др. 2-е изд., стереот., с незначительными доп. и исправлениями. К. : Фитосоциоцентр, 1999. 548 с.

21. Опрошанська Т. В., Хворост О. П., Кудря В. В. Кількісний вміст суми органічних кислот у серіях сировини деяких представників родин *Polygonaceae*, *Rosaceae* та *Asteraceae*. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 3. С. 81-86.

22. Пальмітинова кислота [Електронний ресурс] Вікіпедія. Режим доступу до інформ.: <https://uk.wikipedia.org/wiki> (дата звернення: 4.05.2021). Назва з екрану.

23. Перспективи вивчення застосування препаратів кверцетину в лікуванні COVID-19 / І. А. Зупанець І.А., О.А., А. В. Шкурба [та ін.]. [Електронний ресурс] Український медичний часопис. 2021. Режим доступу до інформ.: <https://www.umj.com.ua/article/177136> (дата звернення: 5.05.2021). Назва з екрану.

24. Повний атлас лікарських рослин /уклад. Алексеев І. С. – Київ: ТОВ «Видавництво Глорія», 2018. С. 144-145.

25. Попова Н. В., Литвиненко В. И., Куцанян А. С. Лекарственные растения мировой флоры. Харьков: Діка плюс, 2016. С. 286-287.

26. Сафонов М. М. Повний атлас лікарських рослин. Тернопіль: Навчальна книга – Богдан, 2011. С. 149-150.

27. Словник української мови: в 11 тт. / АН УРСР. Інститут мовознавства; за ред. І. К. Білодіда. К.: Наукова думка, 1970-1980. Т. 4. С. 708.
28. Собаче мило [Електронний ресурс] Вікіпедія. Режим доступу до інф.: <https://uk.wikipedia.org/wiki> (дата звернення: 28.04.2021). Назва з екрану.
29. Солодовниченко Н. М., Журавльов М. С., Ковальов В. М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати : посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікарських рослин. Харків : Вид-во НФАУ : Золоті сторінки, 2001. 408 с.
30. Товстуха Є. С. Золоті рецепти української народної медицини. К.: КМ Publishing, 2010. С. 250-251.
31. Черных И. В., Ермолаева Г. А. Экстрагирование сухих веществ из корней мыльнянки *Saponaria officinalis* L. Пиво и напитки. 2015. № 2. С. 20-22.
32. Ющишена О. В., Цуркан О. О., Корабльова О. А. Жирні кислоти листя, стебел та суцвіть вітексу священного (*Vitex agnus-castus* L.). *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2014. № 1. С. 139-141.
33. Akusu O. M., Wordu G. O. Physicochemical properties and fatty acid profile of Allanblackia seed oil and African pear pulp oils. *International Journal of Biotechnology and Food Science*. 2019. Т. 7, № 2. С. 14-22.
34. Analysis of carboxylic acids of *Crambe cordifolia* Steven / S. Marchyshyn, L. Slobodianiuk, L. Budniak, O. Skrynychuk. *Pharmacia*. 2021. № 68 (1). P. 15-21.
35. Analysis of Fatty Acid Composition of Crude Seed Oil of *Lactuca sativa* L. by GC-MS and GC Methods / S. Afsharypuor [et al.]. *Trends in Pharmaceutical Sciences*. 2018. Т. 4. №. 2.
36. Analysis of phenolic compounds from *Polymnia sonchifolia* Poepp. et Endl. leaves by HPLC-method / S. Marchyshyn, N. Hudz, I. Dakhym, L. Husak, L. Mishchenko. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. № 6(7). P. 980-983.
37. Analysis of the monosaccharide composition of purified polysaccharides in *Ganoderma atrum* by capillary gas chromatography / Y. Chen, M. Y. Xie, Y. X. Wang [et al.]. *Phytochem Anal.* 2009. № 20(6) P. 503-510.

38. Antiproliferative quillaic acid and gypsogenin saponins from *Saponaria officinalis* L. roots / Y. Lu, D. Van, L. Deibert, G. Bishop, J. Balsevich. *Phytochemistry*. 2015. Vol. 113. P. 108-120.

39. Bittrich, V. *Caryophyllaceae*. In: Kubitzki, K., Rohwer, J.G., Bittrich, V. (Eds.), Families and Genera of Flowering Plants, 2. Berlin. vol. II Flowering Plants, Dicotyledons. Springer, Berlin, 1993. P. 206-236.

40. Bötger S., Melzig M. F. Triterpenoid saponins of the *Caryophyllaceae* and *Illecebraceae* family. *Phytochemistry Letters*. 2011. № 4. P. 59-68;

41. Effect of synthetic surfactants and soapwort (*Saponaria officinalis* L.) extract on skin-mimetic model lipid monolayers / I. Jurek, I. Góral, Z. Mierzyńska, K. Wojciechowski. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. 2019. Vol. 1861, Issue 3. P. 556-564.

42. Effect of triterpenoid saponins of field scabious, alfalfa, red clover and common soapwort on growth of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and *Fusarium culmorum* / J. Czaban, J. Mołdoch, B. Wróblewska [et al.]. *Allelopathy Journal*. 2013. № 32. P. 79-90.

43. Flavonoids as important biocomponents in some plant species and their mixtures with a wide range of pharmacological properties / A. Savych, S. Marchyshyn, O. Scrynychuk, L. Kostushyn, T. Lemishka, M. Kohut, L. Liashenko. *Scientific Collection «InterConf»*, (45): with the Proceedings of the 3th International Scientific and Practical Conference «Scientific Community: Interdisciplinary Research» (March 16-18, 2021). Hamburg, Germany: Busse Verlag GmbH, 2021. C. 269-273.

44. Guerrant G. O., Moss C. W. Determination of monosaccharides as aldonitrile, O-methyloxime, alditol, and cyclitol acetate derivatives by gas-chromatography. *Analytical Chemistry*. 1984. № 56 P. 633–638.

45. Highly polar triterpenoid saponins from the roots of *Saponaria officinalis* L. / B. Moniuszko-Szajwaj, M. Masullo, M. Kowalczyk [et al.]. *Helv. Chim. Acta*. 2016. Vol. 99. P. 347-354.

46. Investigation of phenolic compounds in the rhizomes with roots of *Primula denticulate* Smith, *Primula Juliae* Kusn., *Primula saxatilis* Kom. / A.

V. Sinichenko, S. M. Marchyshyn, L. V. Slobodianiuk, L. I. Budniak. *Phitotherapy. chasopys.* 2019. № 3. P. 26-31.

47. Jürgens, A., Witt T., Gottsberger G. Flower scent composition in *Dianthus* and *Saponaria* species (*Caryophyllaceae*) and its relevance for pollination biology and taxonomy. *Biochemical Systematics and Ecology.* 2003. Vol. 31(4). P. 345-357.

48. New triterpenoid saponins from the roots of *Saponaria officinalis* / B. Moniuszko-Szajwaj, Ł. Pecio, M. Kowalczyk [et al.]. *Natural Product Communications.* 2013. №. 8 (12). P. 1687-1690.

49. Phytochemical analysis of *Saponaria officinalis* L. shoots and flowers essential oils. / G. M. Petrović, M. D. Ilić, V. P. Stankov-Jovanović [et al.]. *Natural Product Research.* 2018. № 32 (3). P. 331-334.

50. Pyrzynska K., Sentkowska A. Chromatographic Analysis of Polyphenols. *Polyphenols in Plants.* Academic Press, 2019. P. 353-364.

51. Quantification of sugars and organic acids in tomato fruits / C. Agius, von S. Tucher, B. Poppenberger, W. Rozhon. *MethodsX.* 2018. Vol. 5. P. 537-550.

52. Ruthig D. J., Meckling-Gill K. A. Both (n-3) and (n-6) fatty acids stimulate wound healing in the rat intestinal epithelial cell line, IEC-6. *Journal of Nutrition.* 1999. Vol. 129 (10). P. 1791-1798.

53. Simopoulos Artemis P. Importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids: evolutionary aspects. *World Review of Nutrition and Dietetics Omega-6/Omega-3 Essential Fatty Acid Ratio: The Scientific Evidence.* 2003. P. 1-22.

54. The biological action of saponins in animal systems: a review / G. Francis, Z. Kerem, H.P.S. Makkar, K. Becker. *Br. J. Nutr.* 2002. Vol. 88. P. 587.

55. Triterpenoid saponins from *Caryophyllaceae* family / Z. Jia, K. Koike, N. P. Sahu, T. Nikaido. In *Studies in Natural Products Chemistry, Bioactive Natural Products*, Atta-ur-Rahman (Ed.), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 2002. № 26. P. 3-61.

56. Vincken J-P, Heng L, de Grot A, Gruppen H. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry.* 2007. Vol. 68. P. 275-297.

ДОДАТКИ