

## АНОТАЦІЯ

*Мохаммед Шахм Бассим*. Фармакогностичне вивчення *Prunus domestica* 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, 2021.

Дисертаційна робота присвячена фармакогностичному вивченню плодів сливи домашньої, стандартизації лікарської рослинної сировини, розробці оптимальної технології отримання лікарських рослинних засобів з проносною, гепатопротекторною, урикозурічною та мембраностабілізуючою активністю, їх стандартизації і розробці методик контролю якості (МКЯ).

У свіжих плодах шести найбільш поширених в Україні сортів – Блуфрри, Анна Шпет, Амерс, Стенлей, Угорка донецька та Ренклод – було проведено попереднє вивчення вмісту суми фенольних сполук, органічних кислот, гідроксикоричних кислот та флавоноїдів. На основі результатів проведених досліджень було обрано сливи сорту Стенлей для поглибленого вивчення та розробки на їх основі препаратів.

Проведено дослідження якісного складу біологічно активних речовин (БАР) свіжих плодів сливи домашньої сорту Стенлей за допомогою якісних реакцій, а також методами паперової, тонкошарової, газової, вискоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) та атомно-абсорбційної спектрометрії. У результаті проведених досліджень встановлено наявність водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, моносахаридів, спиртів, фенольних сполук у тому числі гідроксикоричних кислот та флавоноїдів, мінеральних елементів.

У п'яти серіях плодів сливи домашньої сорту Стенлей виявлено 13 макро- та мікроелементів. Сумарна кількість макро- та мікроелементів коливалась в межах від 674,03 до 740,62 мг/100 г. Вміст важких металів знаходився поза межами виявлення приладу, всі зразки плодів сливи домашньої відповідали вимогам Державної фармакопеї України (ДФУ).

У плодах сливи домашньої сорту Стенлей ідентифіковано 15 вільних амінокислот і 16 зв'язаних, з найбільшим вмістом серед вільних амінокислот: L-аланіну ( $0,81 \pm 0,01$  мкг/мг) та L-серину ( $0,51 \pm 0,01$  мкг/мг); серед зв'язаних амінокислот найбільшим вмістом відрізнялися L-аспарагінова ( $8,05 \pm 0,05$  мкг/мг), L-глутамінова ( $2,57 \pm 0,01$  мкг/мг), L-лейцин ( $1,00 \pm 0,01$  мкг/мг) та L-валін ( $0,96 \pm 0,01$  мкг/мг).

У ході проведених досліджень методом гравіметрії було визначено вміст у плодах сливи водорозчинних полісахаридів та пектинових речовин, а також сорбітолу та вільних цукрів методом хромато-мас-спектрометрії (ГХ-МС). Для вилучення пектинових речовин з плодів сливи був визначений оптимальний екстрагент гравіметрично. Встановлено, що оптимальним екстрагентом є 1 % розчин лимонної кислоти. Вихід пектинового комплексу при екстракції ним складав  $8,63 \pm 0,04$  %.

У отриманих полісахаридних комплексах та шроті спектрофотометрично було вивчено вміст нейтральних цукрів. Найбільший вміст нейтральних цукрів було визначено у ВРПС –  $61,52 \pm 1,47$  %, у шроті їх було –  $59,23 \pm 1,15$  %, у пектиновому комплексі –  $22,85 \pm 0,55$  %.

У сливи плодах свіжих сорту Стенлей методом ГХ-МС було виявлено: сорбітолу –  $1,91 \pm 0,01$  %, фруктози –  $2,90 \pm 0,01$  %, глюкози –  $3,51 \pm 0,01$  %; 7 органічних кислот, а саме: 4 дикарбонових, 1 трикарбонова, 1 аліциклічна кислота та аскорбінова кислота. Домінантними речовинами були яблучна ( $2010,25 \pm 91,39$  мг/100 г) та бурштинова кислоти ( $630,75 \pm 26,61$  мг/100 г). Уперше встановлено в плодах сливи домашньої сорту Стенлей, заготовлених в Україні, наявність фумарової кислоти.

У сливи плодах свіжих сорту Стенлей було проведено визначення складу фенольних сполук якісними реакціями та хроматографічними методами. Методом ВЕРХ було ідентифіковано флавоноїди рутин, кверцетин, нарингін; сумарний вміст ідентифікованих флавоноїдів складав  $419,69 \pm 3,94$  мкг/г; домінували рутин ( $183,53 \pm 0,76$  мкг/г) та кверцетин ( $161,20 \pm 0,45$  мкг/г). Також методом ВЕРХ були ідентифіковані 5 гідроксикоричних кислот: хлорогенова, кофейна, *p*-кумарова,

синапова й корична та 2 одноосновних кислоти ароматичного ряду – бензойна і сирінгова. Сумарний вміст визначених фенольних речовин складав  $105 \pm 2,73$  мкг/г;  $83,2 \pm 2,11$  % від суми усіх ідентифікованих методом ВЕРХ речовин припадало на гідроксикоричні кислоти. Уперше встановлено в плодах сливи домашньої сорту Стенлей, заготовлених в Україні, наявність синапової кислоти.

Спектрофотометрично було визначено вміст різних класів фенольних сполук у плодах сливи. Вміст суми фенольних сполук у перерахунку на пірогаллол у плодах сливи був  $1,98 \pm 0,02$  % (у перерахунку на суху сировину). Вміст антоціанів у плодах сливи свіжих складав  $0,02 \pm 0,001$  %. Вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин становив  $0,026 \pm 0,002$  %. Вміст суми гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту хлорогенову, у плодах сливи свіжих складав  $0,54 \pm 0,01$  %.

Проведено морфолого-анатомічне вивчення плодів сливи домашньої свіжих, отримані дані використані для стандартизації сировини згідно вимог ДФУ.

Проведено порівняльний аналіз показників якості плодів сливи домашньої, які регламентуються ДСТУ 21920-76 «Слива і алича крупноплідні свіжі. Технічні умови», СТ СЕВ 4304-83 «Сливи свіжі» і вимог ДФУ до стандартизації плодів сливи як лікарської рослинної сировини, та проаналізовано 5 серій сировини на відповідність цим вимогам. На основі порівняльного аналізу показників якості плодів сливи та власних досліджень було розроблено проєкт методик контролю якості (МКЯ) «Сливи домашньої плоди свіжі» за такими параметрами: макро- та мікроскопічні ознаки, ідентифікація А, В та С; випробування: сторонні домішки, інші домішки, втрата в масі при висушуванні, загальна зола, зола, не розчинна у хлористоводневій кислоті; кількісне визначення вмісту фенольних сполук у перерахунку на пірогаллол (не менш 1,8 %) спектрофотометрично, вмісту органічних кислот у перерахунку на яблучну кислоту (не менш 1 %) титриметрично.

Зі сливи домашньої плодів свіжих були розроблені схеми одержання екстрактів Прунофен та Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс (СДППК). Розроблена технологія комплексної переробки сливи є екологічно безпечною, характеризується доступністю, можливістю здійснення на

стандартному обладнанні в промислових умовах України; не вимагає роботи з отруйними та шкідливими для здоров'я людини речовинами, а також використовує в якості сировини плоди сливи домашньої, що мають достатню сировинну базу. Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель № 118457 і патентом України на винахід № 118602.

Схеми одержання екстрактів Прунофен та СДППК апробовано в умовах ПАТ «Хімфарм завод «Червона зірка»».

У отриманих за розробленою схемою екстрактах було вивчено методом ГХ-МС вміст спиртів: сорбітолу та гліцеролу, вільних моносахаридів та органічних кислот. Дослідження було проведено у порівнянні з вмістом цих речовин у отриманому з плодів сливи домашньої пектиновому комплексі. В усіх досліджуваних субстанціях встановлено наявність органічних кислот, найбільший вміст серед яких мала яблучна кислота. Загальний вміст органічних кислот у пектиновому комплексі складав  $15,41 \pm 0,12$  г/кг, у СДППК –  $12,93 \pm 0,10$  г/кг та у Прунофені –  $21,78 \pm 0,12$  г/кг у перерахунку на абсолютно суху речовину. Найбільший вміст бурштинової кислоти визначено у СДППК ( $2,13 \pm 0,01$  г/кг). Найбільший вміст аскорбінової кислоти спостерігався у препараті Прунофен ( $1,02 \pm 0,01$  г/кг).

Вміст сорбітолу і гліцеролу був найбільший у СДППК –  $10,47 \pm 0,05$  мг/100 мг та  $3,29 \pm 0,12$  мг/100 мг відповідно, що надавало підстави вважати його більш перспективний комплексом для визначення проносної дії. Вміст глюкози в усіх трьох субстанціях був більший ніж вміст фруктози: у Прунофені на 5,58 %, у СДППК на 17,50 %, а у пектиновому комплексі на 13,71 %.

У СДППК та пектиновому комплексі було визначено вміст амінокислот. У пектиновому комплексі було виявлено 15 вільних і 16 зв'язаних амінокислот. Найвищим був вміст L-аспарагінової кислоти, крім того встановлено наявність есенціальних амінокислот – треонін, валін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін та гістидин; лізин виявлений тільки у складі зв'язаних амінокислот. Сума зв'язаних амінокислот становила  $32,51 \pm 0,88$  мкг/мг, а вміст вільних – 3,62 % від суми зв'язаних амінокислот. Серед вільних амінокислот переважали L-аспарагін та L-

пролін, їх сума становила 44,07% від усіх амінокислот. Серед зв'язаних амінокислот домінували L-аспарагінова та L-глутамінова кислоти, що становило 35 % від загальної кількості зв'язаних амінокислот.

Амінокислотний склад СДППК мав відмінності у порівнянні з пектиновим комплексом. У ньому було виявлено 16 вільних амінокислот і 15 зв'язаних, метіонін знаходився тільки серед вільних амінокислот. Сума зв'язаних амінокислот у СДППК складала  $37,94 \pm 1,75$  мкг/мг, а вільних –  $2,29 \pm 0,92$  мкг/мг. Серед вільних амінокислот у СДППК домінували аспарагінова, глутамінова кислоти та серин, а серед зв'язаних амінокислот у СДППК домінували аспарагінова, глутамінова кислоти та лейцин і у сумі їх вміст складав 54,59 % від усіх вільних амінокислот.

Вільні амінокислоти переважали у СДППК у порівнянні з пектиновим комплексом на 94 %, а зв'язані – на 16,7 %.

Вміст та склад фенольних сполук вивчали хроматографічно методами ПХ, ТШХ та ВЕРХ у субстанції Прунофен. Загальна кількість визначених сполук становила  $2858 \pm 80$  мг/кг. На частину гідроксикоричних кислот припадало 97,00 %; флавоноїдів – 1,08 %, та фенольних кислот – 2,00 %. Були виявлені галова кислота, рутин, хлорогенова, неохлорогенова та кофейна кислоти. У найбільшій кількості в екстракті «Прунофен» містилася неохлорогенова кислота ( $2320 \pm 42$  мг/кг).

Також було проаналізовано вміст та склад летких сполук у екстракті Прунофен методом ГХ-МС та ідентифіковано 8 сполук з найбільшим вмістом 5-(гідроксиметил)-2-фуральдегіду, 1,2,3,5-циклогексантиролу та мальтолу.

Проведено дослідження елементного складу пектинового комплексу з плодів сливи домашньої свіжих та СДППК методом атомно-абсорбційної спектроскопії, було досліджено 21 елемент із найбільшим їх вмістом у СДППК. Домінантними елементами в усіх екстрактах були калій, силіцій, магній та кальцій. Арсен, кадмій, кобальт, ртуть, свинець та молібден не були виявлені в екстрактах.

Розроблено проект МКЯ на рідкий екстракт «Прунофен» за такими показниками: опис, ідентифікація (метод ТШХ), залишкові кількості органічних розчинників (етанол – не більше 1,0 %), сухий залишок (не менше 15 %), важкі метали (не більше 100 ppm), мікробіологічна чистота та вміст гідроксикоричних

кислот (не менше 0,6 %). Одержано та проаналізовано три серії екстракту Прунофен. Усі серії відповідали вимогам МКЯ.

Розроблено проєкт МКЯ на екстракт «Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс» за такими показниками: опис, розчинність, ідентифікація (метод ТШХ), залишкові кількості органічних розчинників (етанол – не більше 1,0 %), втрата в масі при висушуванні (не більше 5 %), важкі метали (не більше 100 ppm), мікробіологічна чистота та вміст моноцукрів у перерахунку на глюкозу не менше 60 %.

Уперше для отриманих екстрактів проведено визначення гострої токсичності та для екстракту Прунофен діуретичної, урікозуричної, мембраностабілізуючої активності; для екстракту СДППК – гепатопротекторної та проносної активності.

*Ключові слова:* слива домашня, плоди, біологічно активні речовини, екстракти, стандартизація, лікарські засоби, проносна, гепатопротекторна, діуретична, урікозурична, мембраностабілізуюча активність

#### *Список публікацій здобувача*

1. Мохаммед Шахм Б., Ленчик Л. В., Саидов Н. Б. Плоды сливы домашней – перспективное сырье для создания лекарственных средств. *Наука и инновации (научный журнал). Серия естественных наук.* 2017. № 4. С. 42-48. (Особистий внесок – дисертант брав участь у аналізі літературних даних про хімічний склад сливи домашньої та проведенні експериментальних досліджень).

2. Phytochemical and pharmacological study of polysaccharide complexes of *Prunus domestica* fruit / Т. Uyr, Shahm Basim Mohammed, Bashar Al-Jabbar Ali Sahlani, L. Lenchyk, I. Senyuk, V. Kyslychenko. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2018. №3 (13). P. 32-37. (Особистий внесок – дисертант брав участь у проведенні експериментальних досліджень з одержання полісахаридних комплексів та обробці результатів).

3. Сенюк І. В., Башар Джабар Аль Сахлані, Мохаммед Ш. Б. Вивчення гепатопротекторної дії екстрактів із плодів сливи домашньої Фармацевтичний

часопис. 2018. № 4. С. 57-61. (Особистий внесок – дисертант брав участь у проведенні експериментальних досліджень з одержання екстрактів, обробці результатів та оформленні статті)

4. Determination of phenolic compounds in *Prunus domestica* fruits extract and its pharmacological activity / S. B Mohammed, T. V. Upyr, O. M. Sharoval, L. V. Lenchyk, K. Georgiev. *Journal of IMAV*. 2019. № 25 (2). P. 2589-2594. (Особистий внесок – дисертант брав участь у проведенні експериментальних досліджень з одержання спиртового екстракту та аналізу фенольних сполук, обробці результатів та оформленні статті).

5. Вивчення мінерального складу субстанцій отриманих з плодів *Prunus domestica* / Шахм Б. Мохамед, Т. В. Упир, Л. В. Ленчик, М. А. Комісаренко. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. Шупика*. 2019. Вип. 33. С. 12-18. (Особистий внесок – дисертант брав участь у проведенні експериментальних досліджень з одержання субстанцій, обробці результатів та оформленні статті).

6. Study of amino acid composition of *Prunus domestica* fruits pectin complex / L. Lenchyk, T. Upyr, Shahm Mohammed, M. Komisarenko. *International Journal of Pharmacy and Chemistry. Special Issue: Drug Research: Current Insights for Search, Development and Analysis*. 2020. Vol. 6, № 5. P. 60-64. (Особистий внесок – дисертант брав участь у проведенні експериментальних досліджень з одержання комплексу пектинових речовин та оформленні статті).

7. Анализ субстанции из плодов *Prunus domestica* и перспективы создания детской лекарственной формы гепатопротекторного действия на ее основе / Шахм Б. Мохаммед, Л. В. Ленчик., И. А. Крикливая, Д. В. Упыр, Н. Б. Саидов, Г. Ф. Наврузова. *Наука и инновация (научный журнал)*. 2020. №1. С. 71-75. (Особистий внесок – дисертант брав участь у отриманні водорозчинного полісахаридного комплексу та оформленні статті).

8. Комісаренко А. М., Упир Т. В., Сенюк І. В., Башар Аль Джабар Алі Сахлані, Мохаммед Шахм Басім, Ленчик Л. В. Спосіб одержання засобу з послаблюючою активністю з плодів сливи домашньої: пат. на кор. мод. № 118457 Україна. № u 2017 01747; заявл. 23.02.2017; опубл. 10.08.17, Бюл. № 15. 4 с.

(Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, оформленні патенту).

9. Комісаренко А. М., Упир Т. В., Сенюк І. В., Башар Джабар Алі-Сахлані, Мохаммед Шахм Басім, Ленчик Л. В. Спосіб одержання водорозчинного полісахаридного комплексу з послаблюючою активністю з плодів сливи домашньої: пат. винахід 118602 Україна. № а 2017 02117; заявл. 06.03.2017; опубл. 11.02.2019, Бюл. № 3. (Особистий внесок – участь у проведенні експерименту, узагальненні результатів, оформленні патенту).

10. Mohammed S. B., Upry T. V., Lenchyk L. V. Study of phenolic compounds in prunes. *The 9th International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy*, Kaunas, 9 November 2018. Kaunas: LSMU, 2018. P. 44.

11. Мохаммед Шахм Басим, Ленчик Л. В., Упир Т. В. Визначення вмісту фенольних сполук в субстанціях одержаних з плодів *Prúnus doméstica*. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: Матеріали III Міжнародної науково-практичної internet-конференції*, м. Харків, 26-28 листопада 2018 р. Х.: НФаУ, 2018. С. 152 – 153.

12. Мохаммед Шахм Басим, Упир Т. В. Вивчення мікроелементного складу плодів *Prunus domestica*. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: Матеріали III міжнародної науково-практичної конференції*, м. Харків, 14-15 березня 2019 р. Х.: НФаУ, 2019. С. 181.

13. Mohammed S. B., Upry T. V., Lenchyk L. V. Determination of carbon acids composition and content in the "Prunofit" and polysaccharide complex obtained from *Prunus domestica* fruits. *Topical issues of new drugs development: XXVI international scientific and practical conference of young scientists and students*, Kharkiv, April 10-12 2019. Kharkiv: NUPh, 2019. P 51.

14. Trutayev S. I., Mohammed Shahm B., Lenchyk L. V., Trutayeva L. M. Determination of carboxylic acids in the extract of *Prunus domestica* fruits. *Medicine under the modern conditions of integration development of European countries: international scientific conference*, Lublin, May 10-11 2019. Lublin. 2019, P. 271-274.



15. Мохамед Ш. Б., Упир Т. В., Ленчик Л. В. Вивчення летких сполук екстракту «Прунофен» з плодів сливи. *Науково-практична конференція з міжнародною участю “Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку”*, присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р. Х.: НФаУ, 2019. С. 232-233.

16. Мохаммед Шахм Бассім, Упир Т. В., Ленчик Л. В. Стандартизація рідкого екстракту з плодів сливи домашньої. *PLANTA+*. *Досягнення та перспективи: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження)*, м. Київ, 20–21 лютого 2020 р. К.: ПАЛИВОДА А. В., 2020. С. 120-121.

17. Shahm Mohammed, Uyr T., Lenchyk L. V. Study of amino acids composition of *Prunus domestica* fruits. *Topical issues of new medicines development: матеріали XXVII Міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів*, м. Харків, 8-10 квітня 2020 р. Х.: НФаУ, 2020. С. 60-61.

18. Mohammed Sh. B., Lenchyk L. V. Determination of sugar alcohols and monosaccharides in extract “Prunophen”. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: матеріали II Міжнар. наук. -практ. інтернет-конф.* м. Харків, 11 березня 2020 р. Х.: НФаУ, 2020. С. 8.