

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медико-фармацевтичний університет

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

МАЦЕГОРОВА ОЛЬГА ЄВГЕНІВНА

УДК: 615.322:582.776.2].015.4.074

ДИСЕРТАЦІЯ
ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МИРТУ ЗВИЧАЙНОГО
(*MYRTUS COMMUNIS* L.)

22 – Охорона здоров'я
226 – Фармація, промислова фармація

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ О.Є. Мацегорова

Науковий керівник: Одинцова Віра Миколаївна, доктор фармацевтичних наук,
професор

Запоріжжя – 2026

АНОТАЦІЯ

Мацегорова О.Є. Фармакогностичне дослідження мирту звичайного (*Myrtus communis* L.) – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – Фармація, промислова фармація (22 Охорона здоров'я).

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, МОЗ України, Запоріжжя, 2026.

Робота виконана на базі кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медико-фармацевтичного університету протягом 2022-2026 років.

Дисертаційна робота присвячена комплексному порівняльному фармакогностичному дослідженню мирту звичайного листя (*Myrtus communis* L.), вирощеного в умовах *in vivo* та отриманого генетично однорідного матеріалу методом мікроклонального розмноження в умовах *in vitro*, як біотехнологічно обґрунтованої та ресурсозберігаючої альтернативи традиційному заготівельному процесу. Дослідження спрямоване на одержання лікарських рослинних субстанцій, розробку методів контролю якості лікарської рослинної сировини та субстанцій рослинного походження з метою створення лікарських засобів із протизапальною, протимікробною та антирадикальною активністю (АРА), що відповідають принципам екологічної безпеки, раціонального використання природних ресурсів і сталого розвитку фармацевтичної галузі.

Із застосуванням реакцій ідентифікації, методів тонкошарової хроматографії (ТШХ), високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) та газової хромато-мас-спектрометрії (ГХ/МС) у досліджуваних об'єктах встановлено наявність низки груп біологічно активних речовин (БАР), зокрема моносахаридів, амінокислот, фенольних сполук (поліфенолів, флавоноїдів, ГКК,

катехинів), а також летких сполук. Для зазначених груп БАР визначено їх кількісний вміст.

Методом ГХ/МС встановлено мономерний склад вуглеводного комплексу *M. communis* листя, вирощеного в умовах *in vivo* та генетично однорідного матеріалу *in vitro*. Ідентифіковано відповідно 8 та 9 вільних вуглеводів, серед яких домінували глюкоза (5,04 мг/г та 7,52 мг/г), лактон глюкуронової кислоти (2,75 мг/г та 7,93 мг/г) і цукроза (1,24 мг/г та 6,37 мг/г). Після кислотного гідролізу та дериватизації у сировині виявлено арабінозу, фукозу, ксилозу, манозу, глюкозу, інозит, манітол, галактозу та фруктозу; у зразках, вирощених *in vivo*, додатково ідентифіковано мукоїнозитол гексаацетат. Провідним загальним моносахаридом в обох зразках була глюкоза, вміст якої становив 13,68 мг/г (*in vivo*) та 32,78 мг/г (*in vitro*). Загальний вміст вільних моносахаридів у сировині, отриманій *in vitro* (25,6 мг/г), у два рази перевищував відповідний показник зразків *in vivo* (11,8 мг/г), тоді як вміст загальних моносахаридів становив 70,7 мг/г та 45,0 мг/г відповідно, що свідчить про інтенсивнішу акумуляцію вуглеводів за умов біотехнологічного культивування.

Методом ГХ/МС у *M. communis* листі, вирощеного в умовах *in vivo*, ідентифіковано 16 амінокислот, з яких 7 перебували у вільному стані. Домінуючими серед загальної фракції були фенілаланін (20,24 мг/г) та лейцин (20,21 мг/г). Найвищий вміст серед вільних амінокислот відзначено для аспарагінової кислоти (0,58 мг/г) та аланіну (0,49 мг/г). У зразках, отриманих в умовах *in vitro*, виявлено 13 амінокислот із переважанням фенілаланіну (11,57 мг/г), тоді як вільна фракція була представлена лише аспарагіновою кислотою (0,78 мг/г) та аланіном (0,11 мг/г). Загальний вміст амінокислот у природній сировині (*in vivo*) становив 141,42 мг/г і майже вдвічі перевищував відповідний показник культури *in vitro* (71,75 мг/г).

За результатами спектрофотометричного аналізу встановлено, що вміст суми поліфенолів у зразках *in vivo* та *in vitro* є практично ідентичним і становить відповідно 3,28 % та 3,27 %. Водночас вміст флавоноїдів (у перерахунку на кверцетин) у природній сировині був вищим і становив 1,02 % порівняно з

0,82 % у культурі *in vitro*. Дані ВЕРХ підтвердили зазначену тенденцію: загальний вміст флавоноїдів у зразках *in vivo* (6101,18 мкг/г) майже вдвічі перевищував відповідний показник у зразках *in vitro* (3378,2 мкг/г). В обох типах сировини домінували рамнетин (*in vivo* – 4529,31 мкг/г; *in vitro* – 2344,0 мкг/г) та рутин (*in vivo* – 719,92 мкг/г; *in vitro* – 466,41 мкг/г).

Показники вмісту суми ГКК виявилися близькими за значеннями: 0,61 % у зразках *in vivo* та 0,58 % у сировині, отриманій *in vitro*. За результатами ВЕРХ-аналізу, в ході якого ідентифіковано 10 компонентів, загальний вміст ГКК у сировині *in vivo* становив 11552,0 мкг/г, тоді як у зразках *in vitro* – 9547,78 мкг/г. Найбільш домінуючими сполуками в обох видах сировини були галова та гідроксифенілацетатна кислоти, вміст яких у зразках *in vivo* становив відповідно 6794,2 мкг/г та 3173,5 мкг/г, а у зразках *in vitro* – 3462,17 мкг/г та 1890,91 мкг/г.

Крім того, у мирту звичайного листі, вирощеного в природних умовах (*in vivo*), визначено катехіновий профіль, представлений катехіном (661,33 мкг/г), галокатехіном (271,06 мкг/г), епікатехінгалатом (122,42 мкг/г) та пірокатехіном (73,15 мкг/г).

За результатами ГХ/МС у складі ефірної олії *M. communis* ідентифіковано 40 летких сполук, у тому числі 3 в ізомерному стані, з переважанням міртенілацетату (24,12 %) та ліналоолу (16,73 %), що дозволяє віднести ефірну олію до міртенілацетатно-ліналоольного хемотипу.

Порівняльний аналіз летких сполук показав, що біотехнологічне культивування в умовах *in vitro* інтенсифікує процеси вторинного метаболізму, забезпечуючи зростання їх загального вмісту (834,73 мкг/г) порівняно з природною сировиною (*in vivo*, 603,35 мкг/г). У мирту звичайного листі, вирощеного в умовах *in vivo*, домінував ліналоол (140,70 мкг/г), тоді як в умовах *in vitro* спостерігалось різке пригнічення його накопичення (до 4,86 мкг/г). Водночас біотехнологічне культивування сприяло гіперпродукції міртенілацетату, вміст якого зріс до 317,39 мкг/г порівняно з 138,57 мкг/г у природній сировині. В обох типах сировини домінували оксигеновані монотерпени.

У дисертаційній роботі наведено результати морфолого-анатомічного дослідження *M. communis* листя, визначено основні діагностичні макро- та мікроскопічні ознаки лікарської рослинної сировини. За допомогою трансмісійної електронної мікроскопії досліджено ультраструктуру клітин меристеми та клітин, прилеглих до секреторних вмістищ *M. communis*. Встановлено наявність зрілих секреторних вмістищ, у просвіті яких локалізуються залишки клітин, оточені метаболічно активними клітинами, а також старіючими, більш темними клітинами з пониженою чіткістю органел і звивистими стінками.

Вперше розроблено проекти методів контролю якості (МКЯ) на нову лікарську рослинну сировину. Запропоновано здійснювати контроль якості мirtу звичайного листя за такими показниками: макро- та мікроскопічний аналіз; ідентифікація фенольних сполук методом тонкошарової хроматографії (ТШХ); фізико-хімічні показники якості – втрата в масі при висушуванні ($\leq 9,0$ %), загальна зола ($\leq 7,5$ %), зола, нерозчинна в 10 % розчині хлористоводневої кислоти ($\leq 3,0$ %), вміст екстрактивних речовин ($\geq 30,0$ %); кількісне визначення флавоноїдів і похідних гідроксикоричних кислот спектрофотометричним методом (не менше 0,80 % у перерахунку на кверцетин та суху сировину та 0,60 % у перерахунку на хлорогенову кислоту та суху сировину відповідно).

Розроблено технологічну схему одержання густих екстрактів із мirtу звичайного листя, що передбачає екстракцію 70 % етанолом у співвідношенні сировина-екстрагент 1:5 методом ремацерації протягом 3 діб з подальшим упарюванням екстрактів до залишкової вологості 15-25 % у роторному випарювачі.

За результатами ГХ/МС у густих екстрактах мirtу звичайного (*in vivo* та *in vitro*) ідентифіковано по 9 сполук вільних вуглеводів, серед яких домінували лактон глюкуронової кислоти (27,31 мг/г (*in vivo*) та 18,50 мг/г (*in vitro*)) та глюкоза (18,12 мг/г та 14,89 мг/г відповідно). Загальний вміст вільних моносахаридів у густому екстракті, отриманому з природної сировини (*in vivo*),

становив 67,0 мг/г, тоді як у екстракті, одержаному з культури *in vitro* – 53,5 мг/г. У складі загальних моносахаридів також переважала глюкоза, вміст якої становив 33,92 мг/г (*in vivo*) та 22,19 мг/г (*in vitro*). Загальний вміст загальних моносахаридів був вищим у екстракті *in vivo* (60,8 мг/г) порівняно з екстрактом *in vitro* (36,9 мг/г).

Методом ГХ/МС у густому екстракті мирту (*in vivo*) ідентифіковано 12 амінокислот (6 – у вільному стані) з переважанням аспарагінової кислоти (3,71 мг/г), гліцину (1,84 мг/г) та метіоніну (1,67 мг/г). Екстракт, отриманий із сировини *in vitro*, містив 13 амінокислот (5 – у вільному стані), серед яких домінували аспарагінова кислота (1,57 мг/г) та фенілаланін (1,17 мг/г). Загальний вміст амінокислот у екстракті *in vivo* (13,53 мг/г) майже вдвічі перевищувала аналогічний показник екстракту *in vitro* (7,36 мг/г).

Порівняльний аналіз густих екстрактів мирту звичайного методом ВЕРХ засвідчив практично ідентичний загальний вміст флавоноїдів (близько 5350 мкг/г), водночас виявив суттєві відмінності у їх якісному профілі. Домінуючим компонентом в обох густих екстрактах був рамнетин, проте його вміст, як і вміст неогесперидину, був значно вищим у екстракті, отриманому з культури *in vitro*. Натомість густий екстракт із природної сировини (*in vivo*) характеризувався підвищеним вмістом фісетину. Крім того, встановлено наявність специфічних сполук: кемпферол-3- β -глікозид ідентифіковано виключно у екстракті, одержаному з сировини *in vivo*, тоді як кверцетин виявлено лише у густому екстракті, одержаному *in vitro*.

За результатами ВЕРХ-аналізу встановлено високий та порівнянний загальний вміст ГКК у густих екстрактах мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo* (25864,64 мкг/г) та *in vitro* (25159,62 мкг/г). В обох зразках домінувала галова кислота, вміст якої становив 16942,09 мкг/г (*in vivo*) та 13258,89 мкг/г (*in vitro*). Густий екстракт, отриманий *in vitro*, характеризувався вищою концентрацією гідроксикоричних кислот (хлорогенової, сирінгової, *p*-кумарової та синапової), а також специфічною наявністю кофейної кислоти (3014,28 мкг/г). Натомість у екстракті *in vivo* ідентифіковано

гідроксифенілацетатну (5747,03 мкг/г) та хінну кислоти (643,15 мкг/г), які були відсутні у екстракті сировини, культивованої мікроклональним способом.

За даними ГХ/МС у густих екстрактах мирту звичайного ідентифіковано 36 (*in vivo*) та 29 (*in vitro*) леткі сполуки. В обох зразках домінуючим компонентом був міртенілацетат (1620,16 мкг/г та 1240,93 мкг/г відповідно). Значний вміст також відзначено для ліналоолу. Загальний вміст летких сполук у густому екстракті, одержаному з природної сировини (*in vivo*), становив 6117,12 мкг/г і був вищим порівняно з екстрактом біотехнологічної культури (*in vitro*), у якому цей показник складав 4117,58 мкг/г.

Фармакологічні дослідження *in vivo* підтвердили безпечність густих екстрактів *M. communis*: показник LD₅₀ для екстракту, отриманого з сировини *in vivo*, становив ≥ 5000 мг/кг, тоді як для екстракту *in vitro* – у межах 2000-5000 мг/кг. Відповідно до класифікації GHS, обидва досліджувані екстракти належать до 5 категорії токсичності (практично нетоксичні речовини).

На моделі серотонінового набряку встановлено виражену антиексудативну активність густих екстрактів, яка становила 33,55 % для зразка *in vivo* та 35,69 % для зразка *in vitro* і за ефективністю не поступалася препарату порівняння – ібупрофену. Досліджувані екстракти достовірно знижували рівні біохімічних маркерів запалення та оксидативного стресу. Найвищу фармакологічну ефективність продемонстрував екстракт *in vitro*, який забезпечував зниження концентрації С-реактивного білка на 53,11 % та ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) – на 56,52 %. Одночасно відзначено підвищення рівнів загального білка та альбуміну на 15,95 % і 16,34 % відповідно, що свідчить про відновлення метаболічного гомеостазу. Для екстракту *in vivo* зазначені показники становили: зниження рівня С-реактивного білка – 51,45 %, ТБК-АП – 53,33 %; підвищення загального білка – 13,62 % та альбуміну – 15,03 %.

Дослідження антимікробної активності, проведені диско-дифузійним методом, підтвердили високу чутливість грампозитивних бактерій (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) до обох екстрактів, при цьому зразок *in vitro* характеризувався дещо вищою ефективністю. Стосовно грамнегативних

мікроорганізмів (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) та грибів *Candida albicans* статистично значущих відмінностей у антимікробній активності між екстрактами не виявлено.

Обидва густі екстракти проявили високу антиоксидантну активність, ефективно нейтралізуючи вільні радикали у тесті з DPPH. Значення IC₅₀ становили 2,14 мкг/мл для екстракту *in vivo* та 2,26 мкг/мл для екстракту *in vitro*, що за потужністю наближається до еталонного показника аскорбінової кислоти (1,31 мкг/мл).

На підставі отриманих результатів розроблено параметри стандартизації та проєкт МКЯ на лікарську рослинну субстанцію «Мирту звичайного екстракт густий». Контроль якості запропоновано здійснювати за такими показниками: технологія виробництва, органолептичні властивості, ідентифікація фенольних сполук методом ТШХ, мікробіологічна чистота та вміст важких металів. Кількісну стандартизацію рекомендовано проводити спектрофотометричним методом з нормуванням вмісту флавоноїдів та гідроксикоричних кислот не менше 3,50 % у перерахунку на кверцетин та суху сировину і 2,50 % у перерахунку на хлорогенову кислоту та суху сировину відповідно.

Ключові слова: мирт звичайний, мікроклональне розмноження в умовах *in vitro*, листок, біологічно активні речовини, морфологічна та анатомічна будова, густий екстракт, ефірна олія, протизапальна активність, антимікробна активність, антиоксидантний ефект, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), газова хроматографія-мас-спектрометрія (ГХ-МС), спектрофотометричний метод, галова кислота.

ABSTRACT

Matsehorova O. Ye. Pharmacognostic Study of Common Myrtle (*Myrtus communis* L.) – Qualifying Scientific Work as a Manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 226 “Pharmacy, Industrial Pharmacy”. – Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2026.

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2026.

The work was carried out at the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany of Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University during 2022–2026.

The dissertation is devoted to a comprehensive comparative pharmacognostic study of common myrtle leaves (*Myrtus communis* L.) grown under *in vivo* conditions and genetically homogeneous material obtained via microclonal propagation *in vitro*, as a biotechnologically grounded and resource-saving alternative to the traditional harvesting process. The research is aimed at obtaining herbal substances, developing quality control methods for herbal drugs and substances of plant origin for the purpose of creating medicinal products with anti-inflammatory, antimicrobial, and antiradical activity, which comply with the principles of environmental safety, rational use of natural resources, and the sustainable development of the pharmaceutical industry.

Using identification reactions, thin-layer chromatography (TLC), high-performance liquid chromatography (HPLC), and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), the presence of a number of groups of biologically active substances (BAS) was established in the studied objects, including monosaccharides, amino acids, phenolic compounds (polyphenols, flavonoids, hydroxycinnamic acids (HCA), catechins), as well as volatile compounds. The quantitative content for the specified groups of BAS was determined.

The monomeric composition of the carbohydrate complex in *M. communis* leaves, grown *in vivo* and as genetically homogeneous *in vitro* material, was determined using the GC/MS method. Specifically, 8 and 9 free carbohydrates were identified, among which glucose (5.04 mg/g and 7.52 mg/g), glucuronic acid lactone (2.75 mg/g and 7.93 mg/g), and sucrose (1.24 mg/g and 6.37 mg/g) predominated. After acid hydrolysis and derivatization, arabinose, fucose, xylose, mannose, glucose, inositol, mannitol, galactose, and fructose were detected in the raw material; in samples grown *in vivo*, muco-inositol hexaacetate was additionally identified. The leading general monosaccharide in both samples was glucose, the content of which was 13.68 mg/g (*in vivo*) and 32.78 mg/g (*in vitro*). The total content of free monosaccharides in the raw material obtained *in vitro* (25.6 mg/g) was twice as high as the corresponding indicator of *in vivo* samples (11.8 mg/g), while the total content of general monosaccharides was 70.7 mg/g and 45.0 mg/g, respectively, indicating more intensive accumulation of carbohydrates under biotechnological cultivation conditions.

Using the GC-MS method, 16 amino acids were identified in *M. communis* leaves grown *in vivo*, of which 7 were in a free state. Phenylalanine (20.24 mg/g) and leucine (20.21 mg/g) predominated in the total fraction. Among the free amino acids, the highest content was noted for aspartic acid (0.58 mg/g) and alanine (0.49 mg/g). In samples obtained *in vitro*, 13 amino acids were detected, with a predominance of phenylalanine (11.57 mg/g), while the free fraction was represented only by aspartic acid (0.78 mg/g) and alanine (0.11 mg/g). The total amino acid content in the natural raw material (*in vivo*) was 141.42 mg/g, nearly double that of the *in vitro* culture (71.75 mg/g).

Based on the results of spectrophotometric analysis, it was established that the total polyphenol content in *in vivo* and *in vitro* samples is practically identical, at 3.28% and 3.27%, respectively. At the same time, the flavonoid content (calculated as quercetin) in the natural raw material was higher, at 1.02% compared to 0.82% in the *in vitro* culture. HPLC data confirmed this trend: the total flavonoid content in *in vivo* samples (6101.18 µg/g) was almost twice as high as in *in vitro* samples (3378.2 µg/g).

In both types of raw material, ramnetin (*in vivo* – 4529.31 $\mu\text{g/g}$; *in vitro* – 2344.0 $\mu\text{g/g}$) and rutin (*in vivo* – 719.92 $\mu\text{g/g}$; *in vitro* – 466.41 $\mu\text{g/g}$) predominated.

The total hydroxycinnamic acid content showed similar values, amounting to 0.61% in *in vivo* samples and 0.58% in the material obtained *in vitro*. According to the HPLC results, which identified 10 components, the total content of phenolic carboxylic acids in *in vivo* raw material was 11,552.0 $\mu\text{g/g}$, while in *in vitro* samples, it was 9,547.78 $\mu\text{g/g}$. The most dominant compounds in both types of raw material were gallic and hydroxyphenylacetic acids, the contents of which in *in vivo* samples were 6,794.2 $\mu\text{g/g}$ and 3,173.5 $\mu\text{g/g}$, respectively, and in *in vitro* samples – 3,462.17 $\mu\text{g/g}$ and 1,890.91 $\mu\text{g/g}$.

Additionally, in myrtle leaves grown under natural conditions (*in vivo*), a catechin profile was determined, represented by catechin (661.33 $\mu\text{g/g}$), gallocatechin (271.06 $\mu\text{g/g}$), epicatechin gallate (122.42 $\mu\text{g/g}$), and pyrocatechin (73.15 $\mu\text{g/g}$).

Based on the results of Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS), 40 volatile compounds were identified within the essential oil of *M. communis*, including three in isomeric states. The composition was dominated by myrtenyl acetate (24.12%) and linalool (16.73%), which allows for the classification of this essential oil as a myrtenyl acetate-linalool chemotype.

Comparative analysis of the volatile compounds demonstrated that *in vitro* biotechnological cultivation intensifies secondary metabolism processes, ensuring an increase in their total content (834.73 $\mu\text{g/g}$) compared to the natural raw material (*in vivo*, 603.35 $\mu\text{g/g}$). In common myrtle leaves grown under *in vivo* conditions, linalool was the dominant component (140.70 $\mu\text{g/g}$), whereas under *in vitro* conditions, a sharp suppression of its accumulation was observed (down to 4.86 $\mu\text{g/g}$). Simultaneously, biotechnological cultivation promoted the hyperproduction of myrtenyl acetate, the content of which increased to 317.39 $\mu\text{g/g}$ compared to 138.57 $\mu\text{g/g}$ in the *in vivo* samples. Oxygenated monoterpenes remained the dominant fraction in both types of raw material.

The dissertation presents the results of a morphological and anatomical study of *M. communis* leaves, identifying the primary diagnostic macro- and microscopic

features of the herbal drug. Using transmission electron microscopy, the ultrastructure of meristem cells and cells adjacent to the secretory cavities of *M. communis* was investigated. The study established the presence of mature secretory cavities containing cell debris within their lumen, surrounded by metabolically active cells, as well as senescing, darker cells characterized by reduced organelle clarity and tortuous (sinuous) walls.

Within this section, projects for Quality Control Methods (QCM) for the new herbal drug were developed. It is proposed to carry out the quality control of common myrtle leaves according to indicators such as: macro- and microscopic analysis; identification of phenolic compounds by TLC; physicochemical indicators – loss on drying ($\leq 9.0\%$), total ash ($\leq 7.5\%$), ash insoluble in 10% hydrochloric acid ($\leq 3.0\%$), extractive matter content ($\geq 30.0\%$); quantitative determination of flavonoids and hydroxycinnamic acid derivatives by spectrophotometry (not less than 0.80% expressed as quercetin equivalents and 0.60% expressed as chlorogenic acid equivalents on the dried basis, respectively).

A process flow scheme for obtaining thick extracts from *Myrtus communis* leaves has been developed. The process involves extraction with 70% ethanol at a raw material-to-solvent ratio of 1:5 using the remaceration method for 3 days, followed by evaporation of the extracts to a residual moisture content of 15-25% using a rotary evaporator.

According to GC-MS results, 9 free carbohydrate compounds were identified in both thick extracts (*in vivo* and *in vitro*), dominated by glucuronic acid lactone (27.31 mg/g (*in vivo*) and 18.50 mg/g (*in vitro*)) and glucose (18.12 mg/g and 14.89 mg/g, respectively). The total free monosaccharide content in the natural extract was 67.0 mg/g, whereas in the *in vitro* extract, it was 53.5 mg/g. Among general monosaccharides, glucose also predominated (33.92 mg/g *in vivo* and 22.19 mg/g *in vitro*). The total general monosaccharide content was higher in the *in vivo* extract (60.8 mg/g) compared to the *in vitro* extract (36.9 mg/g).

Using GC-MS, 12 amino acids were identified in the *in vivo* thick extract (6 in a free state), dominated by aspartic acid (3.71 mg/g), glycine (1.84 mg/g), and

methionine (1.67 mg/g). The *in vitro* extract contained 13 amino acids (5 in a free state), dominated by aspartic acid (1.57 mg/g) and phenylalanine (1.17 mg/g). The total amino acid content in the *in vivo* extract (13.53 mg/g) was nearly double that of the *in vitro* extract (7.36 mg/g).

Comparative analysis of thick extracts by HPLC revealed practically identical total flavonoid contents (approx. 5,350 $\mu\text{g/g}$), while identifying significant differences in their qualitative profile. Ramnetin was the dominant component in both, but its content, as well as that of neohesperidin, was significantly higher in the *in vitro* extract. In contrast, the natural extract was characterized by increased fisetin content. Furthermore, specific compounds were detected: kaempferol-3- β -glycoside was identified exclusively in the *in vivo* extract, while quercetin was detected only in the *in vitro* extract.

HPLC analysis showed a high and comparable total content of phenolic carboxylic acids in both *in vivo* (25,864.64 $\mu\text{g/g}$) and *in vitro* (25,159.62 $\mu\text{g/g}$) extracts. Gallic acid dominated in both (16,942.09 $\mu\text{g/g}$ *in vivo* and 13,258.89 $\mu\text{g/g}$ *in vitro*). The *in vitro* extract was characterized by higher concentrations of HCAs (chlorogenic, syringic, p-coumaric, and sinapic), and the specific presence of caffeic acid (3,014.28 $\mu\text{g/g}$). In the *in vivo* extract, hydroxyphenylacetic (5,747.03 $\mu\text{g/g}$) and quinic acids (643.15 $\mu\text{g/g}$) were identified, which were absent in the *in vitro* extract.

According to GC/MS data, 36 and 29 volatile compounds were identified in the thick extracts of common myrtle obtained *in vivo* and *in vitro*, respectively. In both samples, myrtenyl acetate was the dominant component (1620.16 $\mu\text{g/g}$ and 1240.93 $\mu\text{g/g}$, respectively). A significant content was also noted for linalool. The total content of volatile compounds in the thick extract obtained from natural raw material (*in vivo*) was 6117.12 $\mu\text{g/g}$, which was higher compared to the extract of the biotechnological culture (*in vitro*), where this indicator amounted to 4117.58 $\mu\text{g/g}$.

Pharmacological studies *in vivo* confirmed the safety of the thick extracts: the LD_{50} for the *in vivo* extract was ≥ 5000 mg/kg, while for the *in vitro* extract, it was within 2000-5000 mg/kg. According to GHS classification, both extracts belong to Category 5 toxicity (practically non-toxic).

In a serotonin-induced edema model, pronounced anti-exudative activity was established (33.55% for *in vivo* and 35.69% for *in vitro*), comparable to Ibuprofen. The extracts significantly reduced biochemical markers of inflammation and oxidative stress. The highest pharmacological efficiency was demonstrated by the *in vitro* extract, reducing C-reactive protein by 53.11% and TBA-active products by 56.52%. Simultaneously, an increase in total protein and albumin levels (15.95% and 16.34%) was noted.

Antimicrobial studies confirmed the high sensitivity of Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) to both extracts, with the *in vitro* sample being slightly more effective. Regarding Gram-negative microorganisms and *Candida albicans*, no statistically significant differences were found. Both extracts showed high antioxidant activity in the DPPH test, with IC₅₀ values (2.14 µg/mL *in vivo*, 2.26 µg/mL *in vitro*) approaching that of ascorbic acid (1.31 µg/mL).

Based on the results, standardization parameters and a QCM project for "Common Myrtle Leaf Thick Extract" were developed. Quantitative standardization is recommended to be performed using the spectrophotometric method, with the content of flavonoids and hydroxycinnamic acids normalized to at least 3.50% (calculated as quercetin and dry matter) and 2.50% (calculated as chlorogenic acid and dry matter), respectively.

Keywords: *Myrtus communis*, microclonal propagation *in vitro*, leaves, biologically active substances, morphological and anatomical structure, thick extract, essential oil, anti-inflammatory activity, antimicrobial activity, antioxidant effect, high-performance liquid chromatography (HPLC), gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS), spectrophotometric method, gallic acid.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Matsegorova O. Ye., & Odyntsova V. M. (2024). Prospects for the creation of new phytochemical medicinal products based on *Myrtus communis* L. (a review). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2024. 17(1), 70–78. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.290860>. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні літературного пошуку, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті).

2. Matsegorova O. Ye., & Odyntsova V. M. (2024). The anatomical and micromorphological structure of *Myrtus communis* L. leaves. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 17(2),:122–130 DOI: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.298403>. (Мацегорова О.Є. – брала участь у заготівлі сировини, проведенні літературного пошуку, проведенні дослідження, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті).

3. Odyntsova V. M., Matsegorova O. Ye., Tertyshnyi S. I., & Polkovnikov Yu. F. (2024). Micro- and ultramorphological features of the leaf cells of *Myrtus communis* L. as a parameter for the standardization of medicinal plant syrup are the basis for new herbal remedies. *Сучасні медичні технології*. 16(4), 292–302. DOI: [10.14739/mmt.2024.4.311096](https://doi.org/10.14739/mmt.2024.4.311096). (Мацегорова О.Є. – брала участь у заготівлі сировини, проведенні літературного пошуку, проведенні дослідження, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті, Тertyshnyi С.І. – концепція та дизайн дослідження, проведення дослідження, збір та компонування даних, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті, Полковніков Ю.Ф. – концепція та

дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті).

4. Matsegorova O. Ye., & Odyntsova V. M. (2025). Chromatography-Mass Spectrometric Study of the Chemical Composition of *Myrtus communis* L. Leaf Essential Oil. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 18(2), 131–137. DOI: 10.14739/2409-2932.2025.2.322669. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні літературного пошуку, отриманні ефірної олії, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті).

5. Matsegorova O. Ye., Odyntsova V. M., & Mykhailiuk Ye. O. (2025). Comparative study of anti-inflammatory activity and acute toxicity of thick *Myrtus communis* L. leaf extracts cultivated *in vivo* and *in vitro*. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 18(3), 271–277. DOI: 10.14739/2409-2932.2025.3.340983. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні літературного пошуку, отриманні екстракту, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, оформленні статті, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті, Михайлюк Є.О. – концепція та дизайн дослідження, збір та компонування даних, аналіз та інтерпретація даних).

6. Одинцова В. М., & Мацегорова О. Є. (2022). Вивчення хімічного складу мирту звичайного. *VI Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Хімія природних сполук», 27-28 жовтня 2022 року, м. Тернопіль*. с. 54–55. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні літературного пошуку, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

7. Одинцова В. М., & Мацегорова О. Є. (2022). Перспективи дослідження мирту звичайного (*Myrtus communis* L.) як джерела біологічно активних речовин.

Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2022», 17-18 листопада 2022 р., м. Запоріжжя. с. 64–66. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні літературного пошуку, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

8. Одинцова В. М., & Мацегорова О. Є. (2023). Вивчення морфолого-анатомічної будови мирту звичайного листа. *IV Науково-практична конференція з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта», 20 лютого 2023 р., м. Київ. с. 100–102. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).*

9. Одинцова В. М., Шкопинська Т. Є., & Мацегорова О. Є. (2023). Переваги вирощування мирту звичайного методом клонального мікророзмноження в культурі *in vitro*. *VI Міжнародна наукова конференція «Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень», 25 березня 2023 р., с. Березоточа, Лубенський р-н, Полтавська обл., Україна. с. 129–132. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження, Шкопинська Т.Є. – концепція та дизайн дослідження, збір та компонування даних, аналіз та інтерпретація даних).*

10. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2023). Фітохімічні дослідження мирту звичайного листків. *83 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини та фармації - 2023», 25-26 травня 2023 р., м. Запоріжжя. с. 108–109. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).*

11. Мацегорова О. Є., Одинцова В. М., & Шкопинська Т. Є. (2023). Результати використання мікроклонального розмноження *Myrtus communis* L. в культурі *in vitro*. *Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2023»*, 23-24 листопада 2023 р., м. Запоріжжя. с. 89–90. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження, Шкопинська Т.Є. – концепція та дизайн дослідження, збір та компонування даних, аналіз та інтерпретація даних).

12. Мацегорова О. Є. (2024). Визначення суми гідроксикоричних кислот у листі *Myrtus communis* L. 84 *Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2024»* (Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, м. Запоріжжя, 23-24 травня 2024 р.). с. 141–142. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез).

13. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2024). Хромато-мас-спектрометричне дослідження компонентного складу ефірних олій *Myrtus communis* L., вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*. 83 *Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2024»*, 21-22 листопада 2024 р., м. Запоріжжя. с. 83–84. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

14. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2025). Дослідження суми поліфенолів листя *Myrtus communis* L. *V Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена пам'яті доктора хімічних наук, професорки Ніни Павлівни Максютіної (до 100-річчя від дня народження) «PLANTA+. Наука, практика та освіта»*, 28-29 січня 2025 р., м. Київ. с. 140–142. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та

оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

15. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2025). Дослідження вмісту суми флавоноїдів у листі *Myrtus communis* L., вирощеного методом *in vivo* та мікроклональним розмноженням в умовах *in vitro*. VII Міжнародної наукової конференції «Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень», 25 березня 2025 р., с. Березоточа, Лубенський р-н, Полтавська обл., Україна. с. 214–216. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

16. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2025). Антиоксидантна активність густих екстрактів *Myrtus communis*, отриманих методами *in vivo* та *in vitro*. VII Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження», 11 квітня 2025 р., м. Харків. с. 149–151. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

17. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2025). Вивчення моносахаридного складу листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*. Міжрегіональна науково-практична конференція з міжнародною участю «Освіта, наука та практика в контексті розвитку фармацевтичної галузі», 30-31 травня 2025р., Івано-Франківськ – Яремче. с. 168–170. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

18. Мацегорова О. Є., Одинцова В. М., Количева Н. Л., & Михайлюк Є. О. (2025). Порівняльна оцінка біологічної активності та гострої токсичності густих екстрактів листя *Myrtus communis* L. Всеукраїнська науково-практична

конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2025», 20-21 листопада 2025 р., м. Запоріжжя. с. 93–94. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження, Количева Н.Л. – концепція та дизайн дослідження, збір та компонування даних, аналіз та інтерпретація даних, Михайлюк Є.О. – концепція та дизайн дослідження, збір та компонування даних, аналіз та інтерпретація даних).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	24
ВСТУП.....	26
РОЗДІЛ 1 БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, РОЗПОВСЮДЖЕННЯ, ХІМІЧНИЙ СКЛАД І ВИКОРИСТАННЯ РОСЛИН РОДУ МИРТ (Огляд літератури)	36
1.1 Ботанічна характеристика та особливості біології роду Мирт (<i>Myrtus</i> L.)	36
1.2 Фітохімічні дослідження <i>Myrtus communis</i> L.....	38
1.3 Застосування мирту звичайного у різних галузях	53
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	77
2.1 Об'єкти дослідження	77
2.2 Умови культивування мирту звичайного методом мікроклонального розмноження в культурі <i>in vitro</i>	80
2.3 Отримання екстрактів з рослинної сировини	83
2.4 Відомості про прилади, методи і реактиви для якісного та кількісного аналізу.....	84
2.5 Виявлення біологічно активних речовин первинного синтезу	86
2.5.1 Вуглеводи.....	86
2.5.2 Амінокислоти	88
2.6 Біологічно активні речовини вторинного синтезу	91
2.6.1 Поліфенольні сполуки	91
2.6.2 Катехіни	93
2.6.3 Флавоноїди.....	94
2.6.4 Гідроксикоричні кислоти	97
2.6.5 Леткі сполуки	100
2.7 Вивчення морфолого-анатомічних ознак	102
2.8 Дослідження показників якості та технологічних параметрів сировини. 104	104
2.8.1 Втрата маси при висушуванні	104
2.8.2 Визначення загального вмісту золи	105

2.8.3	Визначення вмісту золи, нерозчинної в 10 % розчині хлоридної кислоти	106
2.8.4	Визначення вмісту екстрактивних речовин	106
2.9	Фармакологічні дослідження	107
2.9.1	Гостра токсичність	107
2.9.2	Протизапальна активність	109
2.9.3	Антимікробна та протигрибкова активність	111
2.9.4	Антирадикальна активність	113
2.10	Статистична обробка результатів досліджень	115
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ		
БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН В <i>MYRTUS COMMUNIS</i> L. ЛИСТІ ...		
3.1	Вуглеводи	116
3.2	Амінокислоти	122
3.3	Поліфенольні сполуки	129
3.4	Катехіни	130
3.5	Флавоноїди	132
3.6	Гідроксикоричні кислоти	136
3.7	Леткі сполуки	139
	Висновки до розділу 3	148
РОЗДІЛ 4 МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНІ, МІКРОСКОПІЧНІ ТА		
УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ОЗНАКИ ЛИСТЯ <i>MYRTUS COMMUNIS</i> L. У		
СТАНДАРТИЗАЦІЇ ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ		
4.1	Макроскопічний аналіз листя мирту звичайного	151
4.2	Мікроскопічний аналіз листя мирту звичайного	153
4.3.	Ультраморфологічний аналіз листя мирту звичайного	160
4.4	Визначення показників якості в сировині мирту звичайного	164
4.5	Стандартизація листя <i>M. communis</i>	166
	Висновок до розділу 4	171
РОЗДІЛ 5 ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЙ З ЛИСТЯ <i>MYRTUS COMMUNIS</i> L.,		
ВИРОЩЕНОГО В УМОВАХ <i>IN VIVO</i> ТА <i>IN VITRO</i>, ДОСЛІДЖЕННЯ		
ЯКІСНОГО ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ		

РЕЧОВИН ТА ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ГУСТИХ ЕКСТРАКТІВ	174
5.1 Одержання субстанції з листя мирту звичайного та дослідження її хімічного складу	175
5.2 Дослідження якісного та кількісного вмісту біологічно активних речовин у густому екстракті листя <i>Myrtus communis</i> L.	177
5.2.1 Вуглеводи.....	177
5.2.2 Амінокислоти	182
5.2.3 Флавоноїди.....	187
5.2.4 Гідроксикоричні кислоти	190
5.2.5 Леткі сполуки	193
5.3 Визначення гострої токсичності.....	199
5.4 Визначення протизапальної активності.....	201
5.5 Визначення антимікробної та протигрибкової активності	204
5.6 Вивчення антирадикальної активності	206
5.7 Стандартизація мирту звичайного листя екстракту густого	209
Висновки до розділу 5	213
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	216
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	219
Додаток А СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ	258
Додаток Б ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ... ..	264
Додаток В ІДЕНТИФІКАЦІЙНІ ВІДОМОСТІ	266
Додаток Г АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ	268
Додаток Д МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ (ПРОЄКТ).....	278

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЛТ – аланін аміотрансфераза

АСТ – аспаргатаміотрансфераза

АРА – антирадикальна активність

БАР – біологічно активні речовини

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

Г – глутатіон

ГЕМЗ – густий екстракт мирту звичайного

ГКЕ/г – галової кислоти еквівалент/г сухого екстракту

ГКК – гідроксикоричні кислоти

ГХ/МС – газова хроматографія з мас-спектрометрією

ДФУ – державна фармакопея України

ЄФ – Європейська фармакопея

ІОК – індоліл-3-оцтова кислота

КЕ/г – кверцетину еквівалент/г сухого екстракту

ЛРС – лікарська рослинна сировина

МДА – малоновий діальдегід

МІК – мінімальна інгібуюча концентрація

МКЯ – методи контролю якості

МС – середовище Мурашіге й Скуга

МФК – мінімальна фунгіцидна концентрація

МЧ – мікробіологічна чистота

НДР – науково-дослідна робота

ННМЛЦ – Науково-навчальний медико-лабораторний центр з віварієм

РСЗ – робочий стандартний зразок

СЕМ – скануюча електронна мікроскопія

СОД – супероксиддисмутаза

ТБК-АП – ТБК-активні продукти

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок

Х.ч. – хімічно чистий

ЦОГ – циклооксигеназа

Ч.д.а. – чистий для аналізу

DRPH – 2,2-дифеніл-1-пікрилгідрозил

PAL – фермент фенілаланін-амоніаза

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. З кожним роком зростає популярність лікарських засобів, що містять БАР рослинного походження. Незважаючи на значні досягнення сучасної фармації та медицини і зростання кількості синтетичних лікарських засобів, попит на лікарську рослинну сировину та фітопрепарати постійно підвищується. Відомо, що лікарська рослинна сировина за умови достатньої фармакологічної ефективності характеризується нижчою токсичністю та меншою алергенністю порівняно із синтетичними препаратами. У зв'язку з цим пошук нових джерел рослинної сировини, удосконалення технологій її переробки є актуальним завданням вітчизняної фармації.

Серед численних лікарських рослин цінним джерелом БАР є мирт звичайний (*Myrtus communis* L.) – представник роду *Myrtus* родини миртові (*Myrtaceae*). У природних умовах мирт звичайний поширений у регіонах Середземномор'я, Західної Африки, Північної Америки, а також культивується в окремих районах США, зокрема у штаті Флорида. На території України мирт уперше було інтродуковано у 1815 році в Нікитському ботанічному саду, де було висаджено перші екземпляри цієї рослини. Нині *M. communis* широко культивується в Україні як декоративна рослина в умовах закритого ґрунту, зокрема в офісних приміщеннях, зимових садах та житлових інтер'єрах.

Мирт звичайний широко використовується в медицині та парфумерно-косметичній промисловості, а також дуже популярний у квітникарстві. Лікувальні властивості рослини обумовлені в основному вмістом ефірної олії у листі, а також різними поліфенольними сполуками, флавоноїдами та сапонінами. Антимікробні, противірусні, протизапальні та антисептичні властивості мирту звичайного визначають його місце як природного фітотерапевтичного засобу. Він також використовується як засіб для загоєння ран, наприклад, при виразках шкіри, екземі та акне. Також має в'яжучі та тонізуючі властивості. У літературі

згадуються випадки використання мирту при захворюваннях шлунково-кишкового тракту, сечостатевої системи та запальних процесах дихальних шляхів, а також деякі дані про його потенційну протипухлинну активність.

Незважаючи на широке використання *M. communis* у світовій фармацевтичній практиці, в Україні потенціал цієї рослини залишається недостатньо реалізованим, що зумовлено, передусім, відсутністю відповідних монографій у Державній фармакопеї України (ДФУ) та Європейській фармакопеї (ЄФ). Зростання інтересу до мирту як перспективного джерела стандартизованої лікарської рослинної сировини зумовлює потребу у детальному аналізі компонентного складу вітчизняних зразків з урахуванням умов їх вирощування.

Обрана тема актуальна для поточного вивчення метаболічного профілю *M. communis*, оскільки умови вирощування та біотехнологічні параметри впливають на кількісні та якісні властивості первинних та вторинних метаболітів. Отримані дані мають велике значення для розробки методів стандартизації сировини та фітосубстанції, а також створення на їх основі конкурентоспроможних вітчизняних лікарських засобів.

Відповідно до сучасних вимог фармакопейної якості особливої уваги заслуговують густі екстракти мирту. Ця лікарська субстанція забезпечує стабільність вмісту термолабільних сполук, зокрема міртенілацетату. Також вона є зручною з технологічної точки зору та характеризується належною біодоступністю у складі різних лікарських форм.

Вибір теми також підтримується досягненнями сучасних тенденцій у фармацевтичній біотехнології, таких як розробка нових біотехнологічних методів для культивування генетично однорідних клітин і тканин рослин *in vitro*. Використання біотехнології дозволяє досягти однорідної рослинної біомаси незалежно від сезону та клімату, що відповідає принципам сталого розвитку та збереження природних ресурсів. Дослідження можливості отримання високоякісної фармацевтичної сировини з контрольовано вирощених рослинних

має великий економічний та екологічний інтерес для фармацевтичної промисловості України.

Отже, комплексна оцінка хімічного складу листя *M. communis*, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*, визначення технологічних параметрів густих екстрактів з цієї сировини, їх стандартизація та дослідження біологічної активності є науково обґрунтованою, своєчасною та привабливою і перспективною сферою для досліджень. Очікувані результати зроблять конструктивний внесок у розвиток вітчизняної фармакогнозії, фармацевтичної біотехнології та технології лікарських засобів, а також у створення ефективних фітопродуктів з місцево вирощеної рослинної сировини.

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

Дисертаційне дослідження виконано в межах науково-дослідної роботи кафедри (НДР) фармакогнозії, фармакології та ботаніки (№ державної реєстрації 0120U102600) за темою «Пошук і вивчення перспективних джерел лікарської рослинної сировини, розробка субстанцій та лікарських засобів на їх основі», а також у рамках міжкафедральної НДР «Дослідження технологічних, фармакологічних, фармакогностичних, соціально-економічних і фармакотерапевтичних аспектів створення та застосування лікарських засобів з активними фармацевтичними інгредієнтами природного й синтетичного походження різних фармакологічних груп та розробка заходів щодо підвищення якості фармацевтичної допомоги в умовах трансформації системи охорони здоров'я та фармацевтичної освіти України» (№ державної реєстрації 0124U001379). Дисертанткою особисто проведено фармакогностичне дослідження рослинної сировини листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo* та методом мікроклонального розмноження в умовах *in vitro*, одержані нетоксичні густі екстракти з вираженою антимікробною, антиоксидантною та протизапальною дією.

Мета та завдання дослідження.

Метою дисертаційної роботи було порівняльне комплексне фармакогностичне дослідження мирту звичайного листя, вирощеного *in vivo* та

методом клонального мікророзмноження *in vitro*, одержання субстанцій на їх основі та вивчення фармакологічної активності одержаних субстанцій.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- проаналізувати вітчизняні та закордонні джерела літератури щодо ботанічної характеристики, розповсюдження, хімічного складу та фармакологічної дії рослин роду *Myrtus*;

- встановити методами фітохімічного аналізу якісний склад і кількісний вміст основних біологічно активних речовин мирту звичайного листа, вирощеного *in vivo* та методом клонального мікророзмноження *in vitro* (а саме вміст летких сполук, вуглеводів, амінокислот, поліфенолів);

- провести макро-, мікроскопічний та ультрадіагностичний аналіз рослинної сировини мирту звичайного листа для визначення достовірних морфолого-анатомічних маркерів ідентифікації;

- визначити оптимальні умови одержання фармакологічно активних субстанцій з мирту звичайного листа та провести їх стандартизацію;

- встановити вміст летких сполук, вуглеводів, амінокислот, флавоноїдів та ГКК у густих екстрактах мирту звичайного, вирощеного обома способами культивування;

- дослідити гостру токсичність одержаних субстанцій та оцінити їх фармакологічну активність;

- розробити проекти МКЯ на мирту звичайного листа та одержані з них субстанції.

Об'єкт дослідження. Комплексне фармакогностичне вивчення мирту звичайного листа, вирощеного *in vivo* та методом клонального мікророзмноження *in vitro*; фармакологічна активність фітосубстанцій, одержаних з досліджуваної сировини.

Предмет дослідження. Ідентифікація основних БАР мирту звичайного листа, їх кількісне визначення та морфолого-анатомічний аналіз; розробка фітосубстанцій із мирту звичайного листа, їх стандартизація; вивчення гострої токсичності фітосубстанцій, а також оцінка їх протизапальної, протимікробної

та антиоксидантної активності; розробка проєктів МКЯ на мирту звичайного листя та густі екстракти на його основі.

Методи дослідження. При виконанні дисертаційної роботи було використано фармакопейні методи ідентифікації і кількісного визначення основних БАР. Для проведення експериментальних досліджень застосовували методи: хімічні – для ідентифікації БАР у рослинній сировині; фізико-хімічні: ВЕРХ, ТШХ, ГХ/МС, спектрофотометрія; методи світлової та електронної мікроскопії – для вивчення морфолого-анатомічної будови мирту звичайного; фізичні – для визначення втрати в масі при висушуванні та розчинності; фармакологічні – для дослідження гострої токсичності фітосубстанцій і проведення фармакологічного скринінгу. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали з використанням комп'ютерних програм Microsoft Excel 7.0 (Microsoft Corp., США) та STATISTICA® for Windows 6.0 (StatSoft Inc., США).

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше проведено фармакогностичний порівняльний аналіз і комплексне фітохімічне дослідження генетично однорідної сировини *M. communis*, вирощеної методом клонального мікророзмноження *in vitro* та *in vivo*. Були визначені умови вирощування, що збільшують вихід біологічно активних речовин і скорочують час, необхідний для їх вирощування.

Методами ідентифікації та хроматографічного аналізу підтверджено наявність основних груп БАР. Визначено їх кількісний вміст. До них належать моносахариди, амінокислоти, фенольні сполуки (поліфеноли, флавоноїди, ГКК, катехіни) та леткі сполуки.

На основі фітохімічного аналізу листя мирту, вирощеного *in vivo* та *in vitro*, було визначено 9 вільних вуглеводних сполук, 16 амінокислот, 6 флавоноїдів, 10 ГКК, 4 катехіни, 23 та 25 летких сполук відповідно.

Вивчено морфолого-анатомічні особливості будови мирту звичайного листя та встановлено основні діагностичні морфологічні, ультраморфологічні й анатомічні ознаки досліджуваної лікарської рослинної сировини.

Вперше одержано густі екстракти з листя мирту звичайного, вирощеного традиційним способом і методом мікроклонального розмноження, та проведено їх порівняльне фітохімічне дослідження, у ході якого було ідентифіковано 9 сполук вільних вуглеводів, 13 амінокислот, 5 флавоноїдів, 10 ГКК, 36 та 29 летких сполук відповідно. Визначена гостра токсичність та досліджена протизапальна, антиоксидантна та антимікробна активності одержаних густих екстрактів.

Практичне значення одержаних результатів. У результаті проведених комплексних фітохімічних та фармакологічних досліджень встановлено перспективність використання сировини *M. communis*, вирощеної методом клонального мікророзмноження в умовах *in vitro*, у фармації, медицині та косметології.

Визначено вплив умов культивування рослин на якісний та кількісний склад БАР у досліджуваній сировині.

Отримані результати розширюють відомості про хімічний склад і біологічну активність мирту звичайного листя, що створює передумови для його включення до номенклатури офіційних лікарських рослин.

Розроблено проекти МКЯ на нову лікарську рослинну сировину «Мирту звичайного листя».

Одержано та визначено фітохімічний профіль густих екстрактів мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vitro* та *in vitro*.

На одержаний густий екстракт мирту звичайного також розроблено проект МКЯ «Мирту звичайного екстракт густий», а також досліджено його гостру токсичність, антимікробну, протизапальну та антирадикальну активності.

Результати досліджень впроваджено у процес фармацевтичної розробки нових фітопрепаратів відділом фармацевтичної розробки департаменту якості ПрАТ Фармацевтична фабрика «Віола» (акт впровадження від 10.09.2025), а також у науково-дослідну роботу та навчальний процес профільних кафедр ЗВО України: кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця (від 02.06.2025), кафедри фармацевтичного

управління, технології ліків та фармакогнозії Івано-Франківського національного медичного університету (від 11.09.2025), кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (від 12.05.2025), кафедри фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії Буковинського державного медичного університету (від 14.11.2024), кафедри загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету (від 10.09.2025 р.), кафедри клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (від 14.10.2025), кафедри фармації та фармакології Волинського національного університету ім. Лесі Українки (від 29.08.2025), кафедри фармацевтичних дисциплін Ужгородського національного університету (від 04.06.2025) та кафедри медбіології, паразитології та генетики Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (від 14.10.2025).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною, завершеною науковою працею. Здобувачем самостійно проведено патентно-інформаційний пошук та аналіз сучасного стану досліджень за темою дисертаційної роботи.

Дисертантом спільно з науковим керівником визначено мету, завдання та методики експериментальних досліджень. Автором самостійно встановлено якісний склад і визначено кількісний вміст БАР досліджуваної сировини мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vitro* та *in vivo*, розроблено оптимальні умови одержання густих екстрактів мирту звичайного, визначено в них основні групи БАР, встановлено числові показники та технологічні параметри сировини, проведено статистичну обробку отриманих експериментальних даних і оформлено всі розділи дисертаційної роботи.

Безпосередньо автором проведено вивчення морфолого-анатомічних особливостей будови мирту звичайного листя.

Ультраморфологічні особливості структури меристемних клітин та клітин, прилеглих до секреторних порожнин листя *M. communis*, були вивчені за

консультативною допомогою доктора медичних наук, професора кафедри патологічної анатомії та судової медицини Тертишного С.І.

Дослідження фармакологічної активності густих екстрактів мирту звичайного, вирощеного *in vitro* та *in vivo*, проводилося в Навчально-науковому медико-лабораторному центрі з віварієм ЗДМФУ під керівництвом наукового керівника доктора фармацевтичних наук, професора кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Одинцової В.М., а також кандидата медичних наук, доцента кафедри мікробіології, вірусології та імунології Количевої Н.Л. та кандидата фармацевтичних наук, доцента кафедри клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії навчально-наукового інституту післядипломної освіти ЗДМФУ Михайлюка Є.О.

Результати досліджень були незалежно чином систематизовані та включені в дисертацію у вигляді таблиць, рисунків, актів впровадження, проєктів МКЯ та фотографій.

Для перевірки граматики, пунктуації, виправлення складних орфографічних помилок, а також перекладу англійського тексту дисертації використано комп'ютерну програму Gemini 1.5 за повного людського нагляду.

Співавторами опублікованих робіт є науковий керівник Одинцова В.М. та дослідники, з якими виконувались деякі етапи досліджень, а саме спеціаліст вищої категорії Шкопинська Т. Є.; професор Тертишний С. І.; доцент Полковніков Ю. Ф.; доцент Количева Н. Л., доцент Михайлюк Є. О. та старший науковий співробітник Глущенко Л.А.

Апробація результатів дисертації. Основний зміст дисертаційної роботи був представлений на науково-практичних конференціях: VI Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (27-28 жовтня 2022 року, м. Тернопіль), Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум – 2022» (17-18 листопада 2022 р., м. Запоріжжя), IV Науково-практична конференція з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта» (20 лютого 2023 р., м. Київ), VI Міжнародна наукова конференція «Лікарські

рослини: традиції та перспективи досліджень» (25 березня 2023 р., с. Березоточа, Лубенський р-н, Полтавська обл.), 83 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини та фармації – 2023» (25-26 травня 2023 р., м. Запоріжжя), Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум – 2023» (23-24 листопада 2023 р., м. Запоріжжя), 84 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2024» (23-24 травня 2024 р., м. Запоріжжя), 83 Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум – 2024» (21-22 листопада 2024 р., м. Запоріжжя), V Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена пам'яті доктора хімічних наук, професорки Ніни Павлівни Максютіної (до 100-річчя від дня народження) «PLANTA+. Наука, практика та освіта» (28-29 січня 2025 р., м. Київ), VII Міжнародної наукової конференції «Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень» (25 березня 2025 р., с. Березоточа, Лубенський р-н, Полтавська обл.), VII Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (11 квітня 2025 р., м. Харків), Міжрегіональна науково-практична конференція з міжнародною участю «Освіта, наука та практика в контексті розвитку фармацевтичної галузі» (30-31 травня 2025р., Івано-Франківськ – Яремче), Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум – 2025» (20-21 листопада 2025 р., м. Запоріжжя).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на засіданні фахового семінару Запорізького державного медичко-фармацевтичного університету 20 лютого 2026 року.

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 18 наукових робіт, із яких 1 стаття у виданні, що індексується наукометричною базою Scopus, 4 статті у наукових фахових виданнях України та 13 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 281 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів (3 розділи власних досліджень), загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту 193 сторінок. Робота ілюстрована 31 таблицями, 61 рисунками, 19 формулами. Список використаних джерел містить 274 найменувань, з них 28 кирилицею та 246 латиницею.

РОЗДІЛ 1

БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, РОЗПОВСЮДЖЕННЯ, ХІМІЧНИЙ СКЛАД І ВИКОРИСТАННЯ РОСЛИН РОДУ МИРТ (Огляд літератури)

1.1 Ботанічна характеристика та особливості біології роду Мирт (*Myrtus* L.)

Таксономічна класифікація *Myrtus communis* L.: Королівство – *Plantae*; Відділ – *Tracheophyta*; Клас – *Magnoliopsida*; Порядок – *Myrtales*; Родина – *Myrtaceae*; Рід – *Myrtus*; Вид – *Myrtus communis* [40].

Миртові (*Myrtaceae*) – родина деревних квіткових рослин, яка налічує близько 100 родів і 5500 видів, що ростуть у помірних, тропічних і субтропічних регіонах світу. *Myrtus* є єдиним родом, представники якого поширені в Європі, Північній Африці та Азії. Основний ареал охоплює Середземноморський регіон південної Європи. Рід також трапляється в Макаронезії, зокрема на островах Мадейра та Азорських островах. Окремі популяції поширені в гірських районах Сахари та на сході Західної Азії, зокрема в Ірані й Афганістані [138, 245].

До роду *Myrtus* належать два види: *Myrtus communis* L. та *Myrtus nivellei* Batt. & Trab. Рослини цього роду характеризуються високою посухостійкістю. Вони потребують незначної або помірної кількості води. Мирт здатний рости у вологих умовах, у затінених місцях і на відкритих сонячних ділянках [245]. Перший вид, поширений у Середземноморському регіоні, є одним з найважливіших вічнозелених кущів середземноморського маквісу. В Італії він розвивається на узбережжі та у внутрішніх пагорбах. Найчастіше його виявляють на висотах до 500 м над рівнем моря. Особливо поширений вид на островах, де він є одним із характерних компонентів рослинного покриву. У Португалії мирт росте в дикому вигляді переважно в центральній і південній

частинах країни. Зустрічається в прибережних і в лісових районах, на внутрішніх пагорбах північного Тунісу [37, 138, 245]. Другий вид є ендемічним для гір центральної Сахари, росте в скелястих і піщаних болотах та ущелинах на висоті вище 1400 м [138].

В останні десятиліття значне збільшення попиту на біомасу мирту спричинило неконтрольований тиск на дикі рослини цього виду. Більшість таких людей подорожують по всьому світу і експортують великі кількості ягід та біомаси, не дотримуючись основних правил. Ці фактори можуть загрожувати вегетативному та продуктивному зростанню рослин, природній генетичній еволюції виду, внаслідок відсутності насіння для репродуктивної місії. Все це сприяє зміні екологічного балансу між видами рослин. Крім того, мирту загрожують інші фактори, такі як пожежі, вирубка лісу, урбанізація та годівля тварин, що пасуться. Було зроблено зусилля для збереження дикого мирту та вибору відповідних генотипів для культивування та промислового використання шляхом одомашнення виду рослин [176].

M. communis – це вічнозелений багаторічний чагарник або невелике дерево, 1,8-3 м заввишки з дрібним листям і глибокими тріщинами у корі. Стебло рослини прямостояче, розгалужене, має глянцево темно-зелене листя, голе, супротивне, парне або мутовчасте, по формі від яйцеподібної до ланцетної [258], з жорсткою структурою, цільнокрайове, загострене, 2,5-3,8 см завдовжки, вони дуже ароматні завдяки наявності численних секреторних вмістилищ. Це самозапильний диплоїдний вид ($2n = 2x = 22$) [266]. Рослина актиноморфна, двостатева та епігінна. Чашечка складається з чотирьох-п'яти чашолистків, віночок з чотирьох-п'яти пелюсток [40]. Квіти білі або рожеві [174], середнього розміру на тонких квітконіжках, діаметром 2 см, жорсткі з жовтими пиляками. Пелюстки білі з залозками і з дещо вилчастим краєм, вкриті тонкими волосками. Плід – гола ягода, 0,7-1,2 см у діаметрі, має округлу або яйцеподібно-еліптичну форму з роздутою центральною частиною та залишками 4-5-роздільної чашечки у зовнішній частині. Плоди потім покриваються легким восковим шаром, що полегшує розпізнавання рослини бджолами; тому вони також мають матовий

вигляд [58]. Зазвичай вони доступні в двох кольорах: білому та темно-синьому. Рідкісний білий варіант має характерні листя. Вид характеризується поганим пилюком, слабким розповсюдженням насіння та низькою толерантністю до змін навколишнього середовища, що може пояснити його незвичайний статус [56, 240]. Несвоєчасні темні плоди спочатку блідо-зелені, потім стають червоними, а нарешті темно-індиговими, коли повністю дозрівають. Незрілі ягоди гіркі, дозрілі – солодкі [37, 138, 185, 245].

Myrtus nivellei, відомий під назвами «*Tafeldest*» або «*Tafaltasset*» тамахакською та «*Raihane Essahara El Wousta*» арабською – це кущ, заввишки до 2 м, з шорсткою корою. Має товсте, лінійно-ланцетне листя з супротивним розташуванням, 4–5 см завдовжки і 6–8 мм завширшки. Квіти зіркоподібні, з 5-9 білими пелюстками та невизначеними тичинками. Плід – це біла, фіолетова, синя або навіть чорна сферична ягода довжиною 4-5 мм [71, 138].

1.2 Фітохімічні дослідження *Myrtus communis* L.

Різні частини мирту звичайного містять широкий спектр хімічних сполук. До них належать леткі сполуки, ГКК та флавоноїди. Серед флавоноїдів ідентифіковано кверцетин, катехін і мірицетин. Також у сировині виявлено дубильні речовини, антоціани, пігменти, мінеральні речовини та жирні кислоти [65, 93, 175].

Ефірна олія мирту характеризується складним компонентним складом. Вона містить монотерпенові вуглеводні, оксигеновані монотерпени та сесквітерпени. У її складі також присутні прості й складні естери, аліфатичні вуглеводні, спирти та феноли. Співвідношення компонентів змінюється залежно від географічної зони. На склад впливають температура, властивості ґрунту, тривалість світлового дня, час збирання та генотип рослин [96]. Дослідження, проведені іранськими вченими Shahbazian et al. [240] надають докази того, що

екологічні фактори, генетичні фактори та онтологія рослин є ключовими параметрами, які визначають хімічний склад ефірної олії мирту. Ці дослідження виявили, що генетичні фактори мають більший вплив на відмінності між вибраними зразками, порівняно з екологічними факторами. Кластеризація за медіанним зв'язком виявила, що для 23 сполук у дендрограмі виділено чотири групи за хімічним складом: I хемотип (корелятивно вищі рівні оксиду каріофілену/гермакрену D та α -гумулену/метилевгенолу), II (α -пінен/*n*-цимен/ α -гумулен та (E)- β -каріофілен), III (α -пінен/1,8-цинеол та ліналоол), IV (ліналілацетат/ γ -терпінен/1,8-цинеол/лімонен) залежно від основного вмісту ефірної олії та концентрації цих речовин (Рис. 1.1) [240]. (рис. 1.1) [240].

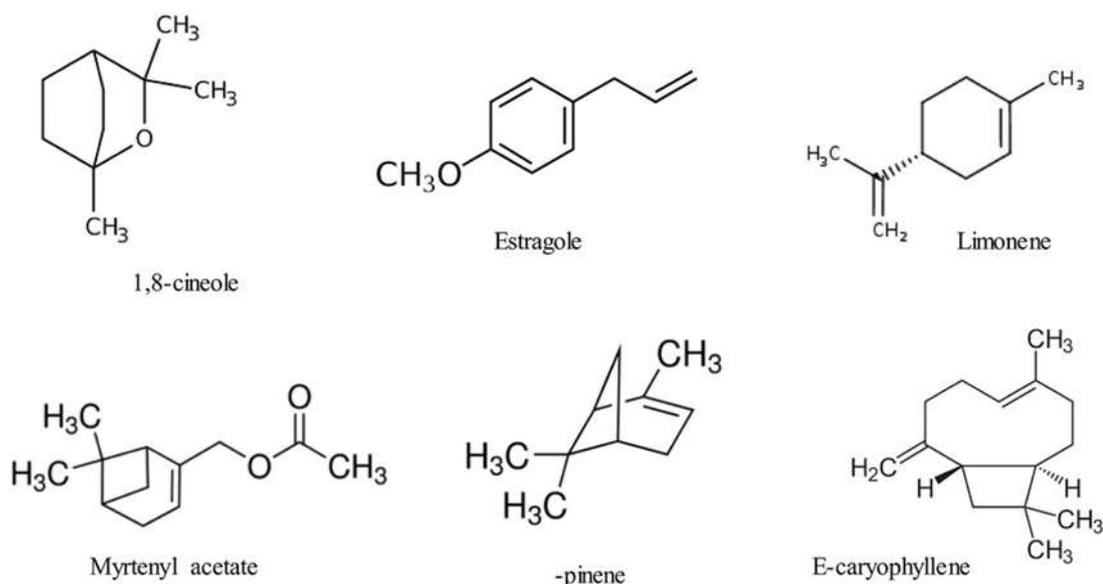


Рисунок 1.1 – Найпоширеніші монотерпени та сесквітерпеноїди, знайдені в ефірній олії мирту

Східна та центрально-північна алжирська олія належить до хемотипу α -пінен-цинеол. Хімічний склад 42 зразків олії *Myrtus communis*, виділених із листя, зібраного в п'яти місцях провінції Тлемсен, досліджували за допомогою газової хроматографії у поєднанні з індексами утримування, ГХ/МС та спектроскопії ядерного магнітного резонансу. Вихід коливався від 0,13 % до 1,04 %. У хімічному складі олії в основному переважали монотерпенові

вуглеводні, з α -піненом (24,3-59,0 %) і 1,8-цинеолом (13,2-49,5 %), а потім лімоненом (3,2-19,8 %) [57]. Значне фітохімічне різноманіття серед популяцій *Myrtus communis* в Ірані, зокрема щодо складу ефірної олії дозволив ідентифікувати чотири різні хемотипи мирту. Хемотип 1,8-цинеол включав популяції Сар-Сараб, Полдохтар, Ілам і Падеган. Хемотип α -пінен/1,8-цинеол був представлений виключно популяцією Хузестану. Популяції Хузестан, Керман, Керманшах, Когілуєх–Бойер–Ахмад і Хормозган були класифіковані за хемотипом 1,8-цинеол/ α -пінен. Хемотип 1,8-цинеол/ α -пінен/ліналоол включав популяції Язда та Ширазу. Генетичні фактори, географічні умови місцевості та екологічні умови на місцях відбору проб також впливають на відмінності у вмісті ефірної олії [266].

Вихід олії з сухого листя у фенологічних фазах з березня по жовтень відрізнявся, але основні сполуки залишалися постійними, навіть з різними відносними пропорціями, а саме 1,8-цинеол, ліналоол, α -пінен та α -терпінеол [123-125, 139, 198, 210, 213, 220].

Кількісний та якісний аналіз складу всієї популяції 52 генотипів *M. communis*, яка була включена в програму одомашнення та культивувалася в одній колекційній зоні, в Орїстано, було досліджено методом ГХ/МС. Ефірні олії мали різний хімічний склад, було ідентифіковано від 31 до 78 сполук. Але при цьому, α -пінен, лімонен, 1,8-цинеол, α -терпінеол та ліналоол були основними компонентами в системі з невеликими відмінностями у кількісних співвідношеннях, представлених серед зразків [258].

Порівнюючи літературні данні досліджень складу ефірних олій мирту, виділених зі зразків із різних країн, були помічені відмінності в хімічному складі. Ефірна олія *Myrtus communis* з Тунісу містила α -пінен як основну сполуку з вмістом 45,3 % [72, 97, 98], тоді як ефірна олія листя *M. communis*, видобута під час цвітіння з їхніх природних середовищ у різних містах Марокко, містила 1,8-цинеол (42,22 %) [112], а дослідження Ouedrhiri et al. [201] листя мирту з регіону Таунат (Марокко) показало іншу основну сполуку – міртенілацетат (33,67 %) [201].

Методом гідродистиляції із 100 г висушеного листа мирту в Хаджі-Абаді, Іран, було отримано 0,94 мл ефірної олії. Основними компонентами були 1,8-цинеол (31,19 %), α -пінен (22,95 %), ліналоол (12,14 %), α -терпінеол (5,06 %), нонадекан (4,91 %), ліналілацетат (4,41 %) та β -фелландрен (4,26 %) [216].

Компоненти ефірної олії оцінювали у 14 зразках мирту, вирощеного в тепличних умовах. У провінції Фарс зразки мирту показали значні варіації хімічного профілю. У досліджуваних зразках мирту було виявлено 23 хімічні сполуки. Більшість сполук припадала на α -пінен (2,35-53,09 %), ліналілацетат (0-45,3 %), каріофіленоксид (0,97-1,8 %), гермакрен D (0-19,19 %), α -гумулен (0-18,97 %), 1,8-цинеол (0-18,0 %), лімонен (0-17,4 %) та *p*-цимол (0-13,2 %) [240].

Varhouchi et al. [54] повідомили, що основними компонентами ефірної олії *M. communis* були міртенілацетат (30,6 %), ліналоол (14,9 %) і 1,8-цинеол або евкалиптол (9,9 %) [54].

ГХ/МС аналіз олій *M. communis* з регіону Бенсліман у Марокко показав надлишкову кількість α -терпінеолу (15,5 %), геранілацетату (11,64 %) і метилевгенолу (18,7 %) [134].

Caruto et al. [76] досліджували хімічний склад ефірної олії свіжого листа *M. communis*, зібраного в Беллосгуардо (Салерно, Італія). Всього виявлено 59 сполук, що становить 98,4 % від загальної кількості олії. Оксигеновані монотерпени були основними компонентами (71,7 %), потім монотерпенові вуглеводні (18,6 %) і сесквітерпенові вуглеводні (2,6 %). Основними компонентами були міртенілацетат (29,8 %), 1,8-цинеол (21,9 %), α -пінен (14,7 %) і ліналоол (9,1 %). Іншими сполуками, у меншій кількості, були гептил ізобутаноат (3,2 %), геранілацетат (2,6 %), α -терпінеол (2,3 %), (*Z*)-каріофілен (1,3 %) та α -гумулен (1,1 %) [76].

Основні компоненти ефірної олії листа *M. communis*, зібраного на півночі Португалії в Віла Реал, були етилміртеніл (15,5 %), β -ліналоол (12,3 %), 1,8-цинеол (9,9 %), етилгераніл (7,4 %), лімонен (6,2 %), α -пінен (4,4 %), ліналіламінобензоат (5,6 %), α -терпінеол (2,7 %), α -терпініл ацетат (2,2 %),

метилевгенол (1,8 %), міртенол (1,2 %), пропанова кислота, 2-метил-,2- (1,8 %), 7-ізопропіл-7-метил-нона-3,5-дієн-2,8-діон (1,7 %), гумулен-1,2-епоксид (1,2 %) та *транс*-пінокарвіл ацетат (1,2 %). Решта летких сполук показали кількісний вміст < 1 %, а саме 2-гексеналь, нонан, β -мірцен, терпінен-4-ол, нонан, 2,6-октадієнова кислота, 3,7-диметил-, β -каріофілен, гумулен та оксид каріофілену [189].

Ефірна олія листя мирту, зібраного в червні в регіоні Сіді Ахмад Чріф (Уаззан, Марокко) містила 32 хімічні елементи, а вихід ефірної олії становив 0,7 %. Основними компонентами були евкаліптол, міртенілацетат і α -пінен, з кількісним вмістом 42,43 %, 21,25 %, 19,39 % відповідно. Олія також містила α -терпінол (4,47 %), естрагол (2,13 %), геранілацетат (2,08 %), метилевгенол (1,88 %) і 1,6-октадієн (1,37 %) [108].

Аналіз ефірної олії з надземних частин *Myrtus communis* за допомогою ГХ/МС встановив, що основними отриманими сполуками були міртенілацетат (33,67 %), ліналоол (19,77 %), 1,8-цинеол (10,65 %) та імонен (8,96 %) [97, 98].

Стосовно плодів проводили дослідження зразків, зібраних в липні (початок плодоношення) та жовтні (початок дозрівання). Виходи олії були схожими: 0,59 % та 0,48 % відповідно. До найбільш часто зустрічаючихся сполук (з відносними вмістом вище 5,0 %) належали: α -пінен (11,9 %), 3-карен (6,5 %), *o*-цимен (7,6 %), 1,8-цинеол (6,4 %), γ -терпінен (5,1 %), α -терпінолен (5,2 %), ліналоол (8,8 %) та α -терпінеол (6,1 %) у липні; та α -пінен (21,4 %), *o*-цимен (7,9 %), лімонен (6,8 %), 1,8-цинеол (12,2 %) та ліналоол (9,4 %) у жовтні [123].

В іншому дослідженні було досліджено 47 кандидатів-клонів, з яких лише п'ять клонів були *leucocarpa varietas*, а більшість були *melanocarpa varietas*. Вихід ефірної олії ягід значно відрізнявся. Наявність 92 сполук була підтверджена за допомогою ГХ/МС аналізу ефірної олії. Основними компонентами були: геранілацетат для 13 генотипів; 1,8-цинеол для 7 генотипів; α -терпінілацетат для 4 генотипів; ліналоол, α -гумулен, *транс*-каріофіленоксид і β -каріофілен для 3 генотипів; лімонен для 2 генотипів; α -терпінеол, борнілацетат і гумуленепоксид II відповідно для 1 генотипу кожен. β -каріофілен був присутній

в усіх генотипах, а метилевгенол – у 40 селекціях. У невеликих кількостях і лише в одному генотипі були виявлені 2-метилбутанова кислота, 2-метилпропіловий ефір, *p*-мента-1(7),8-дієн, ліналілацетат, β -бісаболен, ледол та ізолептоспермон. Серед основних компонентів ефірної олії мирту геранілацетат мав найвищу відносну кількість у всій популяції клонів-кандидатів. Цю сполуку було виявлено у 35 генотипах [257].

Дослідження ліпідної фракції плодів мирту, проведене Cvitković et al. [90], показало наявність 36 жирних кислот, 7 фітостеролів і 13 летких сполук. Домінуючою жирною кислотою була незамінна *cis*-ліноленова кислота, частка якої становила 76,83 %. Близько 90 % загального вмісту фітостеролів припадало на β -ситостерин (12 465 мг·кг⁻¹). Найпоширенішою леткою сполукою був міртенілацетат (4297 мг·кг⁻¹) [90].

Жирнокислотний склад олії з насіння мирту, отриманої механічним способом або з використанням розчинника, був подібним незалежно від методу екстракції. Поліненасичені жирні кислоти, представлені лінолевою кислотою, становили близько 77 % від загальної кількості жирних кислот [113]. Високий вміст ліноленової кислоти відзначено в олії з чорних плодів Набела, де він досягав 15,31 % [39, 182]. Основними жирними кислотами плодів мирту також були олеїнова та пальмітинова кислоти [39].

Фітохімічне дослідження ефірної олії квіток *M. communis* показало, що основними компонентами були α -пінен, 1,8-цинеол, евгенол, ліналоол, геранілацетат і α -терпінеол [54].

Надземні частини мирту збирали на різних фенологічних стадіях. Досліджували періоди вегетації, цвітіння, формування незрілих плодів, дозрівання плодів і фазу після їх розповсюдження. Зразки були відібрані в провінції Фарс в Ірані. Аналіз проводили методом газової хроматографії з полум'яно-іонізаційним детектуванням і ГХ/МС. Отримані результати обробляли методами багатофакторного статистичного аналізу. Виявлено суттєві відмінності між різними частинами рослин і фенологічними стадіями. Найпоширенішими класами летких сполук були монотерпенові вуглеводні

(18,9-50,5 %) та оксигеновані монотерпени (38,2-72,4 %). Основними компонентами більшості зразків були α -пінен, 1,8-цинеол, лімонен, ліналоол, α -терпінеол, ліналілацетат і геранілацетат. Вміст α -пінену змінювався залежно від стадії розвитку. Найнижче значення зафіксовано на стадії розповсюдження плодів у листі (8,88 %). Найвище – у листі під час цвітіння (32,84 %). Лімонен домінував у період цвітіння. У квітках його вміст становив 23,97 %. Найбільшу кількість 1,8-цинеолу було отримано до цвітіння, 45,98 %, а найменшу кількість – на етапі цвітіння, у квітках [137].

Отже, як бачимо 1,8-цинеол, ліналоол, α -пінен – це основні компоненти ефірної олії, які присутні у тих чи інших кількостях в сировині різних частин *M. communis*, незалежно від географічної зони (температура, якість ґрунту, тривалість дня), часу збирання та генотипу виду.

Листя і ягоди *M. communis* також багаті фенольними сполуками, такими як фенолокислоти, флавоноїди та флаваноли. На екстракцію фенольних сполук впливає вибір фенологічної стадії рослини, вибір розчинника, метод екстракції та очищення, а також технологічні процеси після збору урожаю, головним чином процес сушіння.

Вчені з Тунісу вивчали вплив типу розчинника (води, етанолу та метанолу) на загальний вміст поліфенолів та флавоноїдів. Найвищий вихід екстракту було отримано з етанольних екстрактів листя (15,83 г сухого екстракту /100 г сухої маси). Було виявлено, що екстракти ягід багатші на поліфеноли та флавоноїди. Найвищий вміст поліфенолів (34,82 мг еквівалента галової кислоти на грам сухого екстракту(ГКЕ/г)) та флавоноїдів (19,07 мг еквівалента кверцетину на грам сухого екстракту(КЕ/г)) були зафіксовані в етанольному та метанольному екстрактах ягід відповідно [50].

У дослідженні Benchikh et al. [61] листя *M. communis* екстрагували за допомогою органічних розчинників різної полярності, щоб отримати наступні фракції: метанольний екстракт, екстракт хлороформу, екстракт етилацетату і водний екстракт. Метанольний екстракт мав найвищий загальний вміст фенолів (149,25 \pm 3,11 мг ГКЕ/г), водний екстракт мав найвищий вміст дубильних речовин

(83,35±0,36 мг танінової кислоти еквівалент/г сухого екстракту), тоді як екстракт етилацетату мав найвищий загальний вміст флавоноїдів (38,4±0,9 мг КЕ/г) [61].

На загальний вміст фенолів, флавоноїдів і проантоціанідинів у різних екстрактах значно впливала методологія сушіння. Для аналізу фенольних фракцій екстрактів використовувався метод надпродуктивної рідинної хроматографії в поєднанні з мас-спектрометричним детектуванням високої роздільної здатності. Загальний вміст фенолів в екстрактах збільшився з 39,6 мг ГКЕ/г у висушених на повітрі листках до 55,2 ГКЕ/г після сушіння в мікрохвильовій печі та до 41,1 ГКЕ/г у висушених у сушарках листках при 70 °С. Проте висушування при температурі 100 °С і 120 °С знизило загальний вміст фенолу до 30,8 і 25,7 мг ГКЕ/г відповідно [246]. Екстракцію фенольних сполук із перикарпа *Myrtus communis* проводили за допомогою ультразвуку. На вихід загальних фенольних сполук більше впливали концентрація етанолу, час опромінення, співвідношення рідкий розчинник/тверда речовина та амплітуда, а умови оптимальних параметрів, встановлені моделлю методології поверхні відгуку, становили 70 % (етанол), 7,5 хв і 30% відповідно [69]. Вплив таких змінних екстракції за допомогою ультразвукових хвиль, як температура (30 °С, 45 °С і 60 °С), час (5 хв, 20 хв і 35 хв) і співвідношення твердої речовини до розчинника (0,2, 0,3 і 0,4 г/10 мл) досліджували для оцінки загального вмісту фенолів і загального вмісту флавоноїдів екстрактів листя мирту звичайного. Результат водного екстракту показав найвищий загальний вміст фенолів (269,36 ± 3,83 мг ГКЕ/г) і флавоноїдів (21,39 ± 0,43 мг КЕ/г) порівняно з іншими розчинниками (етанол, метанол та етилацетат). Оптимальні умови були отримані при температурі екстрагування 58 °С, тривалості екстрагування 34 хв і співвідношенні твердої речовини до розчинника 0,2 г/10 мл [264].

На вміст ефірної олії та екстрактів істотно впливав час подрібнення та дистиляції/екстракції, а також їх взаємодія. 3-хвилинна попередня кріоподрібнювальна обробка значно збільшила вихід і концентрацію летких сполук ефірної олії та скоротила час дистиляції до 30 хв. 9-хвилинне попереднє кріошліфування та 15-хвилинна екстракція призвели до принаймні на 40 %

вищих концентрацій фенольних сполук і пігментів в екстрактах порівняно з необробленим контролем. Згідно з отриманими результатами, кріоподрібнення дозволяє значно збільшити вихід ефірної олії та екстрактів мирту, а також модулювати їх склад [90]. Щодо складу ефірної олії, найвищий вміст α -пінену було зафіксовано з меленим та сухим листям, час екстракції становив 1 год 30 хв та співвідношення об'єм/маса 1/4. Оптимальний вміст 1,8-цинеолу було досягнуто при використанні цілого та сухого листя, час екстракції становив 2 год 30 хв та співвідношення об'єм/маса 1/10. Нарешті, найвищий вміст міртенілацетату та лімонену було отримано з цілим та свіжим листям, час екстракції становив 3 год 30 хв та співвідношення об'єм/маса 1/4 [271].

Існують значні варіації у фітохімічних сполуках різних органів на різних етапах збору врожаю та в залежності від різних хемотипів. Загальний вміст фенолу та флавоноїдів варіювався між різними частинами мирту: найвищий загальний вміст фенолу та флавоноїдів був отриманий для екстракту, одержаного з фази перед цвітінням у листі (66,52 мг ГКЕ/г та 7,49 мг КЕ/г екстрактів) [137, 192, 266].

Siracusa et al. [244] була оцінена колекція з дев'яти зразків *M. communis* з різних місцевостей Сицилії. Ягоди та листя мирту були проаналізовані на вміст метаболітів із застосуванням протоколу каскадної екстракції для листя *M. communis* і одноразової гідроетанольної екстракції для ягід. Усі екстракти характеризуються наявністю численних поліфенолів, а саме високогідроксильованих флавонолів, таких як кверцетин, мірицетин і елагова кислота виявлена у всіх зразках. Крім того, ягоди мирту містили дев'ять різних антоціанів, а саме дельфіндин, петунідин, ціанідин і похідні мальвідину (рис. 1.2) [122, 244].

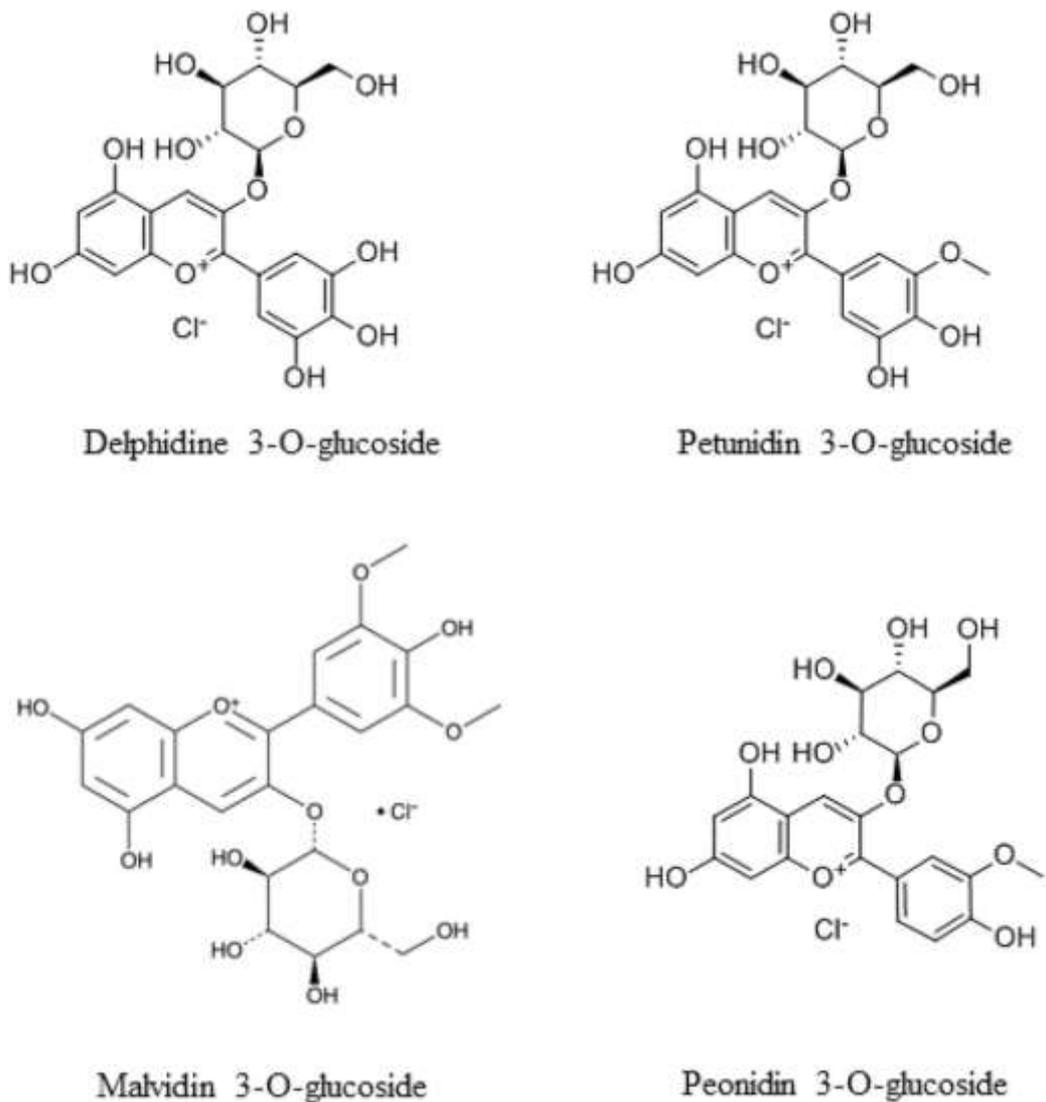


Рисунок 1.2 – Найбільш поширені антоціани, які присутні в листі та ягодах мирту

Більшість фенольних сполук походить з фенілпропаноїдного шляху, де фермент фенілаланін-амоніаза (PAL) активує першу стадію. У дослідженні Medda et al. [174], проведеному у 2020 році, визначили як активність PAL в плодах і листі мирту впливає на деякі фенольні сполуки у період між цвітінням і повним дозріванням ягід. З цією метою було порівняно два модельних генотипи з різним забарвленням плодів. У листі та ягодах двох сортів «Джованні» з пігментованими ягодами та «Грація» з білими ягодами встановлено активність PAL та вміст поліфенолів, антоціанів, флавоноїдів, танінів, визначених спектрофотометричним методом. Активність PAL була досить постійною в

листочках і змінювалася в ягодах: більша в ягодах «Джованні», ніж у сорту «Грація», і зростала від зміни кольору ягід до повного дозрівання. У ягодах була виявлена позитивна кореляція між РAL і флавоноїдами, а також між РAL і антоціанами, а також негативна кореляція між РAL і загальними поліфенолами. Що стосується кількісного вмісту фенольних сполук, виявлених у дослідженні під час дозрівання сорт «Джованна» показав нижчий вміст загальних фенольних сполук, ніж сорт «Грація» (37 та 46 мг ГКЕ/г для «Джованні» і «Грація»), а також менший вміст загальних танінів (0,33 мг КЕ/г для «Джованні» і 2,73 мг КЕ/г для «Грація») [174]. Результати дослідження, проведеного у 2021 р. цими ж дослідниками, показали, що відмінності в забарвленні між темно-синім сортом «Джованна» та білим «Грація» можуть бути наслідком надмірної регуляції деяких структурних генів у темно-синіх плодах, зокрема лейкоантоціанідиндіоксигеназа (LDOX) та флавоноїд-3-*O*-глюкозилтрансфераза (UFGT) гени. Крім того, цей перший молекулярний підхід показав значні позитивні кореляції між загальними та специфічними генами антоціанів і загальним вмістом антоціанів, тоді як не було виявлено кореляцій із загальним вмістом фенолів [177].

Кількісний аналіз основних фенольних сполук, виявлених у плодах мирту свідчив, що гідролізовані дубильні речовини становлять понад 90 % у зразках насіння, домінували у фенольних профілях як у м'якоті, так і в насінні. Фенольні кислоти були виявлені в менших кількостях, характерно присутність лише галової кислоти (52,21 мг/кг сухої маси для м'якоті та 137,02 для насіння). Серед флаванолів, виявлених у свіжих ягодах мирту, кверцетин-3-*O*-галактозид і, меншою мірою, кверцетин-3-*O*-рамнозид, були єдиними флаванолами. Як і очікувалося, антоціани були виявлені лише в екстракті м'якоті з мальвідином 3-*O*-глюкозидом у найбільшій кількості (41,98 мг/кг) [60, 89, 104, 262]. В дослідженні Al-Najjar et al. [39] за допомогою рідинної хроматографії - тандемної мас-спектрометрії у шкірці плодів було ідентифіковано сім антоціанів з відносною часткою 59,84 % від загальної площі піків на хроматограмі в режимі позитивних іонів. Серед ідентифікованих сполук петунідин-3-*O*-глюкозид та мальвідин-3-*O*-рутинозид були найпоширенішими антоціанами з відносною

часткою 12,48 % та 11,87 % відповідно [39]. А в дослідженні Correddu et al. [86] антоціани взагалі не були знайдені, це, ймовірно, тому, що ці сполуки повністю екстрагуються під час гідроетанольного настоювання ягід мирту під час виробництва лікеру. Крім того, в літературі зазначається про низьку стабільність цих сполук, які легко розкладаються під дією світла, високої температури та повітря [86].

Franco et al. [119] було виявлено, що ягоди мирту, і зокрема насіння, містять велику кількість цінних гідролізованих танінів, особливо елагітаніни, включаючи евгеніфлорин D2, енотеїн В, педункулагін, стриктинін, телімаграндін I, казуариктин і гексагідроксидифеноілгексозид (рис. 1.3) [119, 122].

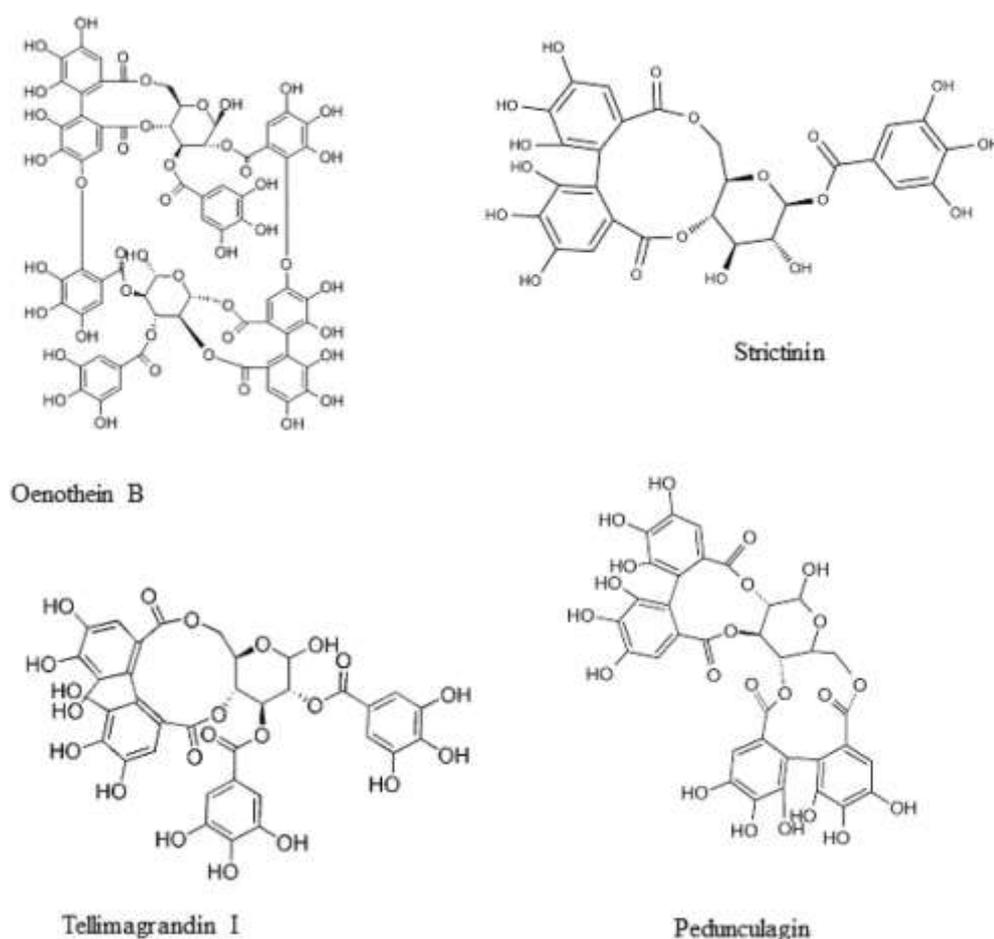


Рисунок 1.3 – Деякі типові дубильні речовини, що гідролізуються, які містяться в насінні мирту

Що стосується складу листя, концентрація загальних поліфенолів і флавоноїдів коливалась від 31,25 мг ГКЕ/г до 298,63 мг ГКЕ/г і від 129,96 мг ГКЕ/г до 376,82 мг ГКЕ /г, відповідно, залежно від сорту мирту та методів, застосованих для екстракції та аналізу. Зокрема, лігнани (тобто секоізоларицирезінолу гексозид), дубильні речовини (тобто евгеніфлорин D2, теллімаграндин I і II та енотейн B), флавоноїди (тобто (+)-катехін, кверцетин-3-*O*-рамнозид, кверцетин галактозидгалат, (-)-епігалокатехін, (-)-епігалокатехін-3-*O*-галлат, мірицетин галактозид, мірицетин-3-*O*-рамнозид, мірицетин арабінозид і кемпферол-*O*-галоїлгексозид), ГКК (елагова кислота та її похідні, галова кислота та галоїлові похідні, сириngoва, *t*-ферулова та кофейна кислоти), і галоміртукоммулони (галоміртукоммулони А і С) є основними фітохімічними речовинами, які містяться в екстрактах листя мирту (рис. 1.4) [122].

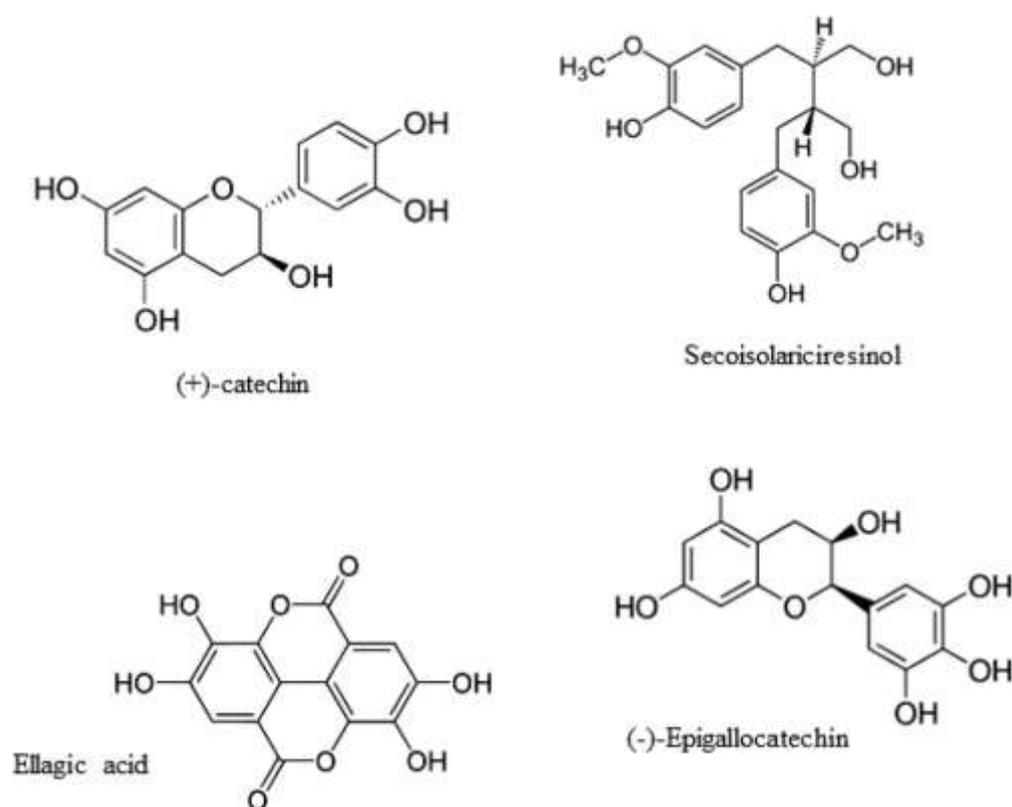


Рисунок 1.4 – Найбільш поширені поліфенольні речовини, присутні в листі мирту

Методом ГХ/МС метанольного екстракту листя *M. communis* було встановлено наявність 1,8-цинеолу (33,80 %), α -пінену (10,06 %), ліналоолу (4,83 %), *n*-диметиламінобензофенону (4,21 %), тунберголу (4 %), терпінеолу (3,60 %), *цис*-геранілацетату (3,25 %) і тотаролу (3,30 %) як основних сполук. Екстракт мирту містить флавоноїди, в тому числі піностробін халкон і похідні ГКК, в тому числі циннамілциннамат [58].

За допомогою рідинної хроматографії екстракту листя *M. communis* Mechchate et al. [173] встановили наявність сімнадцяти компонентів, а саме: галова кислота, кверцетин, *n*-кумарова кислота, гесперидин, аментофлавіон, лютеолін, кверцетин-3-*O*-глюкозид, кверцетин-3-*O*-глюкуронова кислота, ізорамнетин-7-*O*-пентоза, лютеоліну-7-*O*-глюкозид, кемпферол-3-*O*-глюкуронова кислота, кемпферол-3-*O*-пентоза, кемпферол-3-*O*-гексоза, дезоксигексоза, катехін галлат, проціанідин, кемпферол і нарингін. Кверцетин-3-*O*-глюкозид, ізорамнетин-7-*O*-пентоза та лютеолін-7-*O*-глюкозид були найпоширенішими компонентами в екстракті [173]. В іншому дослідженні основними поліфенольними компонентами в екстракті листя мирту були мірицетин-3-*O*-рамноза (36,68 %), мірицетин-3-*O*-галактоза (33,20 %), мірицетин (14,48 %) і 5-*O*-галоїлхінінова кислота (7,96 %) [65]. Було розроблено метод кількісного визначення мірицитрину в листі мирту звичайного (*M. communis*) за допомогою ВЕРХ. Вміст домінуючого флавоноїду мірицитрину (мірицетин 3-*O*- α -*L*-рамнопіранозиду) в листі мирту звичайного варіювався від 0,98 % \pm 0,02 % до 1,51 % \pm 0,07 % [160].

Побічний продукт екстракції ефірної олії листя *M. communis* мав високий загальний вміст фенолів, флавоноїдів і проантоціанідинів. Методом зворотньофазної ВЕРХ було визначено, що побічний продукт містить велику кількість галової кислоти, катехіну, сиригової кислоти та лютеоліну-7-*O*-глюкозиду. Крім того, вимірювання середньої інфрачервоної спектроскопії показали наявність бензольних кілець, характерних для фенольних сполук, складних ефірів ароматичних кислот, коливань розтягування поліфенолів і

коливань розтягування, присутніх у ГКК, таких як кумарова кислота та катехін [30].

Вміст фенольних сполук у настоях надземної частини мирту різного часу приготування (5 хв, 10 хв і 15 хв) відповідно становив (мкмоль/г сухої речовини): галової кислоти $6,47 \pm 0,59$, $8,23 \pm 1,23$ і $11,82 \pm 0,65$; кофейної кислоти $0,71 \pm 0,18$, $0,88 \pm 0,29$ і $1,41 \pm 0,06$; сиригової кислоти $0,18 \pm 0,06$, $0,29 \pm 0,24$ і $0,53 \pm 0,12$; ферулової кислоти $0,29 \pm 0,08$, $0,41 \pm 0,06$ і $0,53 \pm 0,13$; мірицетин-3-*O*-галактозиду $0,59 \pm 0,09$, $0,76 \pm 0,08$ і $1,06 \pm 0,15$; мірицетин-3-*O*-рамнозиду $0,71 \pm 0,11$, $0,82 \pm 0,10$ і $1,18 \pm 0,16$; мірицетин-3-*O*-арабінозиду $0,12 \pm 0,09$, $0,18 \pm 0,07$ і $0,24 \pm 0,04$; кверцетин-3-*O*-галактозиду $5,35 \pm 0,18$, $6,64 \pm 1,29$ і $9,11 \pm 1,00$; кверцетин-3-*O*-рамнозиду $0,29 \pm 0,18$, $0,29 \pm 0,12$ і $0,53 \pm 0,17$; мірицетину $3,00 \pm 0,24$, $3,82 \pm 0,29$ і $5,00 \pm 0,65$; кверцетину $1,59 \pm 0,47$, $2,41 \pm 0,35$ і $3,59 \pm 0,59$; загальний вміст ідентифікованих фенольних сполук $19,28 \pm 2,12$, $24,75 \pm 4,06$ і $34,98 \pm 3,47$; ГКК $7,64 \pm 0,88$, $9,82 \pm 1,82$ і $14,28 \pm 0,88$; флавонолових глікозидів $7,05 \pm 0,53$, $8,70 \pm 1,59$ і $12,11 \pm 1,35$; і флавонолів $4,58 \pm 0,71$, $6,23 \pm 0,65$ і $8,58 \pm 1,23$ [40].

Як вже зазначалось різний склад компонентів може бути пов'язаний з різними фенологічними стадіями рослини, методом сушіння, вибором розчинника, методом екстракції та очищення.

Листя *M. communis* містить значну кількість деяких макро- та мікроелементів, що забезпечує високі поживні та терапевтичні властивості для здоров'я людини. Результати показали, що листя *M. communis* містять значні концентрації К, Fe та Р. Магній також був визначений у значній кількості. Оцінка внеску елементів у споживання з їжею 10 г сухого порошку на день показала, що ця рослина може сприяти задоволенню деяких потреб у мікроелементах. Крім того, концентрації потенційно токсичних елементів, таких як As і Br, були в межах безпечних рівнів для споживання людиною [195].

Вміст мінеральних речовин у плодах мирту чорного та білого кольору визначали методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою. Було виявлено, що плоди багаті на деякі мінерали, такі як Са

(6719,88 мг/кг і 4676,14 мг/кг), К (22647,78 мг/кг і 18339,84 мг/кг), Mg (2145,19 мг/кг і 1408,88 мг/кг), Na (3336,16 мг/кг і 2976,59 мг/кг) і P (4336,07 мг/кг і 3927,4 мг/кг). [132].

1.3 Застосування мирту звичайного у різних галузях

Із давніх часів мирт використовувався як пряність, а також для лікування та приготування їжі. Мирт як пряність не знаходить широкого застосування через свою гіркоту, незважаючи на приємний запах. Смак дуже інтенсивний, досить неприємний і сильно гіркий, тому його кулінарне застосування обмежене регіоном походження, таким як Італія. В Італії, особливо на Сардинії, ягоди та листя використовуються для виробництва двох добре відомих лікерів, виготовлених з його листя (білий лікер) та ягід (червоний лікер) [37, 39]. Він виготовляється шляхом гідроетанольного настоювання ($> 40\text{ }^{\circ}\text{C}$) протягом не менше 15 днів [86]. Їжа, приправлена димом мирту, поширена в сільській місцевості Італії чи Сардинії. Однак деякі частини рослини використовуються в харчовій промисловості, для ароматизації м'яса та соусів, листя рослини використовується для приготування салатів, рагу та смажених страв [37, 39].

Відвар надземної частини мирту застосовують як гіпотензивний, гіпоглікемічний, протизапальний і протидіарейний засіб, використовується при лікуванні кровотеч, кон'юнктивіту, головного болю, лейкорей, підвищеного потовиділення, для лікування кашлю, шлунково-кишкових розладів (зокрема пептична виразка), захворювання сечовивідних шляхів (уретрит), а також для інактивації мікроорганізмів і загоєння ран. Плоди мають широкий спектр застосування: як в'язучий, болезаспокійливий, антисептичний, вітрогонний, заспокійливий, протизапальний, сечогінний, протидіабетичний, протиблювотний, нефропротекторний, гомеостатичний засіб, а також при розладах шлунка. Листя застосовували як ароматизатор, в'язучий,

антисептичний, кровоочисний, гіпоглікемічний, проносний, болезаспокійливий, гомеостатичний, стимулюючий засіб, а також при лікуванні запорів і респіраторних захворювань [39, 40].

Ефірна олія мирту звичайного проявляє інсектицидні та фунгіцидні властивості, зокрема проти яєць, личинок першої стадії та дорослих комах борошняної молі (*Ephestia kuehniella* Zeller) та індійської борошняної молі (*Plodia interpunctella* (Hübner)) [267]. Також вона проявляє інсектицидний ефект проти личинок четвертого віку, які щойно виростили, та дорослих особин *Culex pipiens*, та може розглядатися як потенційна альтернатива традиційним інсектицидам [268]. Препарат на основі суміші ефірних олій *M. communis*, *Satureja alpina* L., *Thymus satureioides* Coss. у співвідношенні 22:23:55 є ефективним і перспективним як потенційний ботанічний гербіцид для боротьби зі шкідливим видом бур'янів *Amaranthus retroflexus* L. [183]. Водний та етанольний екстракти *M. communis* можуть бути використані як безпечні та екологічно чисті інсектициди для боротьби проти німф бобової попелиці *Aphis fabae* [191]. Листя та гілки *M. communis* продемонстрували інгібуючий вплив на ранню стадію розвитку проростків пшениці. Цей алелопатичний вплив, що спостерігається на насінні пшениці, в якій обрізані гілки можна використовувати як мульчуюче покриття для надання гербіцидного ефекту на полі мирту або сусідніх сільськогосподарських полях [213]. Також екстракти листя *M. communis* мають репелентну та інгібуючу активність проти *Meloidogyne J2* та запобігають кореневій інфекції рослин [200].

У харчовій промисловості ефірна олія мирту звичайного може бути використана як природна антимікробна добавка до сиру, забезпечуючи безпеку проти *Listeria monocytogenes* [210, 234] та є можливою альтернативою синтетичному антиоксиданту аскорбілпальмітату, зменшує окислення ліпідів та деградацію ліпідорозчинних вітамінів у молочному маслі під час виробництва та зберігання [181]. Додавання різних екстрактів листя *M. communis* покращило окислювальну стабільність соєвої олії. Отже, використання екстракту

M. communis також може бути перспективним способом запобігання окисленню ліпідів у їжі [246].

Зважаючи на багатий хімічний склад сировини мирту, було проаналізовано фармакологічні дослідження, які показали що *M. communis* має широкий спектр фармакологічної активності, включаючи антимікробну, протигрибкову, противірусну, протипаразитарну, противиразкову, гастропротекторну, гепатопротекторну, протидіабетичну, протизапальну, антигіпертензивну, антиоксидантну, антиліпідемічну, антитромбічну, антигемороїдальну, антимутагенну та імуностимулюючу.

Антимікробні та протигрибкові ефекти

Італійські вчені у своїх дослідженнях оцінили антибактеріальну, цитотоксичну та антиацетилхолінестеразну властивості ефірної олії листя *M. communis* та її основних компонентів. Усі компоненти олії були активними проти *Pectobacterium carotovorum*, за винятком міртенілацетату, який показав інгібіторну активність біоплівки лише на 2,08 %. Навпаки, чотири основні компоненти (міртенілацетат (29,8 %), 1,8-цинеол (21,9 %), α -пінен (14,7 %) і ліналоол (9,1 %)) призвели до блокування або обмеження утворення біоплівки *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus aureus* [76]. Ефірна олія мирту також виявляє важливу активність проти *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* і *Micrococcus luteus* [97]. Антибактеріальну дію ефірної олії мирту проти грамнегативних бактерій *in vitro* досліджували за допомогою методу дискової дифузії. Найкращі значення зони інгібування становили від 11 мм до 25 мм. Результати показали, що *E. coli* (25 мм), *Klebsiella oxytoca* (20 мм) і *Serratia marcescens* (20 мм) є найбільш чутливими штамами до ефірної олії, який наділений бактерицидною дією [54, 70].

Ефірна олія мирту має помірну інгібіторну активність проти *S. aureus* (18 ммоль) з мінімальною інгібуючою концентрацією (МІК 1,32 мг/мл), потім на *Acinetobacter baumannii* (15 ммоль, МІК 2,64 мг/мл). *Klebsiella pneumoniae* і

S. epidermis мають однаковий діаметр гальмування (11 мм і МІК 6,6 мг/мл). Тоді як *P. aeruginosa* був дуже стійкий до цієї ефірної олії [108].

1,8-цинеол є важливим компонентом ефірної олії, отриманої з *M. communis*. Він проявляє найефективніші антибактеріальні властивості, демонструючи зону інгібування 12 мм проти *S. aureus* та 10 мм проти *P. aeruginosa*. Порівняно з грамнегативними бактеріями, грампозитивні бактерії служать кращими антибактеріальними засобами [141].

Побічний продукт екстракції ефірної олії з листя *M. communis* здатний зменшувати розвиток штамів *Salmonella enteritidis*, *Aeromonas hydrophila* та *Listeria monocytogenes* [240].

Результати дослідження, проведеного в Ірані, продемонстрували виняткову дію ефірної олії листя *M. communis* проти токсоплазми мишей, інфікованих *Toxoplasma gondii* [239].

Комбінований вплив сумішей ефірних олій може значно посилити їхню антимікробну активність, використовуючи синергетичну взаємодію між їхніми різноманітними біоактивними сполуками [248]. Розглядалась ефективність комбінацій ефірних олій проти різних бактерій. Потрійна суміш, що складалася з 17,1 %, 39,6 % і 43,1 % *M. communis*, *Artemisia herba-alba* і *Thymus serpyllum* відповідно, проявила оптимальну інгібуючу активність проти *B. subtilis* [202]. П'ять різних комбінацій [*Cupressus sempervirens* (кипарис) у поєднанні з *Melaleuca alternifolia* (чайне дерево), *Hyssopus officinalis* (ісоп) у поєднанні з *Rosmarinus officinalis* (розмарин), *Origanum marjorana* (майоран) у поєднанні з *Melaleuca alternifolia*, *M. communis* (мирт) у поєднанні з *Melaleuca alternifolia* та *Origanum vulgare* (материнка) у поєднанні з *Melaleuca alternifolia*] були найбільш перспективними при лікуванні респіраторних захворювань, демонструючи антимікробну активність, знижену цитотоксичність та покращену протизапальну дію [164]. Оптимізація антибактеріальної активності сумішей підкреслила синергічний ефект між ефірними оліями *Thymus vulgaris* L. і *M. communis*. Композицію, що містить 55 % ефірної олії *Thymus vulgaris* L. і 45 % *M. communis* відповідно, розглядали для підвищення чутливості *Salmonella typhimurium* [114].

В іншому дослідженні оцінили антибактеріальну, антибіоплівкову та антивірусну дію комбінацій різних концентрацій ефірних олій *Rosmarinus officinalis* і *M. communis* проти умовно-патогенного збудника *S. aureus* [72]. На пригнічення *E. coli* та *S. aureus* впливали потрійні суміші *Cladanthus mixtus*, *M. communis* та *Helichrysum italicum* [163].

Під час дослідження, проведеного Aouadhi et al. [43] вісім ефірних олій були протестовані на їх антимікробну активність проти шести видів, що належать до роду стафілококів, мультирезистентних до антибіотиків (*S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. wareneri*, *S. scuri*, *S. chromogenes*, *S. pasteurii*), три метицилінрезистентні штами *S. aureus* і два штами *E. coli*, що продукують β -лактамазу розширеного спектру, відповідальну за бичачий мастит. Ефірна олія *Artemisia absinthium*, *Eucalyptus*, *M. communis* і *Mentha pulegium* виявляли проміжну активність [43].

Антимікробну активність ефірних олій, отриманих із квітів туніського *M. communis* оцінювали за допомогою методів дифузії в агарі та мікророзведення бульйону проти панелі контрольних патогенних бактерій, що складалася з шести різних грампозитивних штамів (включаючи *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* і *Staphylococcus epidermidis*) і три грамнегативні бактерії (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Salmonella enterica*). Ефірна олія мирту пригнічувала ріст усіх штамів бактерій, протестованих у нецитотоксичних концентраціях, виявляючи більш сильну антимікробну активність у випадку грампозитивних бактерій, а дія проти *Listeria monocytogenes* була бактерицидною [96].

Ефірні олії складаються з компонентів, які просто звітрюються або розкладаються, що призводить до їх нестабільності. Приготування ніосомальної композиції ефірної олії може бути багатообіцяючим підходом для подолання цих перешкод. Було виявлено, що ніосоми стабільні при 4 °C протягом тримісячного періоду часу і препарат ніосомальної ефірної олії мирту в композиції з F6 (Span/Tween 60:Chol (холестерин) (молярне співвідношення 50:50)) пригнічує

ріст *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Serratia marcescens* і *B. subtilis* у концентраціях, нижчих, ніж просто ефірна олія мирту [216].

У пошуках нових антимікробних засобів проти видів *Staphylococcus* були досліджені біоактивні фракції *M. communis*. Їх фітохімічний аналіз привів до виділення та характеристики чотирьох алкілфлороглюцинол глікозидів, три з них галоміртукоммулони G– D і міртукоммулонозид, які були вперше виділені та описані. Результати продемонстрували, що галоміртукоммулон G показав селективну антимікробну активність проти обох штамів *S. aureus* до 16 мкг/мл, тоді як галоміртукоммулон D продемонстрував найкраще значення пригнічення росту при 64 мкг/мл [131, 136]. В іншому дослідженні було вивчено антибактеріальну та протикандидозну дію водного екстракту мирту щодо *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* та *C. albicans*. Найвищу антимікробну активність спостерігали проти *E. coli* [29]. Водний екстракт листя мирту звичайного продемонстрував значну інгібіторну активність проти патогенних мікроорганізмів і мікроорганізмів, що викликають псування крафтового пива, з мінімальними інгібіторними концентраціями 0,18, 0,71 і 1,42 мг ГКЕ/мл проти *S. aureus*, *Lactiplantibacillus plantarum* і *Lacticaseibacillus casei* відповідно. Крім того, він зменшував ріст *Levilactobacillus brevis* і *Fructilactobacillus lindneri* при концентраціях 0,35 і 0,71 мг ГКЕ/мл відповідно [85].

Також було досліджено антибактеріальну активність етанольного екстракту листя мирту звичайного (*M. communis*) щодо десяти штамів мікроорганізмів. Результати дослідження підтверджують, що грампозитивні (*Enterococcus faecalis*, *S. epidermidis*, *Mycobacterium smegmatis* mc, *S. aureus*) бактерії були чутливими, тоді як грамнегативні штами були стійкими до екстракту. Виявлено, що пригнічення росту пов'язане з пошкодженням клітинної стінки, оскільки клітини, оброблені екстрактом, були чутливі до антибіотиків, спрямованих на клітинну стінку, і демонстрували морфологічні дефекти, що відображають пошкодження клітинної стінки [185]. Етанольний екстракт листя мирту у концентрації 8000 мкг/мл спричинив найбільшу зону пригнічення росту (30,1 мм ± 1,2 мм) проти *S. aureus*, тоді як він викликав найменшу зону

пригнічення ($10,0 \text{ мм} \pm 0,6 \text{ мм}$) у концентрації 500 мкг/мл проти *S. epidermidis* [215].

В іншому дослідженні етанольний екстракт листя *M. communis* виявляє сильну антибактеріальну дію як проти туберкульозних видів мікобактерій шляхом руйнування бактеріальної клітини. Екстракт продемонстрував інгібування біоплівки та знищив зрілі та позазрілі біоплівки *Mycobacterium smegmatis* і *S. aureus* [231].

Антимікробну активність водних та етанольних екстрактів *M. communis* (мирту звичайного), *Ammi visnaga* (аммі зубної) та *Equisetum arvense* (хвоща польового) досліджували проти *S. aureus*, *E. coli* та *C. albicans* методом дифузії в агар. Активність рослинних екстрактів збільшувалася зі збільшенням концентрації екстракту *M. communis*, який, здавалося, володів більшою антимікробною активністю, ніж інші оцінені рослини; фактично, його етанольний екстракт продемонстрував найбільшу зону пригнічення проти *S. aureus* (32 мм) [35].

Етанольний і гексановий екстракти *M. communis* мали вищу антибактеріальну активність проти грампозитивних бактерій (*S. aureus* і *Streptococcus pyogenes*), ніж грамнегативних бактерій (*E. coli* і *P. aeruginosa*) [220]. Стійкість до антибіотиків грамнегативної бактерії *P. aeruginosa* та її здатність утворювати біоплівку за допомогою механізму Quorum Sensing (QS) є важливими проблемами в контролі інфекцій, спричинених цим патогеном. Етанольний екстракт *M. communis* продемонстрував сильну анти-QS дію на *Chromobacterium violaceum* 6267 шляхом інгібування 80 % вироблення пігменту віолацеїну при концентрації нижче МІК 1/8 (31,25 мкг/мл). Крім того, екстракт виявляв інгібуючу дію на фактори вірулентності *P. aeruginosa* при половині МІК (125 мкг/мл), значно знижуючи утворення біоплівок (72,02 %), активність роїння (75 %) і продукцію протеази (61,83 %) і піоціаніну (97 %). Активна фракція також знижувала експресію вибраних регуляторних генів, залучених до формування біоплівки та QS у штамі *P. aeruginosa*. Потенціал етанольного екстракту листя *M. communis* та його активних фракцій пригнічувати QS є багатообіцяючою

стратегією боротьби з бактеріальними інфекціями, особливо тими, що спричинені резистентними штамми [135, 154].

В Ірані було проведено дослідження, в якому визначалась інгібуюча дія різних фракцій, виділених із стандартизованого екстракту *M. communis* проти чутливих до ністатину та резистентних до ністатину *C. albicans*, виділених від ВІЛ-інфікованих пацієнтів. Загальний екстракт і фракції петролейного ефіру, хлороформу, етилацетату і метанолу готували методом обробки ультразвуком. Результати дослідження показали, що фракції мирту мають більшу антикандидозну дію, ніж загальний екстракт [256]. Пероральне введення водного екстракту листя *M. communis* кроликам покращує їхню продуктивність та мінімізує токсичну дію мікотоксинів [47]. Екстракти, екстраговані метанолом із коренів і листя, виявляли сильну інгібіторну активність проти *C. glabrata* ($23,5 \pm 0,12$ і $20,7 \pm 0,22$ відповідно) при 50 мг/мл, із застосуванням 5 мг/мл флуконазолу як стандартного контролю. Значення МІК і мінімальної фунгіцидної концентрації (МФК) становили 12,5 мг/мл і 25 мг/мл для екстракту кореня *M. communis* і 25 мг/мл і 50 мг/мл для екстракту листя *M. communis* проти *C. glabrata*. Результати були підтверджені за допомогою скануючої електронної мікроскопії (СЕМ) контрольного та обробленого штамів *C. glabrata*. Згідно з СЕМ, ці екстракти можуть змінити морфологію та спричинити втрату цілісності клітин. Вплив екстрактів кореня та листя *M. communis* на клітини *Candida* також визначали шляхом вимірювання поглинання при 260 нм після обробки протягом 1 год при 37 °С. Цікаво, що матеріал, який поглинає 260 нм, був вищим у *C. glabrata*, ніж у стійкого штаму *Candida parapsilosis* (АТСС 22019). Екстракт може впливати на клітинну стінку та клітинну мембрану клітин *Candida*, що в подальшому призводить до загибелі клітин [41]. Надкритичний екстракт та ефірна олія показали хорошу протигрибкову активність, і жоден із екстрактів не виявив інгібуючої активності проти молочнокислих бактерій [91]. Протигрибкова активність ефірної олії була помітною проти *Fusarium oxysporum* ($16,50$ мм \pm $0,50$ мм), *Aspergillus fumigatus* ($11,00$ мм \pm $1,00$ мм) та *Penicillium* sp. ($9,00$ мм \pm $0,60$ мм), але неефективною проти *Aspergillus niger* [55].

Mushtaq et al. [190] дослідили протигрибкові та антибіоплівкові властивості етанольного екстракту листя *M. communis* проти *Trichosporon mucoides* та *Cryptococcus humicola*, а також оцінили вплив екстракту на ефективність поширених протигрибкових препаратів, таких як флуконазол та ністатин. Екстракт листя мирту пригнічував ріст планктону та біоплівки обох штамів з МІК 78 мкг/мл та середньою інгібіторною концентрацією 19,5 мкг/мл. Зона пригнічення для *Trichosporon mucoides* та *Cryptococcus humicola* становила 22 мм та 23 мм відповідно. Екстракт продемонстрував синергічну активність у поєднанні з флуконазолом, тоді як у поєднанні з ністатином його активність була ідентичною для обох протестованих штамів [190].

В ягодах та насінні *M. communis* міститься компонент – енотеїн В, який здатний пригнічувати ріст кількох чутливих і стійких до флуконазолу *Candida* видів (*C. albicans*, *C. tropicalis* і *C. glabrata*), які знаходяться у шлунковому тракті. Крім того, енотеїн В продемонстрував властивості інгібування росту проти *Helicobacter pylori* [119].

Розчин мирту виявився ефективним у лікуванні лупи [224]. Також було визначено, що *M. communis* має інгібуючу дію на ріст *Malassezia sp.*, виділених зі шкіри хворих на лишай [53].

Як водний, так і метанольний екстракти листя *M. communis* показали високу антибактеріальну активність щодо пародонтальних патогенів [100]. Поєднання метанольних екстрактів *M. communis* та *Eucalyptus galbie* має антибактеріальну дію проти *Enterococcus faecalis* [218]. Водний екстракт *M. communis* мав антибактеріальну дію на *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* і *Prevotella intermedia*. Метанольний екстракт мав антибактеріальну дію на ці бактерії [217]. Розроблена зубна паста була виготовлена з екстрактів листя *Artemisia dracuncululus*, *Satureja khuzestanica* (Jamzad) і *M. communis* (Linn), зі стерильною очищеною водою. Продукт був протестований проти п'яти мікроорганізмів, включаючи *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius* і *C. albicans*,

використовуючи метод дифузії в агарі. Зубна паста показала сильну інгібіторну дію проти грампозитивних бактерій і *C. albicans* [228].

Лосьон мирту такий же ефективний, як і кліндаміцин, у лікуванні акне легкого та середнього ступеня, визваного *Propionibacterium acnes* [231]. А емульсійний гель *M. communis*, отриманий з відходів курячих кігтів, може бути використаний для лікування інфекцій, спричинених активними бактеріями *Acinetobacter baumannii* та *Enterococcus faecalis* [75].

Противірусна дія

Ефірна олія *M. communis* виявляє потужну противірусну активність проти HCoV-229E та HCoV-OC43, порівняно з двома схваленими FDA препаратами, Remdesivir і Nirmatrelvir, на клітинах Huh7.5 у діапазоні низької цитотоксичності, але не на SARS-CoV-2. Це дослідження показує потенційну ефективність ефірної олії мирту як альтернативного природного засобу для лікування коронавірусу людини та потенційного противірусного засобу для майбутніх коронавірусних інфекцій [165]. s-cbz-цистеїн, майурон і метилксантин, які містились в ефірній олії квітів *M. communis*, були визнані найбільш перспективними фітохімічними речовинами проти SARS-CoV-2 [54].

У дослідженні, проведеному Maddah et al. [178], було використано консенсусну стратегію віртуального скринінгу, що інтегрує машинне навчання та молекулярний докінг, для ідентифікації потенційних противірусних агентів з фітохімічних речовин *M. communis* проти вірусу папіломи людини (ВПЛ). ВПЛ, ДНК-вірус, є основною причиною раку шийки матки та генітальних бородавок. П'ять фітохімічних речовин з найвищими балами – міртукоммулони А, С та Е, семіміртукоммулон та телімаграндин II – продемонстрували стабільну активність в обох моделях та показали високу стабільність у молекулярно-динамічному моделюванні. Ці сполуки, з документованими противірусними та протираковими властивостями, є перспективними кандидатами для подальшої експериментальної валідації в розробці ліків проти ВПЛ [178].

M. communis можна використовувати для місцевого лікування бородавок. Він не тільки демонстрував швидшу реакцію, ніж саліцилова кислота, але й мав

менше побічних ефектів. Мирт не тільки мав протівірусну дію, але й може мати системний вплив [120, 184].

Противірусні властивості

Дослідження проведене Chegeni et al. [78] продемонструвало, що екстракт мирту звичайного можна використовувати як безпечний засіб проти трофозоїтів і цист *Acanthamoeba* [78]. Метанольний екстракт *Myrtus communis* мав високу сколіцидну активність у моделі *in vitro* [42]. Також визначено, що етанольний екстракт *M. communis* має високу сколіцидну дію проти ехінококозу, викликаного метацестодами *Echinococcus granulosus*, у моделі *in vitro* [151]. Етанольний екстракт продемонстрував сильнішу сколіцидну активність проти протосколесів *Echinococcus granulosus sl*, ніж водний екстракт [63].

Leishmania major – паразит людини, який спричиняє ураження шкіри та рани. Дослідження, проведене на мишах, продемонструвало, що найнижче паразитарне навантаження спостерігалось в групі, яка отримувала етанольний екстракт мирту звичайного. Як водний, так і етанольний екстракти були менш токсичними для нормальних макрофагів, ніж глюкокантайм, і пероральне введення замість ін'єкцій є ще однією перевагою мирту перед глюкокантаймом, тому цей метод лікування можна використовувати як альтернативний метод лікування шкірного лейшманіозу [140].

Антигіпертензивна та антидіабетична дія

Завдяки антигіпертензивним, протизапальним та антихолінергічним властивостям, екстракт *M. communis* сприяє покращенню когнітивних функцій при артеріальній гіпертензії [77].

Екстракт мирту звичайного продемонстрував сприятливий вплив на порушення когнітивних функцій, які виникають на експериментальній моделі постменопаузального діабету, з його антихолінергічним і гіпоглікемічним ефектами. Крім того, *M. communis* підвищує рівні BDNF, $\alpha 7$ -nAChR і PSA-NCAM, забезпечуючи посилення холінергічної передачі та нейрогенезу [66]. Гідроетанольний екстракт листя виявив м'який антидіабетичний ефект у щурів, індукованих стрептозотоцином. Проте етанольний екстракт листя (2 г/кг)

мав більший гіпоглікемічний ефект у щурів з діабетом, ніж водний екстракт ($p < 0,05$) [254]. В іншому досліді щурам з індукованим цукровим діабетом вводили три різні етанолові екстракти ягід мирту (0,25, 0,5 і 1 г/кг) перорально протягом 14 днів. Наприкінці експерименту рівні аланінамінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ), малонового діальдегіду (МДА) та глюкози в крові щурів значно знизилися, тоді як спостерігалось значне підвищення рівнів супероксиддисмутази (СОД) і глутатіону [33].

Parlak et al. [207] визначили вплив екстракту плодів *M. communis* на глікемічний та ліпідний профіль, пов'язаний з діабетом 2 типу. Порівняно з контрольною групою хворих на діабет мишей, екстракт плодів *M. communis* значно покращив рівень глюкози, холестерину та тригліцеридів у сироватці крові ($p < 0,05$) та значно підвищив рівень адипонектину, АМПК та лептину в сироватці крові ($p < 0,05$). Також він значно збільшив експресію мРНК GLUT-1, PPAR- α та PPAR- γ у поперечно-смугастій м'язовій тканині ($p < 0,05$), але не викликав жодних змін у печінці. Отже, екстракт плодів *M. communis* мав значний позитивний вплив як на метаболізм глюкози, так і на метаболізм ліпідів [207].

Олія з насіння *M. communis*, побічний продукт екстракції ефірної олії листя *M. communis* та екстракти ягід мирту продемонстрували цікаву здатність інгібувати альфа-амілазу, що свідчить про те, що його можна використовувати як альтернативу акарбози при лікуванні діабету [30, 37, 49].

Противиразкова та гастропротекторна дія

Було проведено дослідження, яке оцінило гастропротекторний ефект мікрокапсульованої ефірної олії мирту проти гострих уражень шлунка, спричинених сумішшю етанол/хлороводень у щурів. Інкапсульована ефірна олія мирту потенційно може бути застосована для лікування гострих виразок шлунку. Лікування тварин мікрокапсульованою ефірною олією мирту успішно пригнічувало окисне пошкодження та скасовувало порушення антиоксидантної системи в слизовій оболонці кишкового [171].

Екстракт мирту (100 мг/кг) позитивно впливав на здоров'я щурів, збільшуючи кількість колоній лактобактерій та біфідобактерій порівняно з

контрольною групою, спричиняючи зміни гліколітичної ферментативної активності та незначну зміну антиоксидантної активності тканин [65].

Було визначено, що енотеїн В, що міститься в ягодах та насінні *M. communis*, проявляє протизапальну активність на епітеліальні клітини шлунка людини, що свідчить про використання його в терапії гастриту [119].

Було проведено дослідження для вивчення захисного ефекту водних і етанольних екстрактів сушених ягід *M. communis* у двох дозах при виразці шлунку проти етанолу, індометацину та моделей, індукованих перев'язкою пілоричного нерва, у щурів Wistar. Пероральне введення водних екстрактів значно знижувало індекс виразки у всіх моделях виразок. Низька доза водного екстракту та висока доза метанольного екстракту *M. communis* показали більш значний ефект порівняно з омепразолом у моделі виразки, індукованої етанолом. Обидві дози водного та метанольного екстрактів також зменшували об'єм шлункового соку, загальну кислотність і збільшували рН шлунка та вміст слизу в шлунковій стінці у всіх моделях виразок, використаних у цьому дослідженні. Гістопатологічні дослідження тканин шлунка щурів, які отримували водні та метанольні екстракти при виразці, спричиненій індометацином, показали значний захисний ефект від виразки при обох дозах [251].

Гепатопротекторна дія

Ben Hsouna et al. [62] було оцінено захисну дію ефірної олії та гідроетанольного екстракту *M. communis* на індуковану CCl_4 гепатотоксичність у щурів. Введення одноразової дози CCl_4 викликало гепатотоксичність, що відстежується збільшенням перекисного окислення ліпідів, а також рівня карбонілу білка та зниженням антиоксидантних маркерів у тканині печінки. Результати дослідження показали, що *M. communis* може бути ефективним у профілактиці ускладнень гепатотоксичності [62, 88].

Також досліджували антифіброзну та антиоксидантну дію проти фіброзу печінки та пошкодження, що виникає внаслідок обструкції жовчних шляхів у щурів. Рівні прямого білірубину, загального білірубину в плазмі, АЛТ, АСТ, інтерлейкіну- 1β (IL- 1β), фактора некрозу пухлини- α (TNF- α) були значно

підвищені в групі з перев'язкою жовчних проток, тоді як ці показники значно знизилися в групі перев'язки жовчних проток, яким вводили екстракт *M. communis*. Супероксиддисмутаза та глутатіон були значно знижені в групі з перев'язкою жовчних проток порівняно з контрольною групою, але значно зросли в групі, що отримувала екстракт. Рівні тканинного люмінолу, активності мієлопероксидази, МДА, *бета*-трансформуючого фактора росту, люцигеніну та гідроксипроліну різко зросли в групі з перев'язкою жовчних проток і були знижені в групі, яка отримувала екстракт [205].

Зниження ваги

Внутрішньошлункове введення щурам ефірної олії лавра та мирту протягом двох тижнів призвели до втрати ваги [198]. Також подібне дослідження проведено на самцях кроликів. Введення миртової олії протягом двох місяців викликало значуще зниження ($p < 0,01$) при 0,1 мл/кг маси тіла і 0,2 мл/кг маси тіла [194]. Встановлено, що різні дози екстракту мирту можуть мати різні ефекти: доза 100 мг/кг екстракту листя мирту викликає втрату ваги, але доза 50 мг/кг може призводити до збільшення ваги [65].

Протизапальна та ранозагоювальна активність

Екстракти м'якоті та насіння *M. communis*, отримані шляхом промислового виробництва лікеру містили поліфеноли, які інгібують вироблення активних форм кисню, захищаючи клітини від ушкоджень, викликаних окислювальним стресом. Крім того, екстракти моделювали експресію цитохромів P450, запобігаючи хронічному запаленню [89, 145]. Оскільки фракція, збагачена поліфенолами, продемонструвала виражену протизапальну активність, було проведено дослідження на мишах, за допомогою якого перевірили її ранозагоювальний потенціал. Місцеве застосування мазей (0,1 % і 0,05 %), до складу яких входить фракція мирту продемонструвало потужний ранозагоювальний ефект [173]. Місцеве використання 6 % гелю з водним екстрактом ягід мирту мало певний ранозагоювальний потенціал для лікування та усунення важких діабетичних ран [238]. Поєднання пасти з мирту та внутрішньошкірної ін'єкції мезенхімальних стовбурових клітин

продемонструвало найефективнішу регенерацію шкіри після глибоких опіків другого ступеня, ймовірно, завдяки посиленому виробленню колагену, зменшенню запалення та покращенню ангіогенезу [93]. А 5 % крем з миртом ефективно зменшив проблеми зі шкірою, викликані сірчанним іпритом, включаючи, свербіж і відчуття опіку [144]. Виходячи з протизапальних, антимікробних і ранозагоювальних властивостей мирту звичайного, мазь з цієї рослини може бути використана як основне або додаткове лікування інфекцій опікових ран, спричинених метицилін-резистентним *S. aureus* [146, 215].

Миртукоммуацеталон-1, виділений з *M. communis* виявляє сильну протизапальну активність, шляхом виробництва супероксиду, перекису водню та оксиду азоту в макрофагах [247].

Використовуючи мишачу модель, було викликане запалення внутрішньоплевральним введенням карагенану, тоді як внутрішньочеревне лікування вводилося міртукоммулоном (0,5, 1,5 і 4,5 мг/кг). Отриманий результат показав пригнічення прозапальної клітинної відповіді. Введення 4,5 мг/кг міртукоммулону внутрішньовенно за півгодини до та після введення карагенану спричиняє зниження кількості лейкоцитів у крові, інфільтрацію нейтрофілів, що спостерігається через мієлопероксидазу, пошкодження легенів, молекулу міжклітинної адгезії легенів-1, включаючи Р-імуногістохімічну локалізацію селектину, рівномірне зниження цитокіну в плевральній рідині рівні (TNF- α та IL-1 β) в легенях, лейкотрієн В4. Було повідомлено, що міртукоммулон пригнічує біосинтез ейкозаноїдів шляхом інгібування циклооксигенази-1 і 5-ліпоксигенази *in vitro*, активних форм кисню і утворення еластази в активованих поліморфноядерних лейкоцитах [218].

Комбінація наночастинок селену, інкапсульованих метформіном, у поєднанні з 55 % гідроетанольним екстрактом квітів *M. communis* у співвідношенні 1:1,5:1 може потенційно протидіяти утворенню каменів оксалату кальцію у щурів Sprague Dawley, які отримували 1 % та 2 % розчини етиленгліколю і хлориду амонію. У щурів, які отримували цю комбінацію, спостерігалось зниження рівня запальних маркерів у сироватці крові, таких як

TNF- α , IL-1 β та IL-6. Це лікування також знизило рівні Mg, Ph, Oх, Са та сечової кислоти в сечі разом із рівнями азоту сечовини та креатиніну в сироватці крові [150].

Протизапальну дію енотеїну В, виділеного з насіння та м'якоті *M. communis*, досліджували *in vitro* на фібробластах людини. Результати виявили синергічний ефект екстрактів мирту з вітаміном D для зменшення запалення та виробництва активних форм кисню, тим самим захищаючи клітини від ушкоджень, викликаних окисним стресом, модулюючи експресію цитохромів P450 і запобігаючи хронічному запаленню [103].

Ефірну олію *M. communis* оцінювали на протизапальну властивість з використанням макрофагів, стимульованих ліпополісахаридом *in vitro*. Олія мирту значно пригнічувала вироблення оксиду азоту, не змінюючи життєздатність клітини при концентраціях 0,64 мг/мл [89]. Також протизапальну дію олії для місцевого застосування було визначено за допомогою методу набряку задньої лапи щура, викликаного карагенаном, що супроводжувалось визначенням простагландину E2 у запаленій тканині. Рослинна олія у складі для місцевого застосування продемонструвала значне зниження індукованого запалення (42,1 %), а також концентрації простагландину E2 порівняно з контрольною групою, яка не отримувала лікування; однак протизапальна дія була меншою, ніж ібупрофену, який використовували як позитивний контроль [188]. Гістологічні та гістоморфометричні результати дослідження, проведеного Ibrahim et al. [143] показали прискорення процесу загоєння дефектів альвеолярної кістки в групі білих щурів-самців, яких лікували місцевим застосуванням 1 мкл олії *M. communis*, в порівнянні з групою, де дефект кістки залишали гоїтися нормальним чином, оскільки збільшення середньої різниці в кількості остеобластів, остеоцитів та остеокластів було статистично значущим протягом 7 днів. Показано, що олія мирту звичайного має потенціал бути ефективним терапевтичним засобом для загоєння кісткових травм [143].

Враховуючи протизапальну, антибактеріальну та антиоксидантну дію ефірної олії *M. communis*, вона може бути застосована при лікуванні сепсису [162].

Етаноловий екстракт листя *M. communis* може бути корисним у профілактиці та лікуванні гострого панкреатиту в клінічних умовах, який значно зменшує пошкодження підшлункової залози, завдяки зниженню прозапальних цитокінів, підвищенню антиоксидантної здатності та протизапального цитокіну IL-10 [148, 205].

Екстракт мирту може використовуватись у лікуванні різних респіраторних захворювань, так як він ефективно пригнічував запалення та фіброз легеневої паренхіми як у профілактичних, так і в терапевтичних методах [232].

Ополіскувач для порожнини рота на основі трав *Populus euphratica* та *M. communis*, приготовлений шляхом кип'ятіння або етанольної екстракції, значно зменшив запалення ясен і продемонстрував великий потенціал для лікування та профілактики пародонтозу у маленьких дітей [187].

Метанольний екстракт мирту можна вважати альтернативним засобом для лікування хронічного запалення замість нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ), оскільки його протизапальна сила прирівняна, але він не викликає гострих побічних ефектів [58].

Антиоксидантна активність

Природні сполуки мирту мають виражену антиоксидантну дію. Попередня обробка екстрактами мирту захищала клітини від передчасного старіння, регулюючи клітинний цикл та індукуючи експресію теломерази. Це свідчить про потенційне застосування цих природних сполук для профілактики та лікування різноманітних захворювань, протидії передчасному старінню та збереження функцій тканин [88].

Як пероральне, так і місцеве лікування екстрактом мирту відіграє захисну роль у лікуванні окислювальних пошкоджень, спричинених опіками шкіри та віддалених органів, таких як тканини тонкої кишки або легенів, що можна пояснити антиоксидантним ефектом мирту [203, 204]. Антиоксидантна

активність і активність поглинання вільних радикалів була більшою у етанолового екстракту листя *M. communis* з концентрацією спирту 60 % [107].

Листя мирту звичайного екстрагували за допомогою органічних розчинників різної полярності, щоб отримати наступні фракції: метанольний екстракт, екстракт хлороформу, екстракт етилацетату і водний екстракт. Антиоксидантну здатність різних екстрактів оцінювали за допомогою дев'яти тестів *in vitro*. Екстракт етилацетату демонстрував АРА за допомогою аналізу поглинання радикалів 2,2'-азино-біс(3-етилбензотіазолієвої кислоти) (ABTS) ($IC_{50}=0,0015$ мг/мл) і тесту DPPH ($IC_{50}=0,004$ мг/мл), тоді як водний екстракт продемонстрував важливу активність у тесті поглинання гідроксильних радикалів ($IC_{50}=0,08$ мг/мл), H_2O_2 , ($IC_{50}=0,015$ мг/мл), хелатування заліза ($IC_{50}=0,5$ мг/мл) і відновної здатності ($EC_{50}=0,03$ мг/мл). Найбільшу активність у інгібуванні окислення β -каротину/лінолевої кислоти індукували екстракти хлороформу та етилацетату (93,95 % та 90,29 % відповідно). Усі екстракти показали дуже сильний антипероксидантний ефект проти тестів хелатування заліза та утворення МДА [61]. Також було проведено порівняння антиоксидантної активності екстрактів насіння та шкірки плодів. Аналіз показав, що етанольний екстракт шкірки плодів мирту продемонстрував вищу активність поглинання вільних радикалів DPPH порівняно з хлороформним екстрактом насіння ($6,89 \pm 0,12$ та $2,65 \pm 0,03$ відповідно). Аналогічно, екстракт шкірки плодів мав вищу антиоксидантну силу, що відновлює залізо, порівняно з екстрактом насіння ($4,87 \pm 1,02$ та $2,10 \pm 0,9$ відповідно) [39].

Дослідження проведене Mechchate et al. [173], продемонструвало антиоксидантну роль фракції з *Myrtus communis*, збагаченої поліфенолами, за допомогою трьох різних методів (загальна антиоксидантна здатність (ТАС), здатність до відновлення заліза (FRAP) і відбілювання β -каротином, підтверджуючи його дію як поглиначка вільних радикалів або відновника [173].

Екстракти насіння та ягід *Myrtus communis*, отриманих при виробництві миртового лікеру, продемонстрували вищий антиоксидантний потенціал, ніж екстракти навколоплідника [86].

Дослідження проведені турецькими вченими продемонструвало вплив екстракту *M. communis* на антиоксидантний статус кришталика ока. Він зменшив окислювальний стрес в лінзах щурів із ожирінням, спричинених дієтою з високим вмістом жиру, шляхом підвищення рівня бору [161].

Екстракт мирту звичайного може зменшити окислювальний стрес і гістопатологічні зміни в тканинах нирок на моделі нефролітіазу щурів, якщо використовувати його як профілактичний або терапевтичний засіб [109]. Також можливі захисні ефекти екстракту *M. communis* на пошкодження яєчок, викликане дієтою з високим вмістом жирів, яке досліджували у моделі щурів за допомогою гістологічних та біохімічних методів. Екстракт мирту може мати потенційний захисний ефект, пригнічуючи оксидативне пошкодження [87].

M. communis може бути використаний як потенційний терапевтичний засіб при лікуванні пошкоджень сідничного нерва. Завдяки тому, що він підвищує антиоксидантну здатність та зменшує оксидативний стрес, виявляється менша дегенерація аксонів, набряк та вакуолізація [273].

Було встановлено, що гідролізовані дубильні речовини, які містяться в екстракті *M. communis*, служать як відновлювачами, так і стабілізаторами [111].

Проведені дослідження щодо встановлення ідеальної комбінації шести ефірних олій з різних рослин (материнка компактна, материнка майорана, чебрець звичайний, м'ята колосиста, мirt звичайний і полин білий) стосовно АРА довели, що жодна з представлених у дослідженні сумішей не має кращого антиоксидантного ефекту, ніж одна олія *M. communis*, де активність сягала 76,95 % [201]. А в іншому дослідженні оптимальна формула антиоксиданту складалась з 20 % *Lavandula dentata*, 50 % *Rosmarinus officinalis* і 30 % *M. communis*, які продемонстрували значну активність поглинання радикалів DPPH з IC_{50} $71,23 \pm 0,98$ мкг/мл. Крім того, суміш 18 % *Lavandula dentata*, 50 % *Rosmarinus officinalis* і 32 % *Myrtus communis* показала найвищу активність поглинання радикалів ABTS з IC_{50} $44,39 \pm 1,07$ мкг/мл, пояснюючи цю ефективність їх біоактивними сполуками [106].

Недавні дослідження Dabbaghi et al. [93], які детально розглядають різні аспекти терапевтичного потенціалу *M. communis*, в якому зазначено, що сильна концентрація антиоксидантів у мирті є однією з його найважливіших захисних якостей. Дослідження показали, що антиоксидантні властивості мирту можуть запропонувати захист від небезпечних сполук, таких як пестициди, важкі метали та інші забруднювачі, що містяться в навколишньому середовищі [93, 94].

Антиліпідемічна та антитромботична активність

Внутрішньошлункове введення щурам ефірної олії лавра та мирту протягом двох тижнів знижує гліколітичну активність, ліпідні параметри (холестерин, тригліцериди, холестерин ліпопротеїнів низької щільності і холестерин ліпопротеїдів дуже низької щільності) і показники атерогенності, що призводить до захисту серцево-судинної системи [198].

Було виявлено, що водний екстракт листя мирту звичайного може стимулювати первинний гемостаз під час кровотечі шляхом зменшення часу та кількості кровотечі, а також агрегації тромбоцитів. Однак протромбіновий час і активований частковий тромбoplastиновий час подовжувалися, в основному, завдяки запобіганню згортанню крові (вторинному гемостазу) за допомогою водного екстракту мирту [116].

Вплив на центральну нервову систему

Дослідження, яке було проведено з метою вивчення факторів, які відіграють важливу роль у патогенезі хвороби Альцгеймера, продемонструвало, що використання екстракту листя *M. communis* на моделі щурів, індукованих скополаміном, різко покращує SCOP-індуковане зменшення просторової пам'яті та підвищує рівні експресії рецепторів нейротрофічного фактора мозку, рецепторів M₁ та ацетилхоліну у різних областях мозку. Крім того, *M. communis* підвищує холінергічні нейротрансмісії через пригнічення ацетилхолінестерази та підвищення антиоксидантного захисту шляхом посилення активності глутатіону та зниження рівня малонового діальдегіду та активності мієлопероксидази. Тому використання мирту звичайного може бути новим

альтернативним терапевтичним підходом у профілактиці та лікуванні хвороби Альцгеймера [49, 193].

Дослідженні Dessì et al. [95] продемонструвало нейропротекторний потенціал побічних продуктів ягід мирту звичайного на клітинній моделі нейродегенерації клітин PC12 під впливом 6ОНДА-індукованого стресу, зокрема через модуляцію специфічних генів. Комплексний профіль фенольних сполук в екстракті мирту, включаючи гідролізовані дубильні речовини, ГКК, флавоноїдні глікозиди та антоціани, підкреслює синергічний ефект, який забезпечує сильні антиоксидантні та протизапальні властивості. Разом ці сполуки можуть ефективно захищати клітини нейронів від окислювального стресу та запалення, двох ключових факторів нейродегенеративних захворювань, таких як хвороби Паркінсона [95].

Визначено, що *M. communis* ефективно пом'якшує численні біохімічні та гістопатологічні зміни в тканині мозку, пов'язані з іонізуючим випромінюванням. Рівні оксиду азоту, малонового діальдегіду та мієлопероксидази збільшувалися після опромінення та знижувалися після застосування екстракту *M. communis*. Нейропротекторну ефективність *M. communis* можна пояснити його антиоксидантними, протизапальними та антиліпідпероксидативними властивостями [46].

Протигемороїдальний ефект

Ефективність крему для місцевого застосування з ефірної олії *M. communis* у полегшенні симптомів геморою порівняно з мазями проти геморою (що містять цинку оксид, лідокаїн, гідрокортизон і алюмінію субацетат) оцінювали у випадковому подвійному сліпому фіктивному дослідженні на 106 пацієнтах. Усі оцінені показання (тривалий біль, кровотеча, біль під час виділення та подразнення, свербіж заднього проходу, тенезми та тяжкість) значно зменшилися до кінця дослідження ($p < 0,001$). Не було помічено значної різниці в рівні покращення оцінюваних симптомів щодо мазі проти геморою та *M. communis* ($p > 0,05$) [169].

Протиракова дія

Фракція з *M. communis*, збагачена поліфенолами, здатна пригнічувати проліферацію ліній ракових клітин, не впливаючи на неракові [173]. Також було встановлено, що ефірна олія листя *M. communis subsp. tarentina* (L.) здатна зменшити життєздатність клітин стійкого до кастрації раку простати, активуючи процес апоптозу, і зменшити міграційну здатність цих ракових клітин [124] та проявляє проапоптозну дію на клітини A549, які використовуються для вивчення раку легенів [67]. Ефірні олії *Origanum syriacum* L. і *M. communis* мають важливу антипроліферативну дію на клітини раку товстої кишки людини [218].

Сполука миртукоммуацеталона-1, виділена з *M. communis*, продемонструвала помірну протиракову активність проти клітин раку легенів *in vitro* [247].

Етанольний екстракт листя *M. communis* продемонстрував потужну протиракову дію проти різноманітних ліній ракових клітин молочної залози (MCF-7), печінки (HepG2), шийки матки (HeLa) і товстої кишки (HCT116) (IC50 для HCT116: $83 \pm 2,5$, HepG2: $53,3 \pm 0,6$, MCF-7: $41,5 \pm 0,6$, а HeLa: $33,3 \pm 3,6$) шляхом апоптозу після зупинки клітин у фазі G1 клітинного циклу [186]. Антимутагенну активність оцінювали в аналізах зворотних мутацій з мутантом *E. coli* WP2 oхyR IC202, дефіцитним в індукції антиоксидантних ферментів. Метанольні екстракти мирту сильно інгібували мутагенез, індукований t-BOOH, досягаючи 70 % при найвищій застосованій концентрації [73].

Протиракову активність мирту вивчали за допомогою лінії клітин колоректального раку людини HT-29. В результаті гідроетанольний екстракт листя мирту, що має найвищий вміст мірицитину, виявив багатообіцяючу протиракову дію, пригнічуючи майже 75 % клітин у концентрації 25 мкг/мл, тоді як екстракт плодів не виявляв інгібіторної активності [130].

Імуностимулююча дія

Екстракти мирту звичайного, отримані з його листя і коренів, давали разом з молоком дослідним групам голштинських телят протягом 60 днів і ще 12 днів після відлучення. Результати показали, що споживання корму та жива вага

істотно зросли. Значно вищі показники лейкоцитів спостерігалися в групах, які отримували мирт 50 мл/голову × день, а в групі, яка отримувала екстракти коренів, також була відмічена більш висока концентрація IgG порівняно з іншими групами. Концентрація неестерифікованих жирних кислот у сироватці крові значно знизилася в групах, які отримували 50 мл/голову × день екстрактів листя і коренів мирту, тоді як концентрація *бета*-гідроксималяної кислоти збільшилася, а концентрація глюкози в сироватці крові значно знизилася з додаванням мирту. Було встановлено, що введення екстрактів, отриманих із листя та коренів рослини *M. communis* у дозах 25 та 50 мл/голову, позитивно вплинуло на продуктивність, імунну систему та компенсацію негативного енергетичного балансу голштинських телят протягом 72 днів, не викликаючи жодних побічних ефектів [259].

Введення миртової олії в низьких дозах (0,1 мл/кг) дає збільшення ($p < 0,05$) у значеннях еритроцитів, лейкоцитів, Hb і PCV (відсоток червоних кров'яних тілець), тоді як введення його у високих (0,2 мл/кг) дозах призводить до негативних наслідків для функцій організму [194].

Цитотоксична дія

Цитотоксичну активність ефірної олії мирту звичайного визначали за допомогою аналізу життєздатності клітин МТТ на лініях клітин НСТ і Т47D. Олія мирту продемонструвала дозозалежний інгібуючий ефект на проліферацію обох клітинних ліній; проте його вплив на лінію клітин протокової карциноми молочної залози людини Т47D був більш вираженим [188].

Проведений критичний аналіз наукової літератури щодо мирту звичайного (*M. communis*) дозволяє констатувати, що на сьогодні інтенсивно проводяться його фітохімічні та фармакологічні дослідження. Проте, незважаючи на це, все ще спостерігається недостатність вичерпних відомостей стосовно повного хімічного складу та комплексного вивчення фармакологічної активності цієї рослини. З огляду на беззаперечні перспективи використання мирту звичайного у медичній та фармацевтичній практиці, подальше комплексне фармакогностичне дослідження його сировини та розробка на основі БАР

рослини нових фітозасобів є вкрай актуальним завданням і стало основою наших наукових досліджень.

Результати досліджень цього розділу наведено у таких публікаціях:

1. Matsegorova O. Ye., & Odyntsova V. M. (2024). Prospects for the creation of new phytochemical medicinal products based on *Myrtus communis* L. (a review). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2024. 17(1), 70–78. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.290860>.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Вибір листя *M. communis* як об'єкта дослідження був зумовлений його вищим терапевтичним потенціалом та багатшим хімічним складом порівняно з іншими частинами рослини, що підтверджено етнофармакологією та сучасними науковими даними [137, 192, 266].

2.1 Об'єкти дослідження

Матеріалом для досліджень було обрано листя мирту звичайного, вирощеного на кафедрі фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медико-фармацевтичного університету та листя мирту та генетично однорідний матеріал, вирощений методом мікроклонального розмноження в культурі *in vitro*. Важливо зазначити, що для введення в культуру *in vitro* використовували експланти тієї самої материнської рослини, що забезпечило генетичну однорідність обох типів досліджуваної сировини.

Сировину заготовляли у фазу вегетації впродовж фенологічної фази у 2022-2024 роках. Ідентифікацію листя мирту звичайного було проведено в Дослідній станції лікарських рослин ІАП НААН.

На рисунку 2.1 представлено зовнішній вигляд рослин *M. communis*, вирощених у контрольованих умовах *in vivo* на кафедрі фармакогнозії, фармакології та ботаніки ЗДМФУ. На рисунку 2.2 наведено морфологічні особливості рослин мирту звичайного, отриманих методом мікроклонального розмноження в культурі *in vitro*.



Рисунок 2.1 – Мирт звичайний, вирощений в умовах *in vivo*.



Рисунок 2.2 – Мирт звичайний, вирощений в умовах *in vitro*.

Для дослідження втрати в масі при висушуванні та фітохімічних аналізів була використана повітряно-суха рослинна сировина (рис. 2.3, 2.4), взважена на вагах лабораторних «AXIS» ANG 2000.0001 200/0.01 (Україна) [4]. Рослинну сировину сушили в тіні при кімнатній температурі протягом 5 діб; потім подрібнювали на шматки 0,5-1 см.



Рисунок 2.3 – Листя мирту звичайного після заготівлі.



Рисунок 2.4 – Сировина мирту звичайного у сухому вигляді.

2.2 Умови культивування мирту звичайного методом мікроклонального розмноження в культурі *in vitro*

Клональне мікророзмноження в культурі *in vitro* – це сучасна біологічна технологія вегетативного розмноження рослин, яка у порівнянні з традиційними методами вегетативного розмноження, має цілий ряд переваг і особливостей. Ця методика забезпечує розмноження протягом року в стерильних лабораторних умовах, дозволяє отримувати генетично однорідний і високоякісний, оздоровлений від вірусів і бактерій посадковий матеріал. Дозволяє розмножувати сорти, що погано розмножуються звичайними методами й отримувати максимальну кількість рослин, завдяки високому коефіцієнту розмноження. Вона дає можливість селекціонерам зберігати необхідний генофонд цінних й рідкісних видів, транспортувати рослини із однієї країни в іншу та має велике природоохоронне та ресурсозберігаюче значення [23, 34, 48, 225, 265].

Культивування мирту звичайного методом мікроклонального розмноження в культурі *in vitro* проводили на базі лабораторії клітинних культур та біоінженірингу Навчально-наукового медико-лабораторного центра ЗДМФУ за консультативної допомоги кандидата сільськогосподарських наук, спеціаліста вищої категорії Шкопинської Тетяни Євгенівни. На етапі введення в культуру *in vitro* використовували експланти одиничних вузлів латеральних меристем по 50 шт., які виділяли за допомогою набору стерильних інструментів в асептичних умовах згідно зі стандартними методами. Для отримання стерильного матеріалу застосовували ступінчасту стерилізацію. Спочатку сегменти промивали під проточною водою 10 хв, потім занурювали у розчин Твін-20 на 10 хв, що сприяло рівномірному розподіленню стерилізуючого розчину по поверхні експланта. Подальшу стерилізацію проводили у ламінарному боксі HR40-ПА2 (Haier Biomedical, Китай). Підготовлені бруньки занурювали в колби з розчином 70 % етанолу на 30 с. Для отримання асептичної культури мирту *in vitro*

використовували розчин сулеми 0,1 % за експозиції 5 хв з подальшим 5-разовим промиванням дистильованою водою по 10 хв. Обрана методика стерилізації для введення в культуру рослин мирту дала можливість отримати 88 % стерильних експлантів (рис. 2.5).



Рисунок 2.5 – Експланти одиничних вузлів латеральних меристем.

Найбільш ефективним для укорінення мікропагонів мирту визначено живильне середовище Мурашіге й Скуга (МС), що містило половинну концентрацію макросолей і мікроелементів, 2 % цукрози та доповнене 0,5 мг/л індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК). Показник кислотності (рН) живильного середовища доводили до рівня 5,70-5,80. Експланти культивували за температури повітря 25-26 °С, відносної вологості повітря 65-70 % та освітленні 2,5-3 тис. лк з фотоперіодом 16 годин (рис. 2.6).

Перші ознаки росту спостерігали на 5-6 добу культивування. Отримані рослини-регенеранти на 30 добу живцювали на вузли розміром 4-5 мм. Коефіцієнт розмноження на 30 добу культивування становив 1:16, на 60-ту добу – 1:46 (рис.2.7).



Рисунок 2.6 – Культивування мирту звичайного на середовищі МС

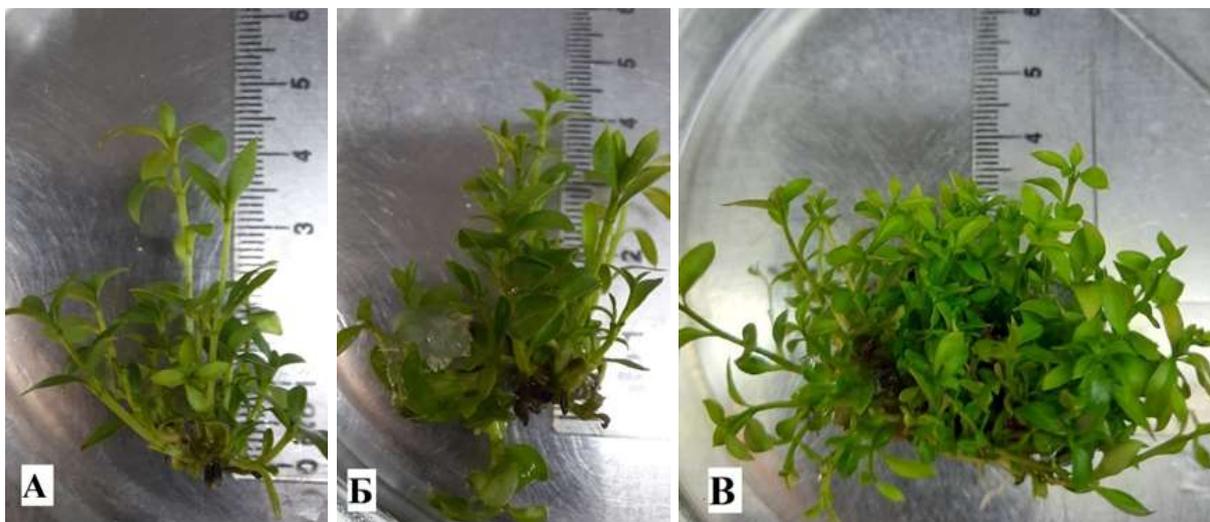


Рисунок 2.7 – Рослини мирту на 30 (А, Б) та 60 (В) добу культивування

Оптимальним середовищем для мультиплікації визначено живильне середовище МС, що містило 0,75 мг/л 6-БАП, 0,1 мг/л аденін та 0,1 мг/л гіберелінової кислоти. Для адаптації мікророслин до умов *in vivo* відбирали мікророслини мирту з добре розвиненою кореневою системою і висаджували в мініпарник зі стерильним субстратом – торф : ґрунт універсальний : перліт : пісок

у співвідношенні 2:1:1:1. Горщечки з рослинами розміщували під плівковим укриттям і культивували при температурі 18-20 °С і постійному зволоженні. Приживлюваність мікророслин – 75,0-80,0 %. Визначено, що для адаптації меристемних рослин мирту до умов *in vivo* достатньо періоду 14 днів, за які формується 2-3 пари листків. Після періоду адаптації плівкове укриття знімали. Меристемні рослини мирту звичайного мали типові морфологічні ознаки: форму і забарвлення листків. У жодному випадку у мериклонів не було відмічено морфологічних відхилень від норми.

2.3 Отримання екстрактів з рослинної сировини

Одержання водних витяжок: 10 г сухої подрібненої сировини листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo* та методом мікроклонального розмноження в культурі *in vitro* (розміри частинок 2-5 см), заливали 30 мл очищеної води Р та протягом 30 хв екстрагували у колбі зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані. Екстрагування повторювали 3 рази. Водні витяжки об'єднували, фільтрували крізь паперовий фільтр та доводили об'єм колби до 100 мл. Одержану водну витяжку використовували для виявлення полісахаридів, амінокислот, дубильних речовин, тому що вода найкраще екстрагує дані БАР.

Одержання гідроетанольних витяжок: 1,000 г сухої сировини заливали 30 мл 70 % етанолу Р і протягом 30 хв тричі екстрагували у колбі зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані. Гідроетанольні витяжки об'єднували, фільтрували крізь паперовий фільтр і доводили об'єм колби до 100 мл. Відомо, що найбільша кількість фенольних сполук екстрагується саме 70 % етанолом. Одержані гідроетанольні витяжки досліджуваної сировини використовували для виявлення флавоноїдів, гідроксикоричних кислот.

Для фармакологічних досліджень використовували екстракт густий листя *M. communis*

Екстракт густий готували таким чином: знежирену сировину екстрагували 70 % етанолом Р методом ремацерації впродовж 3-х діб. Витяжки об'єднували, відстоювали, фільтрували та упарювали до густої консистенції.

Олію отримували методом гідродистиляції за наступною методикою: подрібнене листя поміщали в круглодонну колбу, заливали водою, щоб покривала сировину і проводили екстрагування на апараті Клевенджера.

2.4 Відомості про прилади, методи і реактиви для якісного та кількісного аналізу

Під час досліджень використовували сертифіковані хімічні реактиви, фармакопейні та робочі стандартні зразки відповідної якості, атестовані та повірені прилади. Розчинники для приготування хроматографічних систем використовували кваліфікації ч.д.а або х.ч., співвідношення розчинників, позначені цифрами, взяті в об'ємних одиницях.

Наявність основних груп БАР в досліджуваному виді сировини підтверджували за допомогою реакцій ідентифікації.

Для досліджень використовували метод висхідної одномірної ТШХ. Для хроматографування використовували пластинки фірми «TLC Plates Aluminium Backed Silica Gel 60 F254 20×20cm» (Merck, Німеччина). Результати значення Rf на хроматограмах є середніми величинами 3-5 вимірювань.

Для хроматографування БАР використовували такі системи розчинників (в дужках співвідношення компонентів в об'ємних одиницях):

1) етилацетат Р: кислота мурашина Р: кислота ацетатна Р : вода очищена Р (6,6:0,8:0,8:1,8);

2) етилацетат Р - кислота мурашина Р - кислота ацетатна Р - вода очищена Р (100:11:11:27);

3) толуол Р: етилацетат Р (95:5).

На хроматограмах зони виявляли у порівнянні зі стандартними зразками речовин за їх забарвленням у денному світлі та флуоресценцією в УФ-світлі до та після обробки реактивами:

а) 3 % розчин ферум (III) хлориду Р;

б) амонію гідроксид;

в) 1 % розчин алюмінію хлориду Р;

г) розчин анісового альдегіду Р.

ГХ/МС дослідження було проведено на приладі Agilent Technologies 7890В з мас-спектрометричним детектором 5977В (Agilent technologies, USA) та на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA), обладнаній парофазним пробовідбірником Agilent 7697 Headspace та з капілярною колонкою HP-5ms (30m×0,25mm×0,25mkm, Agilent technologies, USA).

Рідинну хроматографію проводили на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200. Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-Aq (4,6 мм±150 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies, USA).

Спектрофотометричне дослідження кількісного вмісту БАР в сировині мирту звичайного проводили на спектрофотометрі Lamda 365+ (PerkinElmer, США) в кюветах з товщиною шару 10 мм.

Поперечні зрізи вирізали за допомогою механічного ротаційного мікротому Microm HM 325 (Німеччина). Для фіксування результатів мікроскопічних досліджень використовували мікроскопи Carl ZEISS «AxioStar Plus» та «Primo Star» для роботи у прямому й відбитому світлі (об'єктиви ×4, ×10, ×20, ×40, ×100) із цифровою камерою AxioCam ERc 5s. Ультраструктуру будови клітин листя вивчали на електронному просвічувальному мікроскопі «ПЕМ-100-01» (Selmi, Україна).

Вивчення фармакологічних властивостей одержаного екстракту проводили *in vivo* та *in vitro*.

2.5 Виявлення біологічно активних речовин первинного синтезу

Фітохімічні дослідження проводили, використовуючи водні та гідроетанольні витяжки з листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*. Фармакопейними методами [3, 4, 6, 9] визначали якісний склад та встановлювали кількісний вміст БАР у досліджуваній сировині мирту звичайного.

2.5.1 Вуглеводи

Полісахариди виявляли у водній витяжці за реакцією з 95 % етанолом Р: до 10 мл витяжки додавали 30 мл 95 % етанолу Р. З реактивом Фелінга після кислотного гідролізу визначали вміст вільних моносахаридів [25].

Визначення моносахаридів в сировині та густому екстракті проводили методом ГХ/МС. Метод заснований на екстракції вільних моносахаридів та повному кислотному гідролізі сировини для визначення загального моносахаридного складу та отриманні ацетатів їх альдонітрильних похідних з подальшим аналізом.

Одержання вільних моносахаридів із досліджуваної сировини проводили таким чином: 0,200 мг сировини перетирали до порошкоподібного стану в скляній ступці. Наважку препарату поміщали в віалу, додавали 10 мл розчину 80 % етанолу Р. Екстракцію вільних моносахаридів проводили на ультразвуковій бані при 80 °С впродовж 4 годин. Відбирали екстракт, упарювали досуха та

ресуспендували додаванням водного розчину внутрішнього стандарту із розрахунку 250 мкг на пробу.

Для визначення загального моносахаридного складу до наважки препарату додавали 2 мл 2М трифторацетатної кислоти. Гідроліз проводили при 100 °С, впродовж 6 годин. Відбирали 2 мл гідролізату упарювали та промивали водою до видалення трифторацетатної кислоти. Ресуспендували додаванням водного розчину внутрішнього стандарту із розрахунку 250 мкг на пробу.

Для отримання альдонітрильних похідних моносахаридів екстракт/гідролізат, упарювали досуха у роторному випаровувачі та додавали 0,3 мл дериватизуючого реактиву (32 мг/мл гідроксиламіну гідрохлориду в суміші піридин/метанол (4:1 v/v)). Розчинений екстракт витримували впродовж 25 хв при 75 °С. Ацетилювання альдонітрильних похідних моносахаридів проводили впродовж 15 хв при 75 °С. До реакційної суміші додавали 1 мл дихлоретану, надлишок дериватизаційних реагентів видаляли подвійною екстракцією 1н розчином хлоридної кислоти та води. Дихлоретановий шар висушували досуха та розчиняли в 300 мкл суміші гептан/етилацетат (1:1 v/v).

Хроматографічне розділення проводили на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA) у наступних умовах:

- колонка капілярна HP-5ms (30m×0,25mm×0,25mkm, Agilent technologies, USA);
- температура випаровувача – 250 °С;
- температура інтерфейсу – 280 °С;
- розділення проводили в режимі програмування температури – початкову температуру 160 °С витримували впродовж 8 хв, піднімали 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 1,2 мл/хв.

Ідентифікацію моносахаридів досліджуваної суміші проводили шляхом порівняння часів утримування стандартних моносахаридів та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. В якості внутрішнього стандарту використовували розчин сорбітолу.

Кількісний вміст моносахаридів (X , мг/г) розраховували за формулою 2.1:

$$X = \frac{S_x \times m_{\text{вст}} \times V_{\text{розч}} \times 1000}{S_{\text{вст}} \times m \times V_{\text{екстр}}}, \quad (2.1)$$

де S_x – площа піку моносахариду,

$m_{\text{вст}}$ – наважка внутрішнього стандарту на пробу, мг,

$V_{\text{розч}}$ – об'єм розчинника для екстракції/гідролізу проби, мл,

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

m – наважка препарату, мг,

$V_{\text{екстр}}$ – об'єм екстракту для дериватизації, мл [11, 80, 129].

2.5.2 Амінокислоти

Для ідентифікації вільних амінокислот застосовували нінгідринову реакцію, яку проводили з водними або гідроетанольними екстрактами з сировини. 2 мл досліджуваної витяжки змішували із 2 краплями 0,1 % свіжоприготованого розчину нінгідрину. Суміш обережно нагрівали, охолоджували і через деякий час спостерігали зміну забарвлення [15, 24, 25].

Також визначення амінокислот у досліджуваних об'єктах проводили на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA) з капілярною колонкою HP-5ms (30m×0,25mm×0,25µm, Agilent technologies, USA).

Умови проведення ГХ/МС дослідження: температура випаровувача 250 °С, температура інтерфейсу 280 °С. Розділення проводили в режимі програмування температури – початкову температуру 50 °С витримували впродовж 4 хв, піднімали з градієнтом 5 °С /хв до 300 °С. Кінцеву температуру витримували впродовж 5 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 1,0 мл/хв.

Ідентифікацію амінокислот проводили шляхом порівняння часів утримання стандартів амінокислот та за наявності репрезентативних молекулярних та фрагментарних іонів (табл. 2.1).

Таблиця 2.1 – Стандарти амінокислот

Амінокислота	Час утримування, хв	Молекулярний іон (m/z)	Головні фрагментарні іони (m/z)
1	2	3	4
Аланін	14,99	161	102, 88
Гліцин	15,07	147	88
Валін	18,87	189	146, 130, 115, 98
Лейцин	21,1	203	144, 115, 102, 88
Серін	21,2	191	176, 144, 114, 100, 88
Треонін	21,57	205	147, 115, 100, 88
Ізолейцин	21,43	203	144, 115, 101, 88
Пролін	22,31	187	128, 82
Аспарагін	22,58	262	146, 127, 95
Аспарагінова кислота	24,23	219	160, 128, 118, 101
Глутамінова кислота	27,15	233	201, 174, 142, 114
Метіонін	27,44	221	147, 128, 115

Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4
Цистеїн	29,72	192	192, 176, 158, 146, 132
Фенілаланін	30,05	237	178, 162, 146, 131, 103, 91
Глутамін	32,27	276	141, 109, 82
Лізін	36,2	276	244, 212, 142, 88
Гістидин	37,33	285	254, 226, 210, 194, 140, 81
Тирозин	39,25	296	252, 236, 220, 192, 165, 146, 121
Триптофан	45,330	276	130

Кількісний вміст визначали шляхом додавання внутрішнього стандарту – норваліну (150 мкг/зразок). Вміст зв'язаних амінокислот визначали шляхом віднімання вмісту вільних амінокислот від їх загального вмісту.

Пробопідготовка:

а. Вільні амінокислоти. Наважку перетертого до порошкоподібного стану препарату поміщали у віалу, додавали 10 мл водного розчину 0,1 н хлоридної кислоти та витримували на ультразвуковій бані при 50 °С впродовж 3 годин. 2,0 мл відцентрифугованого екстракту упарювали у роторному випаровувачі, тричі промиваючи очищеною водою для видалення хлоридної кислоти.

б. Загальні амінокислоти. Наважку препарату поміщали у віалу, додавали 2 мл водного розчину 6 н хлоридної кислоти та поміщали в термостат при 110 °С. Гідроліз проводили впродовж 24 годин. 1,6-2,0 мл відцентрифугованого гідролізату упарювали у роторному випаровувачі, тричі промиваючи очищеною водою для видалення хлоридної кислоти.

Дериватизація зразків. Сухий зразок розчиняли у 390 мкл 1М NaOH, додавали 333 мкл метанолу та 67 мкл піридину, ретельно перемішували протягом 5 с. До суміші додавали 80 мкл метилхлороформату, ретельно перемішували протягом 60 с. Утворені деривати амінокислот екстрагували 400 мкл хлороформу

з подальшим додаванням 400 мкл 0,05М NaHCO_3 . Для подальшого аналізу використовували хлороформну фазу [79, 197, 261].

2.6 Біологічно активні речовини вторинного синтезу

2.6.1 Поліфенольні сполуки

Дубильні речовини досліджували у водних витяжках листя мирту звичайного. Наявність у досліджуваних екстрактах дубильних речовин підтверджували за допомогою реакцій ідентифікації:

- до 1 мл отриманої витяжки додавали краплями рівну кількість 10 % розчину кислоти хлоридної і свіжоприготованого 1 % розчину желатину;
- до 2 мл витяжки додавали кілька крапель 1 % розчину хініну гідрохлориду;
- до 2 мл витяжки додавали 2-3 краплі розчину ферум (III) амоній сульфату.

Також провели специфічні реакції визначення наявності тих, що гідролізують, та конденсованих дубильних речовин: до 1 мл досліджуваного екстракту, попередньо підкисленого ацетатною кислотою, додавали декілька крапель свинцю ацетату, утворений осад відфільтровували, а до фільтрату додавали декілька крапель 1 % розчину залізоамонійних галунів та кристалічний натрію ацетат [15, 25].

Для ідентифікації поліфенолів (флавоноїди, ГКК та катехіни) у витяжках застосовували метод ТШХ у системі розчинників № 1 та № 2 з достовірними зразками рутину, кверцетину, хлорогенової кислоти, галової кислоти, епікатехіну та таніну. Хроматограми розглядали при денному та УФ-світлі до і після обробки реактивами а, б, в.

Визначення кількісного вмісту поліфенолів здійснювали спектрофотометричним методом відповідно до вимог ДФУ 2.8.14 [6]. Оптичну густину розчину вимірювали на спектрофотометрі Lambda 365+(США).

Випробовуваний розчин. 1000,0 мг здрібненої на порошок сировини поміщали у круглодонну колбу місткістю 250 мл, додавали 150 мл води Р, нагрівали протягом 30 хв на водяній бані, охолоджували під проточною водою та кількісно переносили у мірну колбу місткістю 250 мл. Круглодонну колбу обполіскували водою Р, промивні води переносили у мірну колбу та доводили об'єм розчину водою Р до 250,0 мл. Давали осаду осісти та рідину фільтрували крізь фільтрувальний папір діаметром 125 мм, відкидаючи перші 50 мл фільтрату.

5,0 мл одержаного фільтрату доводили водою Р до об'єму 25,0 мл. До 2,0 мл одержаного розчину додавали 1,0 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р, 10,0 мл води Р, перемішуючи після кожного додавання, та доводили натрію карбонату розчином Р до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину за довжини хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційну рідину воду Р.

Розчин порівняння. Безпосередньо перед випробуванням 50,0 мг ФСЗ ДФУ пірогалолу розчиняли у воді Р і доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл. 5,0 мл одержаного розчину доводили водою Р до об'єму 100 мл.

До 2,0 мл одержаного розчину додавали 1,0 мл фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р, 10,0 мл води Р, перемішуючи після кожного додавання, та доводили натрію карбонату розчином Р до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину за довжини хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційну рідину воду Р.

Вміст суми поліфенолів (X, %), у перерахунку на пірогалол, у відсотках, обчислювали за формулою 2.2:

$$X = \frac{62,5 \times A \times m_2}{A_0 \times m_1}, \quad (2.2)$$

де A – оптична густина випробовуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння;

m_1 – маса наважки випробовуваної сировини, мг;

m_2 – маса наважки ФСЗДФУ пірогалолу, мг;

62,5 – вміст пірогалолу у ФСЗДФУ пірогалолу, %.

2.6.2 Катехіни

Рідинну хроматографію проведено на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200.

Наважка сировини кожної проби 0,2-0,6 г, екстрагували в 10 мл 70 % етанолу на ультразвуковій бані при 80 °С впродовж 5 годин в скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Отриманий екстракт центрифугували при 3000 об/хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Як рухому фазу використовували метанол (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти в воді (В). Елюювання проводили в градієнтному режимі (табл.2.2).

Таблиця 2.2 – Режим хроматографування катехінів

Катехіни				
Час, хв	0	25	27	35
Елюент А, %	20	75	100	100
Елюент В, %	80	25	0	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 термостату 35 °С, об'єм інжекції 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 250 та 275 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [52].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів катехінів (пірокатехіну, катехіну, епікатехіну, епікатехінгалату та галокатехіну).

Кількість катехінів (X, мкг/г) визначали за формулою 2.3:

$$X = \frac{C \times V}{m}, \quad (2.3)$$

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

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, г.

2.6.3 Флавоноїди

Наявність флавоноїдів визначали в гідроетанольній витяжці за такими реакціями ідентифікації:

– ціанідінова проба: до 2 мл очищеного екстракту додавали 0,5 мл хлоридної кислоти і 0,1 г порошку металічного магнію. Суміш нагрівали на киплячому водяному нагрівнику протягом 3 хвилин;

– до 1 мл фільтрату додавали в однаковій кількості 2 % розчину натрію карбонату та 5 % розчину алюмінію хлориду;

– до 1 мл екстракту додавали 3-5 крапель 10 % розчину плюмбуму ацетату;

– до 1 мл екстракту додавали 1-2 краплі 10 % розчину феруму (III) хлориду;

– до 1 мл екстракту додавали 1-2 краплі 10 % гідроетанольного розчину калію гідроксиду [15, 25].

Для кількісного визначення флавоноїдів застосовували спектрофотометричний метод, що базується на утворенні комплексу флавоноїдів з алюмінію хлоридом [13]. Методика базується на загальних принципах ДФУ (монографія «Берези листя») з оптимізацією умов екстракції та довжини хвилі (430 нм) для даної сировини.

Вихідний розчин. Для виділення флавоноїдів 1,0 г (точна наважка) подрібненого листа мирту звичайного вміщували в колбу зі шліфом місткістю 150 мл, додавали 30 мл 70 % етанолу. Колбу приєднували до зворотнього холодильника та нагрівали на водяній бані протягом 30 хвилин, періодично збовтуючи для змивання часток лікарської рослинної сировини зі стінок. Гарячий витяг фільтрували через шматок вати у мірну колбу місткістю 100 мл, щоб частки лікарської рослинної сировини не попадали на фільтр. Вату переносили в колбу для екстрагування і додавали ще 30 мл 70 % етанолу. Екстракцію повторювали ще двічі в описаних вище умовах, фільтруючи витяг у ту ж колбу. Після охолодження об'єм витягу доводили етанолом 70 % до позначки та перемішували (розчин А).

Випробовуваний розчин. В мірну колбу місткістю 25 мл переносили 2 мл розчину А, 2 мл 2 % розчину алюмінію хлориду в 95 % етанолі та доводили об'єм розчину 95 % етанолом до мітки.

Компенсаційний розчин. 2,0 мл розчину А доводили етанолом Р (95 %, об/об) до об'єму 25,0 мл.

Через 40 хвилин вимірювали оптичну густину випробовуваного розчину на спектрофотометрі Lamda 365+(PerkinElmer, США) за довжини хвилі 430 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст суми флавоноїдів листа мирту звичайного у перерахунку на кверцетин і абсолютно суху сировину (X, %) розраховували за формулою 2.4:

$$X = \frac{A \times 100 \times 12,5 \times 100}{A_{1\text{ см}}^{1\%} \times m_n \times (100 - W)}, \quad (2.4)$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину;

$A_{1\text{ см}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання комплексу кверцетину з алюмінію хлоридом за довжини хвилі 430 нм (764,6);

m_n – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, г.

Ідентифікацію та кількісний аналіз флавоноїдів проводили на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200.

Наважку сировини кожної проби 0,2-0,6 г, екстрагували в 10 мл 80 % етанолу на ультразвуковій бані при 80 °С впродовж 5 годин в скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Отриманий екстракт центрифугували при 3000 об/хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Як рухомих фаз використовували ацетонітрил (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти в воді (В). Елюювання проводили в градієнтному режимі (табл.2.3).

Таблиця 2.3 – Режим хроматографування флавоноїдів

Флавоноїди					
Час, хв	0	20	30	50	60
Елюент А, %	5	30	60	100	100
Елюент В, %	95	70	40	0	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 термостату 30 °С, об'єм інжекції 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з

реєстрацією сигналу при 280 та 365 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [212].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів флавоноїдів (рутину, кверцетин-3-О- β -глюкозиду, нарингіну, неогесперидину, кверцетину, нарингеніну, кемпферолу, лютеоліну, апігеніну, фісетину, силібініну, байкалеїну, рамнетину, кастицину). Калібрування проводили методом зовнішніх стандартів.

Кількість флавоноїдів (X , мкг/г) визначали за формулою 2.5:

$$X = \frac{C \times V}{m}, \quad (2.5)$$

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

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, г.

2.6.4 Гідроксикоричні кислоти

Наявність сполук фенольної природи виявляли в гідроетанольній витяжці досліджуваної сировини мирту звичайного за реакцією з ферум (III) хлориду: до 1 мл екстракту додавали 2 краплі розчину феруму (III) хлориду [15, 25].

Кількісне визначення ГКК у листі мирту звичайного ґрунтується на спектофотометричній методиці [4].

Оптичну густина розчину вимірювали на спектрофотометрі Lambda 365+(США). Для кількісного визначення суми ГКК 1,5 г (точна наважка) здрібненої на порошок сировини вміщували у колбу місткістю 200 мл, додавали 90 мл етанолу (50 %, об/об) Р, нагрівали зі зворотним холодильником 30 хвилин

на киплячій водяній бані, охолоджували до кімнатної температури та фільтрували у мірну колбу місткістю 100 мл крізь тампон із вати. Тампон промивали 10 мл етанолу (50 %, об/об) Р і промивну рідину фільтрували в ту саму мірну колбу. Доводили об'єм розчину етанолом (50 %, об/об) Р до позначки, перемішували. Одержаний розчин фільтрували крізь складчастий паперовий фільтр.

Випробовуваний розчин. 1,0 мл вихідного розчину вміщували в мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додавали, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину кислоти хлоридної, 2 мл свіже приготованого розчину 10 г натрію нітриту Р і 10 г натрію молібдату Р у 100 мл води очищеної Р, 2 мл натрію гідроксиду розчину розведеного Р, доводили об'єм розчину водою Р до позначки та перемішували.

Компенсаційний розчин. 1,0 мл вихідного розчину вміщували в мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додавали, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину кислоти хлоридної та 2 мл натрію гідроксиду розчину розведеного Р, доводили об'єм розчину водою Р до позначки та перемішували. Відразу вимірювали оптичну густину випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст суми ГКК (X, %), у перерахунку на хлорогенову кислоту у відсотках, обчислювали за формулою 2.6:

$$X = \frac{A \times 1000}{188 \times m}, \quad (2.6)$$

де А – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм;

m – маса наважки випробовуваної сировини, г;

188 – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти.

Ідентифікацію та кількісний аналіз ГКК проведено на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200.

Наважка сировини кожної проби 0,1-0,6 г, екстрагувалася в 10 мл 60 % метанолу на ультразвуковій бані при 70 °С впродовж 2 годин в скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Отриманий екстракт центрифугували при 3 тис об/хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Як рухому фазу використовували метанол (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти в воді (В). Елюювання проводили в градієнтному режимі (табл.2.4).

Таблиця 2.4 – Режим хроматографування ГКК

ГКК				
Час, хв	0	40	45	55
Елюент А, %	10	75	100	100
Елюент В, %	90	25	0	0

Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-Aq (4,6 мм ±150 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку 0,6 мл/хв, температура термостату 30 °С, об'єм інжекції 3 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 330 нм та 275 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [252].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів ГКК (галової кислоти, гідроксифенілацетатної кислоти, хлорогенової кислоти, кофейної кислоти, сирінгової кислоти, *p*-кумарової кислоти, *транс*-ферулової кислоти, синапової кислоти, *транс*-цинамової кислоти, хінної кислоти). Вміст сполук (X, мкг/г) визначали за формулою 2.7:

$$X = \frac{C \times V}{m}, \quad (2.7)$$

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

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини, г.

2.6.5 Леткі сполуки

Для ідентифікації летких сполук застосовували метод ТШХ у рухомій фазі № 3 зі стандартними фармакопейними зразками міртенілацетату, ліналолу та цинеолу. Хроматограми розглядали при денному після обробки реактивом г.

Об'єктом для дослідження була ефірна олія листя мирту звичайного, отримана методом гідродистиляції [3]. Якісне та кількісне визначення компонентів ефірної олії проводили ГХ/МС в лабораторії газової хромато-мас-спектрометрії Навчально-наукового медико-лабораторного центру з виварієм стандартними методами визначення хімічних сполук на високоефективному газовому хроматографі «Agilent 7890B GC System» (Agilent, SantaClara, CA, USA) з мас-спектрометричним детектором «Agilent 5977 BGC/MSD» (Agilent). , Санта-Клара, Каліфорнія, США) [20]. Хроматографічна колонка ДБ-5мс довжиною 30 м × 250 мкм × 0,25 мкм. Швидкість газу-носія (гелію) 1,3 мл/хв. Об'єм ін'єкції – 0,5 мкл. Поділ потоку – 1:5. Температура блоку введення зразка 200 °C → 12 °C/с → 265 °C. Температура термостата: програмована, 70 °C (затримка 1 хв) → 10 C/хв → 270 °C (затримка 4 хв). Температура інтерфейсу ГХ/МС становить 275 °C; джерела іонів – 230 °C; квадрупольного масоаналізатора – 150 °C. Тип іонізації: EI при енергії електронів 70 eV. 30–700 м/з. Для ідентифікації компонентів використовували бібліотеку мас-спектру NIST14.

Якісний та кількісний склад летких сполук в сировині мирту звичайного та густих екстрактах листя мирту, вирощеного обома способами, визначали методом ГХ/МС з гарнізнажним пробовідбором. Для цього наважку зразка (20-90 мг) помішали в 20,0 мл віалу для парофазного пробовідбірника, додали 40 мкг/зразок внутрішнього стандарту тридекану. Підготовані таким чином віали крімпували та проводили безпосереднє хроматографічне дослідження.

Хроматографічне розділення проводили на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA), обладнаний парофазним пробовідбірником Agilent 7697 Headspace. Температура термостату парофазного пробовідбірника – 110 °С, петлі відбірника – 120 °С, трансферної лінії – 150 °С. Тривалість термостатування – 10 хв. Колонка капілярна HP-INNOWAX (30m×0,25mm×0,25mkm, Agilent technologies, USA). Температура випаровувача 250 °С, температура інтерфейсу 280 °С. Розділення проводили в режимі програмування температури – початкову температуру 40 °С витримували впродовж 5 хв, піднімали з градієнтом 10 °С /хв до 240 °С. Пробу вводили в режимі поділу потоку 1:5. Детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-420 m/z). Швидкість потоку газу носія через колонку 1,0 мл/хв. Ідентифікацію сполук проводили з використання бази даних NIST17. Кількісний вміст сполук виражали в перерахунку на тридекан (внутрішній стандарт).

Кількісний вміст (X, мкг/г) визначали за методом внутрішніх стандартів за формулою 2.8:

$$X = \frac{P_1 \times 40}{P_2 \times m}, \quad (2.8)$$

де P_1 – площа піка речовини, що вивчалася;

40 – маса внутрішнього стандарту, що вводився в зразок, мкг;

P_2 – площа піка стандарту;

m – наважка зразка, г [21, 27].

2.7 Вивчення морфолого-анатомічних ознак

Освітлення мікроскопічних препаратів здійснювали нагріванням зразків протягом 2-3 хвилин у 3-5 % водному розчині натрію гідроксиду (Ukrchemgroup, Іспанія, серійний номер CAS 1310-73-2), не допускаючи зайвого розм'якшення. Після кип'ятіння матеріал промивали 2-3 рази очищеною водою та готували мікроскопічний препарат [1, 4, 12, 156]. Для отримання поперечних зрізів проводили фіксацію у свіжоприготовленому прохолодному фіксаторі Карнуа (спирт 96 % (PR JSC BIOLIK, Україна), хлороформ (Chloroform Pharm, Франція, серійний номер TAP 1705155), ацетатна кислота (LLC "VVV" PCC, Україна) у співвідношенні 6:3:1) [16, 19], що перевищував об'єм досліджуваних об'єктів у 15 разів (для 20 об'єктів потрібно 80 мл фіксатору), витримуючи близько двох годин, з подальшим промиванням трьома порціями 70 % етанолу. Фіксований матеріал зневоднювали за допомогою градуйованого етанолу (10-100 %) та хлороформу, інфільтрували й заливали парафіном (Thermo Scientific Inc., Великобританія) у термостаті при постійній температурі 56 °C. Поперечні зрізи виготовляли за допомогою механічного ротаційного мікротому Microm HM 325 товщиною 5 мкм і переносили на предметні скельця мікроскопа з подальшою депарафінізацією у двох порціях ксилолу (по 5 хв у кожній), промиванням у воді очищеній та подальшою дегідратацією з витримуванням по 10 хв у 96 %, 80 % і 70 % етанолі.

Для фіксування результатів досліджень використовували мікроскопи Carl ZEISS «AxioStar Plus» та «Primo Star» для роботи у прямому й відбитому світлі (об'єктиви $\times 4$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$) із цифровою камерою AxioCam ERc 5s. Анатомічні дослідження виконали у статистично вірогідних кількостях (не менше 10 для кожного об'єкта).

Для виявлення локалізації ефірної олії проводили гістохімічну реакцію з розчином Судану III, який забарвлює вмістилища в помаранчево-червоний колір [219].

Ультраструктуру будови клітин листя додатково вивчали, використовуючи методи трансмісійної електронної мікроскопії на базі лабораторії електронної мікроскопії ЗДМФУ на електронному просвічувальному мікроскопі «ПЕМ-100-01» (Selmi, Україна) при прискорюючій напрузі 75 кВ. Фіксацію рослинного матеріалу після його подрібнення на фрагменти 2×3 мм проводили в 2,5 % розчині глутарового альдегіду виготовленого на 0,1 М фосфатному буфері з додаванням акролеїну в кінцевій концентрації 1 %. Додавання акролеїну було обумовлено недостатнім, повільним проникненням фіксатора, який містить тільки глутаровий альдегід, через епідерму листа. Акролеїн глибше проникає в тканину, швидше реагує ніж інші альдегіди, та забезпечує добре збереження ультраструктури при використанні в комбінації з іншим альдегідними фіксаторами [105]. Час узяття матеріалу для електронно-мікроскопічного дослідження складав до 5 хвилин. Фіксацію проводили впродовж 4 годин при $t = +4$ °C.

Після триразового відмивання фіксатора у 0,1 М фосфатному буфері матеріал обробляли впродовж 6 годин в 1 % розчині O_3O_4 на 0,1 М фосфатному буфері. В подальшому рослинний матеріал промивався в спиртах висхідної концентрації, починаючи з 30 % до 96 %. Обробка в кожній концентрації спирту при кімнатній температурі тривала 15 хвилин. В подальшому обробка проводилася в розчині – 100 % спирт-ацетон у послідовних співвідношеннях (3:1, 1:1 і 1:3) по 15 хвилин. Кінцевим етапом зневоднення була дворазова обробка матеріалу, по 20 хвилин, в чистому ацетоні. Для виготовлення блоків матеріал заливали в епоксидну смолу епон, дотримуючись складу основних компонентів смоли, відповідної послідовності та тривалості обробки [28].

На ультратомі Reichert Om 43 одержували ультратонкі зрізи, товщиною 60 нм. Зрізи контрастували 1 % розчином уранілацетату і свинцю цитрату протягом 2 хвилин в кожному розчині при кімнатній температурі. Ультратонкі зрізи вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-100 за прискорюючої напруги 75 кВ. Мікроструктуру клітин листків описували згідно з термінологією, що узагальнена у праці Бюнг-Хо Канг та ін. [149].

2.8 Дослідження показників якості та технологічних параметрів сировини

З метою аналізу рослинної сировини, а також для визначення сторонніх домішок, вмісту вологи (втрата в масі при висушуванні) та зольності, було застосовано методи, регламентовані ДФУ (розділи 2.0.1 – 2.8.20, 2.8.2, 2.2.32, 2.8.1, 2.4.16) [3].

2.8.1 Втрата маси при висушуванні

Під втратою маси при висушуванні розуміють втрату маси за рахунок гігроскопічної вологи та летких речовин, яка визначена в сировині під час сушіння до постійної маси.

Визначення втрати в масі при висушуванні для розрахунку кількості діючих речовин на абсолютно суху сировину проводили на наважках масою 3,0 г (точна маса), які відбирали з аналітичної проби, призначеної для визначення вмісту золи та діючих речовин, при різниці між зважуваннями, що не перевищує 0,01 г.

Аналітичну пробу сировини подрібнювали до розміру частинок близько 10 мм, перемішували та відбирали три наважки по 3 г, зважуючи з похибкою $\pm 0,01$ г. Кожну наважку поміщали в попередньо висушену та зважену разом з кришкою бюксу та ставили в сушильну шафу, нагріту до 100-105 °С. Час висушування відраховували з моменту, коли температура в сушильній шафі знову досягала 100-105 °С. Висушування проводили до постійної маси.

Втрату в масі при висушуванні сировини (X, %) розраховували за формулою 2.9:

$$X = \frac{(m - m_1) \times 100}{m}, \quad (2.9)$$

де m - маса сировини до сушіння, г;

m_1 – маса сировини після сушіння, г [3].

Паралельно було зроблено п'ять визначень. За кінцевий результат приймали середнє арифметичне п'яти паралельних визначень.

2.8.2 Визначення загального вмісту золи

3,0 г (точна маса) подрібненої сировини поміщали в попередньо прожарений та точно зважений порцеляновий тигель, рівномірно розподіляючи сировину по дну тигля. Потім тигель обережно нагрівали на електричній плитці, забезпечуючи згорання сировини при якомога нижчій температурі. У разі неповного згорання частинок вугілля залишок охолоджували, змочували водою, випарювали на водяній бані, а потім прожарювали в печі .

Прожарювання проводили при слабкому червоному розжарюванні до постійної маси, запобігаючи сплавленню золи та її спіканню зі стінками тигля. Після закінчення прожарювання тигель охолоджували в ексікаторі та зважували. Проводили 5 паралельних визначень [3]. Вміст загальної золи (X , %) у перерахунку на абсолютно суху сировину розраховували за формулою 2.10:

$$X = \frac{m_1 \times 100 \times 100}{m \times (100 - W)}, \quad (2.10)$$

де m_1 – маса тигля з золою, г;

m – маса тигля, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

2.8.3 Визначення вмісту золи, нерозчинної в 10 % розчині хлоридної кислоти

До тигля, отриманого після спалювання сировини, додавали 15 мл 10 % розчину хлоридної кислоти, тигель накривали годинниковим склом і нагрівали протягом 10 хвилин на киплячій водяній бані. До тигля, заповненого до повного об'єму, додавали 5 мл гарячої води, годинникове скло промивали водою, рідину фільтрували через беззольний фільтр, переносячи на нього залишок за допомогою гарячої води. Фільтр із залишком промивали гарячою водою до негативної реакції на хлориди у промивних водах, які переносили до того ж тигля, висушували, обвуглювали, прожарювали, як зазначено вище, зважували [3].

2.8.4 Визначення вмісту екстрактивних речовин

Близько 2,0 г (точна маса) подрібненої сировини, просіяної крізь сито № 1000, поміщали в конічну колбу місткістю 200 мл і додавали 50 мл відповідного екстрагенту: води, 30 %, 50 % та 70 % етанолу.

Колбу закривали пробкою, зважували (з похибкою $\pm 0,01$ г) і настоювали 24 години. Вміст колб ретельно збовтували та фільтрували через сухі паперові фільтри в сухі колби місткістю 200 мл.

Піпеткою переносили 25 мл фільтрату в попередньо висушені до постійної маси та точно зважені порцелянові чашки діаметром 7-9 см і випарювали на водяній бані до сухого залишку. Чашки із залишком висушували в сушильній шафі при температурі 100-105 °С до постійної маси. Потім охолоджували протягом 30 хвилин в ексикаторі, на дні якого знаходився безводний кальцій хлорид, і миттєво зважували [4].

Вміст екстрактивних речовин (X, %) у перерахунку на абсолютно суху сировину розраховували за формулою 2.11:

$$X = \frac{m \times 50 \times 100 \times 100}{m_1 \times 25 \times (100 - W)}, \quad (2.11)$$

де m_1 – маса сировини, г;

m – маса сухого залишку, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

2.9 Фармакологічні дослідження

Фармакологічні дослідження одержаних густих екстрактів листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*, проводили у віварії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету під керівництвом д. фарм. н., професора Щербини Р.О.

2.9.1 Гостра токсичність

Модель дослідження гострої пероральної токсичності (відповідно до OECD 423)

Відповідно до рекомендацій Організації економічного співробітництва та розвитку (OECD) Guideline (Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method), відтворена модель для оцінки гострої токсичності густих екстрактів листя мирту звичайного, вирощеного традиційним способом та методом мікроклонального розмноження, при внутрішньошлунковому введенні. Методика базується на

покроковій процедурі з використанням мінімальної кількості тварин (3 щури на етап) для визначення токсичності та класифікації речовини за Глобально гармонізованою системою (GHS) [199].

Тестовим зразком виступав водний 20 % розчини густих екстрактів листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*.

Досліди проводились на здорових не вагітних щурах самках лінії Wistar (оскільки вони зазвичай більш чутливі ніж самці [166]) віком 8-12 тижнів вагою 180-210 г.

Умови утримання. При дослідах на тваринах дотримувались правил гуманного ставлення до експериментальних тварин згідно з «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447 від 21.02.2006 р [101]. Протоколи експериментальних досліджень та їх результати затвердженні рішенням Комісії з біоетики ЗДМФУ (протокол № 12 від 23.10.2025).

Стандартні лабораторні умови: температура $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, відносна вологість 50-60 % (не нижче 30 %, не вище 70 %), освітлення 12 годин світло/12 годин темрява. Стандартний лабораторний раціон та необмежений доступ до питної води. Акліматизація: 5 днів перед початком експерименту [101].

Перед введенням щурів позбавляли корму (але не води) на ніч. Після введення корм не давали ще 3-4 години [221].

Тестовий зразок вводили внутрішньошлунково (*per os*) за допомогою шлункового зонду.

Об'єм введення розраховували індивідуально залежно від маси тіла. З розрахунку 1 мл/100 г маси тіла відповідно до сучасних міжнародних рекомендацій [222].

Крок 1: Вводили 20 % розчин густого екстракту листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo*, у дозі 2000 мг/кг та 20 % розчин густого екстракту листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vitro*, у дозі 2000 мг/кг.

Спостереження: Проводили індивідуально після введення щонайменше раз на перші 30 хвилин, періодично протягом перших 24 годин (особлива увага в перші 4 години), потім щоденно протягом 14 днів. Тривалість може бути подовжена за необхідності.

Крок 2: Вводили ту ж саму дозу (2000 мг/кг) розчинів досліджуваних екстрактів наступним 3-м самкам щурів.

Спостереження: Проводили спостереження згідно раніше вказаної методики.

2.9.2 Протизапальна активність

Дослідження проводили згідно з методичними рекомендаціями щодо доклінічного вивчення НПЗЗ на моделі серотонінового набряку при субплантарному введенні 0,1 мл 0,5 % розчину серотоніну [10].

Досліди виконано на білих нелінійних щурах масою 160-180 г, які утримувались у стандартних умовах віварію. При дослідах на тваринах дотримувались правил гуманного ставлення до експериментальних тварин згідно з «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447 від 21.02.2006 р [127].

Досліджувальні густі екстракти листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo* та методом мікроклонального розмноження в умовах *in vitro*, вводились внутрішньошлунково у вигляді водних розчинів з перерахунку 100 мг/кг.

Препарат порівняння ібупрофен (Geltec Private Limited, Індія, номер серії АЕU00223 04/2026) вводили внутрішньошлунково у дозі 25 мг/кг.

Дизайн експерименту: Тварини були розділені на 4 групи (n=5 у кожній):

Контрольна група: тварини, яким вводили розчинник та флогоген (серотонін).

Дослідні групи 2-3: тварини, що отримували густі екстракти листя *M. communis*, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*, та серотонін.

Група порівняння: тварини, що отримували ібупрофен та серотонін.

Густі екстракти сировини мирту, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*, та препарат порівняння вводили внутрішньошлунково за 1 год до ін'єкції серотоніну. Контрольна група отримувала еквівалентний об'єм розчинника (вода для ін'єкцій).

Перед введенням серотоніну вимірювали вихідний об'єм задньої лапи кожної тварини за допомогою онкометра.

Гостре асептичне запалення моделювали шляхом субплантарного (під апоневроз стопи) введення 0,1 мл 0,5 % розчину серотоніну.

Оцінку протизапальної дії проводили через 60 хв після введення серотоніну, що відповідає піку розвитку набряку для даного флогогену. У цей час повторно вимірювали об'єм запаленої лапи.

Ступінь набряку (приріст об'єму лапи, мл) розраховували як різницю між кінцевим та вихідним об'ємом.

Антиексудативну активність (А, %) розраховували за формулою 2.12:

$$A(\%) = \frac{(\Delta V_{\text{контролю}} - \Delta V_{\text{дослід}}) \times 100\%}{\Delta V_{\text{контролю}}}, \quad (2.12)$$

де $\Delta V_{\text{дослід}}$ – середній приріст об'єму лапи у дослідній групі або групі порівняння.

$\Delta V_{\text{контролю}}$ – середній приріст об'єму лапи у контрольній групі.

Статистичну обробку даних проводили з використанням t-критерію Стьюдента. Різницю вважали вірогідною при $p < 0,05$ [147].

2.9.3 Антимікробна та протигрибкова активність

Мікробіологічну чистоту та протимікробну активність густого екстракту мирту звичайного вивчали на базі мікробіологічної лабораторії Навчально-медико-лабораторного центра ЗДМФУ. Об'єктами дослідження були густі екстракти листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo* та методом мікроклонального розмноження в умовах *in vitro*. Дослідження проводили *in vitro* відповідно до існуючих нормативів ДФУ 2-го видання з урахуванням вимог Європейського комітету з тестування чутливості до антимікробних препаратів (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) [110].

З метою уникнення помилок при визначенні протимікробної активності густого екстракту, попередньо була вивчена мікробіологічна чистота (МЧ) експериментального зразка. Характеристика МЧ передбачала дослідження наступних показників: загального числа життєздатних аеробних мікроорганізмів (ТАМС), загального числа життєздатних дріжджових і пліснявих грибів (ТУМС), наявності або відсутності *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* й анаеробних мікроорганізмів. Визначення ТАМС і ТУМС проводили методом глибинного та двошарового посівів. Для глибинного посіву, готували розведення зразків 1:100 і 1:1000, які в кількості 1 мл вносили в стерильні чашки Петрі, а потім додавали 20 мл розплавленого та охолодженого до 45 °С соєво-казеїнового агару з метою визначення бактерій в інші чашки – Сабуро-декстрозного агару для виявлення дріжджових і пліснявих грибів. При двошаровому методі дослідження по 1 мл зразків із розведень 1:100 і 1:1000 вносили у пробірки з 4 мл розплавленого та охолодженого до 45 °С соєво-казеїнового або Сабуро-декстрозного агару. Вміст кожної пробірки швидко перемішували між долонями та виливали на поверхню відповідного агару в чашці Петрі. Після застигання агару, посіви інкубували в термостаті (для визначення бактерій при температурі 35 °С впродовж 5 діб, а для грибів – при 25 °С 7 діб). Наявність або відсутність стафілокока, кишкової палички та псевдомонади досліджували шляхом засівання 0,1 мл кожного

розведення зразка на підсушену поверхню відповідних живильних середовищ (для стафілокока на жовтково-сольовий агар, для кишкової палички та псевдомонади на середовище Ендо). З метою виявлення анаеробів та факультативних анаеробів в товщу тіогліколевого середовища засівали 0,1 мл кожного розведення густого екстракту. Для виявлення стафілококів й анаеробних мікроорганізмів посіви інкубували при температурі 35 °С 48 годин, а для виділення ентеробактерій і псевдомонад – 24 години.

Дослідження протимікробної активності проводили диско-дифузійним методом [5, 32, 249] *in vitro* з використанням еталонних тест-штамів мікроорганізмів, що відносились до різних груп: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213/NCTC12973 (грампозитивні коки), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (грампозитивні спороутворюючі палички), *Escherichia coli* ATCC 25922 (грамнегативні ентеробактерії), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (неферментуючі грамнегативні мікроорганізми), *Candida albicans* ATCC 885-653 (дріжджоподібні гриби роду Кандіда).

Чашки Петрі встановлювали на горизонтальну поверхню, наливали 10 мл незараженого, так званого «голодного» агару. Для культивування бактерій використовували агар Мюлера-Хінтона, для гриба роду Кандіда – декстрозний агар Сабуро (живильні середовища виробництва HiMedia (Індія)). Після застигання шару на його поверхню встановлювали стерильні циліндри з нержавіючої сталі (висота 10 мм, внутрішній діаметр 6 мм) і заливали їх «зараженим» агаром об'ємом 15 мл. Для цього в розтопленій і охолодженій агар (13,5 мл) додавали 1,5 мл суспензії добової культури тест штамів мікроорганізмів. Бактеріальну суспензію з кожної культури готували в фізіологічному розчині (густина 0,5 за МакФарландом, що відповідало $1,5 \times 10^8$ КУО/мл для бактерій і 5×10^6 КУО/мл для грибів роду *Candida*, з наступним розведенням до 500 тис. мікробних тіл у 1 мл). Після застигання другого шару агару циліндри виймали стерильним пінцетом і до лунок, що утворилися, вносили досліджувані зразки 0,3 мл \pm 0,05 мл. Чашки Петрі з посівами негайно переносили до термостату, де інкубували при 35 °С протягом

18 годин зі стафілококом, кишковою паличкою, псевдомонадою та 48 годин з грибами роду *Candida*.

Чутливість до зразків густих екстрактів листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*, визначали за наявністю/відсутністю зон затримки росту навколо лунки («колодязя»).

Облік результатів проводили шляхом вимірювання зони пригнічення росту мікроорганізмів, включно діаметр лунок. Вимірювання проводили з точністю до 1 мм, при цьому орієнтувались на повну відсутність видимого росту. Інтерпретацію отриманих результатів проводили за наступними критеріями: 0-2 мм – відсутність протимікробної дії, 3-10 мм – слаба, 10-20 мм – помірна, більше 21 мм – висока. Дослідження виконували у трьох повторях.

2.9.4 Антирадикальна активність

Визначення радикал поглинаючої активності густих екстрактів листя *M. communis*, культивованого традиційним способом та мікроклональним, проводили за допомогою стабільного вільного радикалу 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилом (DPPH) (Alfa Aesar, Японія, номер серії W16G017), який має фіолетове забарвлення. В результаті відновлення вільних радикалів DPPH молекули антиоксиданту перетворюють їх у злегка жовтуватий продукт, який змінює оптичну щільність при довжині хвилі 517 нм на спектрофотометрі [26, 52].

Спочатку готували вихідний розчин із концентрацією 1 мг/мл, розчинивши густий екстракт в 70 % етиловому спирті. Далі готували серію розчинів для побудови калібрувального графіку, використовуючи метод послідовного розведення, з концентраціями 200 мкг/мл, 400 мкг/мл, 600 мкг/мл, 800 мкг/мл і 1000 мкг/мл. Потім до 2 мл досліджуваної настоянки різних концентрацій додавали 2 мл розчину DPPH в етанолі з концентрацією 4,0 мг/100 мл. Після

перемішування пробу витримували протягом 30 хвилин в темноті. Для контролю змішували 2 мл етанолу та 2 мл робочого розчину DPPH в етанолі. Вимірювали оптичну густина на спектрофотометрі Lambda 365+ (PerkinElmer, США) при довжині хвилі 517 нм. Дослід проводили в трьох повторах.

Радикал поглинаючу здатність (РПА) обчислювали за формулою 2.13:

$$\text{РПА (\%)} = \frac{100 \times (A_0 - A_1)}{A_0}, \quad (2.13)$$

де A_0 – поглинання контрольного зразка (без екстракту)

A_1 – поглинання зразка з екстрактом.

На основі отриманих даних будували графіки залежності % інгібування від концентрації зразків. За допомогою лінійної регресії розраховували значення IC_{50} – концентрації, при якій досягається 50 % пригнічення вільних радикалів.

Знаючи значення IC_{50} (мкг/мл) розраховували антирадикальну активність (АРА) за наступною формулою 2.14:

$$\text{АРА (\%)} = \frac{1}{IC_{50}}, \quad (2.14)$$

Як препарат порівняння використовували стандартний зразок аскорбінової кислоти. Для визначення IC_{50} аскорбінової кислоти готували серію розбавлень її розчину з концентрацією 1 мг/мл, отримали значення IC_{50} та АРА.

Загальну антиоксидантну активність виражали в мкг аскорбінової кислоти (аскорбінової кислоти еквівалент (АКЕ)) і обчислювали за формулою 2.15:

$$\text{АКЕ} = \frac{\text{АРА зразка}}{\text{АРА аскорбінової кислоти}}, \quad (2.15)$$

2.10 Статистична обробка результатів досліджень

Статистичну обробку результатів досліджень проводили відповідно до вимог ДФУ 2.0 монографії 5.3 «Статистичний аналіз результатів біологічних випробувань та тестів», 5.3.N.1 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту^N»; а також за допомогою програм Excel-7.0 та «STATISTICA®v.13» (ліцензія №JPZ804I382130ARCN10-J). Для оцінки статистичної значущості міжгрупових відмінностей використовували параметричний t-критерій Ст'юдента у випадку нормального розподілу та непараметричний U-критерій Манна-Уїтні за його відсутності. Відмінності між контрольними та дослідними групами вважали статистично достовірними при $p < 0,05$ [7, 22].

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН В *MYRTUS COMMUNIS* L. ЛИСТІ

Одним із етапів фармакогностичного дослідження є детальне вивчення хімічного складу лікарської рослинної сировини, що дає змогу науково верифікувати її терапевтичну ефективність та розробити параметри стандартизації. Біологічна активність *M. communis* зумовлена синергізмом комплексу БАР, серед яких домінуючу роль відіграють леткі сполуки, амінокислоти, моносахариди, ГКК, флавоноїди, а також конденсовані поліфеноли. Зазначені групи сполук визначають виражений антибактеріальний, протизапальний, антиоксидантний та фунгіцидний потенціал досліджуваної сировини.

Для визначення якісного складу та кількісного вмісту цільових груп БАР у сировині мирту звичайного було застосовано комплекс сучасних аналітичних методів, зокрема ТШХ, спектрофотометрії, ВЕРХ та ГХ/МС. Комплексний підхід до аналізу дозволив провести всебічну оцінку фітокомпонентного профілю, встановити маркерні сполуки та науково обґрунтувати доцільність використання досліджуваного виду як перспективного джерела стандартизованої лікарської рослинної сировини для створення високоефективних фітозасобів.

3.1 Вуглеводи

Полісахариди належать до найважливіших класів біополімерів є природними макромолекулярними сполуками, які побудовані з залишків

моносахаридів. Станом на сьогодні ідентифіковано понад 300 видів природних полісахаридних сполук [269].

Природні полісахариди характеризуються чітко вираженими структурними особливостями, зокрема молекулярною масою, моносахаридним складом, зарядними властивостями та типом глікозидних зв'язків, які визначають їхні функціональні характеристики та обумовлюють широке практичне застосування. Залежно від функціонального призначення, форми та хімічної природи полісахариди поділяють на гомополісахариди та гетерополісахариди; вони можуть виконувати запасуючу або структурну функції, а також мати заряджену (кислу або основну) чи незаряджену (нейтральну) природу. Складна макромолекулярна структура полісахаридів є нестійкою в кислих і лужних умовах, а також за підвищених температур, що сприяє перебігу окисних реакцій та процесів деградації [214].

Встановлено, що полісахариди рослинного походження проявляють широкий спектр біологічної активності, зокрема протипухлинну, антиоксидантну, протидіабетичну, радіопротекторну, протівірусну, гіполіпідемічну та імуномодулюючу дію [214, 230, 263, 269]. У зв'язку з цим рослинні полісахариди розглядають як перспективні природні джерела для профілактики та лікування уражень шкіри, інфекційних захворювань і онкопатологій завдяки їх репаративним, антимікробним та цитопротекторним властивостям [36, 81].

На початковому етапі дослідження проведено попередню ідентифікацію основних груп вуглеводів із використанням загальноприйнятих якісних реакцій. Для поглибленого аналізу якісного складу та кількісного визначення компонентів досліджуваної рослинної сировини застосовували метод ГХ/МС на аналітичній системі Agilent 6890N/5973 inert (Agilent Technologies, США). Отримані результати хроматографічного аналізу свідчать про значну варіабельність накопичення вільних вуглеводів, що безпосередньо залежить від комплексу факторів та умов культивування досліджуваних об'єктів (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 – Кількісний вміст вільних моносахаридів у *M. communis* листі (ГХ/МС)

Сполука	Час утримання	<i>M. communis</i> (<i>in vivo</i>), мг/г	<i>M. communis</i> (<i>in vitro</i>), мг/г
Арабіноза	9,1	0,00	0,00
Фукоза	9,59	0,31	0,11
Ксилоза	10,01	0,00	0,00
Маноза	15,51	1,11	1,17
Глюкоза	15,95	5,04	7,52
Галактоза	16,46	0,25	0,20
Мукоїнозитол гексаацетат	17,81	0,00	0,13
Інозит	18,78	0,05	0,50
Манітол	19,08	0,00	0,00
Лактон глюкуронової кислоти	21,87	2,75	7,93
Фруктоза	24,05	0,98	1,71
Цукроза	34,24	1,24	6,37
Загальний вміст		11,8	25,6

За результатами аналізу хроматограм і оцінки сумарних площ піків у листі мирту, вирощеного в умовах *in vivo*, було ідентифіковано 8 сполук вільних вуглеводів, тоді як у зразках, отриманих в умовах *in vitro*, встановлено наявність 9 таких сполук (рис. 3.1, 3.2). В обох типах сировини провідним вільним моносахаридом була глюкоза, вміст якої у зразках *in vitro* (7,52 мг/г) перевищував відповідний показник у зразках *in vivo* (5,04 мг/г). Разом із тим у культурі *in vitro* зафіксовано суттєво підвищене накопичення лактону глюкуронової кислоти: його концентрація становила 7,93 мг/г, що майже утричі більше порівняно з рослинною сировиною, вирощеною *in vivo* (2,75 мг/г). Отримані дані можуть свідчити про посилення процесів детоксикації та біосинтезу компонентів клітинної стінки за умов штучного культивування.

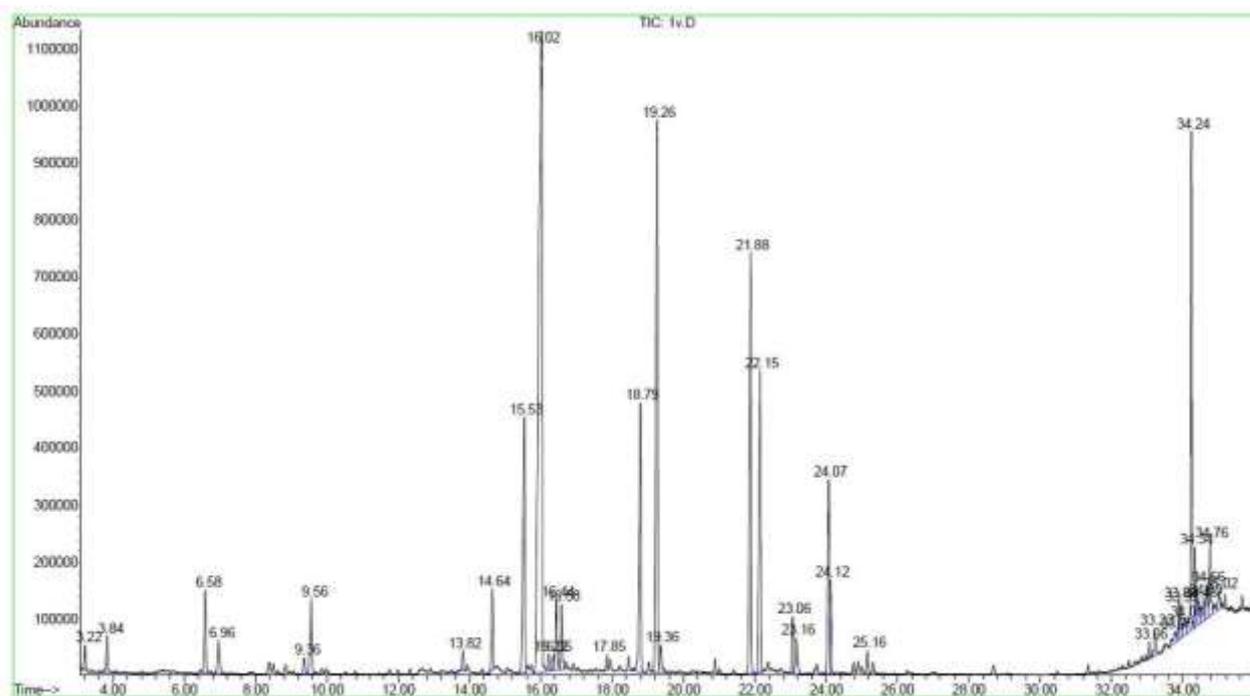


Рисунок 3.1 – ГХ/МС вільних моносахаридів *M. communis* листя
(*in vivo*)

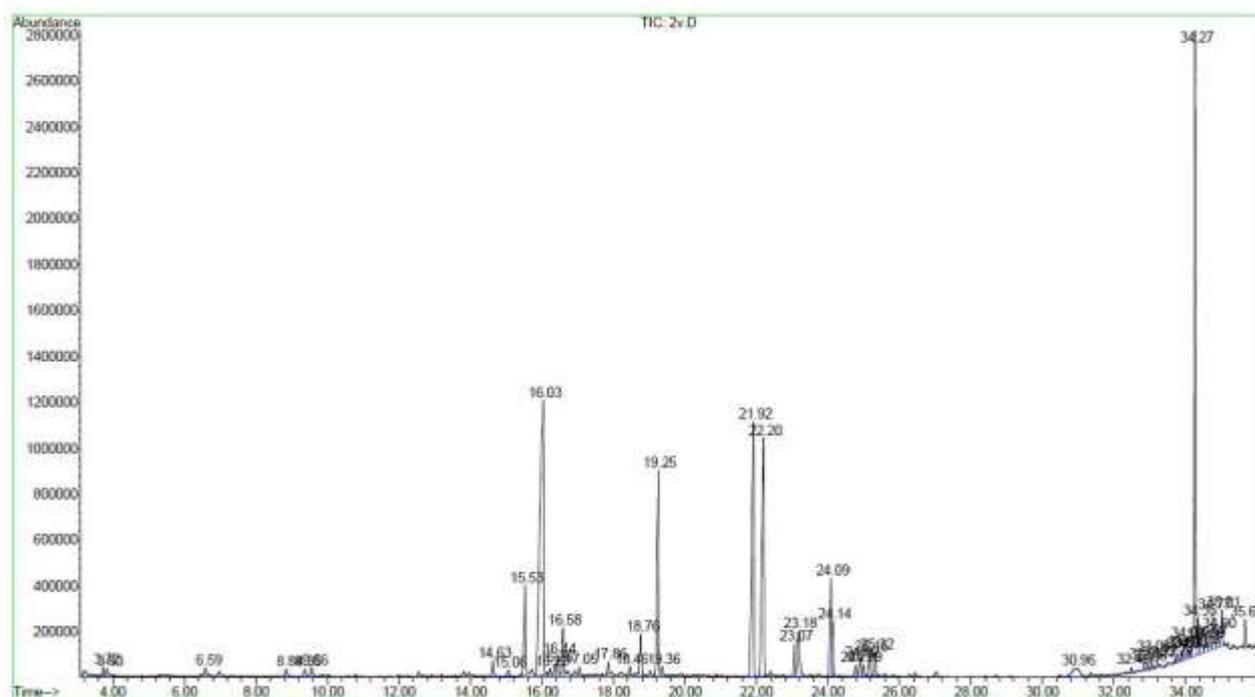


Рисунок 3.2 – ГХ/МС вільних моносахаридів *M. communis* листя
(*in vitro*)

Крім того, у культурі *in vitro* відзначено значно вищий вміст цукрози (6,37 мг/г порівняно з 1,24 мг/г у зразках *in vivo*), що може бути зумовлено особливостями поживного середовища або інтенсифікацією процесів первинного метаболізму в ізольованій системі культивування. У зразках, отриманих в умовах *in vitro*, додатково ідентифіковано мукоїнозитол гексаацетат у кількості 0,13 мг/г, який був відсутній у традиційній рослинній сировині.

Сумарний вміст вільних моносахаридів у сировині *in vitro* (25,6 мг/г) більш ніж удвічі перевищував відповідний показник для зразків *in vivo* (11,8 мг/г), що свідчить про підвищену інтенсивність вуглеводного обміну в культурах, вирощених у штучних умовах.

Визначення загальних моносахаридів (рис. 3.3, 3.4) після гідролізу дає змогу оцінити не лише вільні форми вуглеводів, а й ті, що входять до складу полісахаридних комплексів і глікозидів. У таблиці 3.2 наведено порівняльну характеристику якісного складу та кількісного вмісту загальних вуглеводів *M. communis* листя, отриманого в умовах *in vivo* та *in vitro*.

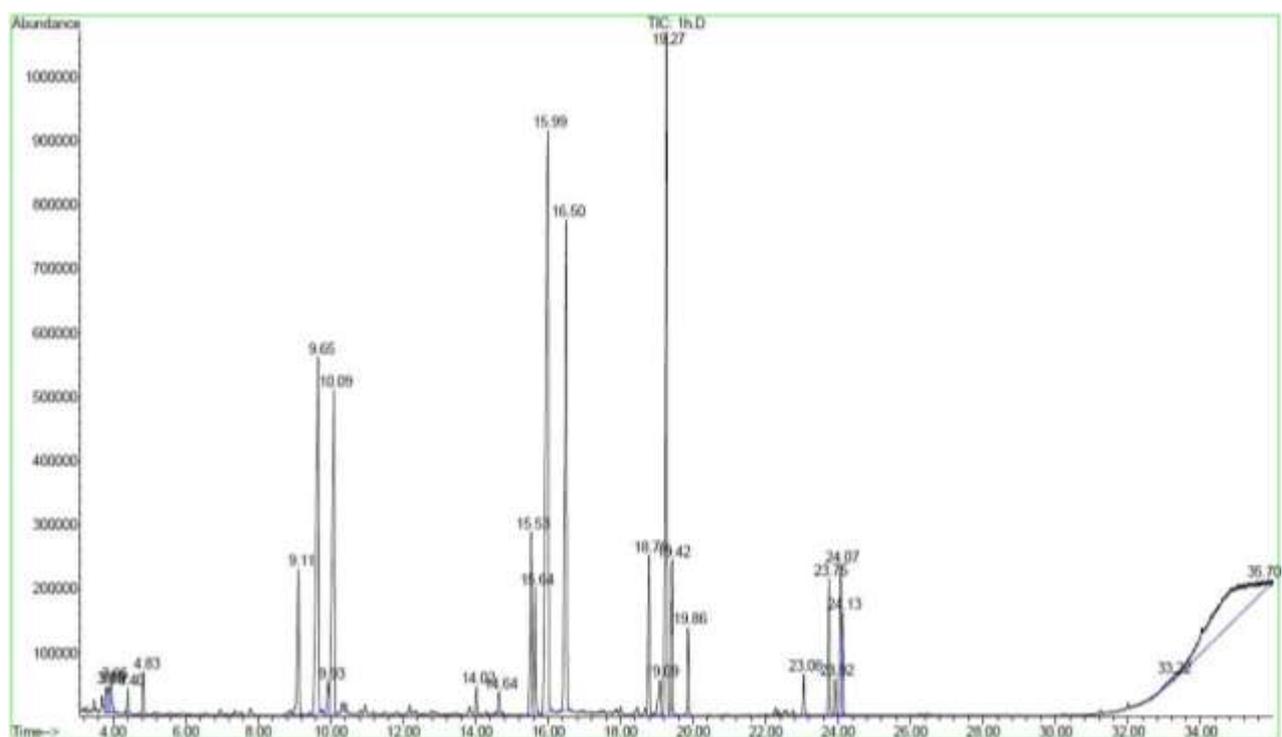


Рисунок 3.3 – ГХ/МС загальних моносахаридів *M. communis* L. листя (*in vivo*)

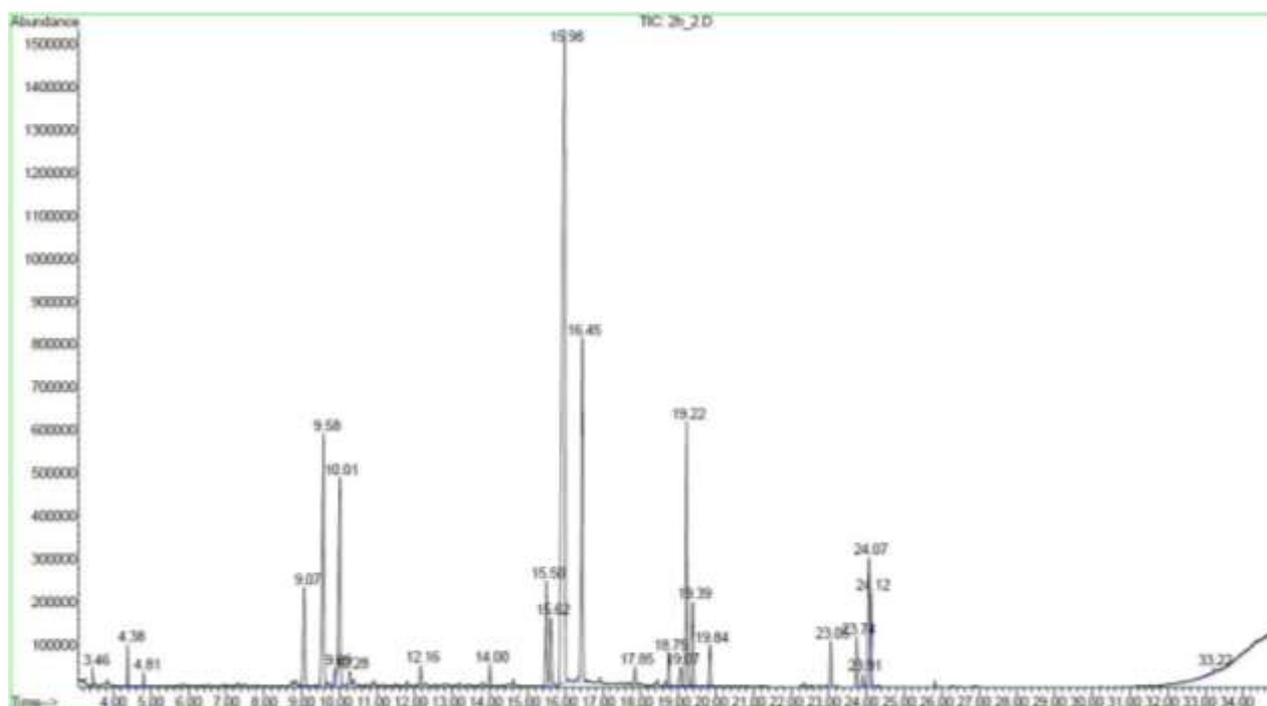


Рисунок 3.4 – ГХ/МС загальних моносахаридів *M. communis* L. листя (*in vitro*)

Таблиця 3.2 – Кількісний вміст загальних моносахаридів у *M. communis* листі (ГХ/МС)

Сполука	Час утримання	<i>M. communis</i> (<i>in vivo</i>), мг/г	<i>M. communis</i> (<i>in vitro</i>), мг/г
Арабіноза	9,1	2,54	3,10
Фукоза	9,59	7,57	8,29
Ксилоза	10,01	6,38	6,84
Маноза	15,51	2,61	2,91
Мукоїнозитол гексаацетат	17,81	0,00	0,50
Інозит	18,78	2,14	0,93
Манітол	19,08	0,72	0,58
Лактон глюкуронової кислоти	21,87	0,00	0,00
Фруктоза	24,05	1,24	5,49
Цукроза	34,24	0,00	0,00
Загальний вміст		45,0	70,7

Провідними компонентами гідролізатів у обох варіантах дослідження були фукоза та ксилоза: вміст фукози становив 7,57 мг/г у зразках *in vivo* та 8,29 мг/г у зразках *in vitro*, тоді як концентрація ксилози – 6,38 мг/г і 6,84 мг/г відповідно. Отримані результати свідчать про відносну стабільність біосинтезу структурних полісахаридів, зокрема геміцелюлоз і пектинових речовин, незалежно від умов культивування рослинної сировини.

Характерною особливістю є повна трансформація цукрози та лактону глюкуронової кислоти на етапі підготовки проб, про що свідчить відсутність їх у гідролізатах. Це підтверджує високу лабільність зазначених сполук до дії кислотного гідролізу. Загальний вміст моносахаридів у листі мирту, вирощеному в умовах *in vitro* (70,7 мг/г), суттєво перевищував відповідний показник для зразків *in vivo* (45,0 мг/г).

Рослинна культура, отримана в умовах *in vitro*, характеризується підвищеною здатністю до накопичення як вільних, так і зв'язаних вуглеводів; сумарна кількість моносахаридів за штучних умов культивування була на 57 % вищою порівняно з природними. Водночас, попри виявлені кількісні відмінності, якісний склад основних моносахаридів – арабінози, фукози, ксилози, манози, глюкози та галактози – залишався стабільним. Це свідчить про збереження генетично детермінованих шляхів біосинтезу вуглеводів у клітинній культурі мирту.

3.2 Амінокислоти

Пептиди є невід'ємними регуляторними компонентами рослинних організмів, з огляду на широкий спектр їхніх біологічних функцій. Вони беруть участь у регуляції ключових фізіолого-біохімічних процесів, зокрема клітинного поділу, росту, диференціації, цвітіння, плодоношення, дозрівання, а також у формуванні відповіді на стресові чинники [167]. Захисні сполуки рослинного

походження, до яких належать антимікробні пептиди, неканонічні амінокислоти та їх похідні, алкалоїди, сульфурвмісні сполуки, а також метаболіти, похідні фенілаланіну та тирозину, характеризуються широким спектром антибактеріальної, протигрибкової, протипаразитарної та противірусної активності [153, 250, 208].

У ході дослідження амінокислотного складу листа мирту, вирощеного в природних умовах (рис. 3.5, 3.6), було ідентифіковано та кількісно визначено широкий спектр амінокислот. Встановлено, що переважна їх частина перебуває у зв'язаному стані (139,27 мг/г), входячи до складу високомолекулярних білкових комплексів, тоді як вміст вільних амінокислот є незначним і становить 2,16 мг/г. Детальний якісний склад і кількісні характеристики ідентифікованих компонентів наведено в таблиці 3.3.

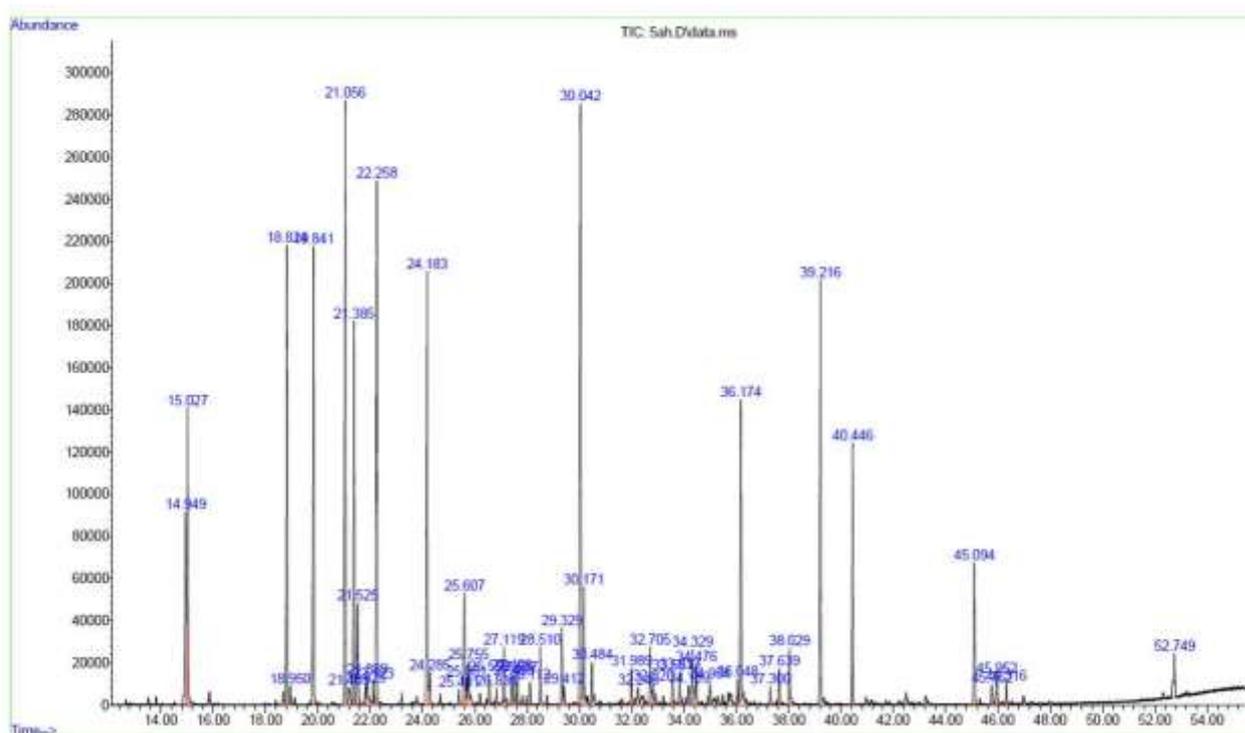


Рисунок 3.5 – ГХ/МС загальних амінокислот *M. communis* листа
(*in vivo*)

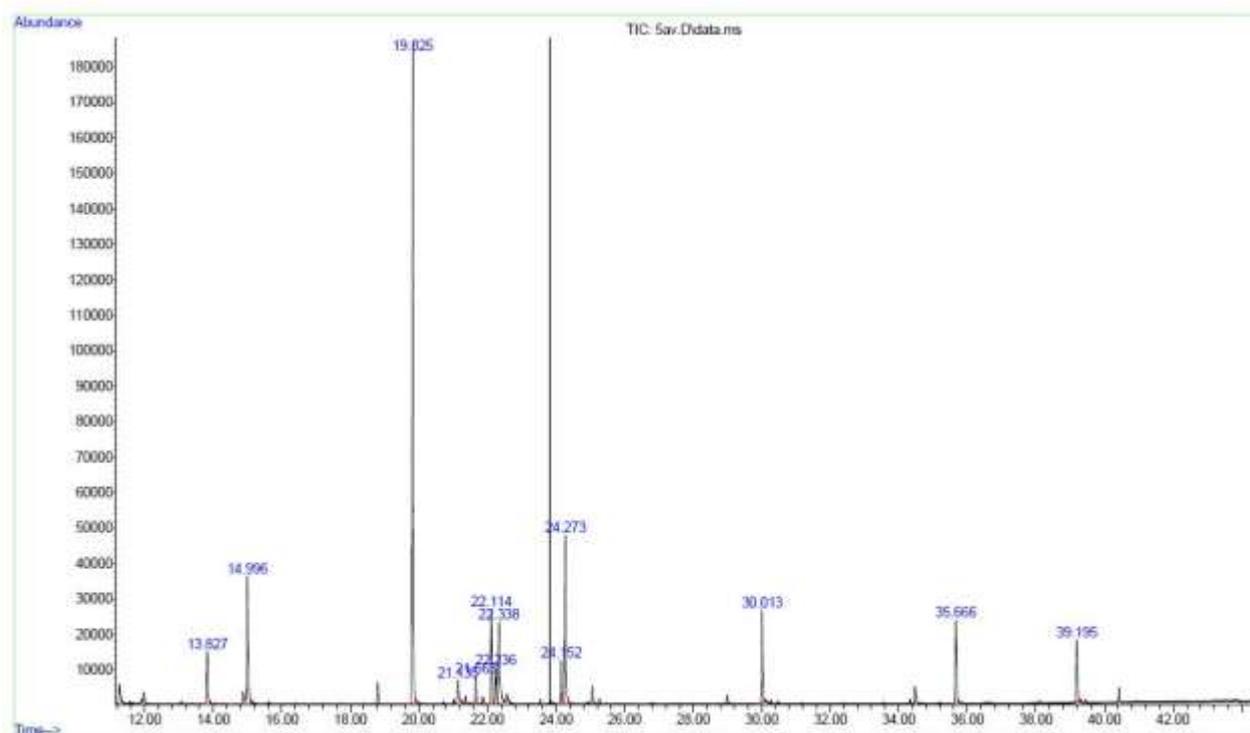


Рисунок 3.6 – ГХ/МС вільних амінокислот *M. communis* листя
(*in vivo*)

Таблиця 3.3 – Якісний та кількісний вміст амінокислот у *M. communis* листі, вирощеного в умовах *in vivo* (ГХ/МС)

Амінокислот и	Час утримування, хв	Вільні, мг/г	Загальні, мг/г	Зв'язані, мг/г
1	2	3	4	5
Аланін	14,99	0,49	7,35	6,86
Гліцин	15,07	0,00	9,45	9,45
Валін*	18,87	0,00	13,82	13,82
Норвалін	Зразок	IS	IS	IS
Лейцин*	21,10	0,12	20,21	20,10
Серін	21,20	0,00	1,03	1,03
Треонін*	21,57	0,08	3,29	3,21
Ізолейцин*	21,43	0,00	10,90	10,90
Пролін	22,31	0,35	15,61	15,26

Продовження таблиці 3.3

1	2	3	4	5
Аспарагін	22,58	0,00	0,00	0,00
Аспарагінова кислота	24,23	0,58	13,72	13,14
Глутамінова кислота	27,15	0,00	1,50	1,50
Метіонін*	27,44	0,00	0,86	0,86
Цистеїн	29,72	0,00	0,00	0,00
Фенілаланін*	30,05	0,31	20,24	19,94
Глутамін	32,27	0,00	0,90	0,90
Лізин*	36,20	0,00	8,97	8,97
Гістидин*	37,33	0,00	0,50	0,50
Тирозин	39,25	0,23	13,08	12,85
Триптофан*	45,33	0,00	0,00	0,00
Загальний вміст амінокислот		2,16	141,42	139,27

Примітка. * – незамінні амінокислоти

Було ідентифіковано та визначено вміст 16 амінокислот, з яких 7 знаходяться у вільному стані. Загальна кількість амінокислот становила 141,42 мг/г. Серед загальних амінокислот найвищі концентрації зафіксовані для фенілаланіну (20,24 мг/г), лейцину (20,21 мг/г), проліну (15,61 мг/г) та валіну (13,82 мг/г). У вільному стані в найбільшій кількості були присутні аспарагінова кислота (0,58 мг/г) та аланін (0,49 мг/г).

Для листя мирту, отриманого методом мікроклонального розмноження, характерним є звуження якісного спектра та зниження інтенсивності накопичення азотовмісних сполук, що, ймовірно, пов'язано з особливостями умов культивування *in vitro* та відмінностями у фізіологічному стані рослин. Це підтверджується даними, наведеними у таблиці 3.4, які свідчать про меншу різноманітність і нижчі концентрації амінокислот порівняно з рослинами, вирощеними в умовах *in vivo*.

Таблиця 3.4 – Якісний та кількісний вміст амінокислот у *M. communis* листі, вирощеного в умовах *in vitro* (ГХ/МС)

Амінокислоти	Час утримування, хв	Вільні, мг/г	Загальні, мг/г	Зв'язані, мг/г
Аланін	14,99	0,11	4,05	3,94
Гліцин	15,07	0,00	5,79	5,79
Валін*	18,87	0,00	8,14	8,14
Норвалін	Зразок	IS	IS	IS
Лейцин*	21,10	0,00	0,00	0,00
Серін	21,20	0,00	0,64	0,64
Треонін*	21,57	0,00	2,08	2,08
Ізолейцин*	21,43	0,00	6,94	6,94
Пролін	22,31	0,00	8,94	8,94
Аспарагін	22,58	0,00	0,00	0,00
Аспарагінова кислота	24,23	0,78	8,41	7,63
Глутамінова кислота	27,15	0,00	1,00	1,00
Метіонін*	27,44	0,00	0,77	0,77
Цистеїн	29,72	0,00	0,00	0,00
Фенілаланін*	30,05	0,00	11,57	11,57
Глутамін	32,27	0,00	0,00	0,00
Лізин*	36,20	0,00	6,62	6,62
Гістидин*	37,33	0,00	0,00	0,00
Тирозин	39,25	0,00	6,80	6,80
Триптофан*	45,33	0,00	0,00	0,00
Загальний вміст амінокислот		0,89	71,75	70,85

Примітка. * – незамінні амінокислоти

Загальний вміст амінокислот у сировині, вирощеній в умовах *in vitro*, становив 71,75 мг/г, що майже вдвічі менше порівняно з показником для природної рослинної сировини. Це свідчить про істотний вплив умов культивування на інтенсивність азотного обміну та рівень біосинтезу білкових компонентів. Частка вільних амінокислот була низькою й становила 0,89 мг/г.

У листі мирту звичайного, культивованого методом мікроклонального розмноження, не виявлено синтезу або акумуляції таких біологічно важливих амінокислот, як лейцин, гістидин і глутамін, які були ідентифіковані у зразках, вирощених *in vivo*.

Домінуючими амінокислотами у складі білкових компонентів культури *in vitro* були фенілаланін (11,57 мг/г), пролін (8,94 мг/г) та аспарагінова кислота (8,41 мг/г) (рис. 3.7, 3.8). Переважання цих амінокислот може свідчити про їх провідну роль у формуванні білкових структур та участь у механізмах клітинної адаптації до стресових умов культивування.

Перехід рослинної сировини до умов *in vitro* супроводжується зниженням загального вмісту амінокислот майже вдвічі – зі 141,42 мг/г до 71,75 мг/г. Виявлені зміни можуть бути зумовлені обмеженням азотного живлення у поживному середовищі культивування або переорієнтацією клітинного метаболізму на синтез вторинних метаболітів за рахунок утворення первинних білкових сполук.

В обох досліджуваних варіантах амінокислоти перебувають переважно у зв'язаному стані (понад 98 %), що підтверджує їхню функціональну роль як структурних компонентів клітинних білків, а не як вільних резервних метаболітів. Це свідчить про те, що білковий обмін у листі мирту зберігає свою ключову біологічну значущість незалежно від умов вирощування, однак інтенсивність його реалізації істотно відрізняється.

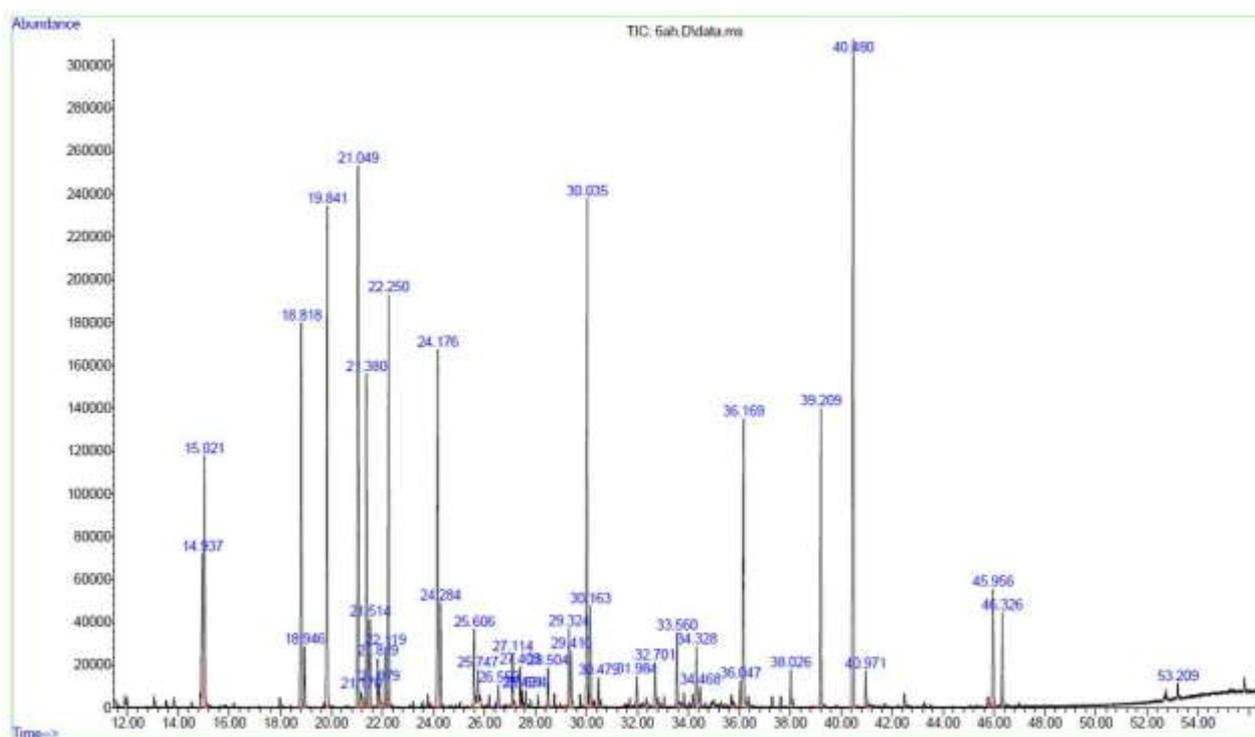


Рисунок 3.7 – ГХ/МС загальних амінокислот *M. communis* листя
(*in vitro*)

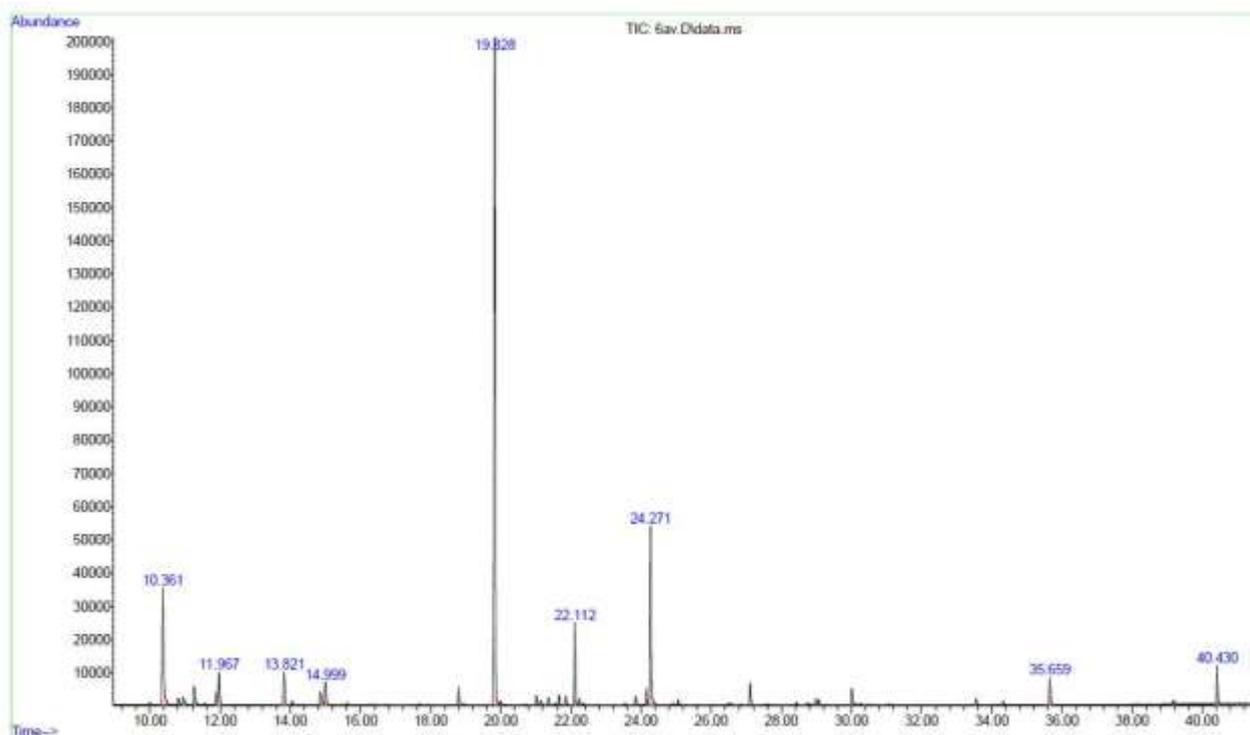


Рисунок 3.8 – ГХ/МС вільних амінокислот *M. communis*
листя (*in vitro*)

3.3 Поліфенольні сполуки

Поліфенольні сполуки належать до ключових біологічно активних компонентів рослинної сировини та привертають значну увагу дослідників завдяки широкому спектру фармакологічних властивостей. Для них характерна антибактеріальна, антипроліферативна, антиоксидантна та противірусна активність, а також позитивний вплив на функціональний стан серцево-судинної системи [51]. Крім того, поліфеноли проявляють терапевтичний потенціал при цукровому діабеті, нейродегенеративних захворюваннях, остеопорозі та ожирінні [126, 175, 196, 242, 246].

Важливою властивістю поліфенольних сполук є їхня здатність модулювати склад кишкової мікробіоти, зокрема шляхом стимуляції росту корисних бактерій родів *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* і пригнічення розвитку патогенних мікроорганізмів, зокрема *Clostridium* spp. Водночас кишкова мікробіота бере участь у метаболізмі поліфенолів, перетворюючи їх на більш біоактивні та біодоступні метаболіти порівняно з вихідними сполуками [64, 74]. Окрім цього, поліфеноли можуть сприяти контролю маси тіла за рахунок пригнічення апетиту, оптимізації ліпідного обміну та інгібування активності панкреатичної ліпази [242].

З огляду на зазначене, актуальним є визначення якісного та кількісного складу поліфенольних сполук у мирту звичайного листі, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*, із застосуванням сучасних аналітичних підходів.

Попередню ідентифікацію сполук фенольної природи здійснювали методами ТШХ та реакцій ідентифікації відповідно до методик, наведених у розділі 2, п. 2.6.1. За результатами ТШХ у рухомій фазі № 1 у гідроетанольних витяжках із мирту звичайного листя було ідентифіковано галову кислоту, танін і пірокатехін. За довжини хвилі 254 нм фенольні сполуки проявлялися у вигляді плям блакитного та фіолетового кольору, інтенсивність яких зростала після обробки хроматограм розчином ферум (III) хлориду.

Кількісне визначення суми поліфенольних сполук проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на пірогалол відповідно до вимог ДФУ 2.8.14 [6] для водних витягів із *M. communis* листя, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*. Результати досліджень наведено в таблиці 3.5.

Таблиця 3.5 – Кількісний вміст суми поліфенольних сполук у *M. communis* листі (n=10, M±m, p<0,05)

Рослинна сировина	Кількісний вміст, %
<i>M. communis (in vivo)</i>	3,28 ± 0,12
<i>M. communis (in vitro)</i>	3,27 ± 0,05

У результаті проведених досліджень було встановлено, що кількісний вміст суми поліфенолів у мирту звичайного листі, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*, був майже однаковим.

3.4 Катехіни

В останні десятиліття катехіни та їх полімери привернули значну увагу в наукових дослідженнях через їх потенційно сприятливий вплив на здоров'я людини. Завдяки своїй хімічній структурі катехіни здатні взаємодіяти з численними ферментативними системами, проявляючи різноманітну біологічну активність. У літературі наведено численні докази протизапальної, антиканцерогенної, антиамілоїдної, кардіопротекторної, антиоксидантної, противірусної та антимікробної активності катехінів [10, 44, 209, 172].

Останні дослідження показують, що кількість гідроксильних груп та наявність специфічних структурних мотивів істотно впливають на антиоксидантну активність катехінів. Ці властивості обґрунтовують розгляд

катехинів як перспективних молекул для створення нових протипухлинних препаратів [115]. Крім того, катехіни проявляють антикоронавірусну та ренопротекторну дію, зокрема проти уражень нирок, викликаних нефротоксичними агентами, обструктивними нефропатіями та гострим пошкодженням нирок [102].

Ідентифікацію та кількісний аналіз катехинів у досліджуваній рослинній сировині проводили методом рідинної хроматографії на системі Agilent Technologies 1200. Результати аналізу наведено в таблиці 3.6 та на рисунку 3.9.

Таблиця 3.6 – Кількісний вміст катехинів у *M. communis* листі (ВЕРХ) ($M \pm m, n = 3$)

Сполука	Вміст катехинів, мкг/г
Катехін	661,33±33,07
Пірокатехін	271,06±13,55
Епікатехінгалат	122,42±6,12
Галокатехін	73,15±3,66

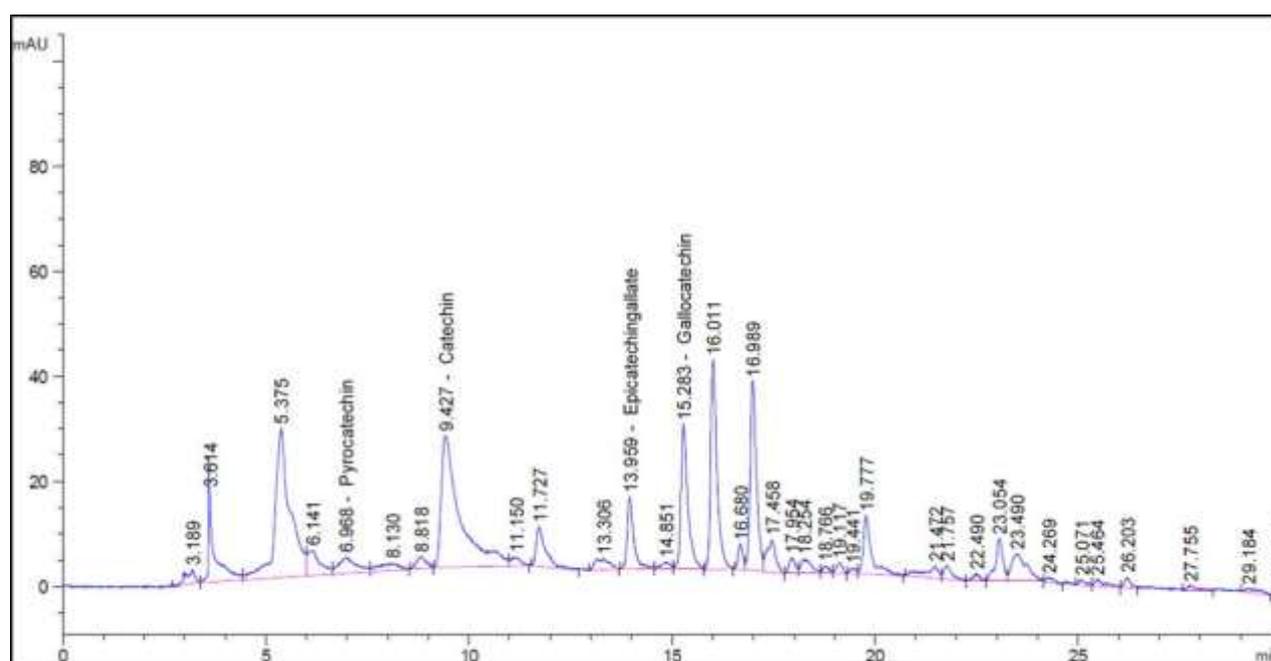


Рисунок 3.9 – ВЕРХ-хроматограма катехинів *M. communis* листя

Результати досліджень показали, що листя мирту містить пірокатехін-73,15 мкг/г, катехін-661,33 мкг/г, епікатехінгалат-122,42 мкг/г та галокатехін-271,06 мкг/г.

3.5 Флавоноїди

Флавоноїди належать до групи вторинних метаболітів рослин і характеризуються широким спектром фармакологічної активності, а також відіграють важливу роль у фізіологічних процесах і механізмах захисту рослин від несприятливих факторів навколишнього середовища [18, 128]. Залежно від хімічної структури флавоноїди поділяють на шість основних класів: флаван-3-оли, флавони, флавоноли, флаванони, ізофлавони та антоціани [233].

Флавоноїди проявляють кардіотонічну, жовчогінну, бактерицидну та спазмолітичну дію, знижують ламкість і підвищують проникність судин (зокрема рутин), а також здатні зв'язувати й елімінувати з організму радіонукліди; для цієї групи сполук також характерна протипухлинна активність [38]. Важливою фізико-хімічною особливістю флавононів є здатність поглинати ультрафіолетове випромінювання в діапазоні 280-320 нм, у зв'язку з чим флавоноли та флавони виконують фотопротекторну функцію, забезпечуючи захист рослинних, зокрема епідермальних, тканин від дії ультрафіолетових променів.

Окрім цього, флавоноїди беруть участь у сигнальних процесах під час взаємодії рослин з патогенними мікроорганізмами, забезпечують захист від травоядних та відіграють важливу роль у формуванні імунної відповіді рослин, зокрема у біосинтезі фітоалексинів [18, 99].

Попередню ідентифікацію сполук флавоноїдів здійснювали методами ТШХ та реакцій ідентифікації відповідно до методик, наведених у розділі 2, п. 2.6.3. При використанні рухомої фази № 2 встановлено наявність рутину та

кверцетину. Виявлені сполуки мали жовте забарвлення при денному освітленні та коричневу флуоресценцію в УФ-світлі; після обробки 1 % етанольним розчином алюмінію хлориду спостерігалася характерна жовто-зелена флуоресценція, що є типовою реакцією ідентифікації на флавоноїди.

Кількісний вміст суми флавоноїдів у листі мирту звичайного визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на кверцетин згідно з методикою, яка базується на загальних принципах ДФУ (монографія «Берези листя») з оптимізацією умов екстракції та довжини хвилі (430 нм) для даної сировини [13]. Результати досліджень наведено в таблиці 3.7.

Таблиця 3.7 – Кількісний вміст суми флавоноїдів у *M. communis* листі (n=5, $M \pm m$, $P < 0,05$)

Рослинна сировина	Кількісний вміст, %
<i>M. communis (in vivo)</i>	1,02 ± 0,07
<i>M. communis (in vitro)</i>	0,82 ± 0,01

Результати кількісного аналізу свідчать, що вміст суми флавоноїдів у мирту звичайного листі, отриманих методом мікроклонального розмноження в умовах *in vitro*, була дещо нижчою в порівнянні з сировиною, отриманою від рослин мирту, вирощеного в природних умовах.

З метою детального дослідження поліфенольного профілю було проведено визначення якісного складу та кількісного вмісту окремих флавоноїдів у досліджуваній рослинній сировині. Аналіз здійснювали методом ВЕРХ із використанням системи Agilent Technologies 1200, що забезпечувало високу точність ідентифікації та кількісного визначення індивідуальних сполук. Узагальнені результати аналізу та характеристики виявлених компонентів наведено в таблиці 3.8.

Таблиця 3.8 – Кількісний вміст флавоноїдів у *M. communis* листі (ВЕРХ)
($M \pm m$, $n = 3$)

Сполука	<i>Myrtus communis</i> (<i>in vivo</i>), мкг/г	<i>Myrtus communis</i> (<i>in vitro</i>), мкг/г
Рутин	719,92±35,99	466,41±23,32
Кверцетин-3- β -глікозид	90,82±4,54	101,14±5,06
Кемпферол-3- β -глікозид	142,40±7,12	73,55±3,68
Фісетин	422,57±21,13	181,01±9,05
Неогесперидин	196,18±9,81	211,99±10,60
Рамнетин	4529,31±226,47	2344,00±117,20
Загальний вміст	6101,18	3378,2

Загальний вміст флавоноїдів у сировині листя мирту звичайного, вирощеного в природних умовах (*in vivo*), був достовірно вищим і становив 6101,18 мкг/г, тоді як у рослин, культивованих методом мікроклонального розмноження (*in vitro*), загальна сума флавоноїдів була майже вдвічі нижчою – 3378,2 мкг/г. В обох типах сировини кількісно домінували дві сполуки: рамнетин, вміст якого складав 4529,31 мкг/г (*in vivo*) та 2344 мкг/г (*in vitro*), а також рутин – 719,92 мкг/г (*in vivo*) і 466,41 мкг/г (*in vitro*).

Неогесперидин був єдиною сполукою, концентрація якої виявилася дещо вищою в листі мирту, отриманому методом мікроклонального розмноження (*in vitro*), і становила 211,99 мкг/г порівняно з 196,18 мкг/г у зразках, вирощених у природних умовах (*in vivo*).

Зазначені флавоноїди ідентифіковано на хроматограмах компонентів листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*: рамнетин – з часом утримання 44,923 хв, рутин – 22,353 хв, неогесперидин – 28,781 хв (рис. 3.10, 3.11).

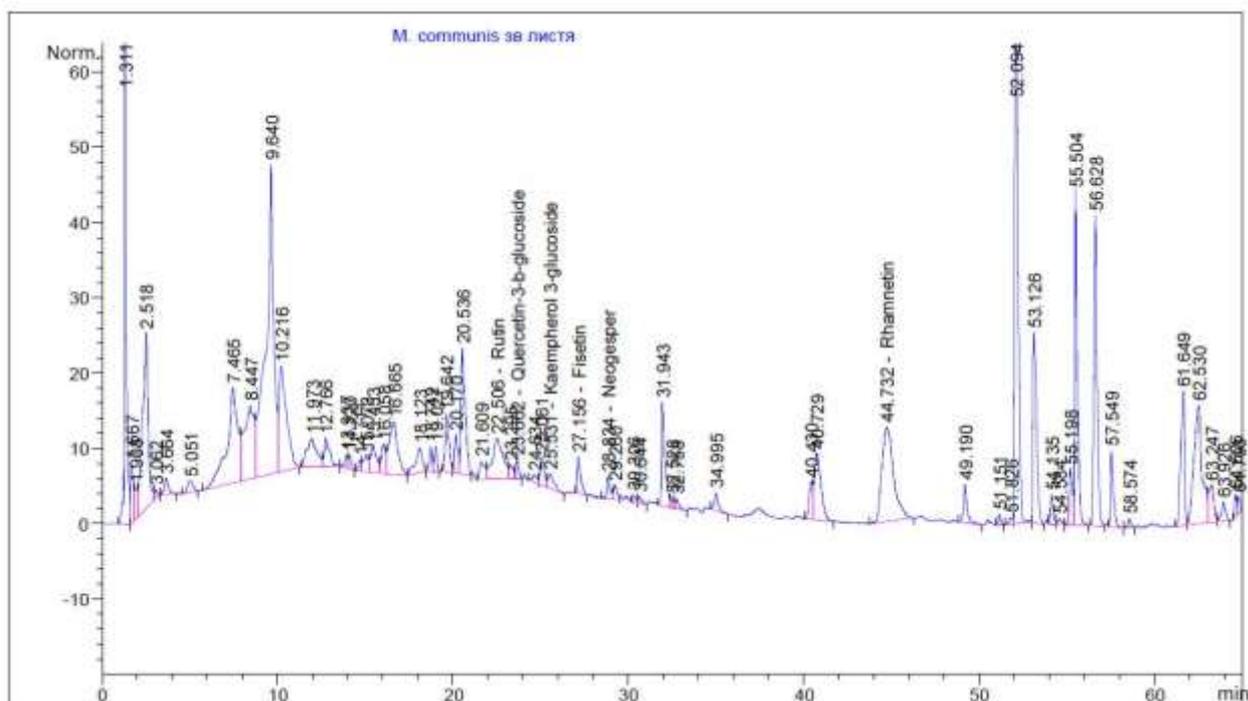


Рисунок 3.10 – ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів *M. communis* листя
(*in vivo*)

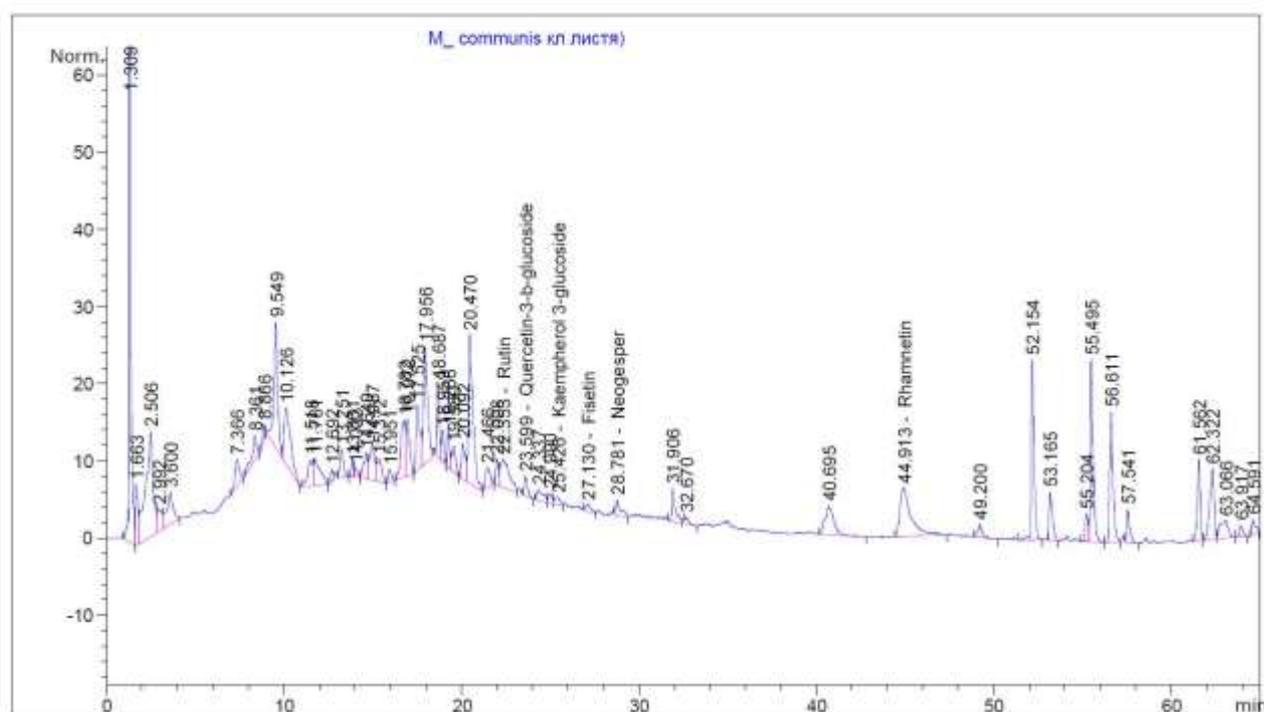


Рисунок 3.11 – ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів *M. communis* листя
(*in vitro*)

3.6 Гідроксикоричні кислоти

Фармацевтична індустрія останніми роками активно досліджує ГКК та їх похідні, що зумовлено широким спектром їх біологічної активності, зокрема здатністю забезпечувати захист від ультрафіолетового випромінювання, проявляти антиоксидантні, протизапальні та антибактеріальні властивості [2, 14]. ГКК та їх похідні, які накопичуються в рослинних тканинах за умов стресу, виконують функцію сигнальних молекул, беручи участь у регуляції фізіологічних процесів, експресії генів і біохімічних шляхів, що забезпечують адаптацію рослин до дії стресових факторів. Основний механізм дії цих сполук полягає у зменшенні рівня окислювального стресу, підтриманні клітинного гомеостазу та захисті ключових клітинних структур від ушкоджень [84, 118, 158, 226, 274].

Методом ТШХ при використанні рухомої фази № 2 встановлювали наявність хлорогенової кислоти. В УФ-світлі після обробки амонію гідроксидом та 1 % етанольним розчином алюмінію хлориду спостерігалася характерна зеленувато-блакитна флуоресценція.

Кількісне визначення вмісту похідних гідроксикоричних кислот досліджуваної рослинної сировини у перерахунку на хлорогенову кислоту здійснювали відповідно до методики ДФУ, 2-ге видання, том 3, монографія «Кропиви листя» [4]. Результати досліджень наведено в таблиці 3.9.

Таблиця 3.9 – Кількісний вміст суми ГКК у *M. communis* листі (n = 8, M ± m, p < 0,05)

Рослинна сировина	Кількісний вміст, %
<i>Myrtus communis (in vivo)</i>	0,61 ± 0,16
<i>Myrtus communis (in vitro)</i>	0,58 ± 0,03

Кількісний вміст суми ГКК у мирту звичайного листі, вирощеного в умовах *in vivo*, характеризується дещо вищим вмістом ГКК порівняно з листям рослин, культивованих в умовах *in vitro*.

Аналіз отриманих даних щодо вмісту ГКК у *M. communis* листі, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*, свідчить про наявність суттєвих кількісних і якісних змін у вторинному метаболізмі рослин за умов переходу до ізолюваної культури (табл. 3.10).

Таблиця 3.10 – Кількісний вміст ГКК у *M. communis* листі (ВЕРХ)
($M \pm m$, $n = 3$)

Сполука	<i>Myrtus communis</i> (<i>in vivo</i>), мкг/г	<i>Myrtus communis</i> (<i>in vitro</i>), мкг/г
Галова кислота	6794,20±339,71	3462,17±173,11
Гідроксифенілацетатна кислота	3173,50±158,68	1890,91±94,55
Хлорогенова кислота	627,85±31,39	995,63±49,78
Кофейна кислота	0	0
Сирінгова кислота	213,62±10,68	1362,23±68,11
Бензойна кислота	63,95±3,20	399,81±19,99
<i>p</i> -кумарова кислота	160,99±8,05	605,52±30,28
Синапова кислота	298,51±14,93	135,89±6,79
<i>trans</i> -ферулова кислота	83,56±4,18	628,71±31,44
<i>trans</i> -цинамова кислота	76,98±3,85	34,37±1,72
Хінна кислота	58,42±2,92	32,54±1,63
Загальний вміст	11552,00	9547,78

Загальна акумуляція ГКК у мирту звичайного листі, вирощеного в природних умовах *in vivo*, становила 11552 мкг/г, що дещо перевищувало відповідний показник для культури *in vitro* (9547,78 мкг/г). Основним компонентом в обох випадках була галова кислота, однак її концентрація в

умовах *in vitro* зменшувалася майже вдвічі – з 6794,20 мкг/г до 3462,17 мкг/г. Аналогічна тенденція до зниження спостерігалася і для гідроксифенілацетатної кислоти (3173,50 мкг/г та 1890,91 мкг/г відповідно).

Наступними за вмістом ГКК в листі мирту, вирощеного в традиційних умовах, були хлорогенова кислота (627,85 мкг/г), синапова кислота (298,51 мкг/г) та сирінгова кислота (213,62 мкг/г). У сировині рослин, культивованих методом мікроклонального розмноження, переважали сирінгова кислота (1362,23 мкг/г), хлорогенова кислота (995,63 мкг/г) та *trans*-ферулова кислота (628,71 мкг/г). Кофейна кислота в обох типах сировини не виявлялася.

Під час аналізу хроматограм і характеристики сумарної площі піків у мирту звичайного листі було ідентифіковано 10 характерних компонентів ГКК: галову кислоту, гідроксифенілацетатну кислоту, хлорогенову кислоту, сирінгову кислоту, бензойну кислоту, *p*-кумарову кислоту, *trans*-ферулову кислоту, синапову кислоту, *trans*-цинамову кислоту та хінну кислоту (рис. 3.12, 3.13).

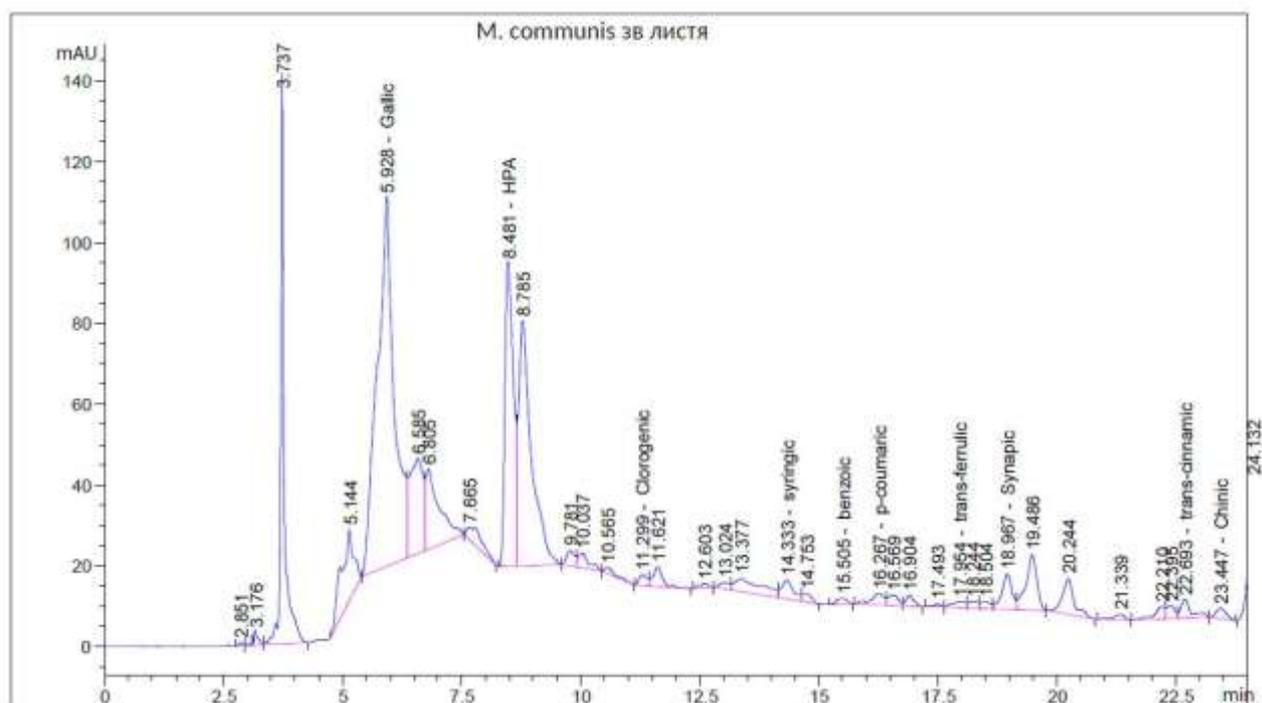


Рисунок 3.12 – ВЕРХ-хроматограма ГКК *M. communis* листя
(*in vivo*)

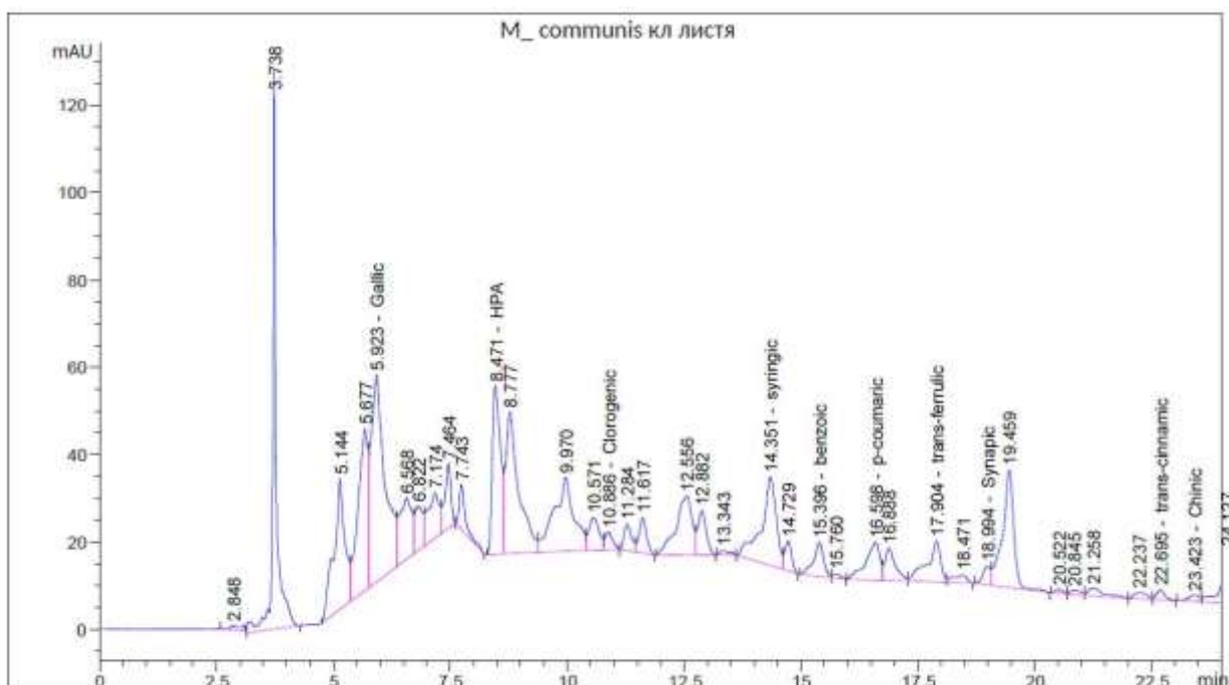


Рисунок 3.13 – ВЕРХ-хроматограма ГКК *M. communis* листя
(*in vitro*)

3.7 Леткі сполуки

Ефірні олії є природними вторинними метаболітами рослин і містять складну суміш летких сполук з широким спектром біологічної активності [17, 229]. Вони виконують захисну функцію в рослинах, проявляючи антибактеріальні, протигрибкові та протипаразитарні властивості, та широко використовуються людиною в косметичі, парфумерії, харчовій промисловості та медицині [139, 157].

Ефірна олія мирту демонструє біологічну активність: вона застосовується при бронхіті, туберкульозі, діарейі, геморої та простатиті [97] та проявляє властивості нематоциду [159], біопестицида [255], інсектицида [121], антимікробного та фунгіцидного засобу [72, 76, 169], а також антиоксидантні, протизапальні, гастро- та гепатопротекторні ефекти [59, 62, 68, 171, 234].

Попередню ідентифікацію летких сполук проводили методом ТШХ. Результати аналізу витяжок листя *M. communis* дозволили ідентифікувати комплекс терпеноїдних сполук за характерними зонами на хроматограмах, що за кольором відповідають обраним маркерам: міртенілацетату (інтенсивна фіолетово-синя зона у верхній третині), ліналоолу (сіро-фіолетова зона в середній частині,) та цинеолу (коричнево-фіолетова зона в нижній третині). Наявність додаткових зон жовтого та рожевого кольорів на хроматограмах сировини вказує на присутність інших супутніх терпеноїдів, що доповнюють специфічний хімічний профіль досліджуваного об'єкта.

Якісний склад та кількісний вміст летких компонентів ефірної олії листя *M. communis*, отриманої методом гідродистиляції [3], визначали за допомогою ГХ/МС (табл. 3.11, рис. 3.14).

Таблиця 3.11 – Якісний та кількісний вміст летких сполук *M. communis* L.

№	Назва компоненту	Хімічна формула	Час утримування, хв	Сумарна площа сегментів, %
1	2	3	4	5
1.	Міртенілацетат*	$C_{12}H_{18}O_2$	17,963	24,12
2.	Ліналоол	$C_{10}H_{18}O$	11,674	16,73
3.	Циклофенчен	$C_{10}H_{16}$	6,81	10,37
4.	Міртенол	$C_{10}H_{16}O$	14,315	4,35
5.	Евкалиптол	$C_{10}H_{18}O$	9,51	2,86
6.	D-лімонен	$C_{10}H_{16}$	9,409	2,66
7.	Сафрол	$C_{10}H_{10}O_2$	16,865	2,48
8.	α -Гумулен*	$C_{15}H_{24}$	21,207	2,32
9.	Метилевгенол	$C_{11}H_{14}O_2$	19,797	1,7
10.	p-Цимен	$C_{10}H_{14}$	9,26	1,52
11.	Каріофілен*	$C_{15}H_{24}$	20,29	1,23

Продовження таблиці 3.11

1	2	3	4	5
12.	α -Евдесмол	$C_{15}H_{26}O$	26,05	1,2
13.	Бутилізобутират	$C_8H_{16}O_2$	6,239	1,13
14.	Ізобутил-2-метилбутират	$C_9H_{18}O_2$	8,631	1,01
15.	Гумулен епоксид II	$C_{15}H_{24}O$	24,961	0,98
16.	Ліналілацетат	$C_{12}H_{20}O_2$	15,742	0,96
17.	Ізомасляна кислота	$C_9H_{18}O_2$	9,008	0,71
18.	Геранілацетат	$C_{12}H_{20}O_2$	19,209	0,63
19.	Міртенілацетат*	$C_{12}H_{18}O_2$	17,018	0,54
20.	Каріофілен оксид	$C_{15}H_{24}O$	24,299	0,54
21.	γ -Терпінен	$C_{10}H_{16}$	10,218	0,53
22.	Міртенілізобутират	$C_{14}H_{22}O_2$	21,361	0,52
23.	4-Карен	$C_{10}H_{16}$	11,005	0,48
24.	3-Карен*	$C_{10}H_{16}$	8,784	0,46
25.	Терпінен-4-ол	$C_{10}H_{18}O$	13,821	0,43
26.	Ізоспатуленол	$C_{15}H_{24}O$	28,836	0,43
27.	γ -Евдесмол	$C_{15}H_{26}O$	25,505	0,4
28.	(-)- <i>cis</i> -Міртанілацетат*	$C_{12}H_{20}O_2$	19,377	0,33
29.	<i>cis</i> -Карвілацетат	$C_{12}H_{18}O_2$	18,039	0,32
30.	α -Феландрен	$C_{10}H_{16}$	6,54	0,31
31.	<i>cis</i> -Ацетилсинкарпінова кислота	$C_{12}H_{16}O_4$	18,674	0,29
32.	10-епі- α -Кадинол	$C_{15}H_{26}O$	25,771	0,28
33.	<i>Транс</i> -2 гексенал	$C_6H_{10}O$	4,832	0,24
34.	3-Карен*	$C_{10}H_{16}$	9,878	0,24
35.	Гвайол	$C_{15}H_{26}O$	22,247	0,24
36.	Етилкарбонат ліналоолоксиду	$C_{13}H_{22}O_4$	10,63	0,23

Продовження таблиці 3.11

1	2	3	4	5
37.	<i>Транс</i> -гераніл бромід	C ₁₀ H ₁₇ Br	8,252	0,17
38.	Пінокарвеол	C ₁₀ H ₁₆ O	12,692	0,15
39.	Сабінен	C ₁₀ H ₁₆	7,911	0,11
40.	α -Камфоленал	C ₁₀ H ₁₆ O	12,262	0,09
41.	<i>p</i> -Цимен-8-ол	C ₁₀ H ₁₄ O	14,118	0,07
42.	Циклопентегнілциклогексен	C ₁₂ H ₁₈	16,564	0,07
43.	Етилізопропілкетон	C ₇ H ₁₄ O	3,608	0,05
44.	1,1,5-триметил-1,2-дигідро-нафталін	C ₁₃ H ₁₆	18,58	0,05

Примітка. * – сполуки є ізомерами

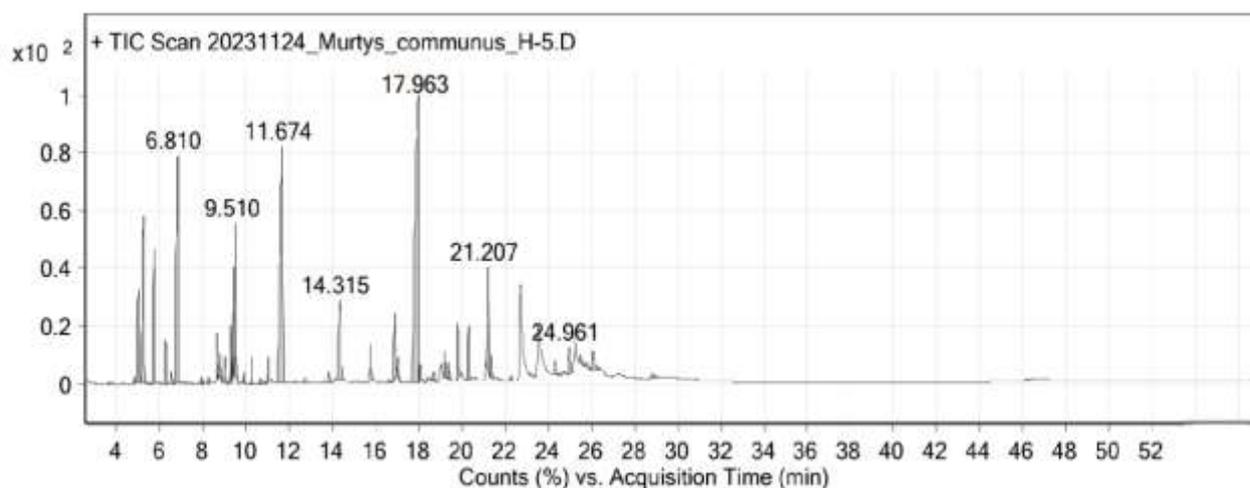


Рисунок 3.14 – Хроматограма компонентів ефірної олії *M. communis*

За даними хромато-мас-спектрометричного аналізу, у мирту звичайного листі ідентифіковано 40 (3 у ізомерній формі) біологічно активну сполуку, що належить до різних хімічних класів, зокрема монотерпеноїдів, сесквітерпеноїдів та їхніх похідних.

Домінуючими компонентами ефірної олії були: міртенілацетат (оксигеновані монотерпени) – його сумарний вміст із урахуванням ізомерів становив 24,99 % (піки №1, №19 та №28) і є характерним маркером мирту, що визначає специфічний аромат та фармакологічну цінність; ліналоол (оксигеновані монотерпени) – 16,73 %, що свідчить про антисептичну та заспокійливу активність; циклофенчен (монотерпенові вуглеводні) – 10,37 %.

До групи компонентів із середнім вмістом (2-8 %) віднесено: міртенол (4,35 %), евкаліптол (2,86 %), *D*-лімонен (2,66 %), сафрол (2,48 %) та тетраметилциклоундекатрієн (2,32 %). Значна кількість ізомерних форм (міртенілацетату, каріофілену, 3-карену) відображає складність біосинтезу вторинних метаболітів у листі мирту. Решта компонентів (понад 30 сполук) становлять мінорні фракції (<2 %), серед яких виділяються метилевгенол (1,7 %) та α -евдесмол (1,2 %), що навіть у невеликих концентраціях впливають на біологічний ефект і органолептичні властивості олії.

Отже, ефірна олія *M. communis*, досліджена в межах цього експерименту, характеризується високим вмістом міртенілацетату та ліналоолу, що визначає її органолептичні та фармакологічні властивості. Ці дані важливі для оцінки якості сировини в фармацевтичній та парфумерно-косметичній промисловості, хоча остаточні висновки щодо хемотипу потребують аналізу матеріалу з різних місць зростання.

Ідентифікація ключових компонентів на хроматограмі показала: міртенілацетат – 17,963 хв, ліналоол – 11,674 хв, циклофенчен – 6,81 хв, міртенол – 14,315 хв (рис. 3.14).

Аналіз результатів ГХ/МС дозволив детально охарактеризувати компонентний склад летких сполук мирту звичайного листя та оцінити вплив умов культивування на біосинтез метаболітів.

У листі мирту природного походження ідентифіковано 23 сполук (3 у ізомерному стані) із загальним вмістом 603,35 мкг/г (табл. 3.12, рис. 3.15). Основними компонентами є оксигеновані монотерпени – ліналоол (140,70 мкг/г) та міртенілацетат (138,57 мкг/г). Значну частку займає також міртенол. Хімічний

профіль листа має виражений терпеновий характер (86,2 % від загальної суми), при цьому домінують кисневмісні монотерпени (70,6 %), що відповідає типовому складу мирту. Монотерпенові вуглеводні та сесквітерпени представлені в незначних кількостях.

Таблиця 3.12 – Якісний та кількісний вміст летких сполук *M. communis* листа, вирощеного в мовах *in vivo*

№	Назва сполуки	Час утримування, хв	Вміст, мкг/г
1	2	3	4
1.	Ліналоол	8,02	140,70
2.	Міртенілацетат	16,16	138,57
3.	Міртенол	17,37	84,53
4.	Ліналілу антранілат	11,11	61,94
5.	α -Пінен	4,92	44,75
6.	Транс-геранілацетат*	13,55	26,94
7.	α -Гумулен*	14,96	19,09
8.	α -Терпінеол	9,89	14,96
9.	Гумулен-1,2-епоксид	17,66	10,56
10.	Евкаліптол	6,69	9,78
11.	2,3,5,6-Тетрафторанізол	17,87	7,52
12.	Метилевгенол	14,08	7,27
13.	Каріофілен (α -гумулен)*	14,35	5,67
14.	Каріофілен оксид	17,23	4,87
15.	Цис-геранілацетат*	13,19	4,55
16.	2-Карен*	7,81	2,75
17.	D-лімонен	6,63	2,75
18.	α -Терпінолен (лімонен)	12,96	2,68
19.	γ -Терпінен	7,22	2,38

Продовження таблиці 3.12

1	2	3	4
20.	Ізобутилізовалеріат	6,09	2,21
21.	<i>Транс-β</i> -оцимен	6,99	2,18
22.	2-Метилбутилізобутират	6,33	2,04
23.	Терпінеол-4	9,63	1,38
24.	Бутилізобутират	4,52	1,12
25.	<i>o</i> -Цимен	6,56	1,10
26.	3-Карен*	6,28	1,06
Загальний вміст			603,35

Примітка. * – сполуки є ізомерами

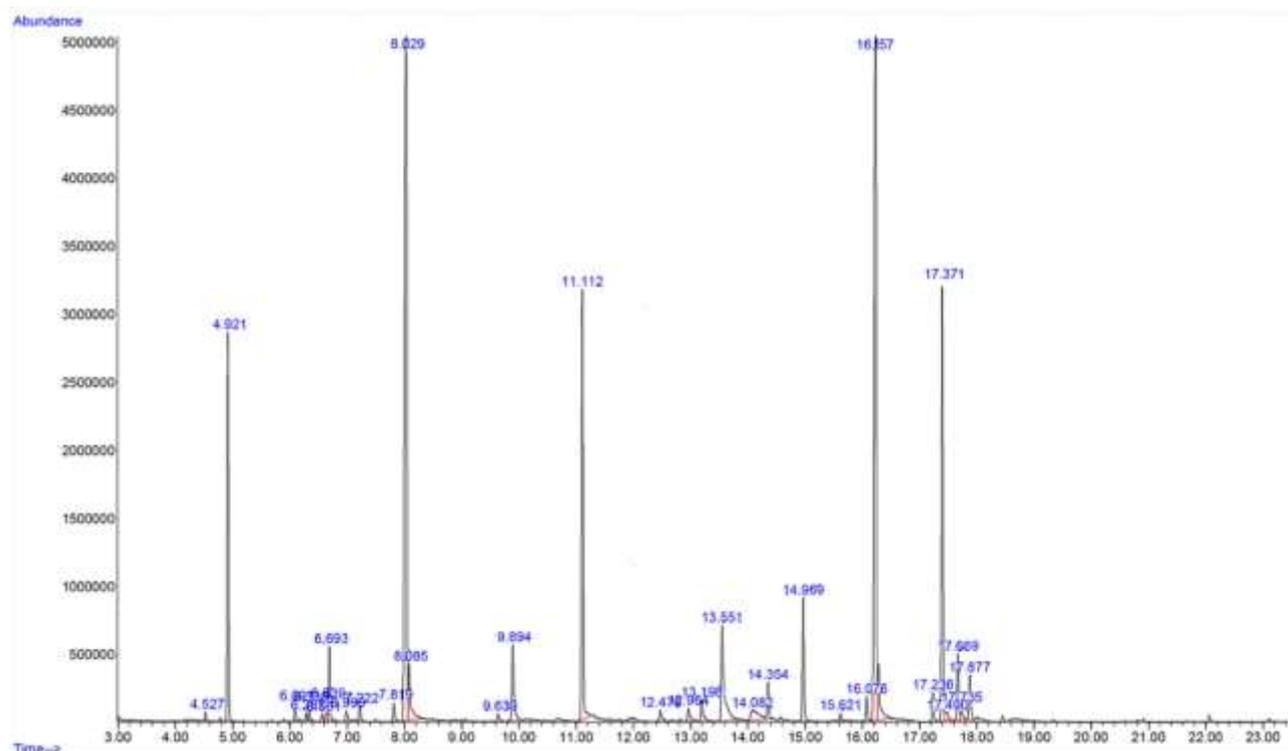


Рисунок 3.15 – Хроматограма летких сполук *M. communis* листя, вирощеного в мовах *in vivo*

У зразках мирту, отриманого методом мікроклонального розмноження, ідентифіковано 25 летких сполук із загальним вмістом 834,73мкг/г (табл. 3.13,

рис. 3.16). Основними компонентами залишаються оксигеновані монотерпени, зокрема міртенілацетат (317,39 мкг/г) та ліналоол (4,86 мкг/г), що підтверджує збереження терпенового профілю листа. Загальна частка терпеноїдів становить 60,3 % від сумарного вмісту летких речовин. Порівняно з природними зразками, спостерігається поява нових мономірних терпенів та невеликі кількості кислотовмісних компонентів, таких як оцтова та мурашина кислоти, що можуть формуватися в процесі культивування *in vitro*. Ці дані свідчать про вплив умов культивування на модифікацію профілю летких метаболітів листа мирту.

Таблиця 3.13 – Якісний та кількісний вміст летких сполук *M. communis* листа, вирощеного в мовах *in vitro*

№	Назва сполук	Час утримування, хв	Вміст, мкг/г
1	2	3	4
1.	Міртенілацетат	16,15	317,39
2.	Міртенол	17,37	84,09
3.	Бензиловий спирт	18,32	78,76
4.	Оцтова кислота	13,19	52,27
5.	α -Терпінеол	16,25	59,82
6.	Метилевгенол	19,69	43,72
7.	Мурашина кислота	13,98	36,74
8.	Метокси-нонаетоксиацетат	14,7	23,16
9.	Гідросорбінова кислота	19,08	19,86
10.	Гераніол	17,93	18,97
11.	Тетрагідропіранілдіетиленгліколь	16,42	18,86
12.	7 α -Метиліндандіон	19,74	11,41
13.	Міртенілізовалерат	16,94	8,32
14.	Хотатрієнол	15,2	7,87
15.	p-Цименен	12,86	6,93

Продовження таблиці 3.13

1	2	3	4
16.	Ізоелеміцин	23,29	6,00
17.	Бутирiлактон	15,57	5,92
18.	3-Фурфурол	13,48	5,91
19.	<i>Транс</i> - β -іонон	18,94	5,37
20.	Феноксетол	21	5,34
21.	Лiналоол	14,39	4,86
22.	Евкалиптол	8,81	4,80
23.	Оксид ангідролiналоолу	8,93	4,67
24.	β -Цимен	10,01	3,15
25.	Фенiлетанол	18,78	0,54
Загальний вміст			834,73

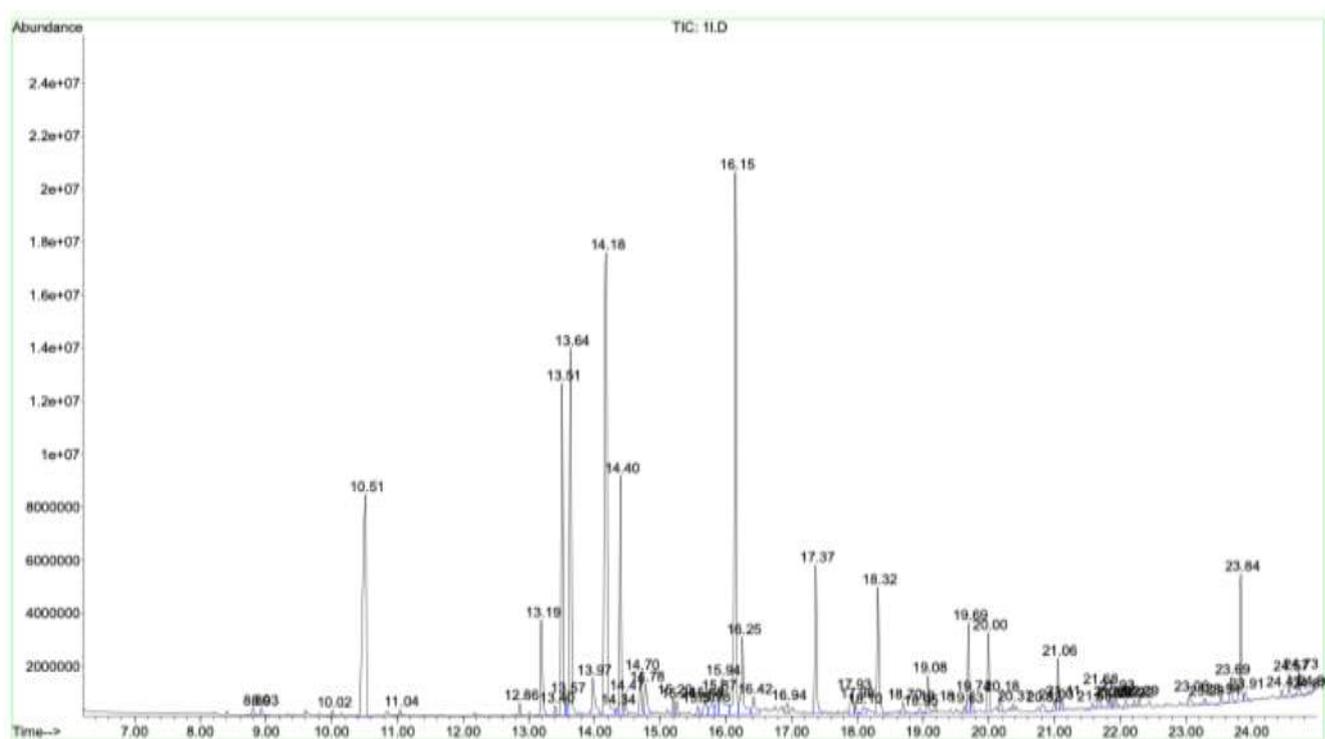


Рисунок 3.16 – Хроматограма легких сполук *Myrtus communis* листя, вирощеного в мовах *in vitro*

Підвищення вмісту летких сполук у культурах, вирощуваних *in vitro*, може бути зумовлене оптимізацією поживного середовища та відсутністю зовнішніх стресових факторів. Незважаючи на кількісні коливання, листя мирту, культивованого *in vitro*, стабільно синтезує міртенілацетат та міртенол, що свідчить про генетично детермінований характер синтезу цільових БАР мирту. Це підтверджує перспективність використання мікроклонального розмноження для отримання високоякісної сировини.

Висновки до розділу 3

1. За допомогою методів ТШХ, ВЕРХ та ГХ/МС вперше детально охарактеризовано хімічний профіль листя *M. communis*, вирощеного *in vivo* та *in vitro*, що дозволило ідентифікувати специфічні маркерні компоненти для кожного типу сировини.

2. Встановлено, що умови *in vitro* інтенсифікують вуглеводний обмін (зростання вмісту моноцукрів на 57% до 70,7 мг/г), проте призводять до двократного зниження концентрації азотовмісних сполук (до 71,75 мг/г) та спрощення якісного складу амінокислот (відсутність лейцину, гістидину та глутаміну).

3. При ідентичному вмісті суми поліфенолів (~3,28 %), природна сировина (*in vivo*) відрізняється вищою інтенсивністю накопичення флавоноїдів (6101,18 мкг/г проти 3378,2 мкг/г *in vitro*) та гідроксикоричних кислот (11552,0 мкг/г проти 9547,78 мкг/г *in vitro*) з домінуванням рамнетину, рутину, галової та гідроксифенілацетатної кислот у обох типах сировини.

4. У листі мирту ідентифіковано групу катехинів, серед яких переважають катехін (661,33 мкг/г) та галокатехін (271,06 мкг/г). Наявність цих сполук разом із пірокатехіном та епікатехінгалатом свідчить про антиоксидантну цінність досліджуваної сировини.

5. Хроматографічний аналіз ефірної олії *M. communis* дозволив ідентифікувати 40 компонентів. Встановлено, що мікроклональне розмноження *in vitro* сприяє інтенсифікації біосинтезу летких метаболітів, що проявляється

збільшенні їх загального вмісту (834,73 мкг/г проти 603,35 мкг/г *in vivo*) та суттєвим накопиченням маркерної сполуки – міртенілацетату (317,39 мкг/г). Це підтверджує ефективність біотехнологічних методів для отримання стандартизованої рослинної сировини з високим фармакологічним потенціалом.

6. Виявлені відмінності визначають диференційоване використання сировини: висока концентрація терпенів та вуглеводів у зразках *in vitro* робить їх перспективними для створення антисептичних та регенеративних засобів. Натомість багатий амінокислотний та флавоноїдний склад сировини *in vivo* обґрунтовує її застосування у виробництві протизапальних, антиоксидантних та загальнозміцнюючих препаратів.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Matsegorova O. Ye., & Odyntsova V. M. (2025). Chromatography-Mass Spectrometric Study of the Chemical Composition of *Myrtus communis* L. Leaf Essential Oil. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 18(2), 131–137. DOI: 10.14739/2409-2932.2025.2.322669.

2. Одинцова В. М., & Мацегорова О. Є. (2022). Вивчення хімічного складу мирту звичайного. *VI Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Хімія природних сполук»*, 27-28 жовтня 2022 року, м. Тернопіль. с. 54–55.

3. Одинцова В. М., & Мацегорова О. Є. (2022). Перспективи дослідження мирту звичайного (*Myrtus communis* L.) як джерела біологічно активних речовин. *Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2022»*, 17-18 листопада 2022 р., м. Запоріжжя. с. 64–66.

4. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2023). Фітохімічні дослідження мирту звичайного листків. *83 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання*

сучасної медицини та фармації - 2023», 25-26 травня 2023 р., м. Запоріжжя. с. 108–109.

5. Мацегорова О. Є. (2024). Визначення суми гідроксикоричних кислот у листі *Myrtus communis* L. 84 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2024» (Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, м. Запоріжжя, 23-24 травня 2024 р.). с. 141–142.

6. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2024). Хромато-мас-спектрометричне дослідження компонентного складу ефірних олій *Myrtus communis* L., вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*. 83 Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2024», 21-22 листопада 2024 р., м. Запоріжжя. с. 83–84.

7. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2025). Дослідження суми поліфенолів листя *Myrtus communis* L. V Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена пам'яті доктора хімічних наук, професорки Ніни Павлівни Максютіної (до 100-річчя від дня народження) «PLANTA+. Наука, практика та освіта», 28-29 січня 2025 р., м. Київ. с. 140–142.

8. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2025). Дослідження вмісту суми флавоноїдів у листі *Myrtus communis* L., вирощеного методом *in vivo* та мікроклональним розмноженням в умовах *in vitro*. VII Міжнародної наукової конференції «Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень», 25 березня 2025 р., с. Березоточа, Лубенський р-н, Полтавська обл., Україна. с. 214–216.

9. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2025). Вивчення моносахаридного складу листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*. Міжрегіональна науково-практична конференція з міжнародною участю «Освіта, наука та практика в контексті розвитку фармацевтичної галузі», 30-31 травня 2025р., Івано-Франківськ – Яремче. с. 168–170.

РОЗДІЛ 4

МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНІ, МІКРОСКОПІЧНІ ТА УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ОЗНАКИ ЛИСТЯ *MYRTUS COMMUNIS* L. У СТАНДАРТИЗАЦІЇ ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

Макро- та мікроскопічні дослідження є фундаментальним і обов'язковим етапом розробки МКЯ лікарської рослинної сировини. Зазначені методи є ключовими для підтвердження автентичності сировини, оскільки дають змогу ідентифікувати її як за характерними зовнішніми (макроскопічними) ознаками, так і за специфічними діагностичними мікроструктурами. Актуальність цих досліджень підсилюється відсутністю офіційних монографій на листя мирту звичайного у ДФУ та ЄФ. Таким чином, комплексне використання цих підходів не лише унеможливорює фальсифікацію сировини, а й закладає підґрунтя для створення нових національних стандартів якості, що є критично важливим для гарантування ефективності й безпеки майбутніх фітопрепаратів

4.1 Макроскопічний аналіз листя мирту звичайного

У ході макроскопічного аналізу встановлено, що листя мирту звичайного є простим, продовгуватим, ланцетним або яйцеподібно-еліптичним, із цілісним або злегка закругленим краєм, гострою верхівкою та округлою або дещо нерівносторонньою основою (рис. 4.1). Листки розташовані супротивно, сидячі або малосидячі. Адаксіальна поверхня листків темно-зелена, з вираженим глянцеvim блиском, тоді як абаксіальна поверхня має зелене забарвлення. Довжина листкової пластинки коливається в межах від 0,5 см до 3,5 см (рис. 4.2), ширина – від 0,2 см до 2,0 см (рис. 4.3). Середня товщина листкової пластинки становить $293,93 \text{ мкм} \pm 2,59 \text{ мкм}$.



Рисунок 4.1 – Зовнішній вигляд листя *M. communis*



Рисунок 4.2 – Макроскопічний аналіз довжини листкової пластини мирту звичайного



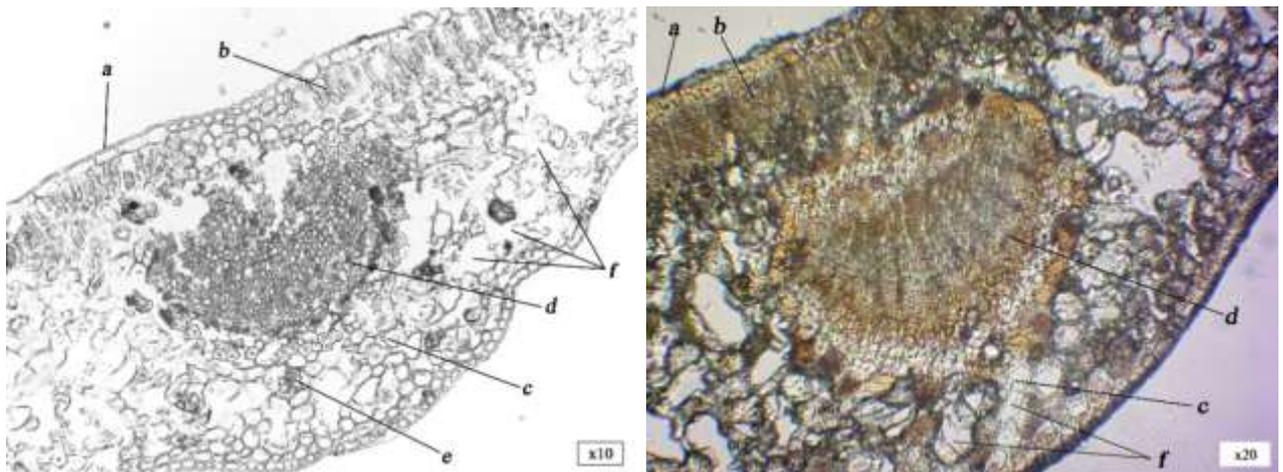
Рисунок 4.3 – Макроскопічний аналіз ширини листкової пластини мирту звичайного

Встановлено, що листки характеризуються наявністю численних вторинних і третинних сітчастих жилок. Тип жилкування – брохідодромний (перисто-петлеподібний), при якому бічні жилки прямують до краю листка та, з'єднуючись із сусідніми жилками, утворюють замкнені петлі, малопомітні при візуальному огляді. Неозброєним оком добре помітні крапчасті ефіроолійні залози та секреторні вмістища, прозорі на просвіт, які більш-менш рівномірно розподілені по поверхні листової пластинки. Після подрібнення листки мають характерний бальзамічний запах. Смак сировини – пряний, гіркий, злегка в'язучий.

4.2 Мікроскопічний аналіз листя мирту звичайного

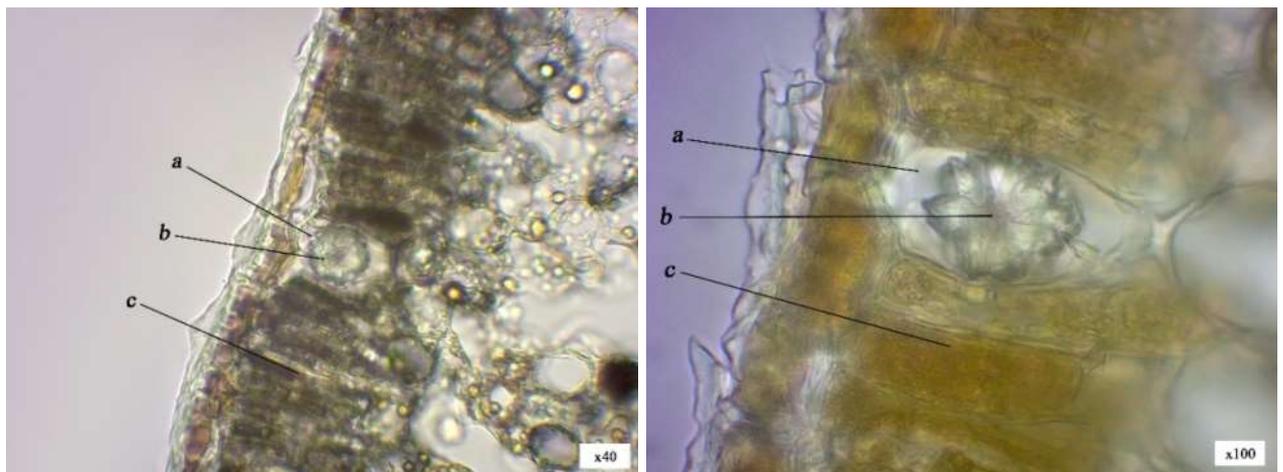
Під час мікроскопічного дослідження поперечних зрізів свіжого листя встановлено наявність чітко вираженої кутикули (рис. 4.4, а). Клітини адаксіального та абаксіального епідермісу стиснуті, плоскоопуклі, переважно ізодіаметричної форми. За особливостями розташування стовпчастого мезофілу встановлено, що лист є біфаціальним, дорзовентрального типу, при цьому палісадна паренхіма локалізована безпосередньо під адаксіальним епідермісом листової пластинки (рис. 4.4, б). Мезофіл листка чітко диференційований на палісадну тканину та губчасту паренхіму (рис. 4.4, с). Палісадна тканина сформована з щільно розташованих, сильно видовжених клітин, густо заповнених хлоропластами, з тонкими первинними клітинними стінками. Між палісадною та губчастою тканиною чітко диференціюється шар збиральних клітин, які беруть участь у транспорті вуглеводів, синтезованих у палісадних клітинах, зі стовпчастого мезофілу до губчастої паренхіми. Клітини губчастої паренхіми переважно ізодіаметричної форми, у напрямку до нижнього епідермісу дещо видовжуються. Між ними добре розвинені великі міжклітинники (рис. 4.4, f), що за морфологічними ознаками нагадують повітряні

порожнини. Взаємне розташування тканин у листках є діагностичною ознакою. Провідні пучки листка (рис. 4.4, d) закриті, округлої форми; з боку флоєми наявна добре виражена обкладка, утворена клітинами зі значно потовщеними клітинними стінками. У стовпчастій паренхімі по всій товщині мезофілу виявлено субепідермальні ідіобласти, що містять друзи оксалату кальцію (рис. 4.5).



Примітки: a – кутикула; b – стовпчастий мезофіл епідерми; c – губчаста паренхіма; d – закритий колатеральний провідний пучок; e – друзи оксалату кальцію

Рисунок 4.4 – Поперечний зріз листкової пластини *M. communis*



Примітки: a – ідіобласт; b – друз оксалату кальцію; c – стовпчастий мезофіл

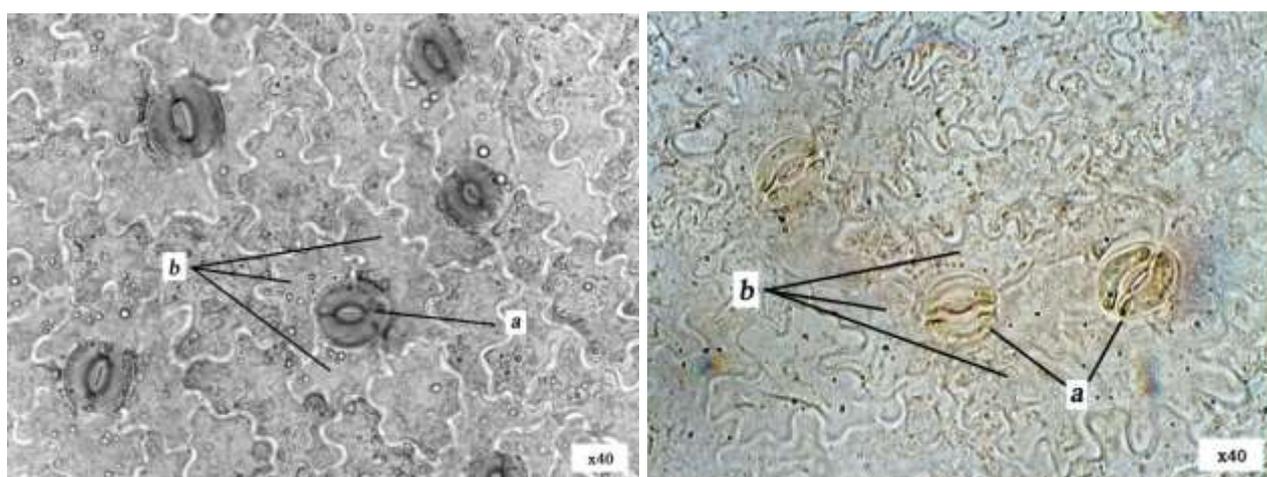
Рисунок 4.5 – Поперечний зріз листкової пластини *M. communis*

Субепідермальний ідіобласт, що містить друзи оксалату кальцію

Продихи локалізовані на абаксіальній поверхні листка, що відповідає гіпостоматичному типу листкової пластинки. Абаксіальна поверхня листка утворена сильно звивистими епідермальними клітинами з аномоцитними продихами (рис. 4.6, а) овально-округлої форми, оточеними 3-5 епідермальними клітинами (рис. 4.6, б) та розташованими на одному рівні з клітинами епідермісу. Замикаючі клітини продихів мають характерну ниркоподібну форму, при цьому продихова щілина в екваторіальній частині звужена. Продихи рівномірно розподілені на поверхні листка.

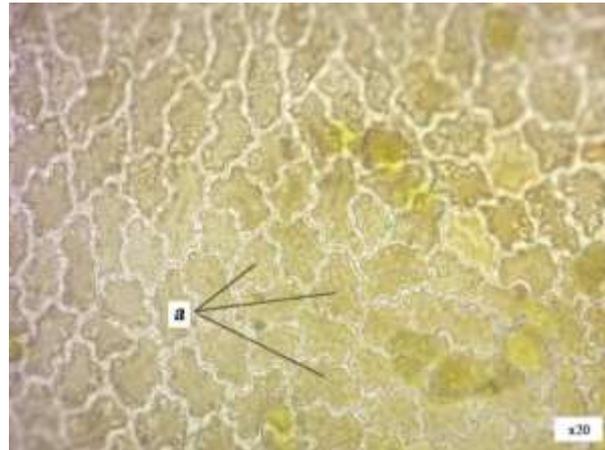
Клітини верхнього епідермісу за розмірами перевищують клітини нижнього епідермісу (рис. 4.7, а). Епідерміс верхньої сторони листової пластинки складається з ізодіаметричних або злегка подовжених клітин з потовщеними, звивистими стінками. Адаксіальна поверхня листка є голою, тоді як на абаксіальній поверхні в ділянці середньої жилки виявляється незначна кількість поодиноких трихом (рис. 4.8, а). Трихоми представлені простими одноклітинними волосками з гладкими потовщеними клітинними стінками, поодинокими, конічної форми, злегка хвилястими.

В листках мирту звичайного також містяться у великій кількості друзи (рис. 4.9, б) і призматичні кристали оксалату кальцію (рис. 4.9, а).



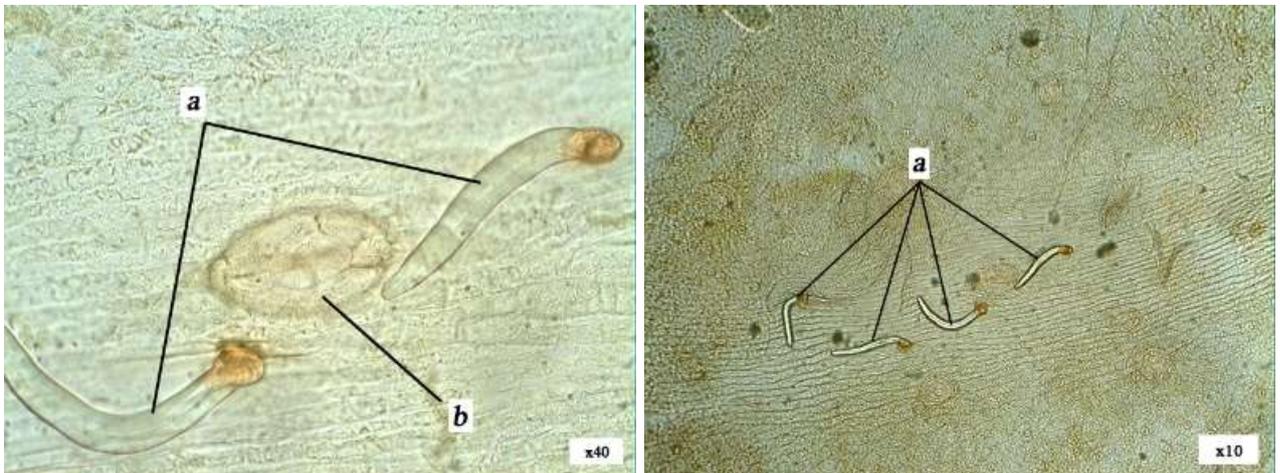
Примітки: а – продихи; б – біляпродихові клітини

Рисунок 4.6 – Фрагмент нижньої епідерми листка



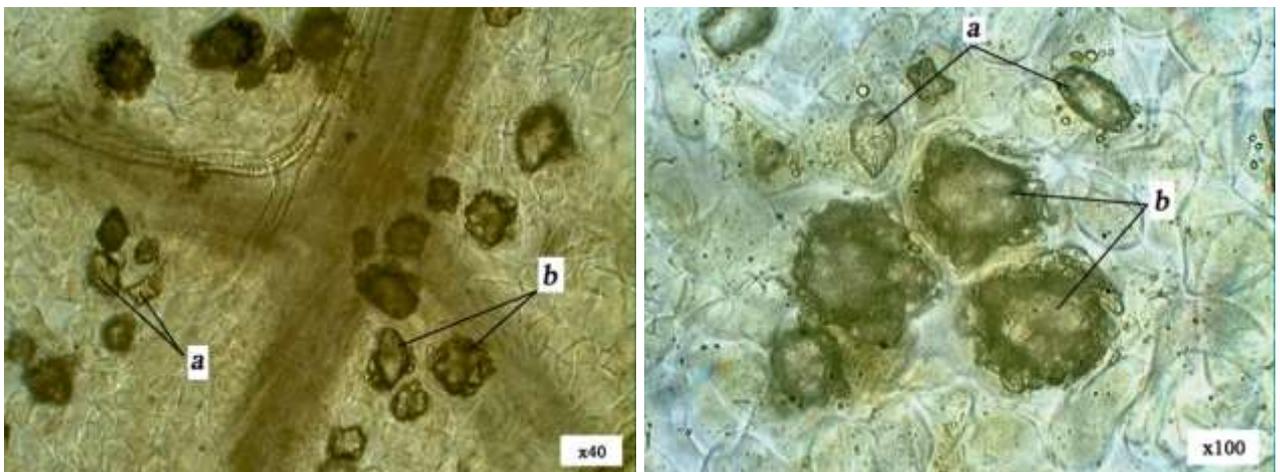
Примітка. a – епідермальні клітини.

Рисунок 4.7 – Фрагмент верхньої епідерми листка



Примітки: a – трихоми; b – секреторне вмістище.

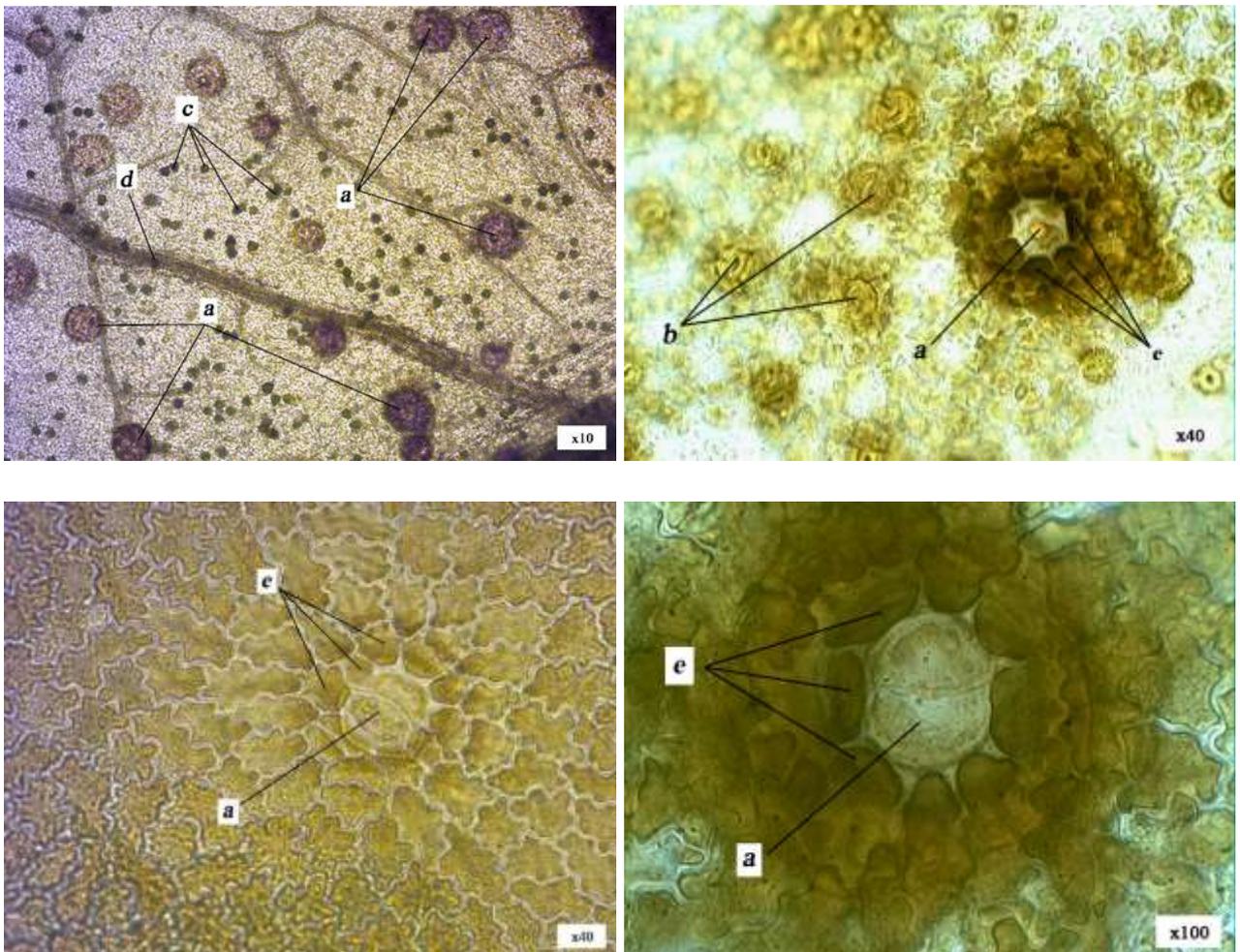
Рисунок 4.8 – Фрагмент епідермісу середньої жилки листка



Примітки: a – кристали оксалату кальцію; b – друзи оксалату кальцію

Рисунок 4.9 – Друзи та кристали оксалату кальцію

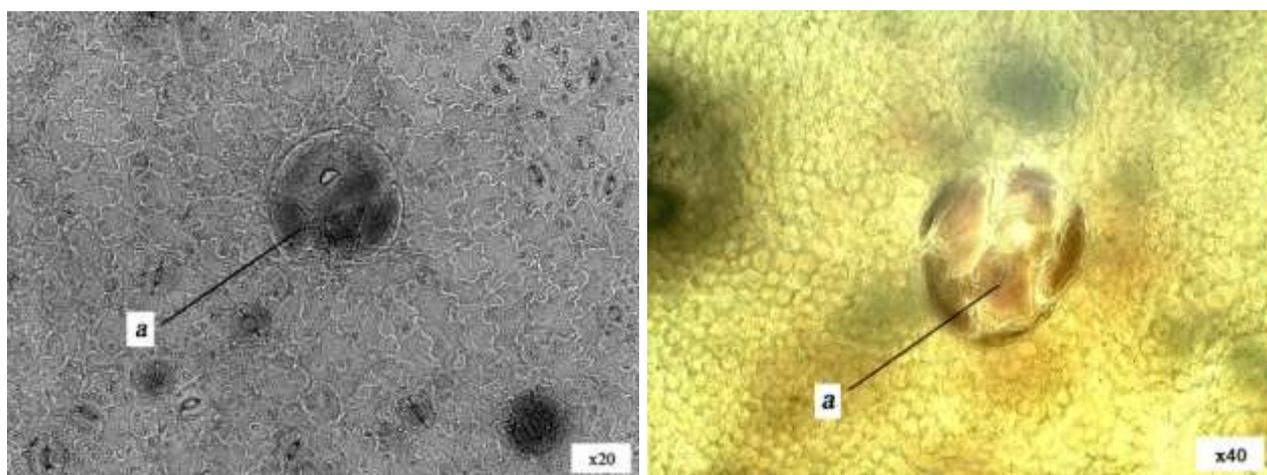
У мезофілі листка також виявлено секреторні вмістища сферичної форми (рис. 4.10, а), які за своєю будовою відповідають типовому схізолізогенному типу. Результати гістохімічного тесту з Суданом III свідчать про те, що секреторні вмістища *M. communis* продукують переважно ліпофільні сполуки. Епітеліальні клітини, розташовані над секреторними вмістищами (рис. 4.10, е), є більшими за розміром, мають округлу форму та характеризуються менш звивистими клітинними стінками порівняно з іншими клітинами епідермісу.



Примітки: а – схізолізогенне секреторне вмістище; б – продири; с – друзи оксалату кальцію; d – центральна жилка; е – епітеліальні клітини, що розташовані над вмістищами

Рисунок 4.10 – Схізолізогенні секреторні вмістища

Окрім ефіроолійних вмістищ, у листі мирту звичайного виявлено ідіобласти темно-коричневого кольору зі смолянисто-олійним вмістом (рис. 4.11, а). У межах листової пластинки ці структури мають неоднорідний характер розподілу: вони локалізуються у стовпчастій паренхімі безпосередньо під адаксіальним епідермісом (рис. 4.12, а), а також у губчастій паренхімі, зокрема в перехідній зоні між стовпчастим і губчастим мезофілом або в ділянках, прилеглих до абаксіального епідермісу.

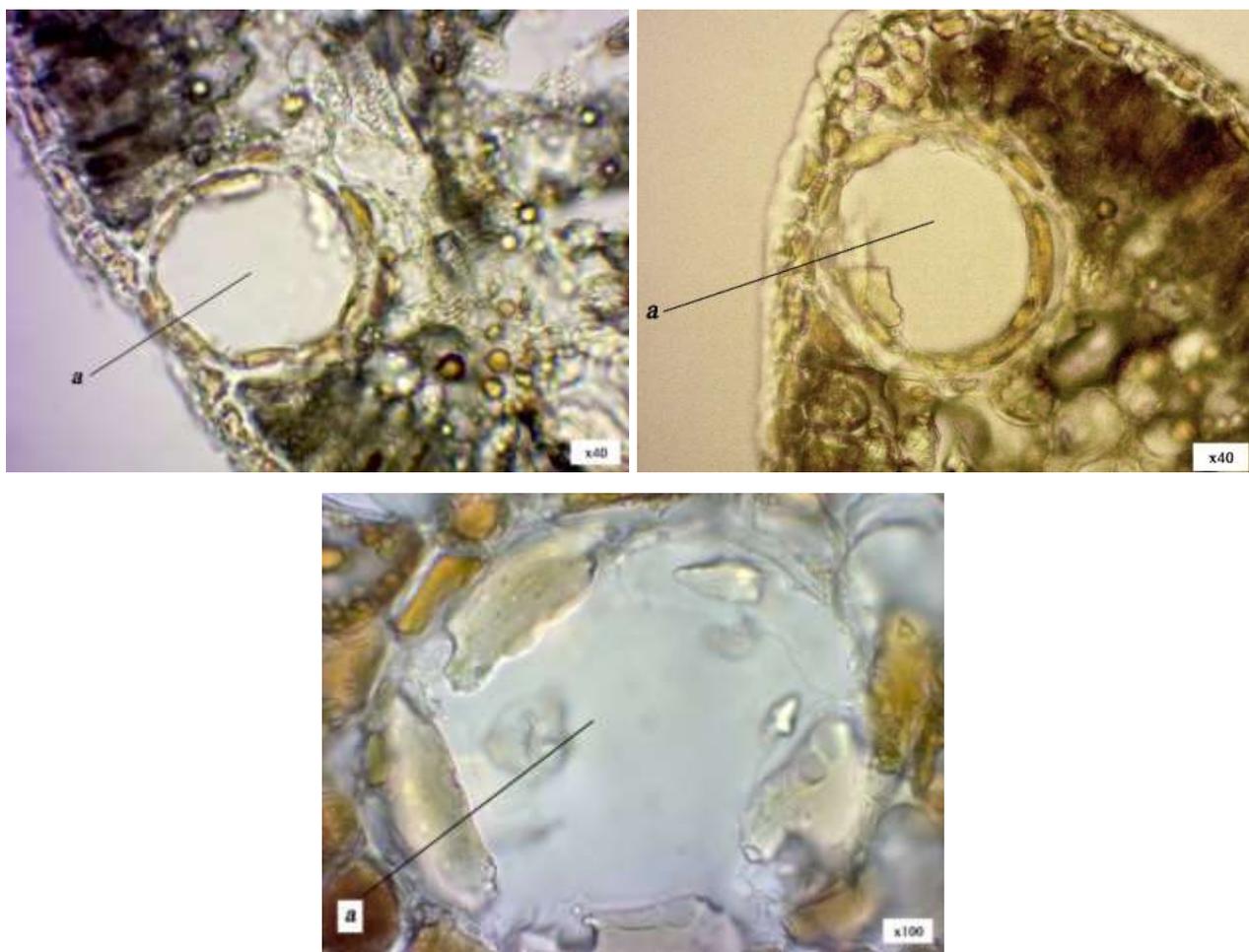


Примітка. а – ідіобласт

Рисунок 4.11 – Ідіобласт зі смолянисто-олійним вмістом

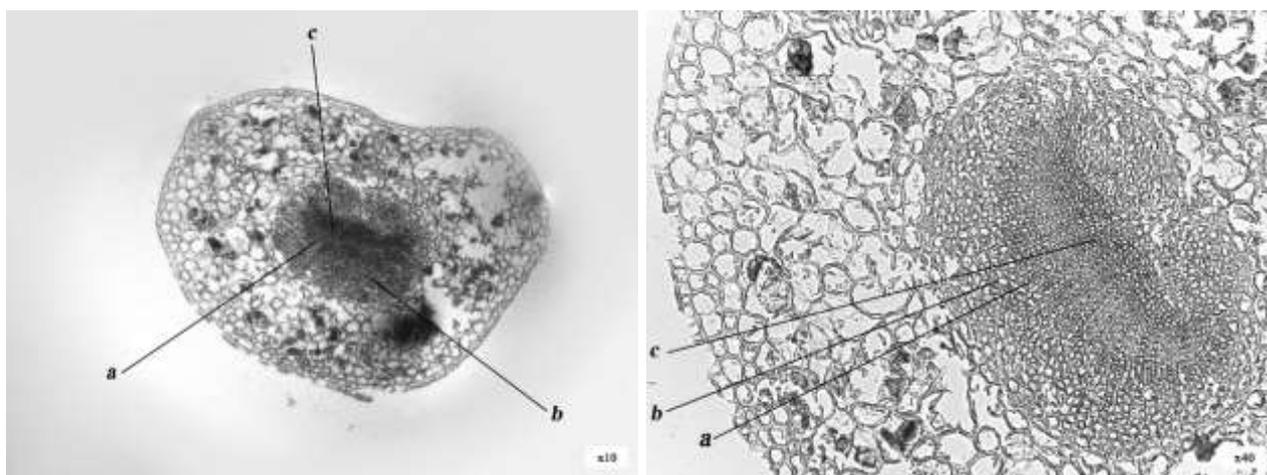
Просвіти ідіобластів зазвичай виглядають порожніми, проте в окремих випадках у них спостерігається накопичення безбарвного або блідо-жовтого вмісту. Виділений матеріал представлений у вигляді дрібних, щільно упакованих крапель або більших агрегованих скупчень, які можуть заповнювати весь об'єм порожнини.

На поперечному зрізі черешок листка має серцеподібну форму (рис. 4.13). Поверхня черешка вкрита трихомами. Провідний пучок колатерального, закритого типу (рис. 4.13, а). Флоема (рис. 4.13, б) розташована з абаксіального боку та прилягає до ксилеми (рис. 4.13, с). Адаксіальна та абаксіальна флоєми між собою не зливаються, при цьому загнуті краї флоєми добре розвинені.



Примітка. а – схізолізогенне вмістище

Рисунок 4.12 – Поперечний зріз листа, що демонструє схізолізогенне вмістище та епітеліальні клітини на абаксіальній поверхні поблизу краю листа



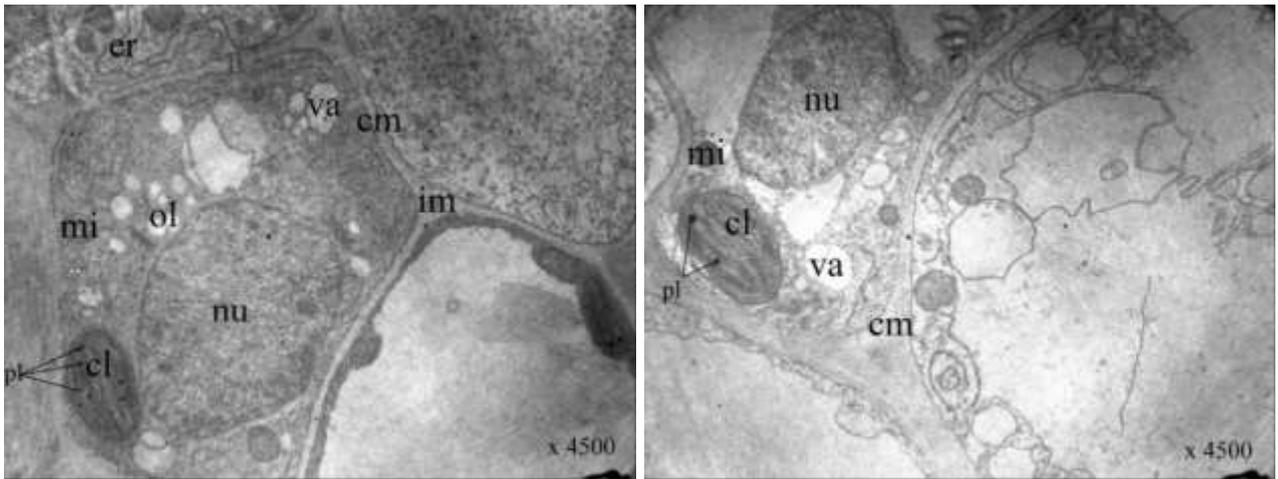
Примітки: а – судинно-провідний пучок; b – флоєма; с – ксилема

Рисунок 4.13 – Поперечний розріз черешка листа мирту звичайного

Склеренхімна обкладка провідного пучка чітко виражена та представлена дрібними клітинами зі здерев'янілими клітинними стінками. У верхній і нижній частинах пучка локалізуються ділянки коленхіми, клітини якої характеризуються нездерев'янілими, нерівномірно потовщеними клітинними стінками.

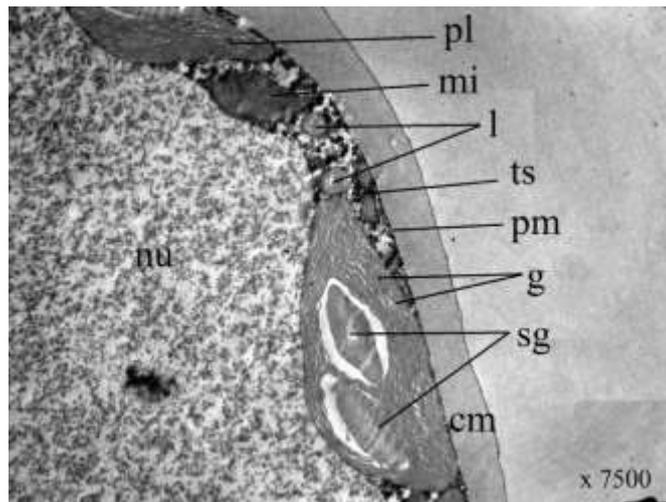
4.3. Ультраморфологічний аналіз листя мирту звичайного

У ході дослідження ультраструктури клітин листя мирту звичайного виявлено характерні структурні компоненти, притаманні різним типам клітин. Ультраструктура типових меристематичних клітин *M. communis* характеризується наявністю дуже тонких первинних клітинних стінок (рис. 4.14), які в місцях змикання формують невеликі міжклітинні простори. Кожна меристематична клітина містить об'ємне ядро з добре вираженим ядрцем. У цитоплазмі виявляється значна кількість полірибосом, мітохондрій, а також комплексів Гольджі з численними диктіосомами, від яких відшнуровуються численні везикули. Вакуолі невеликі, містять мембранні структури або електронно-щільні тіла. Також у цитоплазмі наявні гладкий і шорсткий ендоплазматичний ретикулум, лізосоми, масляні краплі та пластиди. Пластиди представлені хлоропластами сферичної або овальної форми (рис. 4.15). Подібно до ядра та мітохондрій, хлоропласти оточені подвійною мембранною оболонкою. Внутрішній вміст хлоропластів представлений білковим матриксом – стромою, пронизаною системою мембранних ламел. Мембранні ламели, з'єднуючись між собою, формують тілакоїди, які, щільно прилягаючи один до одного, утворюють грани. У хлоропластах наявні ліпідні включення – пластоглобули, а також крохмальні зерна, що можуть формуватися внаслідок накопичення надлишкових вуглеводів, синтезованих у процесі фотосинтезу.



Приматки: nu – ядро; va – вакуоля; mi – мітохондрія; cl – хлоропласт; cm – клітинна оболонка; im – міжклітинник; pl – пластоглобули

Рисунок 4.14 – Зображення трансмісійної електронної мікроскопії меристемних клітин мирту звичайного

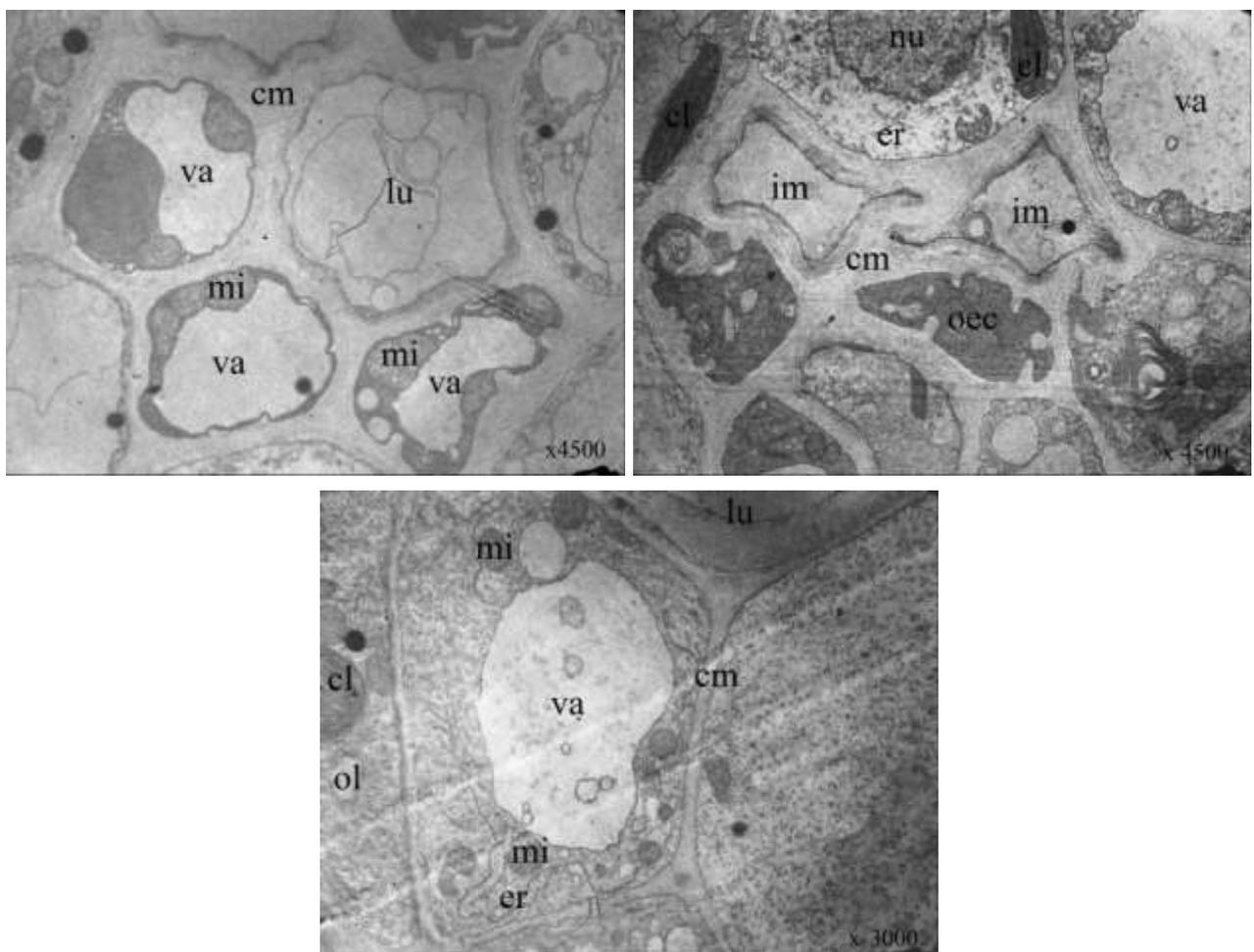


Примітки: nu – ядро; ts – цитоплазма; va – вакуоля; mi – мітохондрія; cl – хлоропласт; cm – клітинна оболонка; pm – плазматична мембрана; l – лізосоми; g – грана; pl – пластоглобула; sg – крохмальні зерна

Рисунок 4.15 – Зображення трансмісійної електронної мікроскопії меристемних клітин мирту звичайного з хлоропластами, які містять крохмальні зерна

За результатами електронно-мікроскопічного дослідження виявлено зрілі секреторні вмістища, у просвіті яких локалізуються залишки дегенерованих клітин (рис. 4.16). Під час процесу секреції контактуючі епітеліальні клітини, що

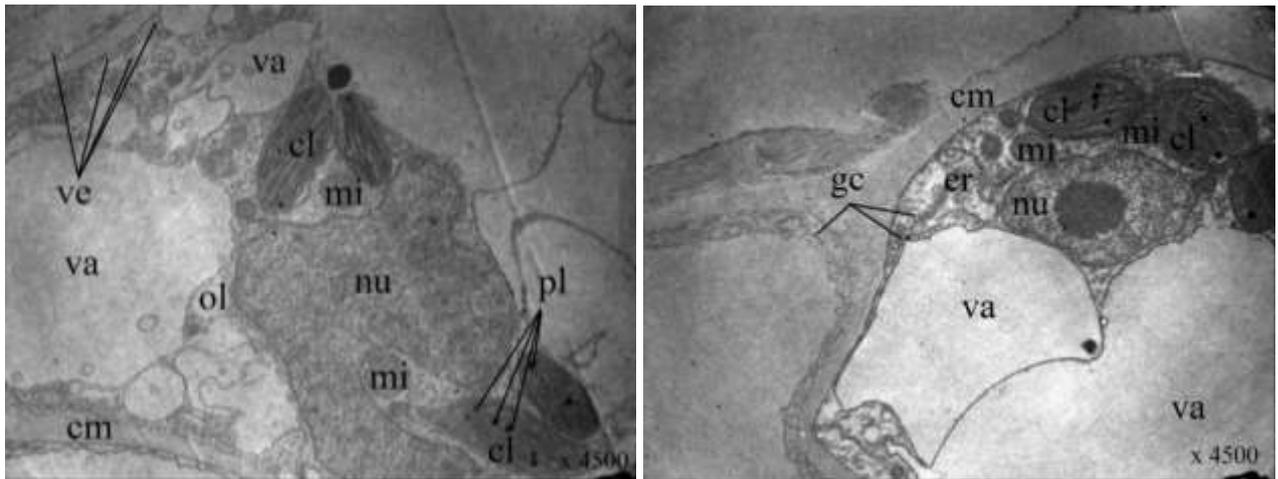
демонструють високий рівень метаболізму, і клітини, що демонструють сигнали старіння, спостерігаються поруч в одному епітелії. Старіючі епітеліальні клітини характеризуються пухкими, звивистими клітинними стінками та втягнутим протопластом. Їхня цитоплазма набуває високої електронної щільності та відходить від клітинної стінки, внаслідок чого візуалізація окремих органел ускладнюється або стає неможливою. Зазначені ультраструктурні зміни завершуються випинанням дегенерованих епітеліальних клітин у бік просвіту секреторного вмістища або їх фрагментацією.



Примітки: nu – ядро; va – вакуоля; mi – мітохондрія; cl – хлоропласт; im – міжклітинник; cm – клітинна оболонка; lu – просвіт; oec – старіючі епітеліальні клітини; ol – краплі олії; er – ендоплазматичний ретикулум

Рисунок 4.16 – Зображення трансмісійної електронної мікроскопії контактуючих з секреторним вмістищем епітеліальних клітин мирту звичайного

Клітинні оболонки паренхімних клітин, що оточують секреторні вмістища, характеризуються відносно потовщеними клітинними стінками. Ядра цих клітин мають овальну або неправильну форму, містять чітко виражені ядерця та оточені значною кількістю цитоплазми, у якій виявляються як дрібні, так і великі вакуолі (рис. 4.17).



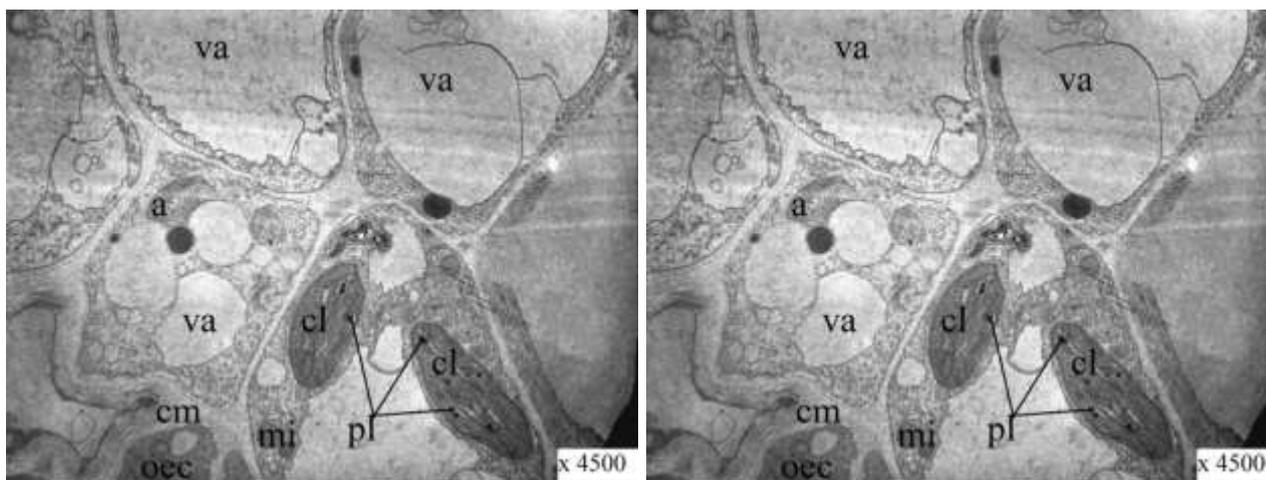
Примітки: nu – ядро; va – вакуоля; mi – мітохондрія; cl – хлоропласт; cm – клітинна оболонка; ve – везикули; gc – комплекс Гольджі; ol – краплі олії; pl – пластоглобула; er – ендоплазматичний ретикулум

Рисунок 4.17 – Зображення трансмісійної електронної мікроскопії контактуючих з секреторним вмістищем паренхімних клітин мирту звичайного

У цитоплазмі паренхімних клітин спостерігаються типові хлоропласти, мітохондрії з добре розвиненими кристами, краплі олії, а також численні везикули, локалізовані переважно поблизу плазматичної мембрани. Клітини мають тангенціально витягнуту форму.

Характерною ультраструктурною ознакою клітин листя мирту звичайного є наявність запасних включень – амілопластів, які локалізуються в цитоплазмі (рис. 4.18).

Амілопласти містять прості, концентричні крохмальні зерна округлої або овальної форми з добре вираженим нашаруванням і центром утворення у вигляді точки або кільця.



Примітки: а – амілопласти; va – вакуоля; mi – мітохондрія; cl – хлоропласт; cm – клітинна оболонка; ve – везикули; pl – пластоглобула; оес – старіючі епітеліальні клітини

Рисунок 4.18 – Зображення трансмісійної електронної мікроскопії клітин мирту звичайного які містять запасні включення – амілопласти

4.4 Визначення показників якості в сировині мирту звичайного

З метою об'єктивної оцінки якості лікарської рослинної сировини та встановлення її відповідності критеріям чистоти згідно з вимогами ДФУ (2-ге видання), було проведено комплексне фармакогностичне дослідження. Зокрема, було визначено ключові показники якості, такі як: втрата в масі при висушуванні (що характеризує вологість сировини), вміст загальної золи та золи, нерозчинної у 10 % розчині хлоридної кислоти (для контролю мінеральних домішок), а також кількісний вміст екстрактивних речовин, що вилучаються відповідним екстрагентом [3].

Результати проведених досліджень використано для обґрунтування показників якості у проєкті МКЯ, що є необхідним етапом для стандартизації та майбутнього включення листа мирту до переліку фармакопейної рослинної сировини (табл. 4.1).

Таблиця 4.1 – Технологічні параметри сировини *M. communis*

Показник якості	Значення
Втрата в масі при висушуванні, %	8,21 ± 0,4
Зола загальна, %	7,23 ± 0,02
Зола, нерозчинна в 10 % розчині	2,70 ± 0,02
Визначення вмісту екстрактивних речовин, %:	
Вода	29.1±0.25
30% етанол	31.57±0.86
50% етанол	33.91±0.94
70% етанол	36.60±0.69

Встановлено, що основні показники якості досліджуваного листа мирту звичайного повністю відповідають загальним вимогам ДФУ до лікарської рослинної сировини. Зокрема, низький рівень втрати в масі при висушуванні свідчить про належне дотримання технології заготівлі та високу стабільність під час зберігання.

Показники загальної золи не перевищували встановленого ліміту ($\leq 12\%$), що характерно для доброякісної сировини. Мінімальні значення золи, нерозчинної в 10% розчині хлоридної кислоти, підтверджують відсутність сторонніх мінеральних домішок та належну чистоту об'єктів дослідження.

Експериментально доведено, що ефективність вилучення комплексу метаболітів з листа мирту безпосередньо залежить від концентрації екстрагента. Найвищий вихід екстрактивних речовин забезпечують 50% та 70% розчини етанолу. Це дозволяє рекомендувати зазначені концентрації етанолу як оптимальні для розробки технології отримання фітопрепаратів та подальшої стандартизації сировини *M. communis*.

4.5 Стандартизація листя *M. communis*

З метою обґрунтування параметрів стандартизації лікарської рослинної сировини проведено дослідження листя *M. communis* на відповідність розробленим показникам якості згідно з вимогами ДФУ, 2-ге видання.

Проект МКЯ

МИРТУ ЗВИЧАЙНОГО ЛИСТЯ

MYRTI COMMUNIS FOLIUM

Отис

Сировина – суміш цілих або фрагментованих листків *Myrtus communis* L. з черешками.

Вміст

– флавоноїди – не менше 0,80 % у перерахунку на кверцетин $C_{15}H_{10}O_5$; М.м. 302,2), у перерахунку на суху сировину;

– похідні гідроксикоричних кислот – не менше 0,60 % у перерахунку на хлорогенову кислоту ($C_{16}H_{18}O_9$; М.м. 354,30), у перерахунку на суху сировину.

ВЛАСТИВОСТІ

Запах бальзамічний, посилюється після подрібнення.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Макроскопічні ознаки

Листки шкірясті, прості, довгасті, ланцетні або яйцеподібно-еліптичні, з цілісним або злегка заокругленим краєм, гострою верхівкою та округлою або злегка нерівносторонньою основою. Верхня поверхня темно-зелена, глянцева, нижня – зелена. Довжина листків становить 0,5-3,5 см, ширина – 0,2-2,0 см. Жилкування брехіодромне (перисто-петлеподібне), сітчасте. Запах бальзамічний, посилюється після подрібнення.

В. Мікроскопічні ознаки (поперечний зріз листка)

Кутикула добре виражена. Адаксіальний і абаксіальний епідерміс утворений плоскоопуклими, переважно ізодіаметричними клітинами. Листок біфаціальний, дорсовентральний. Палісадна паренхіма розташована під верхнім епідермісом; губчаста паренхіма містить великі міжклітинники; між ними наявний шар збиральних клітин. Провідні пучки колатеральні, закриті, округлої форми, з добре розвиненою флоемною обкладкою. У стовпчастій паренхімі трапляються субепідермальні ідіобласти з друзами оксалату кальцію.

Продихи гіпостоматичні, розташовані на нижньому епідермісі, аномоцитного типу, овально-округлі, оточені 3-5 клітинами епідермісу, розміщені на одному рівні з ними. Клітини нижнього епідермісу сильно звивисті; верхнього – більші, ізодіаметричні або злегка видовжені.

На абаксіальній поверхні середньої жилки наявні прості одноклітинні, конічні, злегка хвилясті трихоми. У мезофілі виявляються друзи та призматичні кристали оксалату кальцію, сферичні схізолізогенні секреторні вмістища з ліпофільним вмістом, оточені епітеліальними клітинами; присутні темно-коричневі ідіобласти зі смолянисто-олійним вмістом.

Черешок на поперечному зрізі – серцеподібної форми, вкритий трихомами, з колатеральним закритим провідним пучком, склеренхімною обкладкою та ділянками коленхіми у верхній і нижній частинах пучка.

С. Тонкошарова хроматографія

Фенольні сполуки

Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії (2.2.27), ТШХ пластинки із шаром силікагелю Р.

Випробовуваний розчин. 1,0 г подрібненої сировини (листя) вміщують у колбу місткістю 50 мл, додають 10 мл 70 % етанолу Р. Нагрівають на водяній бані зі зворотним холодильником при температурі 65 °С протягом 15 хв. Отримане вилучення охолоджують і фільтрують крізь складчастий паперовий фільтр.

Розчин порівняння. 1,0 мг кверцетину Р та 1,0 мг кислоти хлорогенової Р розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Пластинка. ТШХ пластинка з шаром силікагелю Р.

Рухома фаза1: етилацетат Р - кислота мурашина Р - кислота ацетатна Р - вода очищена Р (100:11:11:27).

Об'єм проб: 10 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 12 см від лінії старту.

Висушування: за температури 100-105 С.

Виявлення: Пластинку висушують у витяжній шафі і розглядають при денному та УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм до і після обробки амонію гідроксидом та обробки 1 % спиртовим розчином алюмінію хлориду Р (для посилення флуоресценції пластинку можна додатково витримати в парах розчину амонію гідроксиду).

Результати: При перегляді хроматограми при денному світлі до обробки реактивами у випробовуваному розчині виявляється зона жовтого кольору на рівні кверцетину, тоді як після обприскування пластинки 1 % спиртовим розчином алюмінію хлориду та огляду в УФ-світлі (365 нм) спостерігається чітка диференціація компонентів: у середній частині пластинки проявляється зона з інтенсивною зеленувато-блакитною флуоресценцією, що за розташуванням і кольором відповідає хлорогеновій кислоті, а у верхній третині – зона з яскравою жовто-зеленою флуоресценцією, ідентична зоні кверцетину на хроматограмі розчину порівняння, при цьому допускається наявність інших флуоресціюючих зон, що підтверджує характерний поліфенольний склад сировини.

ВИПРОБОВУВАННЯ

Втрата в масі при висушуванні – не більше 9,0 % (ДФУ 2.2.32).

Загальна зола – не більше 7,5 % (ДФУ 2.4.16).

Зола, нерозчинна в хлоридній кислоті – не більше 3,0 % (ДФУ 2.8.1).

Екстрактивні речовини – не менше 30,0 % (відповідно до методики ДФУ 2.0.3 «Екстрактивні речовини», апробованої у монографії «Полину гіркого трава»).

Близько 2,0 г (точна маса) подрібненої сировини, просіяної крізь сито № 1000, поміщають в конічну колбу місткістю 200 мл і додають 50 мл 70 % етанолу (об/об).

Колбу закривають пробкою, зважують (з похибкою $\pm 0,01$ г) і настоюють протягом 24 годин. Вміст колб ретельно збовтують та фільтрують через сухі паперові фільтри в сухі колби місткістю 200 мл.

Піпеткою переносять 25 мл фільтрату в попередньо висушені до постійної маси та точно зважені порцелянові чашки діаметром 7-9 см і випарюють на водяній бані до сухого залишку. Чашки із залишком висушують в сушильній шафі при температурі 100-105 °С до постійної маси. Потім охолоджують протягом 30 хвилин в ексікаторі, на дні якого знаходився безводний кальцій хлорид, і миттєво зважують.

Вміст екстрактивних речовин (X, %) у перерахунку на абсолютно суху сировину розраховують за формулою 4.1:

$$X = \frac{m \times 50 \times 100 \times 100}{m_1 \times 25 \times (100 - W)}, \quad (4.1)$$

де m_1 – маса сировини, г;

m – маса сухого залишку, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

1. Флавоноїди

Кількісне визначення суми флавоноїдів проводити спектрофотометричним методом за реакцією комплексоутворення з алюмінію хлоридом у перерахунку на кверцетин. Методика базується на загальних

принципах ДФУ (монографія «Берези листя») з оптимізацією умов екстракції та довжини хвилі (430 нм) для даної сировини.

Вихідний розчин. Для виділення флавоноїдів 1,0 г (точна наважка) подрібненого листа мирту звичайного вміщують в колбу зі шліфом місткістю 150 мл, додають 30 мл 70 % етанолу. Колбу приєднують до зворотнього холодильника та нагрівають на водяній бані протягом 30 хвилин, періодично збовтуючи для змивання часток лікарської рослинної сировини зі стінок. Гарячий витяг фільтрують через шматок вати у мірну колбу місткістю 100 мл, щоб частки лікарської рослинної сировини не попадали на фільтр. Вату переносять в колбу для екстрагування і додають ще 30 мл 70 % етанолу. Екстракцію повторюють ще двічі в описаних вище умовах, фільтруючи витяг у ту ж колбу. Після охолодження об'єм витягу доводять етанолом 70 % до позначки та перемішували (розчин А).

Випробовуваний розчин. В мірну колбу місткістю 25 мл переносять 2 мл розчину А, 2 мл 2 % розчину алюмінію хлориду в 95 % етанолі та доводять об'єм розчину 95 % етанолом до мітки.

Компенсаційний розчин. 2,0 мл розчину А доводять етанолом Р (95 %, об/об) до об'єму 25,0 мл.

Через 40 хвилин вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 430 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст суми флавоноїдів листа мирту звичайного у перерахунку на кверцетин і абсолютно суху сировину (X, %) розраховують за формулою 4.2:

$$X = \frac{A \times 100 \times 12,5 \times 100}{A_{1\text{ см}}^{1\%} \times m_n \times (100-W)}, \quad (4.2)$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

$A_{1\text{ см}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання комплексу кверцетину з алюмінію хлоридом за довжини хвилі 430 нм (764,6);

m_n – маса сировини, г;

W – втрата в масі при висушуванні сировини, г.

Кількісний вміст суми флавоноїдів, визначений спектрофотометричним методом, має бути не менше 0,80 %.

2. Гідроксикоричні кислоти

Визначення кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот проводять згідно з методикою ДФУ 2.0.3, яка наведена у монографії «Кропиви листя».

Кількісний вміст суми похідних гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту, визначений спектрофотометричним методом, має бути не менше 0,60 %.

ПАКУВАННЯ

По 100 г у чистих, сухих пачках із внутрішнім пакетом.

МАРКУВАННЯ (ТЕКСТ ЕТИКЕТУВАННЯ)

На пачці має бути вказана назва рослинної сировини латинською та українською мовами, найменування та місцезнаходження, номер телефону постачальника, знак для товарів та послуг, маса сировини в упаковці при максимально допустимій волозі, реєстраційний номер, номер партії (серії) та термін придатності.

ЗБЕРІГАННЯ

Зберігати в сухому, добре вентильованому приміщенні, у щільно закупореній тарі, захищеній від світла, при температурі не вище 25 °С, якщо інше не зазначено в АНД/монографії.

Висновок до розділу 4

1. На основі проведених досліджень було визначено комплекс основних діагностично важливих морфологічних, анатомічних, мікроскопічних та ультраморфологічних ознак мирту звичайного листя, які були використані для наукового обґрунтування та розробки проєкту МКЯ «Мирту звичайного листя».

2. Визначено макроскопічні ознаки листя мирту звичайного, які є простими, подовженими, ланцетними або яйцеподібно-еліптичними листками з цільними або злегка округлими краями, гострою верхівкою та округлою або

дещо асиметричною основою; супротивне розташування, сидячі або майже сидячі. Листя темно-зелене, глянцево на верхній стороні та зелене на нижній стороні, з бродхідодромною формою жилкування та характерним бальзамічним запахом при розтиранні.

3. Встановлено сукупність діагностичних ознак листя *M. communis* на основі мікроскопічного дослідження, зокрема: наявність гіпостоматичного типу листкової пластинки: аномоцитного типу апарату продихів, дорсивентральної структури мезофілу, простих одноклітинних трихом, які переважно знаходяться на центральній жилці, друз та призматичних кристалів оксалату кальцію, а також сферичних схізолізогенних секреторних вмістищ з ліпофільними сполуками.

4. Ультраморфологічні дослідження виявили, що меристемні клітини та клітини прилеглих секреторних порожнин листя мирту звичайного мали добре розвинений ультраструктурний апарат, а саме: плазматичну мембрану, цитоплазму, ядро з ядерцем, мітохондрії, вакуолі, хлоропласти, ендоплазматичну сітку та комплекс Гольджі з чисельними диктіосомами, лізосоми, краплі олії та характерні запасні включеннями – амілопласти. Зрілі секреторні вмістища мають залишками дегенерованих клітин, які були виявлені в їх просвіті, у присутності метаболічно активних та старіючих епітеліальних клітин.

5. З метою стандартизації нової лікарської рослинної сировини встановлено основні фармакопейно значущі параметри аналізу якості для листя мирту звичайного, які включають: макро- та мікроскопічну характеристику, ТШХ для ідентифікації фенольних сполук, кількісне визначення суми флавоноїдів та ГКК, а також визначення показників якості – вмісту золи, втрати при висушуванні та вмісту екстрактивних речовин відповідно до вимог ДФУ.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Matsegorova O. Ye., & Odyntsova V. M. (2024). The anatomical and micromorphological structure of *Myrtus communis* L. leaves. *Актуальні питання*

фармацевтичної і медичної науки та практики. 17(2),:122–130 DOI: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.298403>.

2 Odyntsova V. M., Matsehorova O. Ye., Tertyshnyi S. I., & Polkovnikov Yu. F. (2024). Micro- and ultramorphological features of the leaf cells of *Myrtus communis* L. as a parameter for the standardization of medicinal plant syrup are the basis for new herbal remedies. *Сучасні медичні технології*. 16(4), 292–302. DOI: 10.14739/mmt.2024.4.311096.

3. Одинцова В. М., & Мацегорова О. Є. (2023). Вивчення морфолого-анатомічної будови мирту звичайного листа. *IV Науково-практична конференція з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта», 20 лютого 2023 р., м. Київ. с. 100–102.*

РОЗДІЛ 5

**ОДЕРЖАННЯ СУБСТАНЦІЙ З ЛИСТЯ *MYRTUS COMMUNIS L.*,
ВИРОЩЕНОГО В УМОВАХ *IN VIVO* ТА *IN VITRO*, ДОСЛІДЖЕННЯ
ЯКІСНОГО ТА КІЛЬКІСНОСНОГО ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ
РЕЧОВИН ТА ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ГУСТИХ
ЕКСТРАКТІВ**

Мирту звичайного листа є джерелом багатокomпонентного комплексу БАР, що зумовлюють його високу терапевтичну цінність. До складу лікарської рослинної сировини входять флавоноїди, ГКК з вираженими антиоксидантними властивостями, амінокислоти та компоненти ефірної олії. Переробка мирту звичайного листа у форму густого екстракту забезпечує концентрування діючих речовин, що корелює з підвищенням фармакологічної активності та створює передумови для точного і відтворюваного дозування у складі лікарських засобів.

Однією з важливих технологічних особливостей густого екстракту є те, що вміст вільної вологи в екстракті знижено до 15-25 %, що сприяє більшій стабільності речовини, нижчій швидкості деградації та контролю мікробного забруднення. Завдяки своїм в'язко-пластичним властивостям густий екстракт є зручною проміжною формою для фармацевтичного виробництва та його включення в технологічний процес створення ряду лікарських форм – від твердих дозованих (таблетки, капсули) до м'яких засобів для зовнішнього використання (мазі, лініменти, супозиторії).

Тому вибір густого екстракту як лікарської рослинної субстанції є не лише науково обґрунтованим, але й практично доцільним, оскільки він забезпечує максимальне терапевтичне застосування сировинного потенціалу для лікування, дає можливість стандартизації, гарантує якість і безпеку, а фармакологічний ефект може бути відтворюваним.

5.1 Одержання субстанції з листя мирту звичайного та дослідження її хімічного складу

Методика одержання екстракту густого з мирту звичайного листя:

1. *Екстракція.* Суху сировину подрібнювали до розміру частинок 3-5 мм. В якості екстрагенту використовували етанол 70 % (об/об), бо він дозволяє найкраще десорбувати фенольні та терпенові сполуки. Процес проводили методом дворазової статичної мацерації (ремацерації) у співвідношенні сировина : екстрагент – 1:5. Тривалість екстракції становила 72 години при температурі $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Для нівелювання дифузійного шару та прискорення масообміну здійснювали періодичне механічне перемішування.

2. *Очищення та відстоювання.* Основна частина розділення рідкої фази виконувалася шляхом фільтрації. Для повного видалення сировини осад промивали додатковою порцією екстрагента. Екстракти потім об'єднували та піддавали циклічному охолодженню при температурі не більше $+10^{\circ}\text{C}$ протягом 48 годин для осадження баластних речовин (білків, хлорофілів, слизів).

3. *Концентрація та сушіння у вакуумі.* Згущення очищеної витяжки здійснювали методом циркуляційного випарювання на роторному випаровувачі під вакуумом (залишковий тиск 60-80 кПа). Температурний режим водяної бані підтримували в межах $50-55^{\circ}\text{C}$. Фінальне доведення маси до кондицій густого екстракту (залишкова вологість 15-25 %) проводили шляхом теплової дегідратації в сушильній шафі при 70°C протягом 45-60 хв.

4. *Стандартизація та зберігання.* Одержана субстанція – однорідна в'язка маса темно-коричневого кольору з характерним ароматом. Проводили гомогенізацію для рівномірного розподілу БАР. Екстракт зберігали в герметично закритому темному скляному флаконі при температурі $4-8^{\circ}\text{C}$.

Технологічна схема виробництва представлена на рис. 5.1.

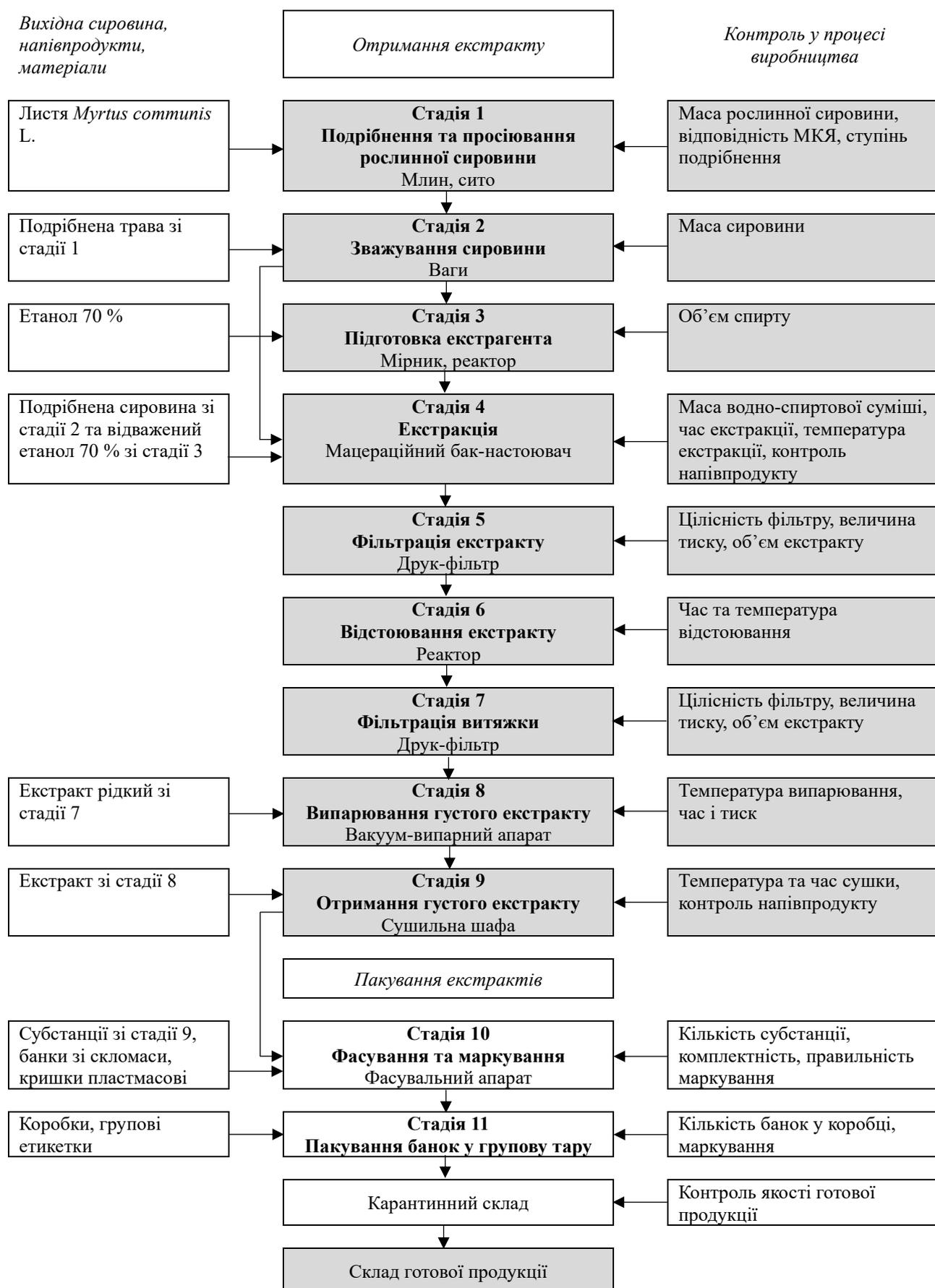


Рисунок 5.1 – Технологічна блок-схема одержання густих екстрактів

5.2 Дослідження якісного та кількісного вмісту біологічно активних речовин у густому екстракті листя *Myrtus communis* L.

5.2.1 Вуглеводи

Вуглеводи займають важливе місце в складі лікарської рослинної сировини та фітопрепаратів, отриманих з них. У густих екстрактах вуглеводи як первинні метаболіти та джерела енергії, відповідають за високоімунomodуючі, детоксикуючі та протизапальні властивості. Крім того, моно- та полісахариди значною мірою впливають на технологічні характеристики густих екстрактів, зокрема на їх в'язкість, розчинність і стабільність під час зберігання.

З метою встановлення впливу умов генезису рослинної біомаси на кінцевий хімічний склад готового продукту було проведено порівняльний аналіз вуглеводного комплексу двох видів густих екстрактів мирту звичайного.

Наступним етапом роботи було виявлення окремих компонентів за допомогою методу ГХ/МС, що має дуже високу точність розділення та верифікації сполук. Було встановлено якісний склад та кількісний вміст вільних моносахаридів густих екстрактів мирту звичайного (табл. 5.1).

Отримані дані дозволили дослідити ключові відмінності вуглеводного профілю та закономірностей накопичення окремих вуглеводів залежно від умов вирощування рослин.

У густих екстрактах мирту, обох методів культивування, було ідентифіковано по 9 сполук вільних вуглеводів, здебільшого моносахаридів, цукрових спиртів та циклічних форм цукрових кислот. У екстракті *in vivo* вміст вільних моносахаридів становив 67,0 мг/г, тоді як для зразка *in vitro* цей показник був нижчим – 53,5 мг/г. Основними складниками вуглеводного профілю обох екстрактів були лактон глюкуронової кислоти (27,31 мг/г (*in vivo*) та 18,50 мг/г

(*in vitro*)) і глюкоза (18,12 мг/г (*in vivo*) та 14,89 мг/г (*in vitro*)) (рис. 5.2, 5.3). Високий вміст лактону глюкуронової кислоти свідчить про значний детоксикаційний та антиоксидантний потенціал отриманих субстанцій.

Таблиця 5.1 – Кількісний вміст вільних моносахаридів у густому екстракті *M. communis* (ГХ/МС)

Сполука	Час утримання	Густий екстракт листя <i>M. communis</i> , мг/г	
		<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>
Арабіноза	9,1	0,00	0,00
Фукоза	9,59	0,33	0,32
Ксилоза	10,01	0,00	0,00
Маноза	15,51	2,55	3,55
Глюкоза	15,95	18,12	14,89
Галактоза	16,46	8,17	8,59
Мукоїнозитол гексаацетат	17,81	0,32	0,36
Інозит	18,78	2,12	1,55
Манітол	19,08	0,00	0,00
Сорбіт	19,28	0,00	0,00
Лактон глюкуронової кислоти	21,87	27,31	18,5
Фруктоза	24,05	3,99	3,44
Цукроза	34,24	4,11	2,25
Загальний вміст		67,0	53,5

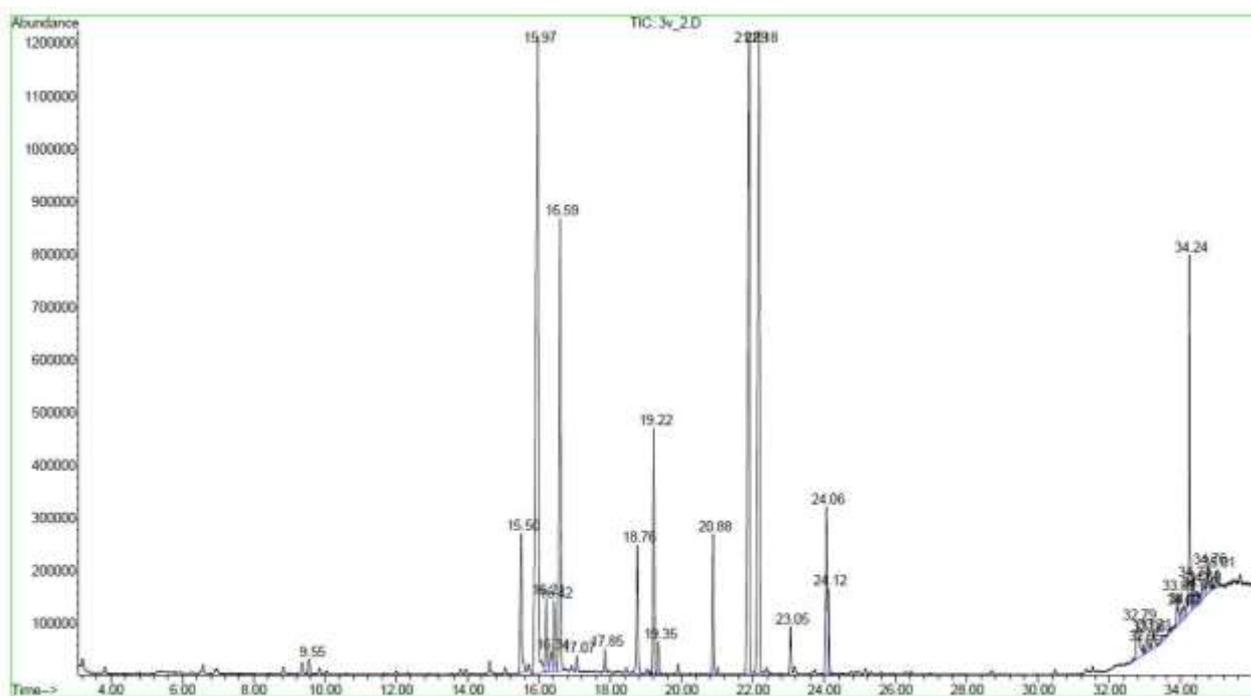


Рисунок 5.2 – ГХ/МС вільних моноцукрів густого екстракту
M. communis (*in vivo*)

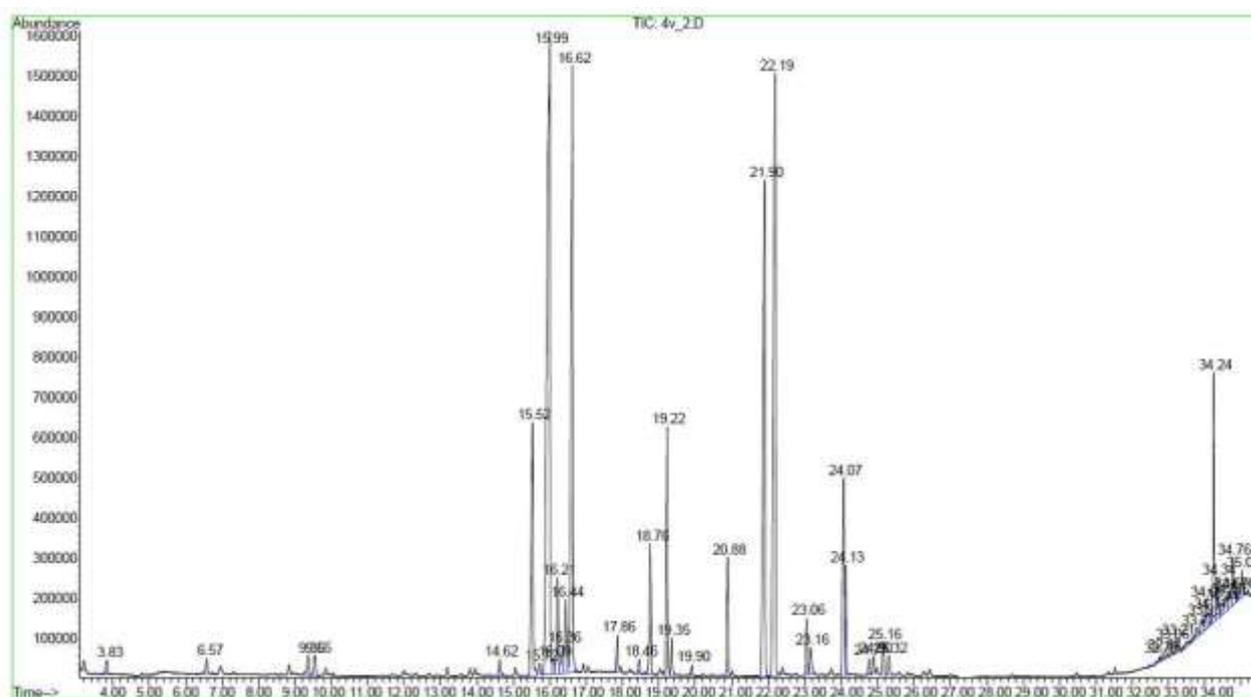


Рисунок 5.3 – ГХ/МС вільних моноцукрів густого екстракту *M. communis*
(*in vitro*)

В екстракті, отриманому з біотехнологічної сировини (*in vitro*), спостерігалось зростання концентрації манози (з 2,55 мг/г до 3,55 мг/г) та галактози (з 8,17 до 8,59 мг/г), що може бути пов'язано з особливостями метаболізму рослин у культурі *in vitro*. Вміст цукрози у природному екстракті був майже вдвічі вищий (4,11 мг/г), ніж у зразку листя, культивованого в умовах *in vitro* (2,25 мг/г). В обох екстрактах також виявлено інозит (1,55 мг/г (*in vitro*) та 2,12 мг/г (*in vivo*)) та фруктозу (3,44 мг/г (*in vitro*) та 3,99 мг/г (*in vivo*)).

Після проведення кислотного гідролізу (табл. 5.2) спостерігалась зміна кількісного співвідношення компонентів, що вказує на вивільнення моносахаридів зі складу полісахаридів та глікозидів.

Таблиця 5.2 – Кількісний вміст загальних моносахаридів у густому екстракті *M. communis* (ГХ/МС)

Сполука	Час утримання	Густий екстракт <i>M. communis</i> , мг/г	
		<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>
Арабіноза	9,1	0,69	0,41
Фукоза	9,59	0,88	0,63
Ксилоза	10,01	0,00	0,00
Маноза	15,51	5,88	3,83
Глюкоза	15,95	33,92	22,19
Галактоза	16,46	7,23	3,30
Мукоінозитол гексаацетат	17,81	0,00	0,00
Інозит	18,78	3,75	1,54
Манітол	19,08	0,00	0,00
Сорбіт	19,28	0	0
Лактон глюкуронової кислоти	21,87	0,00	0,00
Фруктоза	24,05	8,47	4,95
Цукроза	34,24	0,00	0,00
Загальний вміст		60,8	36,9

Глюкоза залишалася головним компонентом, причому її вміст у екстракті *in vivo* (33,92 мг/г) був дещо вищий, ніж у *in vitro* (22,19 мг/г) (рис. 5.4, 5.5).

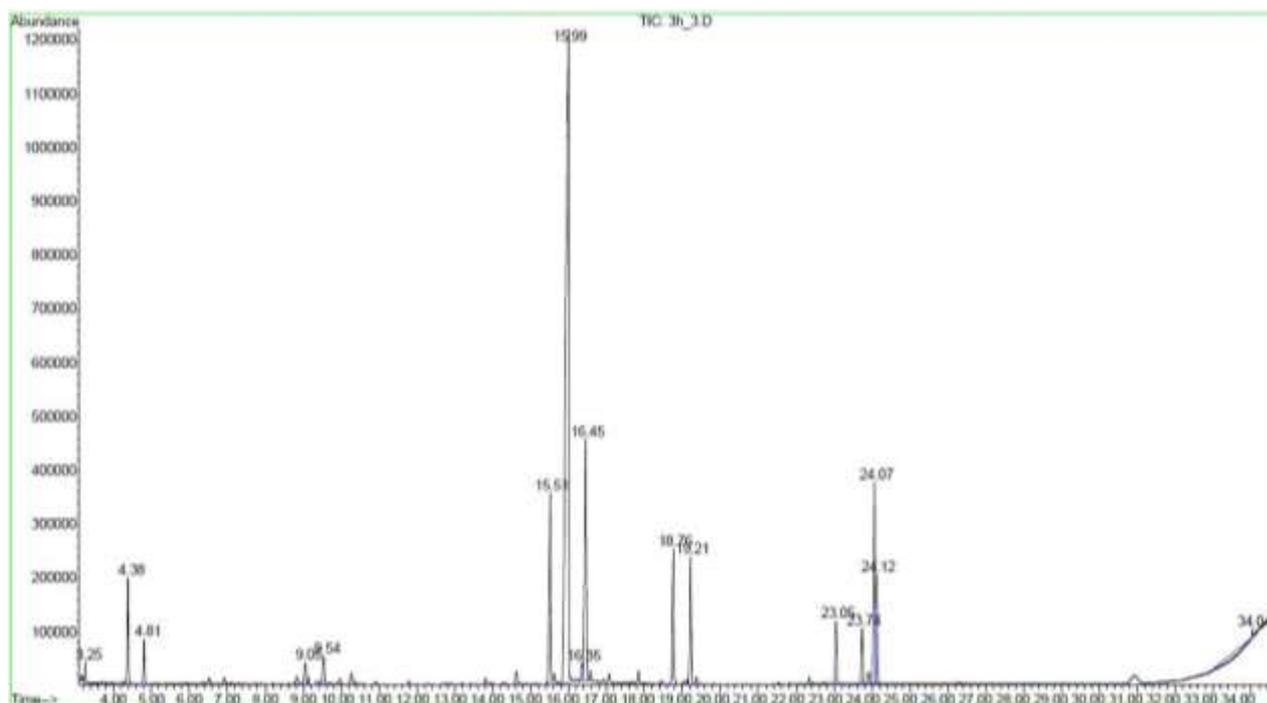


Рисунок 5.4 – ГХ/МС загальних моноцукрів густого екстракту *M. communis* (*in vivo*)

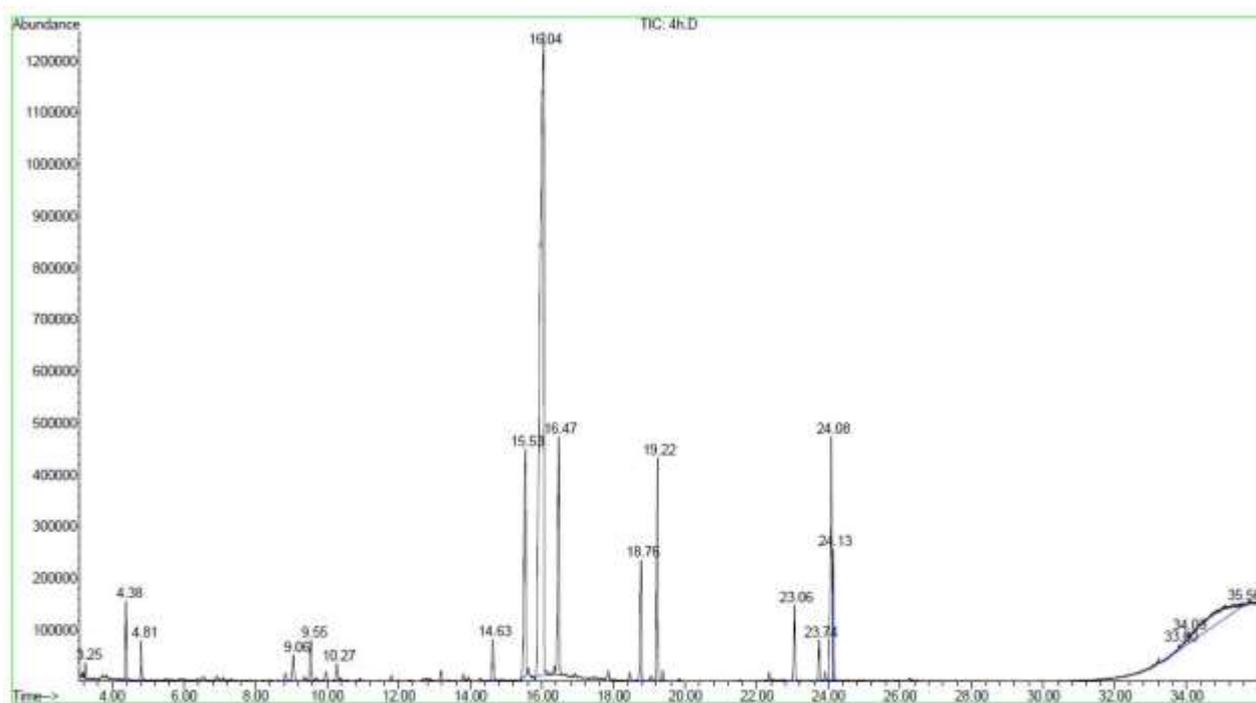


Рисунок 5.5 – ГХ/МС загальних моноцукрів густого екстракту *M. communis* (*in vitro*)

Цікавим є факт повної відсутності лактону глюкуронової кислоти та цукрози у складі загальних моносахаридів обох видів екстрактів, що пояснюється їх деструкцією або трансформацією під час гідролізу. У густих екстрактах з'являється арабіноза, яка була відсутня у вільному стані, що свідчить про її наявність виключно у складі високомолекулярних сполук (пектинів або геміцелюлоз).

Таким чином, густий екстракт листя *M. communis*, отриманий з природної сировини, має багатший вміст вуглеводів разом з вищим кількісним вмістом моносахаридів, ніж екстракт культури *in vitro*, що слід враховувати при стандартизації фармацевтичних препаратів на їх основі.

5.2.2 Амінокислоти

Амінокислоти, а особливо незамінні амінокислоти, які не синтезуються у метаболізмі людини, є важливим елементом, що значно підвищує терапевтичну ефективність фітопрепаратів.

Для оцінки якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у густих екстрактах *M. communis*, отриманих з культур *in vivo* та *in vitro*, застосовували метод ГХ/МС, що дозволяє зробити оцінку вільних та загальних амінокислот після кислотного гідролізу.

Екстракт рослин, вирощених *in vivo*, мав значно більший загальний вміст амінокислот – 13,53 мг/г, що майже вдвічі перевищував вмісту екстракта *in vitro* (7,36 мг/г) (табл. 5.3, 5.4). В обох видах екстрактів основна частина амінокислот була у зв'язаному стані (у складі пептидів та білкових фрагментів). В екстракті сировини, культивованої в природних умовах, частка зв'язаних форм становила 11,43 мг/г (84 % від загальної суми), тоді як у екстракті листя мирту, отриманого шляхом мікроклонального розмноження, – 5,92 мг/г (80 %). Така подібність у відсотковому співвідношенні за наявності значної різниці в абсолютних значеннях свідчить про збереження загальної стратегії азотистого обміну

рослини навіть у штучних умовах культивування, попри зниження загальної інтенсивності біосинтетичних процесів.

Таблиця 5.3 – Якісний та кількісний вміст амінокислот у густому екстракті *M. communis*, вирощеному в умовах *in vivo* (ГХ/МС)

Амінокислоти	Час утримування, хв	Вільні, мг/г	Загальні, мг/г	Зв'язані, мг/г
Аланін	14,99	0,81	0,19	0,62
Гліцин	15,07	0	1,84	1,84
Валін*	18,87	0	0,45	0,45
Норвалін	19,86	IS	IS	IS
Лейцин*	21,1	0,24	0,76	0,52
Серін	21,2	0	0	0
Треонін*	21,57	0	0	0
Ізолейцин*	21,43	0	0,55	0,55
Пролін	22,31	0,19	0,48	0,29
Аспарагін	22,58	0	0	0
Аспарагінова кислота	24,23	0,42	3,71	3,30
Глутамінова кислота	27,15	0	0,39	0,39
Метіонін*	27,44	0	1,67	1,67
Цистеїн	29,72	0	0,87	0,87
Фенілаланін*	30,05	0,20	1,63	1,43
Глутамін	32,27	0	0	0
Лізин*	36,2	0	0	0
Гістидин*	37,33	0	0	0
Тирозин	39,25	0,25	0,99	0,74
Триптофан*	45,33	0	0	0
Загальний вміст		2,10	13,53	11,43

Примітка. * – незамінні амінокислоти

Таблиця 5.4 – Якісний та кількісний вміст амінокислот у густому екстракті *M. communis*, вирощеному в умовах *in vitro* (ГХ/МС)

Амінокислоти	Час утримування, хв	Вільні, мг/г	Загальні, мг/г	Зв'язані, мг/г
Аланін	14,99	0,38	0,81	0,43
Гліцин	15,07	0,00	0,00	0,00
Валін*	18,87	0,00	0,33	0,33
Норвалін	19,86	IS	IS	IS
Лейцин*	21,1	0,18	0,29	0,11
Серін	21,2	0,00	0,50	0,50
Треонін*	21,57	0,00	0,00	0,00
Ізолейцин*	21,43	0,00	0,37	0,37
Пролін	22,31	0,00	0,29	0,29
Аспарагін	22,58	0,00	0,00	0,00
Аспарагінова кислота	24,23	0,41	1,57	1,16
Глутамінова кислота	27,15	0,00	0,23	0,23
Метіонін*	27,44	0,00	0,89	0,89
Цистеїн	29,72	0,00	0,00	0,00
Фенілаланін*	30,05	0,27	1,17	0,89
Глутамін	32,27	0,00	0,14	0,14
Лізін*	36,2	0,00	0,26	0,26
Гістидин*	37,33	0,00	0,00	0,00
Тирозин	39,25	0,20	0,53	0,32
Триптофан*	45,33	0,00	0,00	0,00
Загальний вміст		1,44	7,36	5,92

Примітка. * – незамінні амінокислоти

В обох зразках домінувала аспарагінова кислота, вміст якої в екстракті *in vivo* становив 3,71 мг/г (рис. 5.6), а в *in vitro* – 1,57 мг/г (рис. 5.7).

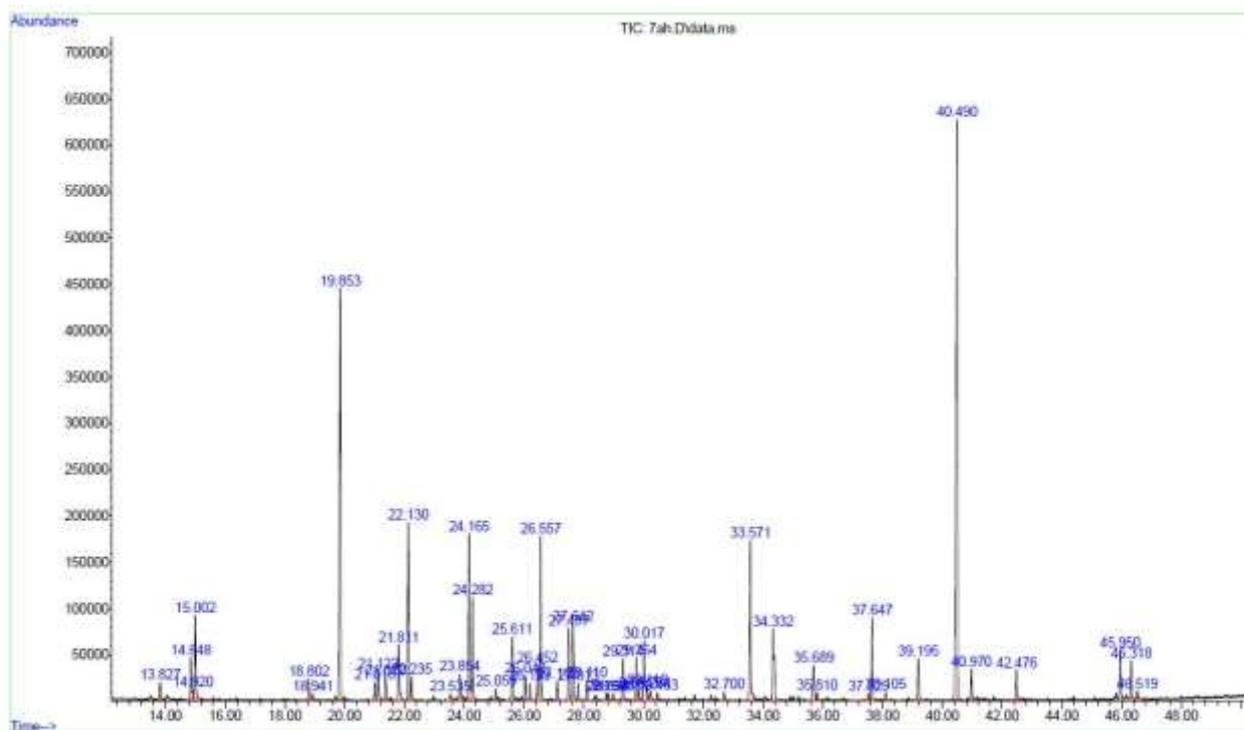


Рисунок 5.6 – ГХ/МС загальних амінокислот густого екстракту
M. communis (in vivo)

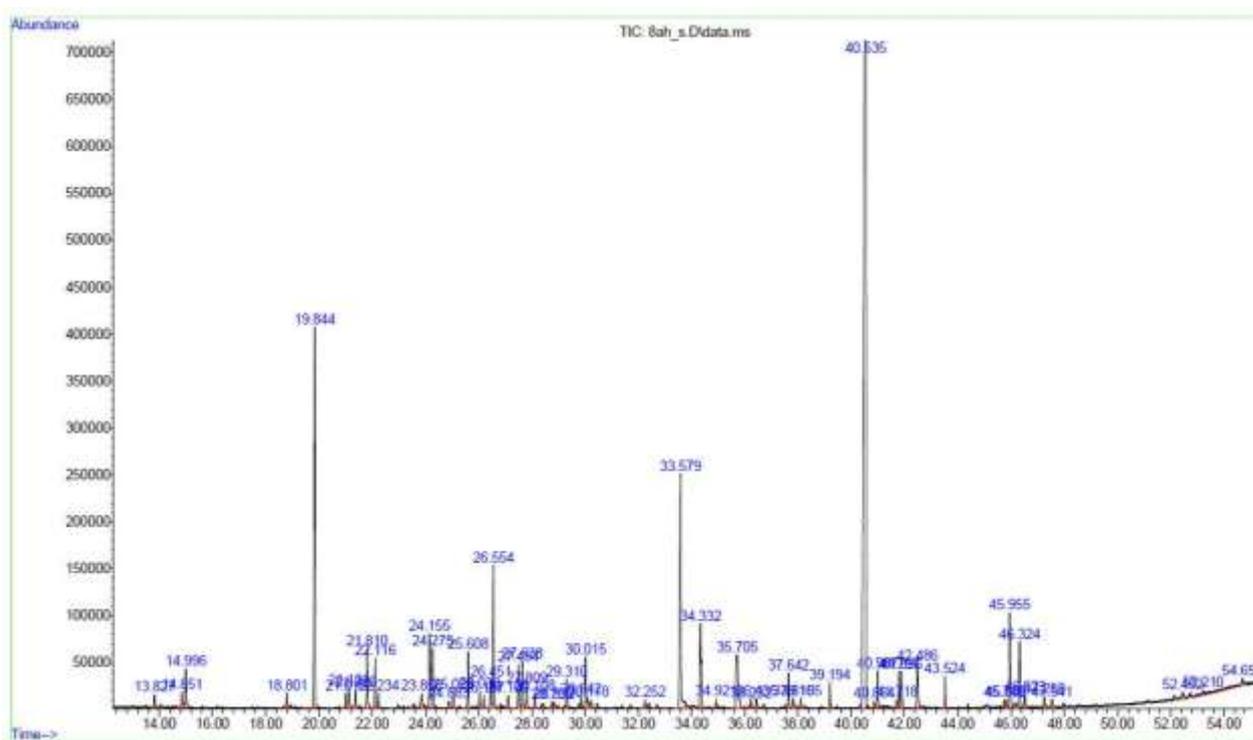


Рисунок 5.7 – ГХ/МС загальних амінокислот густого екстракту
M. communis (in vitro)

Гліцин, метіонін та цистеїн ідентифіковані у значних кількостях у густому екстракті листя мирту, вирощеного *in vivo* (1,84 мг/г, 1,67 мг/г та 0,87 мг/г відповідно), тоді як у екстракті *in vitro* гліцин і цистеїн не виявлені, а вміст метіоніну був майже вдвічі нижчим (0,89 мг/г). Повна відсутність цистеїну в густому екстракті листя *M. communis*, культивованого в умовах *in vitro*, може бути наслідком специфічного стресу або дефіциту відновлених форм сірки в поживних середовищах, що суттєво змінює антиоксидантний профіль цього екстракту.

У густому екстракті листя *M. communis*, вирощеного в природних умовах, спостерігається висока концентрація фенілаланіну (1,63 мг/г), що може свідчити про активне функціонування шикіматного шляху біосинтезу фенольних сполук. У зразку *in vitro* цей показник становив 1,17 мг/г.

Цікавим є те, що у вільному стані вміст аланіну був вищим в екстракті *in vivo* (0,81 мг/г проти 0,38 мг/г) (рис. 5.8, 5.9), тоді як у зв'язаному стані його накопичення інтенсивніше відбувалося в екстракті культур, вирощених в умовах *in vitro*.

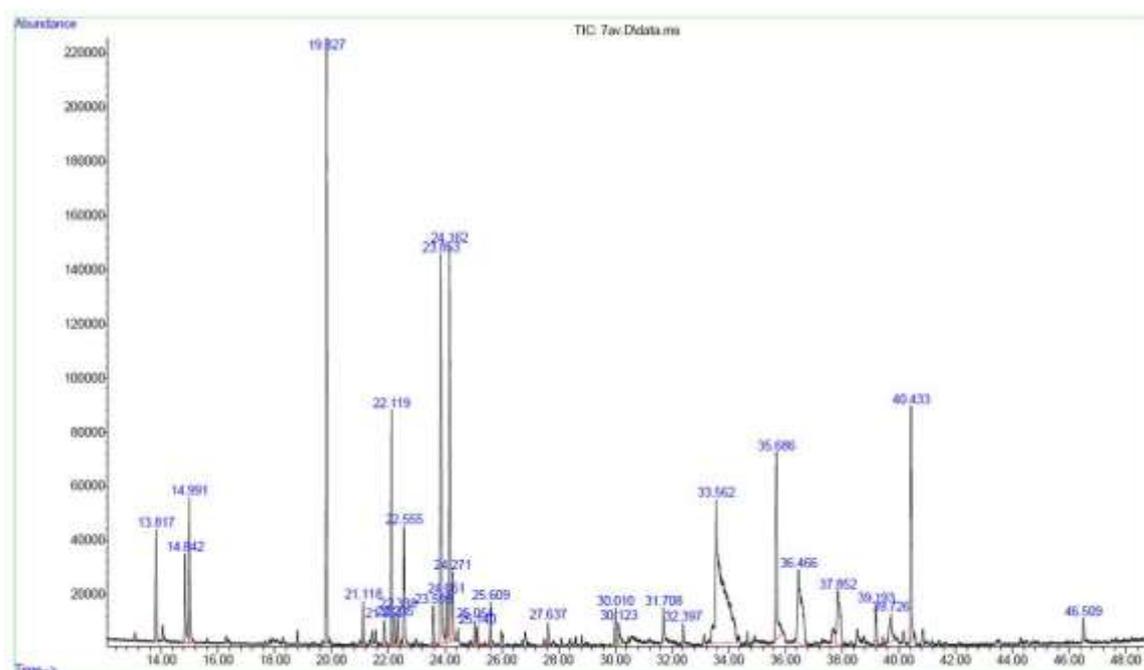


Рисунок 5.8 – ГХ/МС вільних амінокислот густого екстракту
M. communis (*in vivo*)

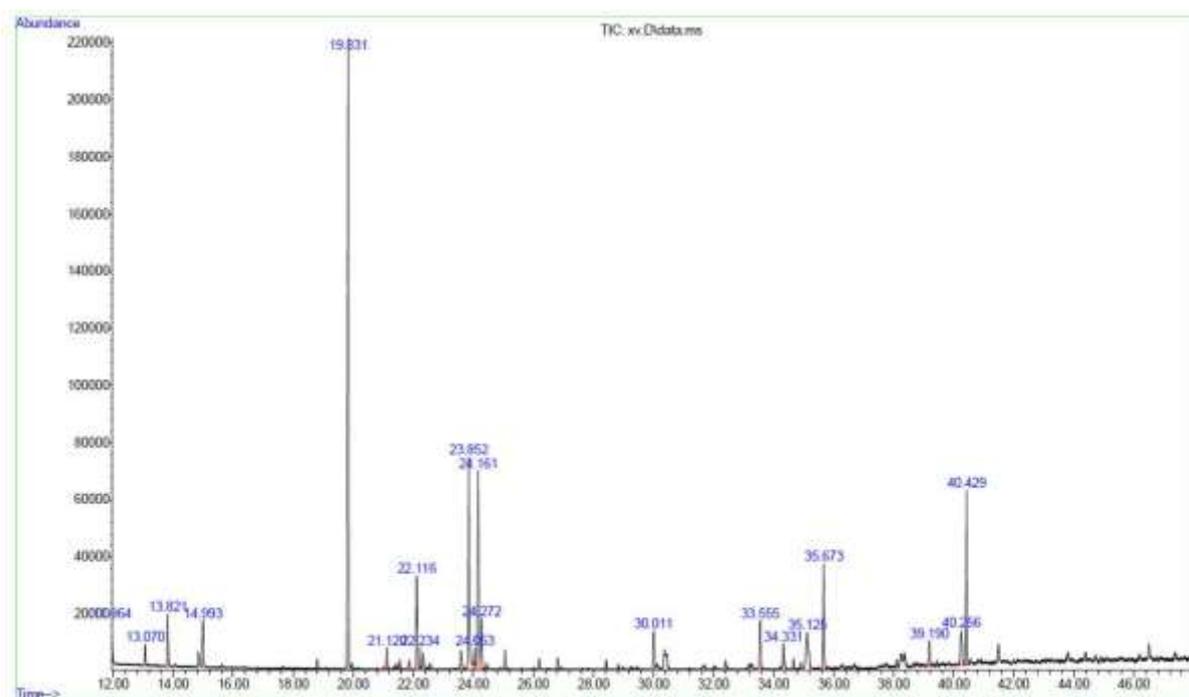


Рисунок 5.9 – ГХ/МС вільних амінокислот густого екстракту
M. communis (in vitro)

Порівняльний аналіз показав, що густий екстракт мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo*, забезпечує добре збалансований та біологічно цікавий вміст амінокислот. Крім того, багатий вміст аспарагінової кислоти, гліцину та метіоніну в екстракті *in vivo* робить його цікавим, як потенційний засіб з метаболічною дією. У той же час, хоча екстракт *in vitro* має менший загальний вміст амінокислот, він містить лізин та глютамін, що має біологічне значення.

5.2.3 Флавоноїди

Для визначення якісного профілю та кількісного вмісту окремих флавоноїдів у густих екстрактах, виготовлених з сировини, що вирощена в умовах *in vivo* та *in vitro*, використовували метод ВЕРХ. Представлені хроматограми ідентифікованих флавоноїдів (рис. 5.10, 5.11) та їх хроматографічні показники (табл. 5.5).

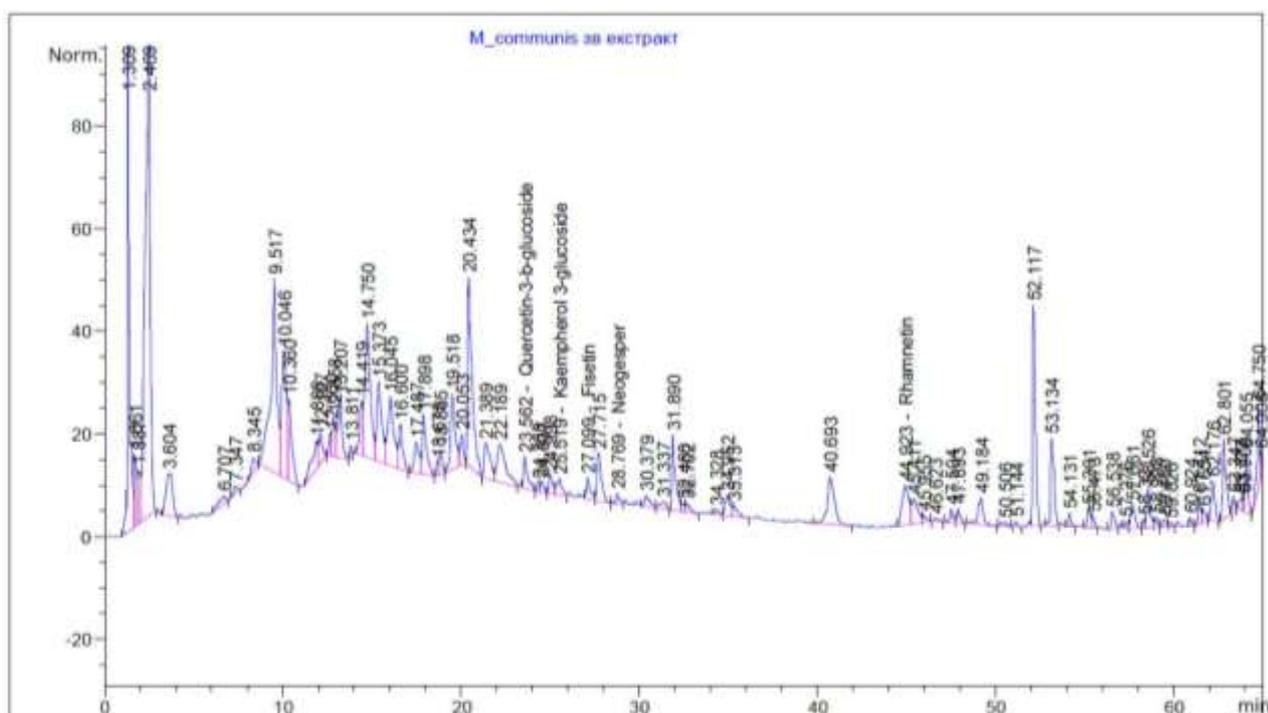


Рисунок 5.10 – ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів густого екстракту
M. communis (in vivo)

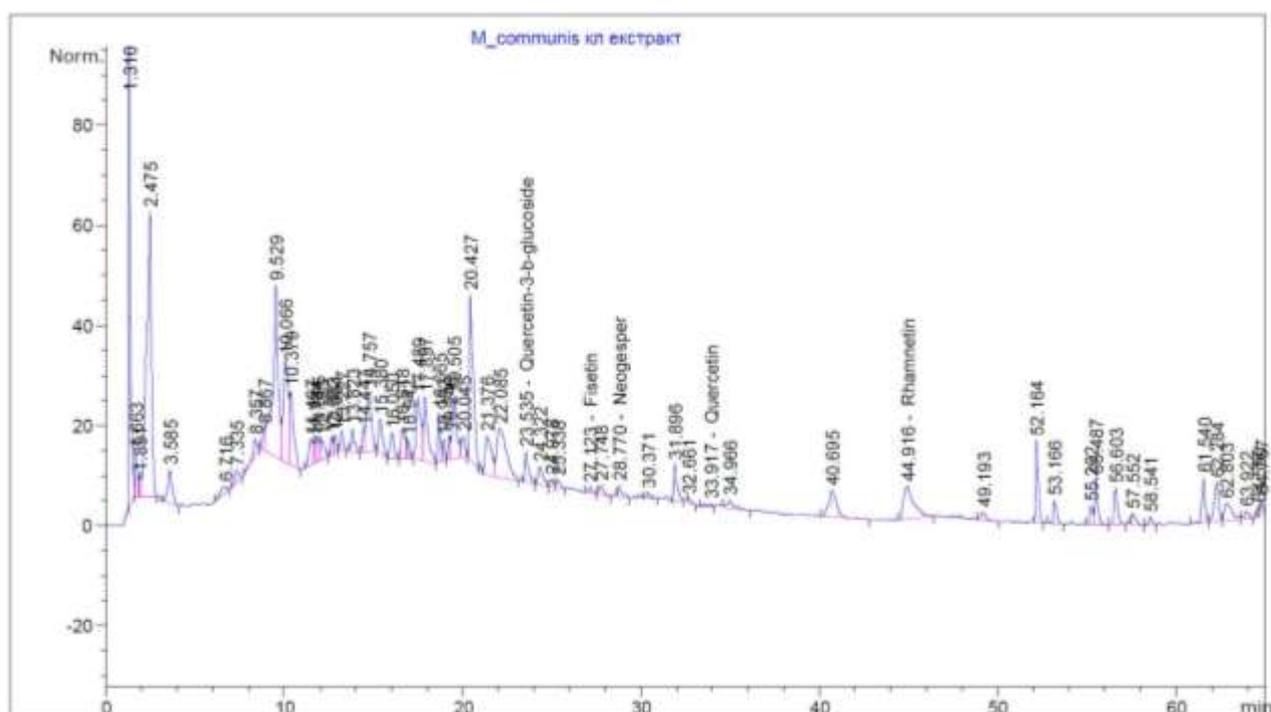


Рисунок 5.11 – ВЕРХ-хроматограма флавоноїдів густого екстракту
M. communis (in vitro)

Таблиця 5.5 – Кількісний вміст флавоноїдів у густому екстракті *M. communis* (ВЕРХ) ($M \pm m$, $n = 3$)

Сполука	Густий екстракт <i>M. communis</i> , мкг/г	
	<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>
Кверцетин-3- β -глікозид	244,07 \pm 12,20	225,77 \pm 11,29
Кемпферол-3- β -глікозид	445,20 \pm 22,26	0
Фісетин	871,52 \pm 43,58	334,93 \pm 16,75
Неогесперидин	345,84 \pm 17,29	403,35 \pm 20,17
Кверцетин	0	209,13 \pm 10,46
Рамнетин	3467,90 \pm 173,40	4160,70 \pm 208,04
Загальний вміст	5374,53	5333,9

Загальний вміст флавоноїдів у зразках був майже ідентичним: 5374,53 мкг/г (*in vivo*) та 5333,90 мкг/г (*in vitro*). Хоча загальна сума була практично однаковою, відбулася відповідна зміна в кількісному складі різних сполук.

Основним флавоноїдом в обох зразках був рамнетин. Він мав більшу концентрацію в екстракті мікроклонального розмноження (4160,7 мкг/г проти 3467,90 мкг/г *in vivo*). Неогесперидин також мав вищий вміст у екстракті *in vitro* (403,35 мкг/г) порівняно з *in vivo* (345,84 мкг/г). Фісетин (871,52 мкг/г) переважав у традиційно вирощеному екстракті порівняно з екстрактом *in vitro* (334,93 мкг/г). Кампферол-3- β -глікозид був ідентифікований лише в густому екстракті листя, вирощеного *in vivo*, де його вміст становив 445,20 мкг/г. Кверцетин був ідентифікований лише в екстракті *in vitro* (209,13 мкг/г).

Аналіз показує, що мікроклональне розмноження забезпечує отримання біомаси мирту зі стабільним флавоноїдним профілем, де домінуючою сполукою є рамнетин, з яким пов'язана висока антиоксидантна активність. Виявлення кверцетину в екстракті *in vitro* вказує на змінену метаболічного шляху, що може бути важливим для створення препаратів, які мають покращені капіляророзміцнюючі властивості.

5.2.4 Гідроксикоричні кислоти

Для визначення якісного та кількісного профілю ГКК у густомих екстрактах, отриманих з природної сировини та мікроклональної біомаси, було застосовано ВЕРХ (табл. 5.6, рис. 5.12, 5.13). Густий екстракт *M. communis*, вирощеного *in vivo*, містив 10 ГКК, а екстракт *in vitro* – 9. Загальний вміст двох зразків екстракту дуже високий і практично еквівалентний: 25864,64 мкг/г (*in vivo*) та 25159,62 мкг/г (*in vitro*).

Таблиця 5.6 – Кількісний вміст ГКК у густому екстракті *M. communis* (ВЕРХ) ($M \pm m$, $n = 3$)

Сполука	Густий екстракт <i>M. communis</i> , мкг/г	
	<i>in vivo</i>	<i>in vitro</i>
Галова кислота	16942,09±847,10	13258,89±662,94
Гідроксифенілацетатна к-та	5747,03±287,35	0
Хлорогенова кислота	726,28±36,31	1813,56±90,68
Кофейна кислота	0	3014,28±150,71
Сирінгова кислота	312,70±15,64	1963,53±98,18
Бензойна кислота	260,24±13,01	622,75±31,14
<i>P</i> -кумарова кислота	201,73±10,09	1339,93±67,00
<i>Trans</i> -ферулова кислота	463,17±23,16	540,90±27,05
Синапова кислота	521,36±26,07	2526,05±126,30
<i>Trans</i> -цинамова кислота	46,90±2,35	79,73±3,99
Хінна кислота	643,15±32,16	0
Загальний вміст	25864,64	25159,62

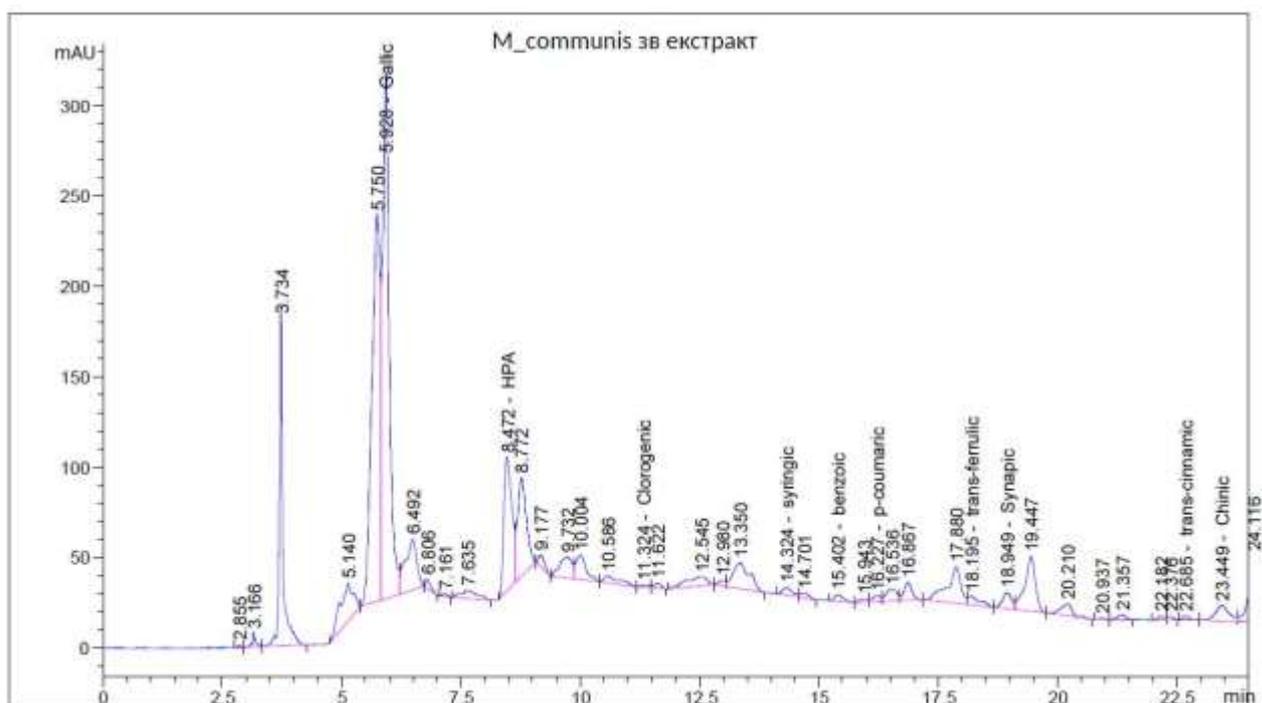


Рисунок 5.12 – ВЕРХ-хроматограма ГКК густого екстракту
M. communis (in vivo)

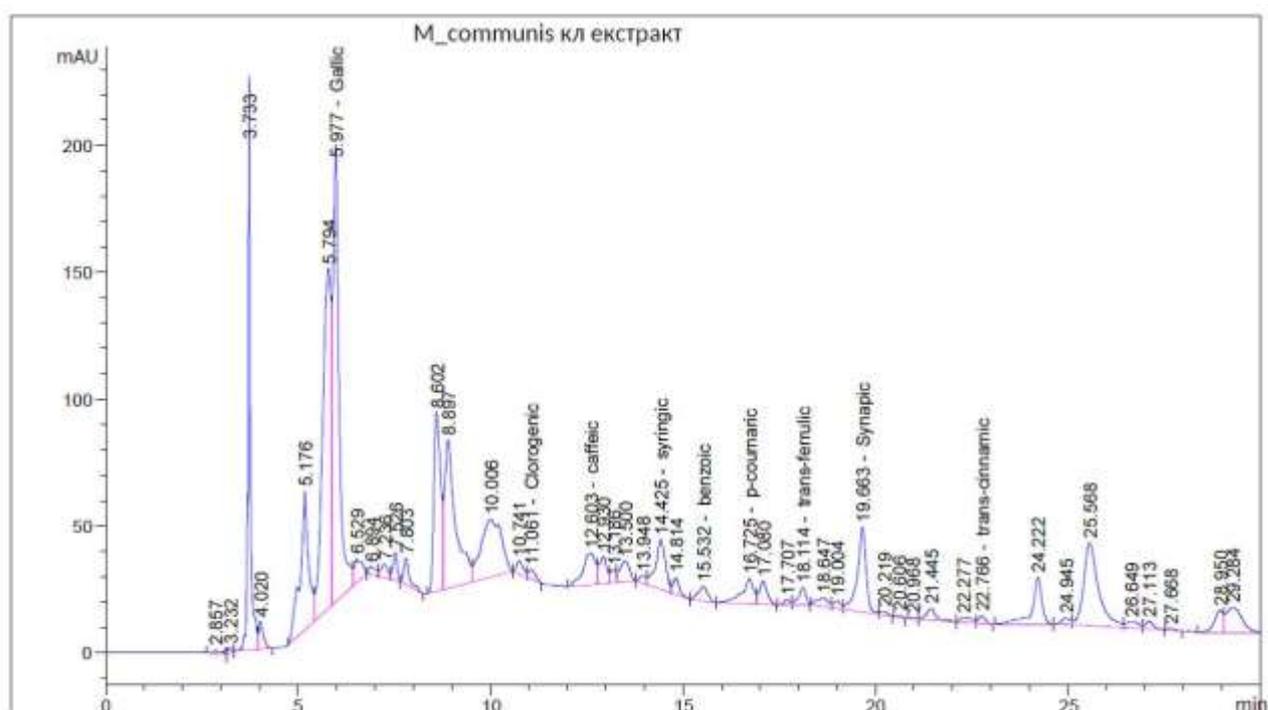


Рисунок 5.13 – ВЕРХ-хроматограма ГКК густого екстракту
M. communis (in vitro)

Галова кислота є домінантною в обох екстрактах. У густому екстракті листя, вирощеного *in vivo*, її вміст становив 16 942,09 мкг/г, що відповідає приблизно 65 % від загальної суми ГКК. В екстракті *in vitro* концентрація галової кислоти була дещо нижчою – 13 258,89 мкг/г, проте вона залишалася основним маркером антиоксидантного потенціалу екстракту.

Вміст більшості ГКК у густому екстракті мирту звичайного, вирощеного мікроклональним розмноженням, був більшим, ніж у зразку (*in vivo*) і становили: хлорогенова кислота (1813,56 мкг/г (*in vitro*) проти 726,28 мкг/г (*in vivo*)), сирінгова кислота (1963,53 мкг/г (*in vitro*) проти 312,70 мкг/г (*in vivo*)), *p*-кумарова кислота (1339,93 мкг/г (*in vitro*) проти 201,73 мкг/г (*in vivo*)), *trans*-ферулова кислота (540,90 мкг/г (*in vitro*) проти 463,17 мкг/г (*in vivo*)), синапова кислота (2526,05 мкг/г (*in vitro*) проти 521,36 мкг/г (*in vivo*)), *trans*-цинамова кислота (79,73 мкг/г (*in vitro*) проти 46,90 мкг/г (*in vivo*)).

Гідроксифенілцетат та хінна кислоти були присутні лише в густому екстракті *in vivo* з вмістом 5747,03 мкг/г та 643,15 мкг/г відповідно. А кофейна кислота була виявлена лише в густому екстракті листя *M. communis*, вирощеного *in vitro*, у кількості 3014,28 мкг/г.

Як бачимо, мікроклональне розмноження призводить до перерозподілу шляхів біосинтезу фенольних сполук. Зменшення вмісту галової кислоти компенсується значним зростанням вмісту кофейної, синапової та сирінгової кислот. Ця модифікація профілю робить екстракт *in vitro* особливо цікавим для розробки фітопрепаратів, які мають сильні радіопротекторні та протизапальні властивості, оскільки гідроксикоричні кислоти мають відмінну здатність до адсорбції вільних радикалів.

5.2.5 Леткі сполуки

Методом ГХ/МС було встановлено компонентний склад летких сполук густих екстрактів із природної сировини та мікроклональної біомаси. Результати дозволили ідентифікувати безліч терпенових та аліфатичних сполук. В таблиці 5.7 представлені дані хроматографічного аналізу, детально описано якісний склад та кількісний вміст летких вторинних метаболітів у густому екстракті листя *M. communis* природного походження.

Таблиця 5.7 – Якісний та кількісний вміст летких сполук у густому екстракті *M. communis*, вирощеному в умовах *in vivo* (ГХ/МС)

№	Назва сполук	Час утримування, хв	Вміст, мкг/г
1	2	3	4
1.	Міртенілацетат	16,15	1620,16
2.	Ліналоол	14,39	703,84
3.	Оцтова кислота	13,19	338,44
4.	Міртенол	17,37	307,92
5.	Гумулен, каріофілен*	15,86	299,07
6.	(E,Z)-1,3-циклододекадієн	20,33	258,52
7.	Етил лактат	11,69	207,26
8.	Метилевгенол	19,69	194,20
9.	α -Терпінеол	16,25	188,01
10.	γ -Терпінен	14,47	183,71
11.	Міртеніл-2-метилбутират	17,92	157,08
12.	Гераніл пропіонат	16,91	151,08
13.	Дегідросабінен	15,67	134,60
14.	Бензиловий спирт	18,32	132,30

Продовження таблиці 5.7

1	2	3	4
15.	Ізоаміловий спирт	15,24	125,89
16.	Мурашина кислота	13,98	125,26
17.	Фурал	13,4	113,33
18.	Хотатрієнол	15,2	112,83
19.	Ізомасляна кислота	14,7	98,06
20.	Каріофілен (α -Гумулен)*	14,93	81,01
21.	Гідросорбінова кислота	19,08	72,13
22.	Етил (Z)-3-гексеноат	10,79	64,73
23.	Бутирілактон	15,57	62,26
24.	7 α -Метиліндандіон	19,74	40,41
25.	Етилбутилацетат, етил гексеноат	9,52	35,78
26.	<i>Транс</i> - β -іонон	18,94	34,84
27.	<i>Транс</i> -2-гексенал	9,42	33,76
28.	Етилсукцинат	16,03	32,99
29.	<i>Транс</i> -міртенілацетат	16,85	32,42
30.	Тетрагідропіранілдіетиленгліколь	16,42	31,84
31.	β -Цимен	10,01	27,67
32.	(E)-2-гексенова кислота	19,19	24,76
33.	D-лімонен	8,46	24,74
34.	1,1,5-триметил-1,2-дигідронафталін	16,82	23,87
35.	Ізоелеміцин	23,29	23,66
36.	Циклофенчер	11	17,12
37.	Фенілетанол	18,78	1,56
Загальний вміст			6117,12

Примітка. * – сполуки є ізомерами

Отримані дані виявили 36 (1 – в ізомерному стані) біологічно активні сполуки (рис. 5.14). Загальний вміст летких сполук становив 6117,12 мкг/г, з абсолютним домінуючим компонентом – міртенілацетатом (1620,16 мкг/г), який разом з міртенолом (307,92 мкг/г) та *транс*-міртенілацетатом (32,42 мкг/г) утворює специфічний профіль сировини. Високий вміст естерів міртенолу вказує на те, що процеси естерифікації в листях рослин природної популяції були інтенсивними. Також багато монотерпенових спиртів та вуглеводнів, а саме ліналоол (703,84 мкг/г), α -терпінеол (188,01 мкг/г), γ -терпінен (183,71 мкг/г) та D-лімонен (24,74 мкг/г). Наявність метилевгенолу (194,20 мкг/г) та ізоелеміцину (23,66 мкг/г) свідчить про наявність фенілпропаноїдних структур, які підвищують антисептичну ефективність екстракту.

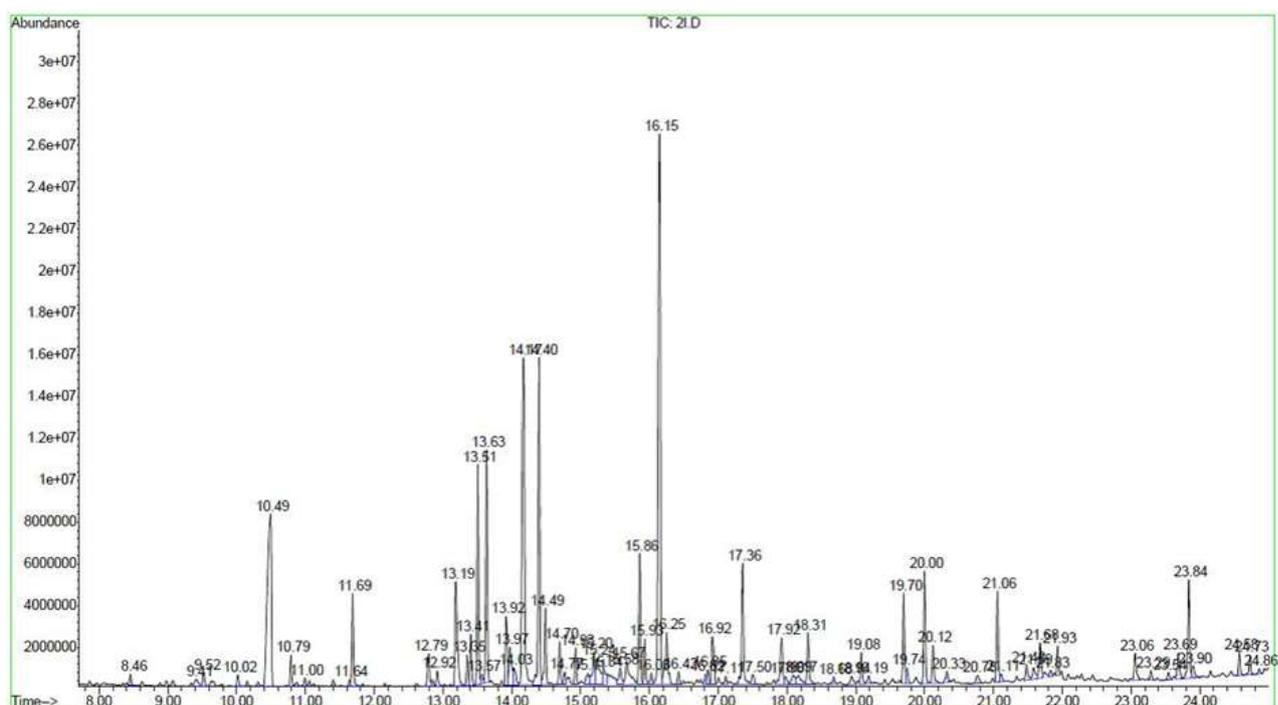


Рисунок 5.14 – ГХ/МС летких сполук густого екстракту *M. communis* (*in vivo*)

Іншими важливими елементами у складі летких сполук є сесквітерпеноїди, які представлені ізомерами гумулену та каріофілену (разом 380,08 мкг/г) та (E,Z)-1,3-циклододекадієном (258,52 мкг/г). Ці сполуки мають протизапальні та фітонцидні властивості.

У складі виявлено комплекс низькомолекулярних органічних кислот (оцтова, мурашина, ізомасляна, (Е)-2-гексенова), загальний вміст яких суттєво впливає на рН середовища та стабільність екстракту.

Встановили, що терпени становлять 62,5 %, з яких оксигенвані монотерпени склали 50,4 %, далі йдуть сесквітерпенові вуглеводні з кількісним вмістом 6,5 % та монотерпенові вуглеводні – 5,6 %. Вміст ароматичних вуглеводнів склав 1,4 %, естерів – 9,2 %, спиртів – 4,3 %, ефіроспиртів – 0,5 %, тоді як інші класи показали відносний відсоток 22,2 %.

Таблиця 5.8 показує результати аналізу компонентного складу густого екстракту *Myrtus communis*, вирощеного *in vitro*, де було виявлено 29 летких сполук (3 в ізомерному стані).

Таблиця 5.8 – Якісний та кількісний вміст летких сполук у густому екстракті *M. communis*, вирощеному в умовах *in vitro* (ГХ/МС)

№	Назва сполук	Час утримування, хв	Вміст, мкг/г
1	2	3	4
1.	Міртенілацетат	16,15	1240,93
2.	Ліналоол	14,41	743,90
3.	Евкалиптол, 1,8-цинеол	8,88	471,33
4.	<i>Транс</i> -2-гексенал	9,35	252,14
5.	Бензиловий спирт	18,32	165,85
6.	Міртенол	17,37	151,65
7.	Мурашина кислота	13,98	112,57
8.	<i>Цис</i> -3-гексенол	12,2	96,77
9.	α -Терпінеол	16,25	89,93
10.	Гумулен, каріофілен*	15,89	83,51
11.	Оцтова кислота	13,19	77,61
12.	D-лімонен	8,46	71,74

Продовження таблиці 5.8

1	2	3	4
13.	<i>Цис</i> -пінокарвеол	17,94	49,67
14.	<i>o</i> -Цимен	10,12	66,27
15.	2-метилпропіл 2-метилбутират*	8,34	48,42
16.	Метилевгенол	19,69	46,20
17.	2-метилпропіл 2-метилбутират*	6,57	36,07
18.	Каріофілен (α -гумулен)*	14,93	34,91
19.	Фенілетанол	18,78	33,25
20.	Міртеніл-2-метилбутират	15,7	29,78
21.	Ізоамілізобутират	8,77	26,45
22.	Міртеніл ізовалерат	16,96	25,38
23.	Гідросорбінова кислота	19,08	23,41
24.	2-(<i>Z</i>)-пентенол	11,24	20,52
25.	1-Бутанол	8,28	19,72
26.	γ -Терпінен	9,52	18,97
27.	Терпінеол-4	15,12	16,26
28.	Ацетоїн	10,75	15,56
29.	Етилліналоолоксидкарбонат*	13,02	14,82
30.	<i>Транс</i> -міртенілацетат	16,85	14,12
31.	Етилліналоолоксидкарбонат*	13,41	11,14
32.	Хотатрієнол	15,2	8,75
Загальний вміст			4117,58

Примітка. * – сполуки є ізомерами

Загальна концентрація ідентифікованих летких компонентів у зразку (*in vitro*) становила 4117,58 мкг/г. Найвищий вміст також мав міртенілацетат (1240,93 мкг/г). Значну частину також становив монотерпеноїд ліналоол

(743,90 мкг/г), концентрація якого залишається на високому рівні, надаючи потенційну антисептичну дію фітосубстанції (рис. 5.15).

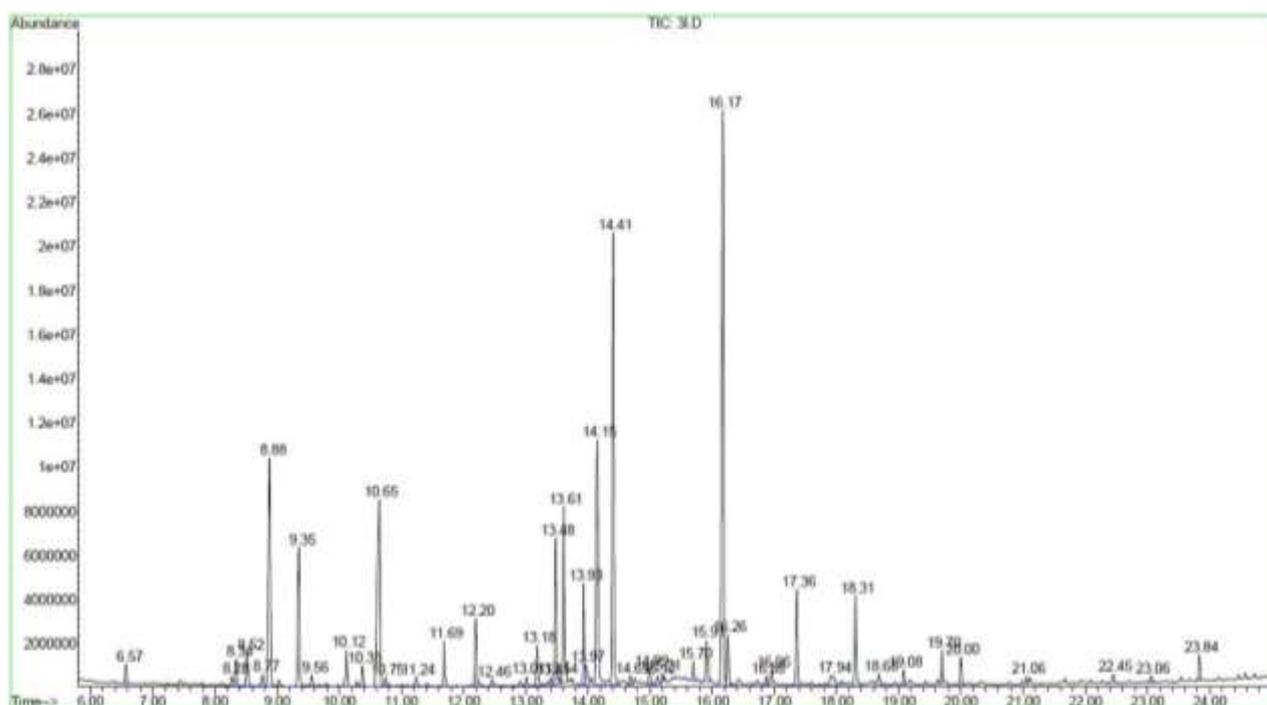


Рисунок 5.15 – ГХ/МС летких сполук густого екстракту *M. communis* (*in vitro*)

Характерною особливістю зразка (*in vitro*) був багатий вміст евкаліптолу (1,8-цинеол) – 471,33 мкг/г; ця сполука є фармакологічно активною і її висока частка у субстанції *in vitro* підтверджує, що циклізація та окислення монотерпенових попередників були інтенсифіковані в штучному середовищі.

Цей екстракт містив значну кількість ліпідних та вуглеводних метаболітів, а саме *транс*-2-гексенал (252,14 мкг/г) та *цис*-3-гексенол (96,77 мкг/г). Існування таких речовин часто відповідає умовам вирощування рослинних тканин *in vitro*. Також були ідентифіковані кілька ефірних похідних (2-метилпропіл 2-метилбутірат та інші), що розширює якісний спектр леткої фракції. Спектр сполук доповнюється бензиловим спиртом (165,85 мкг/г), фенілетанолом (33,25 мкг/г) та метилевгенолом (46,20 мкг/г). Ізомери каріофілен та гумулен (загалом 118,42 мкг/г) – це сесквітерпенові сполуки, які можна спостерігати як представники мевалонатного шляху біосинтезу.

На хроматограмі компонентів міртенілацетат має час утримання 16,17 хв, ліналоол – 14,41 хв та евкалиптол – 8,88 хв (рис. 5.14, 5.15).

На основі аналізу компонентів густого екстракту мирту, культивованого мікроклональним розмноженням, було встановлено, що основна складова летких сполук – це з терпени (73,7 %); з яких оксигеновані монотерпени склали 68,7 %, за ними слідували сесквітерпенові вуглеводні (2,9 %) та монотерпенові вуглеводні (2,2 %). Кількість ароматичних вуглеводнів становила 1,95 %, спирти – 8,2 %, естери – 2,7%, а інші класи сполук – 13,4 %.

Проведене порівняння вказує на те, що хоча екстракт листя мирту, вирощеного в природних умовах, мав кількісну перевагу більшості компонентів, екстракт *in vitro* мав багатший якісний склад, зокрема завдяки наявності евкалиптолу та високому вмісту ліналоолу. Це свідчить про те, що густий екстракт, отриманий з біомаси, вирощеної мікроклональним розмноженням, може мати вищі антисептичними властивостями.

5.3 Визначення гострої токсичності

Для оцінки безпеки препарату та визначення класу токсичності вироблених фітосубстанцій було проведено дослідження гострої токсичності за методом «ліміт-тесту» (OECD Test Guideline 425) з пероральним введенням щурам. Експериментальна цільова доза обох екстрактів становила 2000 мг/кг маси тіла.

Під час першої фази ми не зафіксували випадків загибелі тварин (0/3) при пероральному введенні 20% розчину густого екстракту мирту звичайного, отриманого з природної сировини (Р-н ГЕМЗ *in vivo*). Порівнянне введення 20 % розчину густого екстракту *in vitro* (Р-н ГЕМЗ *in vitro*) спричинило одну смерть з трьох осіб (1/3) (таблиця 5.9).

Таблиця 5.9 – Показники смертності тварин в досліджених групах

Назва препарату	Група введення	Кількість тварин в групі	Кількість загиблих тварин
Р-н ГЕМЗ <i>in vivo</i>	I група введення	3	0
	Група контрольного введення	3	0
Р-н ГЕМЗ <i>in vitro</i>	I група введення	3	1
	Група контрольного введення	3	0

На другому етапі в групі, що отримувала обидва екстракти в дозі 2000 мг/кг, не було летальних або морибундних випадків тварин (0/3). У результаті загальна летальність екстракту (*in vivo*) становила 0/6, що дозволяє визначити показник середньої летальної дози, такий як $LD_{50} \geq 5000$ мг/кг.

Для густого екстракту мирту, отриманого мікроклональним розмноженням, загальна летальність становить 1/6 (одна загибла тварина з шести, протестованих при дозі 2000 мг/кг), що, згідно з поточними методологічними рекомендаціями в цій галузі, свідчить про те, що значення LD_{50} знаходиться в діапазоні 2000-5000 мг/кг. Ізольована летальність може бути приписана синергетичному ефекту, а саме залишків вмісту поживного середовища або індивідуальної чутливості тварини на високі концентрації ГКК (кофейної, синапової) в культурі *in vitro*.

На основі аналізу отриманих даних можна зробити висновок, що обидва густі екстракти належать до V класу (класифікація токсичності – практично нешкідливі) і тому можуть використовуватися у складі лікарських засобів. Проведення аналізу при дозі 5000 мг/кг зазвичай не рекомендується виходячи з біоетичних норм [199].

5.4 Визначення протизапальної активності

Запалення – це складна реакція організму, яка є як захисним механізмом, так і проявом адаптації проти дії патогенних подразників (як екзогенних, так і ендогенних). Запалення розвивається як динамічний процес з чіткою послідовністю трьох фаз: альтерація (пошкодження структур), ексудація (виведення рідкої частини крові та клітин у навколишні тканини) та проліферація (регенерація та відновлення) [31, 83, 170, 235, 243]. Серотонін є одним з основних медіаторів ранньої фази запалення. Його механізм дії полягає у різкому розширенні судин передкапілярних артеріол, скороченні ендотеліальних клітин венул та гострій судинній проникності, що призводить до раннього розвитку місцевого набряку [142, 241, 270].

Різні флогогенні агенти надають можливість диференціації механізмів протизапальної дії. Модель серотонінового набряку також є особливим біотестом для визначення антиексудативної активності на ранній фазі запалення. Класичні НПЗП (наприклад, ібупрофен) виявляються неефективними в цій моделі, оскільки її патогенез відносно мало залежить від синтезу простагландинів. Це дозволяє ідентифікувати сполуки, які не мають ефекту інгібування циклооксигенази.

В таблиці 5.10 представлені результати дослідження впливу густих екстрактів листя мирту звичайного, вирощеного *in vivo* (ГЕМЗ *in vivo*) та *in vitro* (ГЕМЗ *in vitro*), на розвиток серотонінового набряку, в порівнянні з ібупрофеном.

Серотонін, введений підшкірно в лапу тварин контрольної групи, викликав значний набряк. Тварини, які отримували густий екстракт мирту, вирощеного в умовах *in vivo*, відмічалось зменшення набряку на 33,55 %, а з введенням густого екстракту *M. communis*, вирощеного *in vitro*, набряк зменшився на 35,69 %. Порівняльний препарат ібупрофен виявив антиексудативну активність – 42,11 %.

Таблиця 5.10 – Вплив на розвиток серотонінового набряку у щурів
($M \pm m$, $n=5$)

Група тварин	Доза, мг/кг	Приріст об'єму лапи, мл	Антиексудативна активність, %
Контроль	-	8,56±0,47	-
ГЕМЗ <i>in vivo</i>	100	5,69±0,46*	33,55
ГЕМЗ <i>in vitro</i>	100	5,51±0,67*	35,69
Ібупрофен	25	4,96±1,53*	42,11

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою

Коли контрольній групі ввели 0,5 % розчинин серотоніну, було виявлено значне збільшення рівня С-реактивного білка (збільшено до 4,82 мг/л \pm 0,23 мг/л) Це в 4 рази більше, ніж значення інтактної групи (1,20 мг/л \pm 0,10 мг/л), що означає активацію системної запальної відповіді. Рівень ТБК-АП також суттєво збільшився – до 6,90 нмоль/мл \pm 0,35 нмоль/мл, на відміну від 2,20 нмоль/мл \pm 0,14 нмоль/мл у нормальних тварин, що свідчить про початок підвищеного окислювального стресу та пероксидації ліпідів – основного фактора, що призводить до пошкодження при ексудації.

У контрольній групі спостерігалось зниження загального білка до 60,20 г/л \pm 2,31 г/л (–17 %) та альбуміну до 30,60 г/л \pm 2,65 г/л (–20 %), що може бути зумовлено як порушенням білкової синтетичної функції печінки, так і ексудацією білків у тканинах при набряку (табл. 5.11).

Таблиця 5.11 – Зміна лабораторних показників у тварин при серотоніновому набряку ($M \pm m$, $n=5$)

Група	С-реакт. білок мг/л	ТБК-АП, нмоль/мл	Загальний білок, г/л	Альбумін, г/л
1	2	3	4	5
Інтактні тварини	1,20 \pm 0,10	2,20 \pm 0,14	72,62 \pm 2,07	38,40 \pm 1,50

Продовження таблиці 5.11

1	2	3	4	5
Контрольна група	4,82 ± 0,23	6,90 ± 0,35	60,20 ± 2,31	30,60 ± 2,65
	100 %	100 %	100 %	100 %
ГЕМЗ <i>in vivo</i>	2,34 ± 0,23*	3,22 ± 0,33*	68,40 ± 2,58*	35,20 ± 1,72*
	-51,45 %	-53,33 %	13,62 %	15,03 %
ГЕМЗ <i>in vitro</i>	2,26 ± 0,21*	3,00 ± 0,28*	69,80 ± 2,32*	35,60 ± 3,44*
	-53,11 %	-56,52 %	15,95 %	16,34 %
Ібупрофен	2,58 ± 0,24*	3,60 ± 0,40*	67,20 ± 3,54*	34,20 ± 1,72*
	-46,47 %	-47,83 %	11,63 %	11,76 %

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою

Під впливом досліджуваних відзначено достовірне зниження рівнів маркерів запалення та оксидативного стресу порівняно з контрольною групою. Найбільш виражену дію проявив густий екстракт мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vitro*: зниження С-реактивного білка на 53,11 %, ТБК-АП – на 56,52 %, із одночасним підвищенням загального білка та альбуміну на 15,95 % і 16,34 % відповідно. А густий екстракт листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo*, в свою чергу, зменшив рівень С-реактивного білка на 51,45 % (2,34 мг/л ± 0,23 мг/л) та ТБК-АП на 53,33 %, водночас сприяв підвищенню загального білка на 13,62 % і альбуміну на 15,03 %. Для порівняння, ібупрофен знижував С-реактивний білок на 46,47 %, ТБК-АП на 47,83 %, а підвищення білкових показників становило 11,63 % для загального білка і 11,76 % для альбуміну.

З отриманих даних видно, що сильна антиексудативна активність густих екстрактів мирту звичайного, вирощених в природних умовах і мікроклональним

вирощуванням, еквівалентна референтному препарату ібупрофену. Зокрема, на моделі серотонінового набряку визначено, що ефективність протизапальної відповіді для досліджуваних об'єктів становила 33,55 % та 35,69 % відповідно.

Ця модель є специфічною для виявлення агентів, що мають антисеротонінову активність. Густі екстракти листя мирту звичайного виявили високу активність, і тому механізм їх протизапальної активності, ймовірно, включає протизапальні ефекти на серотонінові рецептори та/або інгібування вивільнення серотоніну.

На моделі серотонін-індукованого набряку густі екстракти мирту звичайного виявили чітку антиексудативну активність, яка не слабшала і частково перевершувала ефект ібупрофену на наших тестованих випадках. Це підтверджується значним зниженням рівнів С-реактивного білка та продуктів перекисного окислення ліпідів і відновленням вмісту білка в крові. Отримані результати свідчать про потенціал густого екстракту *M. communis* як перспективного протизапального та (можливо) судинно-протекторного засобу. Статистичної відмінності антиексудативної дії між екстрактами не виявлено.

5.5 Визначення антимікробної та протигрибкової активності

Антимікробна дія рослинних екстрактів є ключовим критерієм обґрунтування їх терапевтичного застосування, оскільки синергічна взаємодія ГКК, флавоноїдів та специфічних летких компонентів (зокрема міртенілацетату та евкаліптолу) здатна забезпечувати виражений бактерицидний або фунгістатичний ефекти. З метою порівняльної оцінки біологічної активності густих екстрактів мирту звичайного, отриманих із сировини, яка вирощена в умовах *in vivo* та біомаси мікроклонального походження (*in vitro*), проведено визначення чутливості еталонних тест-штамів методом дифузії в агар.

Методика базувалася на вимірюванні діаметрів зон інгібування росту навколо лунок із точністю до 1 мм. Для інтерпретації результату використовувалася загальна шкала з зонами до 10 мм, що вказують на нечутливість культури, 11-15 мм – помірну чутливість, 15-25 мм – виражену антимікробну дію, а понад 25 мм – високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваної субстанції.

Включення у дослідження штамів грампозитивних бактерій (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*), грамнегативних патогенів (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) та дріжджоподібних грибів (*Candida albicans*) дозволило всебічно оцінити широту антимікробного спектра дії препаратів.

Аналіз результатів порівняльного дослідження антимікробної активності густих екстрактів *M. communis* свідчить про наявність вираженого антибактеріального та фунгістатичного ефекту в обох досліджуваних зразках із суттєвим переважанням активності екстракту сировини, вирощеної в умовах *in vitro*, стосовно певних груп патогенів

Найбільшу чутливість до дії екстрактів виявили грампозитивні мікроорганізми, при цьому густий екстракт мирту, вирощеного в умовах *in vitro*, продемонстрував достовірно вищу ефективність порівняно зі зразком (*in vivo*). Зокрема, для тест-штамів *S. aureus* та *B. subtilis* спостерігалось статистично значуще збільшення зон інгібування росту до 24,67 мм та 27,33 мм відповідно, що підтверджується високими значеннями t-критерію Стюдента ($t_1 = -5,30$ та $t_2 = -10,00$ при $p < 0,05$).

У відношенні до грамнегативної флори, представленої *E. coli* та *P. aeruginosa*, а також дріжджоподібних грибів *C. albicans*, обидва об'єкти виявили стабільно помірну антимікробну дію з діаметрами зон затримки росту в межах 16,34-19,33 мм. Хоча показники середнього значення зон інгібування густого екстракту листя мирту, вирощеного в умовах *in vitro*, були вищими, ніж у екстракті *in vivo*, ця різниця може бути пояснена лише випадковими коливаннями, а не справжнім підвищенням активності ($p > 0,05$) (табл.5.12).

Таблиця 5.12 – Результати дослідження чутливості мікроорганізмів до густих екстрактів *M. communis*

Об'єкт	Культури мікроорганізмів				
	<i>S. aureus</i> ATCC 29213/NCITC129735	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653
	Діаметри зон затримки росту, мм				
ГЕМЗ <i>in vivo</i>	19,67 ± 2,87*	17,34 ± 3,80*	16,34 ± 1,43	16,67 ± 1,43	17,33 ± 1,43
ГЕМЗ <i>in vitro</i>	24,67 ± 2,87*	27,33 ± 1,43*	17,33 ± 1,43	17,67 ± 1,43	19,33 ± 3,80
	t ₁ = -5,3 p < 0,05	t ₂ = -10 p < 0,05	t ₃ = -1,73 p > 0,05	t ₄ = -1,73 p > 0,05	t ₅ = -2,12 p > 0,05

Примітка: * – t-критерій Стьюдента, $p < 0,05$

Отже, статистично значуща перевага густого екстракту мирту, отриманого з рослин, вирощених *in vitro*, проти грампозитивних бактерій доказує перспективність використання мікроклонального розмноження для отримання фітосубстанцій з посиленою антибактеріальною дією.

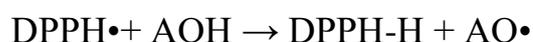
5.6 Вивчення антирадикальної активності

Старіння – це динамічний процес, що показує клітинну реакцію на стрес, і відзначається накопиченням старіючих клітин, що призводить до порушення

клітинного гомеостазу та розвитку вікових захворювань. Активні форми кисню є важливими для цілісності тканин; однак їх надмірний ріст пов'язаний з багатьма захворюваннями та пошкодженням клітин [88, 173]. У цьому аспекті природні молекули для нейтралізації вільних радикалів стають все більш цінними як варіант антиоксидантів, які діють на вільні радикали, щоб нейтралізувати їх і захистити організм від окислювального стресу.

M. communis є джерелом природних антиоксидантів завдяки активності вторинних метаболітів. Фітохімічний аналіз показав у густих екстрактах мирту наявність фенольних сполук, таких як флавоноїди, гідроксикоричні кислоти та інші поліфеноли. Тому ми вважали за необхідне проаналізувати АРА густого екстракту мирту звичайного, вирощеного *in vivo* та *in vitro*.

Антиоксидантна активність густих екстрактів *M. communis* була оцінена за допомогою стабільного вільного радикалу DPPH. DPPH змінює забарвлення від фіолетового до жовтого при взаємодії з антиоксидантом, за вказаними реакціями:



Підхід DPPH – це реакція з донорами електронів або радикалами водню (H) для утворення антиоксидантних сполук. Встановлено, що захоплення вільних радикалів прямо пропорційне зростанню антиоксидантів в екстрактах, а зниження DPPH відповідно пропорційне кількості антиоксиданту в реакційній суміші [52]. Інгібування радикала DPPH густими екстрактами мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro* (рис. 5.16) залежало від концентрації. Відсоток інгібування вільних радикалів у густому екстракті при різних концентраціях (200 мкг/мл, 400 мкг/мл, 600 мкг/мл, 800 мкг/мл, 1000 мкг/мл) коливався між 75,9 % ± 0,09 % та 85,92 % ± 0,11 % (*in vivo*) і 71,42 % ± 0,05 % та 85,92 % ± 0,06 % (*in vitro*).

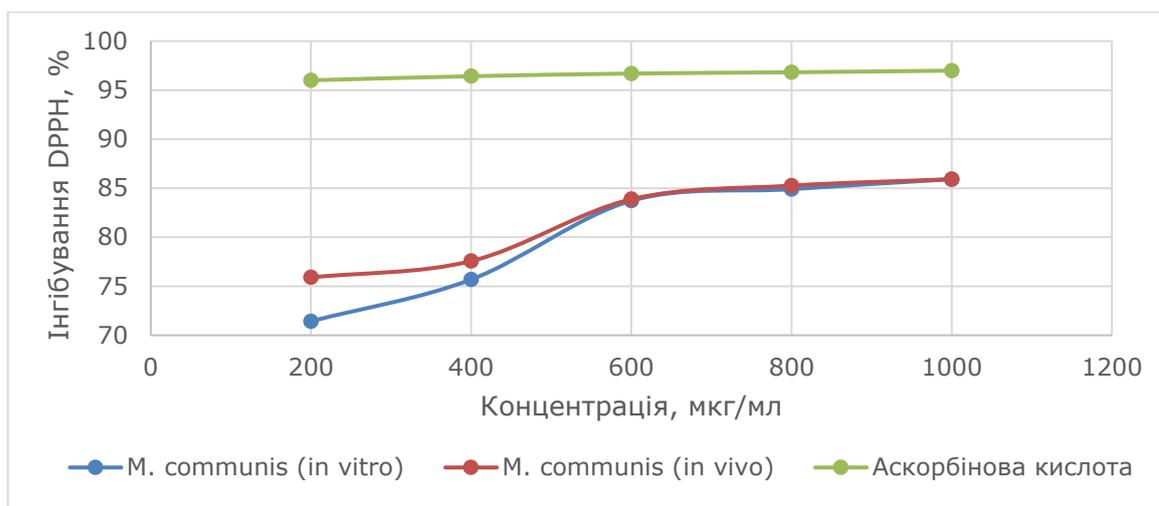


Рисунок 5.16 – Діаграма показників антиоксидантної активності густих екстрактів *M. communis*

Очікувана антиоксидантна активність для обох екстрактів підтверджена в таблиці 5.13.

Таблиця 5.13 – Показники антиоксидантної активності густого екстракту *M. communis*

Об'єкт	IC ₅₀ , мкг/мл	АРА	АКЕ
ГЕМЗ <i>in vivo</i>	2,14	0,47	0,62
ГЕМЗ <i>in vitro</i>	2,26	0,44	0,58
Аскорбінова кислота	1,31	0,76	1

IC₅₀ густого екстракту мурту звичайного становила 2,14 мкг/мл, тоді як для екстракту мирту, вирощеного мікроклональним розмноженням, цей показник становив 2,26 мкг/мл. Для порівняння, IC₅₀ аскорбінової кислоти – 1,31 мкг/мл. АКЕ густого екстракту *M. communis*, вирощеного в умовах *in vivo*, був трохи вищим (0,62 мкг), ніж у екстрактів, отриманих мікроклональним розмноженням (0,58 мкг). Це вказує на те, що обидва екстракти *M. communis* демонструють значний антиоксидантний ефект.

5.7 Стандартизація мирту звичайного листя екстракту густого

Проект МКЯ

МИРТУ ЗВИЧАЙНОГО ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ *MYRTI COMMUNIS EXTRACTUM SPISSUM*

Екстракт одержано із листя мирту звичайного (*Myrtus communis* L.).

Вміст

– флавоноїди – не менше 3,50 %, у перерахунку на кверцетин $C_{15}H_{10}O_5$; М.м. 302,2), у перерахунку на суху сировину;

– гідроксикоричні кислоти – не менше 2,50 %, у перерахунку на хлорогенову кислоту ($C_{16}H_{18}O_9$; М.м. 354,30), у перерахунку на суху сировину.

ВИРОБНИЦТВО

Екстракт виготовляють із 1 частини знежиреної сировини з використанням етанолу Р (70 %, об/об) до одержання 5 частин готового продукту за допомогою ремацерації із подальшим концентруванням під вакуумом.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. В'язка маса темно-коричневого кольору з характерним бальзамічним запахом.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Тонкошарова хроматографія

Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії (2.2.27), ТШХ пластинки із шаром силікагелю Р.

Випробовуваний розчин. 0,1 г екстракту розчиняють у 10 мл 70 % етанолу Р, нагрівають на водяній бані за температури 65 °С протягом 5 хв, перемішуючи, охолоджують і фільтрують.

Розчин порівняння. 1,0 мг кверцетину Р та 1,0 мг кислоти хлорогенової Р розчиняють у метанолі Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Пластинка. ТШХ пластинка з шаром силікагелю Р.

Рухома фаза1: етилацетат Р - кислота мурашина Р - кислота ацетатна Р - вода очищена Р (100:11:11:27).

Об'єм проб: 10 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 12 см від лінії старту.

Висушування: за температури 100-105 С.

Виявлення: Пластинку висушують у витяжній шафі і розглядають при денному та УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм до і після обробки амонію гідроксидом та обробки 1 % спиртовим розчином алюмінію хлориду Р (для посилення флуоресценції пластинку можна додатково витримати в парах розчину амонію гідроксиду).

Результати: При перегляді хроматограми при денному світлі до обробки реактивами у випробовуваному розчині виявляється зона жовтого кольору на рівні кверцетину, тоді як після обприскування пластинки 1 % спиртовим розчином алюмінію хлориду та огляду в УФ-світлі (365 нм) спостерігається чітка диференціація компонентів: у середній частині пластинки проявляється зона з інтенсивною блакитною флуоресценцією, що за розташуванням і кольором відповідає хлорогеновій кислоті, а у верхній третині – зона з яскравою жовто-зеленою флуоресценцією, ідентична зоні кверцетину на хроматограмі розчину порівняння, при цьому допускається наявність інших флуоресціюючих зон, що підтверджує характерний поліфенольний склад екстракту.

ВИПРОБОВУВАННЯ

Сухий залишок. Не менше 75,0 % (ДФУ 2.8.16).

Важкі метали. Вміст важких металів не повинен перевищувати 0,01 % (ДФУ 2.4.8).

Мікробіологічна чистота. В 1 г препарату може бути виявлено не більше 500 бактерій і 40 дріжджових та пліснявих грибів (у сумі). Не допускається наявність бактерій *Esherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*, бактерій роду *Salmonella* (ДФУ 5.1.4).

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

1. Флавоноїди

Кількісне визначення суми флавоноїдів проводити спектрофотометричним методом за реакцією комплексоутворення з алюмінію хлоридом у перерахунку на кверцетин. Методика базується на загальних принципах ДФУ (монографія «Берези листя») з оптимізацією умов екстракції та довжини хвилі (430 нм) для даної сировини.

Вихідний розчин. Близько 0,1 г (точна наважка) густого екстракту мирту звичайного вміщують у мірну колбу місткістю 50 мл. Додають 30 мл 70 % етанолу і витримують на ультразвуковій бані протягом 10-15 хвилин (або помірно нагрівають на водяній бані при температурі 50-60 °С) до повного розчинення екстракту. Після охолодження об'єм розчину доводять до позначки тим самим розчинником та ретельно перемішують. Розчин фільтрують через паперовий фільтр, відкидаючи перші 10 мл фільтрату (розчин А).

Випробовуваний розчин. В мірну колбу місткістю 25 мл переносить 2 мл розчину А, 2 мл 2 % розчину алюмінію хлориду в 95 % етанолі та доводить об'єм розчину 95 % етанолом до мітки.

Компенсаційний розчин. 2,0 мл розчину А доводить етанолом Р (95 %, об/об) до об'єму 25,0 мл.

Через 40 хвилин вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 430 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст флавоноїдів у перерахунку на кверцетин і абсолютно суху сировину (X, %) розраховують за формулою 5.1:

$$X = \frac{A \times 100 \times 625 \times 100}{A_{1\text{ см}}^{1\%} \times m_n \times (100-W)}, \quad (5.1)$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

$A_{1\text{ см}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання комплексу кверцетину з алюмінію хлоридом за довжини хвилі 430 нм (764,6);

m_n – маса наважки густого екстракту, г;

W – втрата в масі при висушуванні у густому екстракті, г.

Кількісний вміст суми флавоноїдів, визначений спектрофотометричним методом, має бути не менше 3,50 %.

2. Гідроксикоричні кислоти

Визначення кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот проводити згідно з методикою ДФУ 2.0.3, яка наведена у монографії «Кропиви листя».

Вихідний розчин. 0,15 г (точна наважка) густого екстракту мирту звичайного вміщують у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 60 мл етанолу Р (50 %, об/об), нагрівають на водяній бані протягом 10-15 хвилин до повного розчинення екстракту, охолоджують до кімнатної температури. Доводять об'єм розчину етанолом Р (50 %, об/об) до позначки, перемішують. Одержаний розчин фільтрують крізь складчастий паперовий фільтр.

Випробовуваний розчин. 1,0 мл вихідного розчину вміщують в мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додають, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину кислоти хлоридної, 2 мл свіже приготованого розчину 10 г натрію нітриту Р і 10 г натрію молібдату Р у 100 мл води очищеної Р, 2 мл натрію гідроксиду розчину розведеного Р, доводять об'єм розчину водою Р до позначки та перемішували.

Компенсаційний розчин. 1,0 мл вихідного розчину вміщують в мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додають, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину кислоти хлоридної та 2 мл натрію гідроксиду розчину розведеного Р, доводять об'єм розчину водою Р до позначки та перемішують. Відразу вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст суми ГКК (X, %), у перерахунку на хлорогенову кислоту у відсотках, обчислюють за формулою 5.2:

$$X = \frac{A \times 1000 \times 100}{188 \times m \times (100 - W)}, \quad (5.2)$$

де A – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм;

m – маса наважки густого екстракту, г;

188 – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти;

W – втрата в масі при висушуванні у густому екстракті, г.

Кількісний вміст суми похідних гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту, визначений спектрофотометричним методом, має бути не менше 2,50 %.

ПАКУВАННЯ

У чистих темних скляних банках по 100 г з гвинтовими шийками та пластиковими гвинтовими кришками.

МАРКУВАННЯ (ТЕКСТ ЕТИКЕТКИ)

На етикетці вказано назву продукту латинською та українською мовами, назву та місцезнаходження, телефон постачальника та торгову марку, вагу речовини, реєстраційний номер, номер партії (серії) та термін придатності.

ЗБЕРІГАННЯ

Зберігати в сухому, добре провітрюваному приміщенні, у щільно закритих контейнерах, захищених від світла, при температурі не вище 8-15 °С.

Висновки до розділу 5

1. Густі екстракти листя *M. communis*, отримані екстракцією 70 % етанолом, містять широкий спектр біологічно активних речовин: вуглеводи, амінокислоти, флавоноїди, гідроксикоричних кислоти та леткі сполуки.

2. Густий екстракт мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo*, характеризується вищим загальним вмістом вуглеводів і амінокислот порівняно з екстрактом *in vitro*, тоді як для мікроклонально вирощених рослин встановлено

зростання частки манози та галактози, що свідчить про адаптацію метаболізму до умов культивування.

3. Загальний вміст флавоноїдів і ГКК у досліджуваних екстрактах є високим і співставним, однак виявлено істотні відмінності у профілях індивідуальних сполук. Компонентами з найбільшим вмістом є рамнетин та галова кислота. Особливістю екстракту *in vitro* є поява кофейної кислоти.

4. Незважаючи на кількісне домінування екстракту листя мирту, вирощеного в природних умовах, за вмістом більшості компонентів, екстракт *in vitro* має унікальний якісний профіль, безпосередньо завдяки наявності евкалиптолу та високому вмісту ліналоолу. В обох екстрактах головною сполукою був міртенілацетат.

5. Обидва екстракти практично нетоксичні (V клас токсичності за OECD №425) і виявляють виражені протизапальні, антиоксидантні та антимікробні властивості. Екстракт *in vitro* показав підвищену активність проти грампозитивних бактерій.

6. Розроблено проєкт МКЯ на «Мирту звичайного листя екстракт густий» зі стандартизацією за вмістом суми флавоноїдів і похідних гідроксикоричних кислот та ідентифікацією методом ТШХ.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Matsehorova O. Ye., Odyntsova V. M., & Mykhailiuk Ye. O. (2025). Comparative study of anti-inflammatory activity and acute toxicity of thick *Myrtus communis* L. leaf extracts cultivated *in vivo* and *in vitro*. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 18(3), 271–277. DOI: 10.14739/2409-2932.2025.3.340983.

2. Антиоксидантна активність густих екстрактів *Myrtus communis*, отриманих методами *in vivo* та *in vitro*. VII Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні

та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження», 11 квітня 2025 р., м. Харків. с. 149–151.

Мацегорова О. Є., Одинцова В. М., Количева Н. Л., & Михайлюк Є. О. (2025). Порівняльна оцінка біологічної активності та гострої токсичності густих екстрактів листя *Myrtus communis* L. *Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2025», 20-21 листопада 2025 р., м. Запоріжжя. с. 93–94.*

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та практичне вирішення наукового завдання, спрямованого на пошук нових джерел БАР серед представників роду *Myrtus* із дотриманням принципів сталого розвитку шляхом використання біотехнологічних підходів, зокрема клонального мікророзмноження лікарських рослин. Дослідження виконано на основі комплексного порівняльного фармакогностичного аналізу мирту звичайного листя, вирощеного в природних умовах *in vivo* та методом мікроклонального розмноження в умовах *in vitro*. Робота спрямована на розробку науково обґрунтованих методів контролю якості лікарської рослинної сировини та одержання стандартизованих лікарських рослинних субстанцій для створення ефективних і безпечних лікарських засобів із протизапальною, протимікробною та антирадикальною активністю, що зменшує антропогенне навантаження на природні ресурси.

1. Проведено аналіз і узагальнено дані наукових джерел щодо морфології, хімічного складу та біологічної активності рослин роду *Myrtus*. Обґрунтовано перспективність використання листя мирту звичайного для отримання стандартизованих субстанцій із багатовекторною фармакологічною дією та доведено доцільність застосування біотехнологічних методів для створення відновлюваної сировинної бази.

2. За даними ГХ/МС, культивування *in vitro* інтенсифікує вуглеводний обмін, що проявляється у зростанні вмісту загальних моносахаридів до 70,7 мг/г (проти 45,0 мг/г *in vivo*). Натомість природна сировина вирізняється вищою активністю азотистого метаболізму (141,42 мг/г амінокислот проти 71,75 мг/г *in vitro*).

Спектрофотометрим методом визначено практично ідентичний вміст суми поліфенолів (~3,28 %), флавоноїдів (1,02 % (*in vivo*) та 0,82 % (*in vitro*)) та гідроксикоричних кислот (~0,60 %). У листі мирту, вирощеного в умовах *in vivo*,

загальний вміст флавоноїдів, визначений методом ВЕРХ становить 6101,18 мкг/г (*in vitro* – 3378,2 мкг/г), а гідроксикоричних кислот – 11552,0 мкг/г (*in vitro* – 9547,78 мкг/г). Разом з тим, біотехнологічне вирощування стимулює синтез летких сполук, загальний вміст яких зростає до 834,73 мкг/г (проти 603,35 мкг/г *in vivo*), з переважанням міртенілацетату (317,39 мкг/г), що є важливим хемотаксономічним маркером.

3. На основі комплексних морфолого-анатомічних досліджень та вперше проведеного ультраструктурного аналізу встановлено ключові діагностичні ознаки листя *Myrtus communis*. За допомогою трансмісійної електронної мікроскопії деталізовано будову секреторних вмістищ, що оточені метаболічно активними та старіючими клітинами з характерними змінами органел.

4. Розроблено та науково обґрунтовано проекти МКЯ на нову лікарську рослину сировину «Мирту звичайного листя». Встановлено критерії стандартизації, що включають макро- і мікроскопічні параметри, ТШХ-профілі фенольних сполук, кількісне визначення суми флавоноїдів та ГКК, а також визначення показників якості – вмісту золи, втрати при висушуванні та вмісту екстрактивних речовин.

5. Розроблено технологічну схему одержання густих екстрактів листя мирту звичайного методом ремацерації 70 % етанолом, що забезпечує стабільний вихід біологічно активних речовин із високим вмістом флавоноїдів (~5350 мкг/г) та фенолкарбонових кислот (~25,5 мг/г) в обох типах субстанцій. Методами фітохімічного аналізу встановлено, що густі екстракти із природної та біотехнологічної сировини містять вільні моносахариди (*in vivo* – 67,0 мг/г та *in vitro* – 53,5 мг/г), амінокислоти (13,53 мг/г та 7,36 мг/г) та леткі сполуки (6117,12 мкг/г та 4117,58 мкг/г) відповідно.

6. Вперше дослідженнями *in vivo* та *in vitro* доведено безпечність та високу фармакологічну ефективність густих екстрактів мирту звичайного. За результатами токсикологічних досліджень *in vivo* встановлено, що обидва екстракти належать до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини)

згідно з класифікацією GHS. На моделі серотонінового набряку доведено виражену антиексудативну активність субстанцій (33,55 % для зразка *in vivo* та 35,69 % для *in vitro*), що корелює з ефектом ібупрофену. Обидва зразки виявляють потужну антирадикальну здатність ($IC_{50} \sim 2,2$ мкг/мл) та антимікробну дію, при цьому екстракт *in vitro* продемонстрував вищу активність щодо грампозитивних мікроорганізмів.

7. Запропоновано параметри стандартизації густого екстракту, створено проєкт МКЯ «Мирту звичайного екстракт густий», який може бути впроваджений у фармацевтичній промисловості.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бородіна, Н. В., Ковальов, В.М., Кошовий, О.М., & Гамуля, О.В. (2019). Мікроскопічні дослідження пагонів *Salix cinerea* L. флори України. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*, 3(31), 276-84. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.3.184189>
2. Войцехівська, О.В., Ситар, О.В., & Таран, Н.Ю. (2015). Фенольні сполуки: різноманіття, біологічна активність, перспективи застосування. *Вісник ХНАУ*. Серія : Біологія, 1(34), 104-119. <https://repo.btu.kharkov.ua//handle/123456789/8346>
3. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., Т. 1. (2015). Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 1152.
4. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 2-е вид., Т. 3. (2014). Харків: ДП «Науково- експертний фармакопейний центр», 732.
5. Державна Фармакопея України / ДП «Науковоекспертний фармакопейний центр». 1-е вид. Доп. 4. (2011). Харків: РІРЕГ, 536.
6. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 1 вид., Доп. 2. (2008). Харків: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 620.
7. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доп. 2. (2018). Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 336.
8. Державна Фармакопея України. / ДП«Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Доп. 3. (2009). Харків: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 280.

9. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., доп. 1. (2016). Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 360.
10. Експериментальне (доклінічне) вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби (2001). Стефанов, О. В. (Ред.). *Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації)*. Київ: Авіценна. (с. 292-306).
11. Іосипенко, О. О., & Кисличенко, В. С. (2022). Дослідження моносахаридного складу листя кабачків методом ГХ/МС та визначення їх антимікробної активності. *Annals of Mechnikov's Institute*, 3, 32-37. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7070973>
12. Ковальов, В. М., & Марчишин, С. М. (2014). Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини. Тернопіль: *Укрмедкнига*, 264.
13. Кузнецова, В. Ю. (2020). Фармакогностичне дослідження джерел фенілпропаноїдів та розробка лікарських засобів на їх основі для лікування захворювань сечостатевої системи : дис. ... канд. фарм. наук. 15.00.02. Харків, 89.
14. Лабейко, М. А., Литвиненко, О. А., Любченко, Н. М., & Гладкий, Ф. Ф. (2019). Деякі аспекти щодо гідролізу хлорогенової кислоти, отриманої зі соняшникового шроту. *Інтегровані технології промисловості*, 2, 32-37. <https://doi.org/10.20998/%25x>
15. Лісова (Цикало), Т. О. (2021). Фармакогностичне дослідження видів роду Рижій (*Camelina Crantz*). : дис. ... канд. фарм. наук. Запоріжжя, 214.
16. Лісовська, Т. П., Кузьмішина, І.І., & Коцун, Л.О. (2015). Цитогенетичні основи розвитку організмів. Друк ПП Іванюк В.П., 52.
17. Лук'янова, О., & Кушнір, В. (2024). Порівняльна оцінка антибактеріальної ефективності синтетичних антисептиків та антисептиків на рослинній основі. *Аграрний вісник Причорномор'я*, (112), 73-76. <https://doi.org/10.37000/abbsl.2024.112.12>

18. Мельничук, М. Д., Ліханов, А. Ф., Коваленко, Т. М., & Ключадаєнко, А. А. (2022). Вторинні метаболіти та їх роль у системах адаптації і захисту рослин. Монографія. Вінниця: ВНАУ. Видавець ТОВ «Друк», 192.
19. Одинцова, А. (2023). Методика укладання опису морфо-анатомічної будови плоду за даними світлової мікроскопії. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*, 89, 3-19. <http://doi.org/10.30970/vlubs.2023.89.01>
20. Панасенко, О. І., Аксьонова, І. І., Десенко, О. М., Мозуль, В. І., & Головкін В. В. (2020). Дослідження хімічного складу айланту найвищого (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*, 13(3), 341-8. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.3.216188>
21. Попова, Н. В., Ткаченко, М. Ф., & Липовецький, П. В. (2014). Дослідження летких сполук цмину піскового. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*, 23(4), 363-369.
22. Реброва, О. Ю. (2006). Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica. *МедиаСфера*, 312 с.
23. Скороход, В. О. Промислова біотехнологія клонального мікророзмноження винограду в культурі *in vitro*. <http://www.ksau.kherson.ua/files/visnik/1998-4/TNV-1998-4-12.pdf>
24. Скринчук, О. Я. (2022). Фармакогностичне дослідження катрану серцелистого (*Crambe cordifolia* Stev.) і катрану коктебельського (*Crambe koktebelica* (Junge) N. Busch). дис. ... канд. фарм. наук. Тернопіль.
25. Солодовниченко, Н. М., Журавльов, М. С., & Ковальов, В. М. (2001). Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: Посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікарських рослин. Харків: Вид-во НФАУ: Золоті сторінки, 408 с.
26. Стадницька, Н. Є., Дякон, І. В., Болібрех, Л. Д., Місик, Ю. А. Т., Губицька, І. І., & Новіков, В. П. (2018). Настоянка першоцвіту весняного - джерело фенольних сполук з антиокислювальною активністю. *Вісник*

Національного університету «Львівська політехніка». Хімія, технологія речовин та їх застосування, 1(1), 94-98. <https://doi.org/10.23939/ctas2018.01.094>

27. Стойко, Л. І. (2018). Фармакогностичне дослідження золототисячника звичайного (*Centaureum erythraea* Rafn.) і тирлича хрещатого (*Gentiana cruciata* L.) родини Gentianaceae : дис. ... канд. фарм. н.: 15.00.02. НФаУ. Х., 167 с.

28. Щербатюк, М. М., Бриков, В. О., & Мартин, Г. Г. (2015). Підготовка зразків рослинних тканин для електронної мікроскопії (теоретичні та практичні аспекти): метод. посіб. Київ: Талком, 62 с.

29. Aabed, K., Mohammed, A. E., Benabdelkamel, H., Masood, A., Alfadda, A. A., Alanazi, I. O., & Alnehmi, E. A. (2020). Antimicrobial Mechanism and Identification of the Proteins Mediated by Extracts from *Asphaltum punjabianum* and *Myrtus communis*. *ACS Omega*, 5(48), 31019-31035. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c04047>

30. Abdessemed, M., Bouacida, S., Turki, M., Ben Haj Koubaier, H., Omrani, S., Allouache, R. ... & Snoussi, A. (2024). Chemical Characterization and Biological Activities Evaluation of *Myrtus communis* L. Essential Oil Extraction By-Product towards Circular Economy and Sustainability. *Foods (Basel, Switzerland)*, 13(14), 2211. <https://doi.org/10.3390/foods13142211>

31. Abdulkhaleq, L. A., Assi, M. A., Abdullah, R., Zamri-Saad, M., Taufiq-Yap, Y. H., & Hezmee, M. N. M. (2018). The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Veterinary world*, 11(5), 627-635. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.627-635>

32. Aboh, M. I., Yakubu, J. G., U. Eze, J., Khalid-Salako, F. & Oladosu, P.O. (2021). Antifungal potential of some Nigerian indigenous plants: A remedy for candidiasis. *J. Adv. Microbiol*, 12, 128-34. <https://doi.org/10.9734/jamb/2021/v21i1230421>

33. Aggul, A. G., Demir, G. M. & Gulaboglu, M. (2022). Ethanol Extract of Myrtle (*Myrtus communis* L.) Berries as a Remedy for Streptozotocin-Induced

Oxidative Stress in Rats. *Appl. Biochem. Biotechnol*, 194, 1645–1658. <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03753-z>

34. Ahmed, M E A E. (2022). *In vitro* propagation for conservation and genetic fidelity of the near threatened *Dimocarpus longan* plant. *J Genet Eng Biotechnol*, 20(1),130. <https://doi.org/10.1186/s43141-022-00406-4>

35. Alaa, Al-T., Rasha, S., Samah, K., Aseel, O., Ruqaya, E., Hasanain, K., & Hasan, O. (2024). Phytochemical screening and antimicrobial activity of some medicinal plants. *Review of Clinical Pharmacology and Pharmacokinetics - International Edition*, 38, 93-96. <https://doi.org/10.61873/TXET1445>.

36. Albuquerque, P. B. S., de Oliveira, W. F., dos Santos Silva, P. M., dos Santos Correia, M. T., Kennedy, J. F., & Coelho, L. C. B. B. (2022). Skincare application of medicinal plant polysaccharides. A review. *Carbohydrate Polymers*, 277, 118824. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118824>

37. Aleksic, V., & Knezevic, P. (2014). Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*, 169(4), 240-254. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.10.003>.

38. Almeida, A. F., Borge, G. I. A., Piskula, M., Tudose, A., Tudoreanu, L., Valentová, K. ... Santos, C. N. (2018). Bioavailability of Quercetin in Humans with a Focus on Interindividual Variation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17, 714-731. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12342>

39. Al-Najjar, B. O., Elshibani, F., Sharkasi, M. A., Shintiri, N. E., Naili, E. E., Abdulsayid, M. ... Mohammed, H. A. (2025). Phytochemical analysis, bioactivity, and molecular docking studies of *Myrtus communis* L. seeds and fruit peel extracts demonstrating antioxidant and anti-tyrosinase properties. *Scientific reports*, 15(1), 5634. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-89401-6>

40. Al-Snafi, A. E., Teibo, J. O., Shaheen, H. M., Akinfe, O. A., Teibo, T. K. A., Emieseimokumo, N. ... Batiha, G. E. (2024). The therapeutic value of *Myrtus communis* L.: an updated review. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* <https://doi.org/10.1007/s00210-024-02958-3>

41. Alyousef, A. A. (2021). Antifungal Activity and Mechanism of Action of Different Parts of *Myrtus communis* Growing in Saudi Arabia against *Candida* Spp. *Journal of Nanomaterials*, 2021(1), 3484125. <https://doi.org/10.1155/2021/3484125>
42. Amiri, K., Nasibi, S., Mehrabani, M., Nematollahi, M. H., & Harandi, M. F. (2019). *In vitro* evaluation on the scolicidal effect of *Myrtus communis* L. and *tripleuros permum disciforme* L methanolic extracts. *Experimental parasitology*, 199, 111–115 <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.03.002>
43. Aouadhi, C., Jouini, A., Maaroufi, K., & Maaroufi, A. (2024). Antibacterial Effect of Eight Essential Oils against Bacteria Implicated in Bovine Mastitis and Characterization of Primary Action Mode of *Thymus capitatus* Essential Oil. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 13(3), 237. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13030237>
44. Aron, P. M., & Kennedy, J. A. (2008). Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity. *Mol. Nutr. Food Res.*, 52, 79–104. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700137>
45. Askari, S. F., Jahromi, B. N., Dehghanian, A., Zarei, A., Tansaz, M., Badr, P. ... Mohagheghzadeh, A. (2020). Effect of a novel herbal vaginal suppository containing myrtle and oak gall in the treatment of vaginitis: a randomized clinical trial. *Daru*, 28(2), 603-614. <https://doi.org/10.1007/s40199-020-00365-6>
46. Aslan, D., Alan, B., Özyılmaz Yay, N., Yılmaz Karaoğlu, S., Ertaş, B., Şen, A. M. ... Atasoy, B. (2024). Neuroprotective effect of *Myrtus communis* against ionizing radiation-induced brain injury: Insights from histopathological and biochemical analysis in rats: TROD-GROG 005. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 17(4), 101082. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2024.101082>.
47. Atiyah, A. J., Mahmood, S. J., & Atiyah, A. J. (2025). Effect of oral administration of *Myrtus communis* extract on reducing the negative impacts of feed contaminated with mycotoxins on productive performance and some blood characteristics in local male rabbits. *Open veterinary journal*, 15(3), 1217–1225. <https://doi.org/10.5455/OVJ.2025.v15.i3.13>

48. Ava M. Hoffman, & Melinda, D. (2018). Smith Thinking inside the Box: Tissue Culture for Plant Propagation in a Key Ecological Species. *Andropogon gerardii*. *American Journal of Plant Sciences*, 9, 10. <https://doi.org/10.4236/ajps.2018.910144>
49. Aykac, A., Ozbeyli, D., Uncu, M., Ertaş, B., Kılınç, O., Şen, A. ... Sener, G. (2019). Evaluation of the protective effect of *Myrtus communis* in scopolamine-induced Alzheimer model through cholinergic receptors. *Gene*, 689, 194-201. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.12.007>.
50. Azaza, A., Taieb, I., Zidi, F., Fraj, A., Amari, R., Bendhifi-Zarroug, M. ... Kheiria, H. (2025). Effect of extraction solvents on total polyphenolic content, total flavonoid content, and antioxidant activity of Tunisian cultivated mulberry (*Morus alba* L.) fruit extracts. *Journal of Phytomoleculs and Pharmacology*, 4, 13-19. <https://doi.org/10.56717/jpp.2025.v04i01.034>
51. Bakhouché, I., Aliat, T., Boubellouta, T., Gali, L., Şen, A., & Bellik, (2021). Y.Phenolic contents and in vitro antioxidant, anti-tyrosinase, and anti-inflammatory effects of leaves and roots extracts of the halophyte *Limonium delicatulum*. *South African Journal of Botany*, 139, 42-49. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.01.030>.
52. Banica, F., Bungau, S., Tit, D. M., Behl, T., Otrisal, P., Nechifor, A. C. ... Nemeth, S. (2020). Determination of the Total Polyphenols Content and Antioxidant Activity of *Echinacea Purpurea* Extracts Using Newly Manufactured Glassy Carbon Electrodes Modified with Carbon Nanotubes. *Processes*, 8(7), 833. <https://doi.org/10.3390/pr8070833>
53. Barac, A., Donadu, M., Usai, D., Spiric, V. T., Mazzarello, V., Zanetti, S. ... Rubino, S. (2018). Antifungal activity of *Myrtus communis* against *Malassezia* sp. isolated from the skin of patients with pityriasis versicolor. *Infection*, 46, 253–257 <https://doi.org/10.1007/s15010-017-1102-4>
54. Barhouchi, B., Menacer, R., Bouchkioua, S., Mansour, A., & Belattar, N. (2023). Compounds from myrtle flowers as antibacterial agents and SARS-CoV-2

inhibitors: In-vitro and molecular docking studies. *Arab J Chem*, 16(8), 104939. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.104939>.

55. Barboucha, G., Rahim, N., Bramki, A., Boulebd, H., Andolfi, A., Boulacheb, K. ... Masi, M. (2025). Comprehensive *In Vitro* and *In Silico* Analysis of Antimicrobial and Insecticidal Properties of Essential Oil of *Myrtus communis* L. from Algeria. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(10), 4754. <https://doi.org/10.3390/ijms26104754>

56. Bektaş, Ü., Isak, M. A., Bozkurt, T., Dönmez, D., İzgü, T., Tütüncü, M., & Simsek, Ö. (2024). Genotype-specific responses to *in vitro* drought stress in myrtle (*Myrtus communis* L.): integrating machine learning techniques. *PeerJ*, 12, e18081. <https://doi.org/10.7717/peerj.18081>

57. Bekhechi, C., Watheq Malti, C.E., Boussaïd, M., et al. (2019). Composition and Chemical Variability of *Myrtus communis* Leaf Oil From Northwestern Algeria. *Natural Product Communications*, 14(5). <https://doi.org/10.1177/1934578X19850030>

58. Belahcene, S., Kebsa, W., Akingbade, T. V., Umar, H. I., Omoboyowa, D. A., Alshihri, A. A. ... Leghouchi, E. (2024). Chemical Composition Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of *Myrtus communis* L. Leaf Extract: Forecasting ADMET Profiling and Anti-Inflammatory Targets Using Molecular Docking Tools. *Molecules*, 29(4), 849. <https://doi.org/10.3390/molecules29040849>

59. Belahcene, S., Kebsa, W., Omoboyowa, D.A., Alshihri, A.A., Alelyani, M., Bakkour, Y., & Leghouchi, E. (2023). Unveiling the Chemical Profiling Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Algerian *Myrtus communis* L. Essential Oils, and Exploring Molecular Docking to Predict the Inhibitory Compounds against Cyclooxygenase-2. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 16(10), 1343. <https://doi.org/10.3390/ph16101343>

60. Bellu, E., Diaz, N., Kralovič, M., Divin, R., Sarais, G., Fadda, A. ... Maioli, M. (2022). Myrtle-Functionalized Nanofibers Modulate Vaginal Cell Population Behavior While Counteracting Microbial Proliferation. *Plants (Basel)*, 11(12), 1577. <https://doi.org/10.3390/plants11121577>

61. Benchikh, F., Amira, S., & Benabdallah, H. (2018). The evaluation of antioxidant capacity of different fractions of *Myrtus communis* L. leaves. *Annual Research & Review in Biology*, 22(5), 1-14. <https://doi.org/10.9734/ARRB/2018/39217>
62. Ben Hsouna, A., Dhibi, S., Dhifi, W., Mnif, W., Ben Nasr, H., & Hfaiedh, N. (2019). Chemical composition and hepatoprotective effect of essential oil from *Myrtus communis* L. flowers against CCL4-induced acute hepatotoxicity in rats. *RSC Adv*, 9(7), 3777-3787. <https://doi.org/10.1039/c8ra08204a>
63. Benmarce, M., Haif, A., Elissondo, M. C., Bouaziz, S., Bentahar, A., & Laatamna, A. (2024). Comparison of the Scolicidal Activity of Two Leaves Extracts of *Myrtus communis* from Algeria Against *Echinococcus granulosus* Sensu Lato Protoscoleces. *Acta Parasit*, 69, 839–853. <https://doi.org/10.1007/s11686-024-00808-z>
64. Bento-Silva, A., Koistinen, V. M., Mena, P., Bronze, M. R., Hanhineva, K., Sahlstrøm, S. ... Aura, A. M. (2020). Factors affecting intake, metabolism and health benefits of phenolic acids: do we understand individual variability. *European journal of nutrition*, 59 (4), 1275–1293. <https://doi.org/10.1007/s00394-019-01987-6>
65. Berendika, M., Domjanić Drozdek, S., Odeh, D., Oršolić, N., Dragičević, P., Sokolović, M. ... & Jurčević, I. L (2022). Beneficial Effects of Laurel (*Laurus nobilis* L.) and Myrtle (*Myrtus communis* L.) Extract on Rat Health. *Molecules*, 27(2), 581. <https://doi.org/10.3390/molecules27020581>
66. Beril Kadioğlu, Y., Özge Ç., Kübra, Y., Büşra, E., Ali, Ş., & Göksel, Ş. (2020). *Myrtus communis* subsp. *Communis* improved cognitive functions in ovariectomized diabetic rats. *Gene*, 744, 144616. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144616>
67. Bilgic, N., & Duran, G. G. (2020). Chemical Composition of *Myrtus communis* L. and Proapoptotic Effects on the A549 Cell Line. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(6), 1283–1295. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2020.1866681>
68. Boroujeni, L.S, & Hojjatoleslami, M. (2018). Using *Thymus carmanicus* and *Myrtus communis* essential oils to enhance the physicochemical properties of

potato chips. *Food science & nutrition*, 6(4), 1006–1014.
<https://doi.org/10.1002/fsn3.597>

69. Bouaoudia-Madi, N., Boulekbache-Makhlouf, L., Madani, K., Silva, A. M. S., Dairi, S., Oukhmanou-Bensidhoum, S., & Cardoso, S. M. (2019). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenols from *Myrtus communis* L. Pericarp. *Antioxidants (Basel)*, 8(7), 205. <https://doi.org/10.3390/antiox8070205>

70. Boussak, H., Demim, S., Hammadou, S., & Seiad, L. L. (2022). Valuation and study of the activity of an essential oil extracted from a medicinal plant myrtle. *Materials Today: Proceedings*, 49, 1041-1045.
<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.09.030>

71. Bouzabata, A., Bazzali, O., Cabra, C., Gonçalves, M. J., Cruz, M.T., Bighelli, A. ... Tomi, F. (2013). New compounds, chemical composition, antifungal activity and cytotoxicity of the essential oil from *Myrtus nivellei* Batt. & Trab., an endemic species of Central Sahara. *Journal of Ethnopharmacology*, 149(3), 613-620.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.06.054>

72. Bowbe, K. H., Salah, K. B. H., Moumni, S., Ashkan, M. F., & Merghni, A. (2023). Anti-Staphylococcal Activities of *Rosmarinus officinalis* and *Myrtus communis* Essential Oils through ROS-Mediated Oxidative Stress. *Antibiotics (Basel)*, 12(2), 266. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020266>.

73. Bugarin, D., Mitić-Ćulafić, D., Svirčev, E., Šundić, M., & Mimica-Dukić, N.M. (2023). Bioactivity of *Myrtus communis* from the Montenegrin coast. *Latin American and Caribbean Bulletin of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(1), 61–74.
<https://doi.org/10.37360/blacpma.24.23.1.5>

74. Caban, M., & Lewandowska, U. (2023). Encapsulation of Polyphenolic Compounds Based on Hemicelluloses to Enhance Treatment of Inflammatory Bowel Diseases and Colorectal Cancer. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 28(10), 4189.
<https://doi.org/10.3390/molecules28104189>

75. Can, E., Eliuz, E.E., & Yabalak, E. (2025). Hydrochar-Enriched *Myrtus communis* Emulsion Gel: Antimicrobial Efficacy Against Bacterial Contaminants on

Inoculated Carcass Skin. *Water Air Soil Pollut*, 236, 292.
<https://doi.org/10.1007/s11270-025-07935-x>

76. Caputo, L., Capozzolo, F., Amato, G., De Feo, V., Fratianni, F., Vivenzio, G., & Nazzaro, F. (2022). Chemical composition, antibiofilm, cytotoxic, and anti-acetylcholinesterase activities of *Myrtus communis* L. leaves essential oil. *BMC Complement Med Ther*, 22(1), 142. <https://doi.org/10.1186/s12906-022-03583-4>

77. Cevikelli- Yakut, Z.-A. , Ertas, B., Sen, A., Koyuncuoglu, T., Yegen B.C., & Sener, G. (2020). *Myrtus communis* improves cognitive impairment in renovascular hypertensive rats. *J Physiol Pharmacol*, 71(5), 665-677.
<https://doi.org/10.26402/jpp.2020.5.07>

78. Chegeni, T. N., Ghaffarifa, F., Khoshzaban, F., Dalimi Asl, A. D., Mirzaian, H., & Jameie, F. (2019). Effects of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Myrtus Communis* Leaves on Trophozoites and Cysts of *Acanthamoeba*: An *In Vitro* Study. *International Journal of Medical Laboratory*, 6(3).
<https://doi.org/10.18502/ijml.v6i3.1404>

79. Chen, W. P., Yang, X. Y., Hegeman, A. D., Gray, W. M., & Cohen, J. D. (2010). Microscale analysis of amino acids using gas chromatography-mass spectrometry after methyl chloroformate derivatization. *Journal of Chromatography B*, 878(24), 2199-2208. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2010.06.027>

80. Chen, Y., Xie, M. Y., Wang, Y. X., Nie, S. P., & Li, C. (2009). Analysis of the monosaccharide composition of purified polysaccharides in *Ganoderma atrum* by capillary gas chromatography. *Phytochem Anal*, 20(6), 503-510.
<https://doi.org/10.1002/pca.115>

81. Chidouh, A., Aouadi, S., & Heyraud, A. (2014). Extraction, fractionation and characterization of water-soluble polysaccharide fractions from myrtle (*Myrtus communis* L.) fruit. *Food Hydrocolloids*, 35, 733-739.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.08.001>

82. Cioć, M., Szewczyk, A., Żupnik, M., Kalisz, A., & Pawłowska, B. (2018). LED lighting affects plant growth, morphogenesis and phytochemical contents of

Myrtus communis L. *in vitro*. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 132, 433–447.
<https://doi.org/10.1007/s11240-017-1340-2>

83. Cocea, A. C., & Stoica, C. I. (2024). Interactions and Trends of Interleukins, PAI-1, CRP, and TNF- α in Inflammatory Responses during the Perioperative Period of Joint Arthroplasty: Implications for Pain Management - A Narrative Review. *Journal of Personalized Medicine*, 14(5), 537.
<https://doi.org/10.3390/jpm14050537>

84. Contardi, M., Lenzuni, M., Fiorentini, F., Summa, M., Bertorelli, R., Suarato, G., & Athanassiou, A. (2021). Hydroxycinnamic Acids and Derivatives Formulations for Skin Damages and Disorders: A Review. *Pharmaceutics*, 13(7), 999.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13070999>

85. Coronas, R., Bianco, A., Niccolai, M., Fancello, F., Sanna, A. M. L., Asteggiano ... & Zara, G. (2024). Polyphenolic Content and Antimicrobial Effects of Plant Extracts as Adjuncts for Craft Herbal Beer Stabilization. *Foods (Basel, Switzerland)*, 13(17), 2804. <https://doi.org/10.3390/foods13172804>

86. Correddu, F., Maldini, M., Addis, R., Petretto, G. L., Palomba, M., Battacone, G. ... Pintore, G. (2019). *Myrtus communis* Liquor Byproduct as a Source of Bioactive Compounds. *Foods*, 8(7), 237. <https://doi.org/10.3390/foods8070237>.

87. Coskunlu, B., Koroglu, M. K., Hersek, I., Ertas, B., Sen, A., Sener, G., & Ercan, F. (2024). Ameliorative effects of *Myrtus communis* L. extract involving the inhibition of oxidative stress on high fat diet-induced testis damage in rats. *Biotechnic & Histochemistry*, 99(3), 157–173. <https://doi.org/10.1080/10520295.2024.2344491>

88. Cruciani, S., Garroni, G., Ginesu, G. C., Fadda, A., Ventura, C., & Maioli, M. (2020). Unravelling Cellular Mechanisms of Stem Cell Senescence: An Aid from Natural Bioactive Molecules. *Biology (Basel)*, 9(3), 57.
<https://doi.org/10.3390/biology9030057>

89. Cruciani, S., Santaniello, S., Garroni, G., Fadda, A., Balzano, F., Bellu, E. ... Maioli, M. (2019). *Myrtus* Polyphenols, from Antioxidants to Anti-Inflammatory Molecules: Exploring a Network Involving Cytochromes P450 and Vitamin D. *Molecules*, 24(8), 1515. <https://doi.org/10.3390/molecules24081515>

90. Cvitković, D., Lisica, P., Zorić, Z., Pedisić, S., Repajić, M., Dragović-Uzelac, V., & Balbino, S. (2022). The Influence of Cryogrinding on Essential Oil, Phenolic Compounds and Pigments Extraction from Myrtle (*Myrtus communis* L.) Leaves. *Processes*, *10*(12), 2716. <https://doi.org/10.3390/pr10122716>
91. Cvitković, D., Mrvčić, J., Dobrosravić, E., Dragović-Uzelac, V., & Balbino, S. (2025). Retention and Antimicrobial Activity of Alginate-Encapsulated Bioactive Compounds from Leaves and Fruits of Myrtle (*Myrtus communis* L.). *Processes*, *13*(4), 1220. <https://doi.org/10.3390/pr13041220>
92. Cvitković, D., Škarica, I., Dragović-Uzelac, V., & Balbino, S. (2024). Supercritical CO₂ Extraction of Fatty Acids, Phytosterols, and Volatiles from Myrtle (*Myrtus communis* L.) Fruit. *Molecules*, *29*(8), 1755. <https://doi.org/10.3390/molecules29081755>
93. Dabbaghi, M. M., Fadaei, M. S., Soleimani Roudi, H., Baradaran Rahimi, V., & Askari, V. R. (2023). A review of the biological effects of *Myrtus communis*. *Physiological reports*, *11*(14), e15770. <https://doi.org/10.14814/phy2.15770>
94. Denk, B., Özçınar, Ümit., Özsandık, İ., Ali, Dr., Cetingul, I., Çalık, A. ... & Bayram, I. (2024). Antioxidant Properties of *Myrtus* Extract: *In Vitro* Assays and *In Vivo* Experimental Animal Study. *Turkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences*, *15*(1). <https://doi.org/10.5336/vetsci.2023-99249>.
95. Dessì, D., Fais, G., Follesa, P., & Sarais, G. (2025). Neuroprotective Effects of Myrtle Berry By-Product Extracts on 6-OHDA-Induced Cytotoxicity in PC12 Cells. *Antioxidants*, *14*(1), 88. <https://doi.org/10.3390/antiox14010088>
96. Dhifi, W., Jazi, S., El Beyrouthy, M., Sadaka, C., & Mnif, W. (2020). Assessing the potential and safety of *Myrtus communis* flower essential oils as efficient natural preservatives against *Listeria monocytogenes* growth in minced beef under refrigeration. *Food Sci Nutr*, *8*(4), 2076-2087. doi:10.1002/fsn3.1497
97. Dhouibi, I., Flamini, G., & Bouaziz, M. (2023). Comparative study on the essential oils extracted from Tunisian rosemary and myrtle: Chemical profiles, quality, and antimicrobial activities. *ACS omega*, *8*(7), 6431-6438. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c06713>

98. Dhouibi, I., Masmoudi, F., Bouaziz, M., & Masmoudi, M. (2021). A study of the anti-corrosive effects of essential oils of rosemary and myrtle for copper corrosion in chloride media. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(2), 102961. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.102961>
99. Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2021). Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(17), 5377. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
100. Dib, K., Cherrah, Y., Rida, S., Filali-Maltouf, A., & Ennibi, O. (2021). *In Vitro* Antibacterial Activity of *Myrtus communis* L. and *Marrubium vulgare* L. Leaves against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Eikenella corrodens*. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 8351332. <https://doi.org/10.1155/2021/8351332>
101. Diener, W., & Schlede, E. (1999). Acute Toxicity Class Methods: Alternatives to LD/LC50 tests. *ALTEX*, 16, 129–134.
102. Diniz, L. R. L., Elshabrawy, H. A., Souza, M. T. S., Duarte, A. B. S., Datta, S., & de Sousa, D. P. (2021). Catechins: Therapeutic Perspectives in COVID-19-Associated Acute Kidney Injury. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(19), 5951. <https://doi.org/10.3390/molecules26195951>
103. Dragomanova, S., Tancheva, L., Georgieva, M., & Klisurov, R. (2019). Analgesic and anti-inflammatory activity of monoterpenoid myrtenal in rodents. *J. IMAB*, 25(1), 2406–2413. <https://doi.org/10.5272/jimab.2019251.2406>
104. D'Urso, G., Sarais G., Lai, C., Pizza C. & Montoro P. (2017). LC-MS based metabolomics study of different parts of myrtle berry from Sardinia (Italy). *Journal of Berry Research*, 7(3), 217-229, <https://doi.org/10.3233/JBR-170158>
105. Eid, L., & Parent, M. (2017). Preparation of Non-human Primate Brain Tissue for Pre-embedding Immunohistochemistry and Electron Microscopy. *Journal of visualized experiments: JoVE*, 122. 55397. <https://doi.org/10.3791/55397>
106. Elbouzidi, A., Taibi, M., El Hachlafi, N., Haddou, M., Jeddi, M., Baraich, A. ... Addi, M. (2024). Formulation of a Three-Component Essential Oil Mixture from *Lavandula dentata*, *Rosmarinus officinalis*, and *Myrtus communis* for Improved

Antioxidant Activity. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 17(8), 1071. <https://doi.org/10.3390/ph17081071>

107. El Hammadi, N., Almajano, M.P., Pastor, M.V., & Codina-Torrella, I. (2024). Evaluating the Incorporation of *Myrtus communis* L. Leaves Infusion in Alginate-Based Films and Spheres to Enhance the Oxidative Stability of Oil-in-Water Emulsions. *Polymers*, 16(5), 649. <https://doi.org/10.3390/polym16050649>

108. El Hartiti, H., El Mostaphi, A., Barrahi, M., Ben Ali, A., Chahboun, N., Amiyare, R., & Ouhssine, M. (2020). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Myrtus communis* leaves. *Karbala International Journal of Modern Science*, 6(3), 3. <https://doi.org/10.33640/2405-609X.1546>

109. Ertas, B., Dorucu, D., Gulerturk, O., Sen, A., Cevik, O., Cetinel, S. ... Sener, G. (2024). The effect of *Myrtus communis* L. extract on nephrolithiasis model in rats. *Northern clinics of Istanbul*, 11(2), 91–98. <https://doi.org/10.14744/nci.2023.09068>

110. ESCMID-European Society of Clinical Microbiology, Infectious Diseases. eucast: Clinical breakpoints and dosing of antibiotics [Internet]. Eucast.org. [cited 2025 Jan 14]. Available from: https://eucast.org/clinical_breakpoints/

111. Eslami, S., Ebrahimzadeh, M.A., & Biparva, P. (2018). Green synthesis of safe zero valent iron nanoparticles by *Myrtus communis* leaf extract as an effective agent for reducing excessive iron in iron-overloaded mice, a thalassemia model. *RSC Adv*, 8(46), 26144-26155. <https://doi.org/10.1039/c8ra04451a>

112. Et-Tazy, L., Lamiri, A., Satia, L., Essahli, M., & Krimi Bencheqroun, S. (2023). *In Vitro* Antioxidant and Antifungal Activities of Four Essential Oils and Their Major Compounds against Post-Harvest Fungi Associated with Chickpea in Storage. *Plants (Basel)*, 12(20), 3587. <https://doi.org/10.3390/plants12203587>

113. Fadda, A., Montoro, P., D'Urso, G., Ravasio, N., Zaccheria, F., & Sanna, D. (2023). Sustainable Extraction Methods Affect Metabolomics and Oxidative Stability of Myrtle Seed Oils Obtained from Myrtle Liqueur By-Products: An Electron Paramagnetic Resonance and Mass Spectrometry Approach. *Antioxidants*, 12(1), 154. <https://doi.org/10.3390/antiox12010154>

114. Fadil, M., Fikri-Benbrahim, K., Rachiq, S., Ihssane, B., Lebrazi S., Chraibi, M. ... Farah, A. (2018). Combined treatment of *Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils against *Salmonella typhimurium*: Optimization of antibacterial activity by mixture design methodology. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 126, 211-220. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.06.002>
115. Farhan, M. (2022). Green Tea Catechins: Nature's Way of Preventing and Treating Cancer. *International journal of molecular sciences*, 23(18), 10713. <https://doi.org/10.3390/ijms231810713>
116. Fatemeh, E., Mahmoudi, J., Torbati, M., Karimi, P., & Valizadeh, H. (2020). Hemostatic activity of aqueous extract of *Myrtus communis* L. leaf in topical formulation: *In vivo* and *in vitro* evaluation. *Journal of Ethnopharmacology*, 249, 112398. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112398>
117. Fatima, A. S., un Nisa, M., Sarwar, A., Khalique, M. A., Arsalan, Z., Noor, S. ... Abid, H. M. (2025). Hepatoprotective Effect of *Myrtus Communis* in Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Injury in Animal Model. *Pak Euro Journal of Medical and Life Sciences*, 8(2), 239-248. <https://doi.org/10.31580/pjmls.v8i2.3267>
118. Forero-Doria, O., Araya-Maturana, R., Barrientos-Retamal, A., Morales-Quintana, L., & Guzmán, L. (2019). N-alkylimidazolium salts functionalized with p-coumaric and cinnamic acid: A study of their antimicrobial and antibiofilm effects. *Molecules*, 24, 3484. <https://doi.org/10.3390/molecules24193484>
119. Franco, A. M., Tocci, N., Guella, G., Dell'Agli, M., Sangiovanni, E., Perenzoni, D. ... Manca, G. (2019). Myrtle Seeds (*Myrtus communis* L.) as a Rich Source of the Bioactive Ellagitannins Oenothein B and Eugeniflorin D₂. *ACS Omega*, 4(14), 15966-15974. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b02010>
120. Ghadami Yazdi, E., Minaei, M. B., Hashem Dabaghian, F., Ebrahim Zadeh Ardakani, M., Ranjbar, A. M., Rastegari, M., & Ghadami Yazdi, A. (2024). Efficacy of *Myrtus communis* L. and *Descurainia sophia* L. Versus Salicylic Acid for Wart Treatment. *Iranian Red Crescent Medical Journal (IRCMJ)*, 16(10), 1-6. <https://doi.org/10.5812/ircmj.16386>

121. Ghavami, M.B., Poorastgoo, F., Taghiloo, B., & Mohammadi, J. (2017). Repellency Effect of Essential Oils of some Native Plants and Synthetic Repellents against Human Flea, *Pulex irritans* (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of arthropod-borne diseases*, *11*(1), 105–115. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5629292/>
122. Giampieri, F., Cianciosi, D., & Forbes-Hernández, T. Y. (2020). Myrtle (*Myrtus communis* L.) berries, seeds, leaves, and essential oils: New undiscovered sources of natural compounds with promising health benefits. *Food Frontiers*, *1*(3), 276-295. <https://doi.org/10.1002/fft2.37>
123. Giuliani, C., Bottoni, M., Milani, F., Todero, S., Berera, P., Maggi, F., Santagostini, L., & Fico, G. (2022). Botanic Garden as a Factory of Molecules: *Myrtus communis* L. subsp. *communis* as a Case Study. *Plants (Basel)*, *11*(6), 754. <https://doi.org/10.3390/plants11060754>
124. Giuliani, C., Moretti, R. M., Bottoni, M., Santagostini, L., Fico, G., & Montagnani Marelli, M. (2023). The Leaf Essential Oil of *Myrtus communis* subsp. *tarentina* (L.) Nyman: From Phytochemical Characterization to Cytotoxic and Antimigratory Activity in Human Prostate Cancer Cells. *Plants (Basel)*, *12*(6), 1293. <https://doi.org/10.3390/plants12061293>
125. Göze Kaymak, S., & Vural, N. (2024). Chemical profiling of essential oils: Investigations into modulating milk production in dairy cows using *in silico* methods. *Sciences of Phytochemistry*, *3*(1), 27-37. <https://doi.org/10.58920/sciphy0301227>
126. Grabska-Kobyłecka, I., Szpakowski, P., Król, A., Książek-Winiarek, D., Kobyłecki, A., Głabiński, A., & Nowak, D. (2023). Polyphenols and Their Impact on the Prevention of Neurodegenerative Diseases and Development. *Nutrients*, *15*(15), 3454. <https://doi.org/10.3390/nu15153454>
127. Gross, D., & Tolba, R. (2015). Ethics in Animal-Based Research. *Eur. Surg. Res*, *55*(1–2), 43–57. <https://doi.org/10.1159/0003777213>
128. Gryniewicz, G., & Demchuk, O.M. (2019). New Perspectives for Fisetin. *Frontiers in Chemistry*, *7*. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00697>

129. Guerrant, G. O., Moss, C. W., (1984). Determination of monosaccharides as aldonitrile, O-methylxime, alditol, and cyclitol acetate derivatives by gas-chromatography. *Analytical Chemistry*, 56, 633–638. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac00268a010>
130. Guzelmeric, E., Ugurlu, P., Celik, C., Sen, N. B., Helvacioğlu, S., Charehsaz, M., & Yesilada, E. (2022). *Myrtus communis* L.(Myrtle) plant parts: Comparative assessment of their chemical compositions and antioxidant, anticancer, and antimutagenic activities. *South African Journal of Botany*, 150, 711-720. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.07.043>
131. Guzzo, F., Durán, A. G., Sanna, C., Marasco, R., Molfetta, N., Buommino, E. ... D'Abrosca, B. (2022). Gallomyrtucommulones G and H, New Phloroglucinol Glycosides, from Bioactive Fractions of *Myrtus communis* against *Staphylococcus Species*. *Molecules*, 27(20), 7109. <https://doi.org/10.3390/molecules27207109>
132. Haciseferoğulları, H., Ozcan, M. M., Arslan, D., & Unver, A. (2012). Biochemical compositional and technological characterizations of black and white myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits. *Journal of food science and technology*, 49(1), 82–88. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0253-z>
133. Hager, R., Pitsch, J., Kerbl-Knapp, J., Neuhauser, C., Ollinger, N., Iken, M. ... Weghuber, J. (2021). A High-Content Screen for the Identification of Plant Extracts with Insulin Secretion-Modulating Activity. *Pharmaceuticals (Basel)*, 14(8), 809. <https://doi.org/10.3390/ph14080809>
134. Harassi, Y., Tilaoui, M., Idir, A., Frédéric, J., Baudino, S., Ajouaoui, S. ... Ziyad, A. (2019). Phytochemical analysis, cytotoxic and antioxidant activities of *Myrtus communis* essential oil from Morocco. *J. Complement. Integr. Med*, 16(3). <https://doi.org/10.1515/jcim-2018-0100>
135. Hardy, E., Poli, J.-P., Bighelli, A., Paoli, M., Maroselli, T., Berti, L., & Guinoiseau, E. (2025). *Quorum-Quenching* Activity of *Myrtus communis* Corsican Essential Oil Against the Marine Bacterium *Aliivibrio fischeri*. *Microorganisms*, 13(6), 1325. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13061325>

136. Hao, Y., Jian, L., Bo-Lin, W., Xin-Ya, Y., & Yu, Zh. (2025). Discovery, synthesis, and antibacterial activity of novel myrtucommulone analogs as inhibitors of DNA gyrase and topoisomerase IV. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 283, 117138, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2024.117138>
137. Hazrati, S., Hosseini, S. J., Ebadi, M.-T., & Nicola, S. (2022). Evolution of Phytochemical Variation in Myrtle (*Myrtus communis* L.) Organs during Different Phenological Stages. *Horticulturae*, 8(9), 757. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8090757>
138. Henna, A., Miguel, M.G., & Nemmiche, S. (2018). Antioxidant Activity of *Myrtus communis* L. and *Myrtus nivellei* Batt. & Trab. Extracts. A Brief Review. *Medicines (Basel)*, 5(3), 89. <https://doi.org/10.3390/medicines5030089>
139. Henna, A., Nemmiche, S., Dandlen, S., & Miguel, M. G. (2019). *Myrtus communis* essential oils: insecticidal, antioxidant and antimicrobial activities: a review. *Journal of Essential Oil Research*, 31(6), 487-545. <https://doi.org/10.1080/10412905.2019.1611672>
140. Hesami, D., Ghaffarifar, F., Dalimi, A., Dayer, M. S., Nasiri, V., & Sheikh, S. (2021). Investigating *in Vivo* and *in Vitro* Effects of Ethanolic and Aqueous Extracts of Myrtle (*Myrtus communis*) on *Leishmania major*. *Iran J. Parasitol*, 16(4), 641-651. <https://doi.org/10.18502/ijpa.v16i4.7877>
141. Humera, K. (2025). Characterization of 1,8-Cineole (Eucalyptol) from Myrtle and Its Potential Antibacterial and Antioxidant Activities. *Karbala International Journal of Modern Science*, 11(1), 15. <https://doi.org/10.33640/2405-609X.3394>
142. Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M. C., & Rahu, N. (2016). Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us?. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016, 7432797. <https://doi.org/10.1155/2016/7432797>
143. Ibrahim, S., Al-Hmedat, S., & Alsunboli, M. (2024). Histological Study to Evaluate the Effect of Local Application of *Myrtus Communis* Oil on Alveolar Bone

Healing in Rats . *Open Dent J*, 18, e18742106299510.
<http://dx.doi.org/10.2174/011874210629951024040504391>

144. Iman, M., Edalat, H., Davoudi, S. M., Molaei, S. H., & Bahari, Z. (2022). A Randomized Clinical Trial on Therapeutic Effects of *Myrtus communis* L. Cream on Chronic Skin Lesions and Quality of Life of Sulfur Mustard-exposed Veterans. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 65, e22210268. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2022210268>

145. Jabri, M.A., Marzouki, L., & Sebai, H. (2018). Myrtle berries seeds aqueous extract abrogates chronic alcohol consumption-induced erythrocytes osmotic stability disturbance, haematological and biochemical toxicity. *Lipids Health Dis*, 17, 94. <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0746-0>

146. Jafari, Z., Bardania, H., Barmak, M. J., Eslami, S., Mahmoudi-Mourderaz, Y., Roustaei, N. ... Khoramrooz, S. S. (2024). Antimicrobial, Anti-inflammatory, and Wound Healing Properties of *Myrtus communis* Leaf Methanolic Extract Ointment on Burn Wound Infection Induced by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Rats. *BioMed research international*, 2024, 6758817. <https://doi.org/10.1155/2024/6758817>

147. Jannot, A. S., Agoritsas, T., Gayet-Ageron, A., & Perneger, T. V. (2013). Citation bias favoring statistically significant studies was present in medical research. *J. Clin. Epidemiol*, 66(3), 296–301. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2012.09.015>

148. Kabatas, G. S., Ertas, B., Sen, A., Sener, G., Ercan, F., & Akakin, D. (2024). Histological and biochemical effects of an ethanolic extract of *Myrtus communis* leaf on the pancreases of rats fed high fat diets. *Biotechnic & Histochemistry*, 99(4), 204–215. <https://doi.org/10.1080/10520295.2024.2355212>

149. Kang, B. H., Anderson, C. T., Arimura, S. I., Bayer, E., Bezanilla, M., Botella, M. A., et al. (2022). A glossary of plant cell structures: Current insights and future questions. *The Plant cell*, 34(1), 10–52. <https://doi.org/10.1093/plcell/koab247>

150. Kang, J., & Tong, Y. (2024). Investigating the attenuating effects of metformin-loaded selenium nanoparticles coupled with *Myrtus communis* L. flower extract on CaOx deposition in male Sprague Dawley rat kidneys via regulating MAPK

signaling pathway. *Regenerative therapy*, 26, 14–26.
<https://doi.org/10.1016/j.reth.2024.04.006>

151. Katayoon, A., Saeid, N., Mehrabani, M., Nematollah, M. H., & Fasihi Harandi, M. (2019). *In vitro* evaluation on the scolicidal effect of *Myrtus communis* L. and *Tripleurospermum disciforme* L. methanolic extracts. *Exp Parasitol*, 199, 111-115.
<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.03.002>

152. Kaya, D. A., Ghica, M. V., Dănilă, E., Öztürk, Ş., Türkmen, M., Albu Kaya, M. G., & Dinu-Pîrvu, C. E. (2020). Selection of Optimal Operating Conditions for Extraction of *Myrtus Communis* L. Essential Oil by the Steam Distillation Method. *Molecules*, 25(10), 2399. <https://doi.org/10.3390/molecules25102399>

153. Kelly, B., & Pearce, E. L. (2020). Amino Assets: How Amino Acids Support Immunity. *Cell metabolism*, 32(2), 154–175.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.06.010>

154. Khadraoui, N., Essid, R., Damergi, B., Fares, N., Gharbi, D., Forero, A. M. ... Tabbene, O. (2024). *Myrtus communis* leaf compounds as novel inhibitors of quorum sensing-regulated virulence factors and biofilm formation: In vitro and in silico investigations. *Biofilm*, 8, 100205. <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2024.100205>

155. Khalilzadeh, S., Eftkhar, T., Shirbeigi, L., Tabarraei, M., Toliyat, T., Fayazmanesh, S., Ghasemi, Z., & Shamohammadi, S. (2020). Efficacy of a vaginal tablet as a Persian medicine product on vulvovaginal candidiasis: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Pharm Biol*, 58(1), 574-580.
<https://doi.org/10.1080/13880209.2020.1784236>

156. Khalilzadeh, S., Eftkhar, T., Shirbeigi, L., Tabarraei, M., Toliyat, T., Fayazmanesh S. ... Shamohammadi, S. (2016). Leaf Architecture, Ornamentation and Estimation of Lamina Area in *Myrtus communis* L. (myrtaceae). *International Journal of Biology and Biotechnology*, 13, 537-550.
<https://doi.org/10.1080/13880209.2020.1784236>

157. Khan, Humera. (2025). Characterization of 1,8-Cineole (Eucalyptol) from Myrtle and Its Potential Antibacterial and Antioxidant Activities. *Karbala*

International Journal of Modern Science, 11(1), 199-207.
<https://doi.org/10.33640/2405-609X.3394>

158. Khawula, S., Gokul, A., Niekerk, L. A., Basson, G., Keyster, M., Badiwe, M. ... Nkomo, M. (2023). Insights into the Effects of Hydroxycinnamic Acid and Its Secondary Metabolites as Antioxidants for Oxidative Stress and Plant Growth under Environmental Stresses. *Current issues in molecular biology*, 46(1), 81–95.
<https://doi.org/10.3390/cimb46010007>

159. Kundu, A., Dutta, A., Mandal, A., Negi, L., Malik, M., Puramchatwad, R. ... Singh, P.K. (2021). A Comprehensive *in vitro* and *in silico* Analysis of Nematicidal Action of Essential Oils. *Frontiers in plant science*, 11, 614143.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.614143>

160. Kurkin, V. A., Maslova, V. D., & Mubinov, A. R. (2024). HPLC Determination of Myricitrin in Leaves of Common Myrtle (*Myrtus communis* L.). *Pharm. Chem. J.* 58, 828–832. <https://doi.org/10.1007/s11094-024-03211-0>

161. Kuru Yaşar, R., Kuru, D., Şen, A., Şener, G., Ercan, F., & Yarat, A. (2021). Effects of *Myrtus communis* L. Extract and Apocynin on Lens Oxidative Damage and Boron Levels in Rats with a High Fat-Diet. *Turk J Ophthalmol*, 51(6), 344-350. <https://doi.org/10.4274/tjo.galenos.2021.27981>

162. Kutlu, Z., Gulaboglu, M., Halıcı, Z., Cınar, İ., & Diyarbakır, B. (2021). Biochemical Research of the Effects of Essential Oil Obtained from the Fruit of *Myrtus communis* L. on Cell Damage Associated with Lipopolysaccharide-Induced Endotoxemia in a Human Umbilical Cord Vein Endothelial Cells. *Biochem Genet*, 59(1), 315-334. <https://doi.org/10.1007/s10528-020-10005-y>

163. Lebrazi, S., Fikri-Benbrahim, K., El fadili, M., Jeddi, M., Aboulghazi, A., Benziane Ouaritini, Z. ... Fadil, M. (2025). Investigating the synergistic action of three essential oils for antibacterial and antioxidant applications: A comprehensive framework using mixture design, artificial neural networks, and *in silico* methods. *Food Bioscience*, 67, 106250. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106250>

164. Leigh-de Rapper, S., Viljoen, A., & van Vuuren, S. (2021). Essential Oil Blends: The Potential of Combined Use for Respiratory Tract Infections. *Antibiotics (Basel)*, *10*(12), 1517. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121517>
165. Li, D. Y., Donadu, M. G., Shue, T., Dangas, G., Athanasiadis, A., Lan, S. ... Michailidis, E. (2024). *Myrtus communis* L. Essential Oil Exhibits Antiviral Activity against Coronaviruses. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, *17*(9), 1189. <https://doi.org/10.3390/ph17091189>
166. Lipnick, R. L., Cotruvo, J. A., Hill, R. N., Bruce, R. D., Stitzel, K. A., Walker, A. P. ... Myers, R. C. (1995). Comparison of the up-and-down, conventional LD50, and fixed-dose acute toxicity procedures. *Food and Chemical Toxicology*, *33*, 223–231. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(94\)00136-c](https://doi.org/10.1016/0278-6915(94)00136-c)
167. Lu, S., & Xiao, F. (2024). Small Peptides: Orchestrators of Plant Growth and Developmental Processes. *International journal of molecular sciences*, *25*(14), 7627. <https://doi.org/10.3390/ijms25147627>
168. Mahboubi, M., & Ghazian Bidgoli, F. (2010). *In vitro* synergistic efficacy of combination of amphotericin B with *Myrtus communis* essential oil against clinical isolates of *Candida albicans*. *Phytomedicine*, *17*(10), 771-774. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.01.016>
169. Malekuti, J., Mirghafourvand, M., Samadi, K., Abbasalizadeh, F., & Khodaei, L. (2019). Comparison of the effect of *Myrtus communis* herbal and anti-hemorrhoid ointments on the hemorrhoid symptoms and quality of life in postpartum women with grade I and II internal hemorrhoid: A triple-blinded randomized controlled clinical trial. *Journal of complementary & integrative medicine*, *16*(4), /j/jcim.2019.16.issue-4/jcim-2018-0147/jcim-2018-0147.xml. <https://doi.org/10.1515/jcim-2018-0147>
170. Mansouri, M. T., Hemmati, A. A., Naghizadeh, B., Mard, S. A., Rezaie, A., & Ghorbanzadeh, B. (2015). A study of the mechanisms underlying the anti-inflammatory effect of ellagic acid in carrageenan-induced paw edema in rats. *Indian journal of pharmacology*, *47*(3), 292–298. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.157127>

171. Mansour, R. B., Beji, R. S., Wasli, H., Zekri, S., Ksouri, R., Megdiche-Ksouri, W., & Cardoso, S. M. (2022). Gastroprotective Effect of Microencapsulated *Myrtus communis* Essential Oil against Ethanol/HCl-Induced Acute Gastric Lesions. *Molecules*, 27(5), 1566. <https://doi.org/10.3390/molecules27051566>
172. Martinez Pomier, K., Ahmed, R., & Melacini, G. (2020). Catechins as Tools to Understand the Molecular Basis of Neurodegeneration. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(16), 3571. <https://doi.org/10.3390/molecules25163571>
173. Mechchate, H., de Castro Alves, C. E., Es-Safi, I., Amaghnouje, A., Jawhari, F. Z., Costa de Oliveira, R. ... Grafov, A. (2022). Antileukemic, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Healing Activities Induced by a Polyphenol-Enriched Fraction Extracted from Leaves of *Myrtus communis* L. *Nutrients*, 14(23), 5055. <https://doi.org/10.3390/nu14235055>
174. Medda, S., Dessena, L., & Mulas, M. (2020). Monitoring of the PAL Enzymatic Activity and Polyphenolic Compounds in Leaves and Fruits of Two Myrtle Cultivars during Maturation. *Agriculture*, 10, 389. <https://doi.org/10.3390/agriculture10090389>
175. Medda, S., Fadda, A., Dessena, L., & Mulas, M. (2021). Quantification of Total Phenols, Tannins, Anthocyanins Content in *Myrtus communis* L. and Antioxidant Activity Evaluation in Function of Plant Development Stages and Altitude of Origin Site. *Agronomy*, 11(6), 1059. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061059>
176. Medda, S., & Mulas, M. (2021). Fruit Quality Characters of Myrtle (*Myrtus communis* L.) Selections: Review of a Domestication Process. *Sustainability*, 13(16), 8785. <https://doi.org/10.3390/su13168785>
177. Medda, S., Sanchez-Ballesta, M.T., Romero, I., Dessena, L., & Mulas, M. (2021). Expression of Structural Flavonoid Biosynthesis Genes in Dark-Blue and White Myrtle Berries (*Myrtus communis* L.). *Plants (Basel)*, 10(2), 316. <https://doi.org/10.3390/plants10020316>
178. Maddah, M., Pourfath, M., Ataei-Pirkooh, A., Rahimi, R., Hosseini Yekta, N., & Bahramsoltani, R. (2025). Consensus virtual screening to propose antivirals from *Myrtus communis* L. against human papillomavirus: Machine learning and docking.

Journal of Molecular Liquids, 432, 127734.
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2025.127734>

179. Mehrbod, P., Safari, H., Mollai, Z., Fotouhi, F., Mirfakhraei, Y., Entezari, H., Goodarzi, S., & Tofighi, Z. (2021). Potential antiviral effects of some native Iranian medicinal plants extracts and fractions against influenza A virus. *BMC complementary medicine and therapies*, 21(1), 246. <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03423-x>

180. Mërtiri, I., Coman, G., Cotârlet, M., Turturicã, M., Balan, N., Râpeanu, G. ... Mihalcea, L. (2025). Phytochemical Profile Screening and Selected Bioactivity of *Myrtus communis* Berries Extracts Obtained from Ultrasound-Assisted and Supercritical Fluid Extraction. *Separations*, 12(1), 8. <https://doi.org/10.3390/separations12010008>

181. Mertoglu, T. S., & Keceli, T. M. (2024). Oxidation and degradation kinetics of lactic butter supplemented with *Myrtus communis* essential oils. *International Journal of Dairy Technology*, 77, 973-985. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.13090>

182. Mezni, F., Mehri, S., Ghazghazi, H., & Khaldi, A. (2025), *Myrtus communis* L. Seed Oil: Variability of Fatty Acid Composition and Antidiabetic Potential. *Chemistry & biodiversity*, 22(9), e202500238. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202500238>

183. Miloudi, S., Abbad, I., Soulaimani, B., Ferradous, A., Abbad, A., & Mouden El, H. (2024). Optimization of herbicidal activity of essential oil mixtures from *Satureja alpina*, *Thymus satureioides* and *Myrtus communis* on seed germination and post-emergence growth of *Amaranthus retroflexus*. *Crop Protection*, 180, 106642. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2024.106642>

184. Minaei, M. B., Ghadami Yazdi, E., Ebrahim Zadeh Ardakani, M., Hashem Dabaghian, F., Ranjbar, A. M., Rastegari, M., & Ghadami Yazdi, A. (2024). First Case Report: Treatment of the Facial Warts by Using *Myrtus communis* L. Topically on the Other Part of the Body. *Iranian Red Crescent Medical Journal (IRCMJ)*, 16(2), 1-3. <https://doi.org/10.5812/ircmj.13565>

185. Mir, M. A., Bashir, N., Alfaify, A., & Oteef, M.D.Y. (2020). GC-MS analysis of *Myrtus communis* extract and its antibacterial activity against Gram-positive bacteria. *BMC Complement Med Ther*, 20(1), 86. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-2863-3>
186. Mir, M. A., Memish, L. A., Elbehairi, S. E., Bashir, N., Masoud, F. S., Shati, A. A. ... Ahmad, I. (2024). Antimycobacterial and Anticancer Properties of *Myrtus communis* Leaf Extract. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 17(7), 872. <https://doi.org/10.3390/ph17070872>
187. Mohamed-Ali, S. F., Jasim, A. A., Mahmood, M. A., & Mohsin, M. M. (2024). The Efficacy of *Populus euphratica* and *Myrtus communis* Herbal Mouthwash on Gingivitis in Pediatric Patients Diagnosed Clinically and with Photometric CIELab Analysis: An *In Vivo* Randomized Double-blind Clinical Study. *International journal of clinical pediatric dentistry*, 17(8), 918–924. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-2900>
188. Mohamed, M. E., Mohafez, O. M., Khalil, H. E., & Alhaider, I. A. (2019). Essential Oil from Myrtle Leaves Growing in the Eastern Part of Saudi Arabia: Components, Anti-inflammatory and Cytotoxic Activities. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(4), 877–892. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1645046>
189. Moura, D., Vilela, J., Saraiva, S., Monteiro-Silva, F., De Almeida, J. M. M. M., & Saraiva, C. (2023). Antimicrobial Effects and Antioxidant Activity of *Myrtus communis* L. Essential Oil in Beef Stored under Different Packaging Conditions. *Foods*, 12(18), 3390. <https://doi.org/10.3390/foods12183390>
190. Mushtaq, M. (2024). Antifungal and Antibiofilm Activities of *Myrtus communis* Leaf Extract and Its Effect in Association with Antifungal Drugs against *Trichosporon mucoides* and *Cryptococcus humicola*. *King Khalid University Journal of Health Sciences*, 9, 45-50. https://doi.org/10.4103/KKUJHS.KKUJHS_44_23
191. Mustafa, A., Merzah, H., & Adil, H. (2024). Efficacy of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Myrtus communis* Against *Aphis fabae* Scopoli on Faba Bean. *Indian Journal of Entomology*, e24466. <https://doi.org/10.55446/IJE.2024.2466>

192. Najafian, S.H., Aeineh, M. & Hosseinifarahi, M. (2025). Phenological Variations in Essential Oil Composition and Phytochemical Characteristics of *Myrtus communis* L. *Russ J Plant Physiol*, 72, 53. <https://doi.org/10.1134/S1021443724609984>
193. Naji, H. A., Rhiyf, A. G., & Al-Zabeeby, A. (2018). Protective features of *Myrtus communis* leaves against the genotoxic effects of arsenic in wistar rats. *J Pharm Sci Res*, 10(11), 2921–2923. <https://pharmainfo.in/jpsr/Documents/Volumes/vol10Issue11/jpsr10111848.pdf>
194. Naji, H. H., Khudhair, O. S., Opyas, A. J., & Albawi, F. H. K. (2019). Effects of use Myrtle oil (*Myrtus communis*) on Body weight and some Blood parameters in local male rabbits. *Journal of University of Babylon for Pure and Applied Sciences*, 27(1), 164-170. doi: 10.29196/jubpas.v27i1.2101
195. Nedjimi, B. (2024). Common myrtle (*Myrtus communis* L.): Trace element composition and contribution to dietary intake. *Food Chemistry Advances*, 4, 100644, <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100644>
196. Nile, S. H., Ko, E. Y., Kim, D. H., & Keum, Y.-S. (2016). Screening of ferulic acid related compounds as inhibitors of xanthine oxidase and cyclooxygenase-2 with anti-inflammatory activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26, 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.08.013>
197. Nguyen, T. V., Alfaro, A. C., & Young, T. (2018). Protocol for Methyl ChloroFormate (MCF) Derivatization of Extracted Metabolites from Marine Bivalve Tissues. DOI:10.13140/RG.2.2.24219.16164/4
198. Odeh, D., Oršolić, N., Berendika, M., Đikić, D., Domjanić Drozdek, S., Balbino, S. ... & Jurčević, I. L. (2022). Antioxidant and Anti-Atherogenic Activities of Essential Oils from *Myrtus communis* L. and *Laurus nobilis* L. in Rat. *Nutrients*, 14(7), 1465. <https://doi.org/10.3390/nu14071465>
199. OECD (2002), Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264071001-en>.

200. Oka, Y. (2024) *Myrtus communis* leaf extracts repel *Meloidogyne* spp. second-stage juveniles and prevent root infection. *Plant Pathology*, 73, 2408–2418. <https://doi.org/10.1111/ppa.13981>
201. Ouedrhiri, W., Mechchate, H., Moja, S., Mothana, R. A., Noman, O. M., Grafov, A., & Greche, H. (2021). Boosted Antioxidant Effect Using a Combinatory Approach with Essential Oils from *Origanum compactum*, *Origanum majorana*, *Thymus serpyllum*, *Mentha spicata*, *Myrtus communis*, and *Artemisia herba-alba*: Mixture Design Optimization. *Plants (Basel)*. 10(12), 2817. <https://doi.org/10.3390/plants10122817>
202. Ouedrhiri, W., Mechchate, H., Moja, S., Baudino, S., Saleh, A., Al Kamaly, O. M., Grafov, A., & Greche, H. (2022). Optimized Antibacterial Effects in a Designed Mixture of Essential Oils of *Myrtus communis*, *Artemisia herba-alba* and *Thymus serpyllum* for Wide Range of Applications. *Foods*, 11(1), 132. <https://doi.org/10.3390/foods11010132>.
203. Ozcan, O., Ipekci H., Alev., B., Ustundag, U. V., Ak, E., Sen, A. ... & Akba, T.T. (2019). Protective effect of Myrtle (*Myrtus communis*) on burn induced skin injury. *Burns*, 45(8), 1856-1863. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2019.07.015>
204. Ozcan, O., Ipekci H., Alev., B., Ustundag, U. V., Ak, E., Sen, A. ... Akba, T.T. (2020). The effect of *Myrtus communis* L. ethanol extract on the small intestine and lungs in experimental thermal burn injury. *Journal of Thermal Biology*, 93, 102685. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102685>
205. Ozbeyli, D., Sen, A., Cilingir Kaya, O. T., Ertas, B., Aydemir, S., Ozkan, N., Yuksel, M., & Sener, G. (2020). *Myrtus communis* leaf extract protects against cerulein-induced acute pancreatitis in rats. *Journal of food biochemistry*, 44(2), e13130. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13130>
206. Öztürk, Ş., & N. Duran, N. (2018). Antiproliferative effects of *Origanum syriacum* L. And *Myrtus communis* L. on human colon cancer cell line. *7th International Conference on Advanced Materials and Systems, ICAMS 2018* , Bucharest, Romania, 255-260, 2018. <https://doi.org/10.24264/icams-2018.IV.3>

207. Parlak, T. M., Traş, B., Üney, K., & Suvarıklı Alan, B. (2024). Antidiabetic effect of hydroalcoholic extract of *Myrtus communis* L. fruit in a type 2 diabetes mouse model. *Acta Veterinaria Eurasia*, 50(3), 210-217. <https://doi.org/10.5152/actavet.2024.24038>
208. Parthasarathy, A., Borrego, E. J., Savka, M. A., Dobson, R. C. J., & Hudson, A. O. (2021). Amino acid-derived defense metabolites from plants: A potential source to facilitate novel antimicrobial development. *The Journal of biological chemistry*, 296, 100438. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100438>
209. Patanè, G. T., Putaggio, S., Tellone, E., Barreca, D., Ficarra, S., Maffei, C. ... Laganà, G. (2023). Catechins and Proanthocyanidins Involvement in Metabolic Syndrome. *International journal of molecular sciences*, 24(11), 9228. <https://doi.org/10.3390/ijms24119228>
210. Polat Yemiş, G., Sezer, E., & Sıçramaz, H. (2022) Inhibitory Effect of Sodium Alginate Nanoemulsion Coating Containing Myrtle Essential Oil (*Myrtus communis* L.) on *Listeria monocytogenes* in Kasar Cheese. *Molecules*, 27(21), 7298. <https://doi.org/10.3390/molecules27217298>
211. Prall, S., Bowles, E. J., Bennett, K., Cooke, C. G., Agnew, T., Steel, A., & Hausser, T. (2020). Effects of essential oils on symptoms and course (duration and severity) of viral respiratory infections in humans: A rapid review. *Adv Integr Med*, 7(4), 218-221. <https://doi.org/10.1016/j.aimed.2020.07.005>
212. Pyrzynska, K., & Sentkowska, A. (2019). Chromatographic Analysis of Polyphenols. *Polyphenols in Plants*. Academic Press, 353-364. <https://www.sciencedirect.com/science/chapter/edited-volume/abs/pii/B9780128137680000219>
213. Quinn, E., Ben-Simchon, E., Gorelick, J., Oka, Y., Frenkel, O., Sionov, E. ... & Shelef, O. (2024). Examination of genetic lines of *Myrtus communis* as potential sources of organic agricultural pest control agents. *Heliyon*, 10(15), e35658. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35658>
214. Yuan, Q., Li, H., Wei, Z., Lv, K., Gao, C., Liu, Y., & Zhao, L. (2020). Isolation, structures and biological activities of polysaccharides from *Chlorella*: A

review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 2199-2209. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.080>

215. Raeiszadeh, M., Esmaeili-Tarzi, M., Bahrapour-Juybari, K., Nematollahi-Mahani, S. N., Pardakhty, A., Nematollahi, M. H., & Mehrabani, M. (2018). Evaluation the effect of *Myrtus communis* L. extract on several underlying mechanisms involved in wound healing: An in vitro study. *South African journal of botany*, 118, 144-150. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.07.006>

216. Raeiszadeh, M., Pardakhty, A., Sharififar, F., Farsinejad, A., Mehrabani, M., Hosseini-Nave, H., & Mehrabani, M. (2018). Development, physicochemical characterization, and antimicrobial evaluation of niosomal myrtle essential oil. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 13(3), 250-261. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.228955>

217. Rahimvand, L., Niakan, M., & Naderi, N.J. (2018). The antibacterial effect of aquatic and methanolic extract of *Myrtus communis* on *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia*. *Iran J Microbiol*, 10(4), 254-257. <https://ijm.tums.ac.ir/index.php/ijm/article/view/1529>

218. Raoof, M., Khaleghi, M., Siasar, N., Mohannadalizadeh, S., Haghani, J., & Amanpour, S. (2019). Antimicrobial Activity of Methanolic Extracts of *Myrtus Communis* L. and *Eucalyptus Galbie* and their Combination with *Calcium Hydroxide* Powder against *Enterococcus Faecalis*. *J Dent (Shiraz)*, 20(3), 195-202. <https://doi.org/10.30476/DENTJODS.2019.44898>

219. Retamales, H. A., Scherson, R., & Scharaschkin, T. (2014). Foliar micromorphology and anatomy of *Ugni molinae* Turcz. (Myrtaceae), with particular reference to schizogenous secretory cavities. *Revista Chilena de Historia Natural*, 87, 27. <http://dx.doi.org/10.1186/S40693-014-0027-X>

220. Rim M. Harfouch, Darwish, M., Khalil, S., Kasem, M., Haroun, M., Elshimali Y. (2022). In Vitro Antibacterial Effect of Essential Oil and Two Extracts of *Myrtus communis* Leaves. *J. Clinical Research and Reports*, 11(3). <https://doi.org/10.31579/2690-1919/251>

221. Roll, R., Höfer-Bosse, Th., & Kayser, D. (1986). New perspectives in acute toxicity testing of chemicals. *Toxicology Letters*, 31(Suppl.), 86.
222. Roll, R., Riebschläger, M., Mischke, U., & Kayser, D. (1989). Neue Wege zur Bestimmung der akuten Toxizität von Chemikalien [New ways to determine the acute toxicity of chemicals]. *Bundesgesundheitsblatt*, 32, 336–341.
223. Romani, A., Pinelli, P., Mulinacci, N., Vincieri, F., & Tattini, M. (1999). Identification and Quantitation of Polyphenols in Leaves of *Myrtus communis* L. *Chromatographia*. 49. 17-20. <https://doi.org/10.1007/BF02467181>
224. Rostami Chaijan, M., Handjani, F., Zarshenas, M., Sedigh Rahimabadi, M., & Tavakkoli, A. The *Myrtus communis* L. solution versus ketoconazole shampoo in treatment of dandruff: A double blinded randomized clinical trial. *J Pak Med Assoc*, 68, (5), 715-720.
225. Ruffoni, B., Mascarello, C., & Savona, M. (2010). *In Vitro* Propagation of Ornamental Myrtus (*Myrtus communis*). *Methods in Molecular Biology*, 589, 257–269. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-114-1_24
226. Ruwizhi, N., & Aderibigbe, B. A. (2020). Cinnamic Acid Derivatives and Their Biological Efficacy. *Int. J. Mol. Sci*, 21, 5712. <https://doi.org/10.3390/ijms21165712>
227. Saadat, S., Beigoli, S., Khazdair, M.R., Amin, F., & Boskabady, M.H. (2022). Experimental and Clinical Studies on the Effects of Natural Products on Noxious Agents-Induced Lung Disorders, a Review. *Front Nutr*, 9, 867914. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.867914>
228. Sadeghi-Nejad, B., Moghimipour, E., Yusef Naanaie, S. & Nezarat, S. (2018). Antifungal and antibacterial activities of polyherbal toothpaste against oral pathogens, *in vitro*. *Curr Med Mycol*, 4(2), 21-26. <https://doi.org/10.18502/cmm.4.2.65>
229. Saeedi, M., Iraj, A., Vahedi-Mazdabadi, Y., Alizadeh, A., Edraki, N., Firuzi, O. ... Akbarzadeh, T. (2022). Cinnamomum verum J. Presl. Bark essential oil: *in vitro* investigation of anti-cholinesterase, anti-BACE1, and neuroprotective activity. *BMC Complement Med. Ther.*, 22(1),303. <https://doi.org/10.1186/s12906-022-03767-y>

230. Salehi, M., & Rashidinejad, A. (2025). Multifaceted roles of plant-derived bioactive polysaccharides: A review of their biological functions, delivery, bioavailability, and applications within the food and pharmaceutical sectors. *International journal of biological macromolecules*, 290, 138855. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.138855>

231. Salmanian, M., Shirbeigi, L., Hashem-Dabaghian, F., Mansouri, P., Azizkhani, M., Alavi, S., & Ghobadi, A. (2020). The Effects of Myrtle (*Myrtus communis*) and Clindamycin Topical Solution in the Treatment of Mild to Moderate Acne Vulgaris: A Comparative Split-Face Study. *J Pharmacopuncture*, 23(4), 220-229. <https://doi.org/10.3831/KPI.2020.23.4.220>

232. Samareh Fekri, M., Mandegary, A., Sharififar, F., Poursalehi, H. R., Nematollahi, M. H., Izadi, A., & Samareh Fekri, M. (2018). Protective effect of standardized extract of *Myrtus communis* L. (myrtle) on experimentally bleomycin-induced pulmonary fibrosis: biochemical and histopathological study. *Drug and Chemical Toxicology*, 41(4), 408–414. <https://doi.org/10.1080/01480545.2018.1459670>

233. Šamec, D., Karalija, E., Šola, I., Bok, V. V., & Salopek-Sondi, B. (2021). The role of polyphenols in abiotic stress response: The influence of molecular structure. *Plants*, 10, 118. <https://doi.org/10.3390/plants10010118>

234. Saraiva, C., Silva, A. C., García-Díez, J., Cenci-Goga, B., Grisoldi, L., Silva, A. F., & Almeida, J. M. (2021). Antimicrobial Activity of *Myrtus communis* L. and *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oils against *Listeria monocytogenes* in Cheese. *Foods*, 10(5), 1106. <https://doi.org/10.3390/foods10051106>

235. Sarkar, D., & Bhattacharyya, S. (2023). Chapter 6 - The phospholipase A2 superfamily and its role in chronic inflammatory conditions with relation to adjuvant cells. *Phospholipases in Physiology and Pathology*, 4, 111-126. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95698-7.00021-8>

236. Sarwar, H. R., Maqbool, T., Akhtar, S., Altaf, A., Waqar, A. B., Majeed, M. S. ... Hadi, F. (2025). Regenerative Therapy for Deep Burn Injury using

Mesenchymal Stem Cells and Myrtle (*Myrtus Communis*) in a Rat Model. *Current stem cell research & therapy*. <https://doi.org/10.2174/011574888X351632250529121312>

237. Scarpa, G. M., Milia, M., & Satta, M. (2000). The influence of growth regulators on proliferation and rooting of *in vitro* propagated myrtle. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 62, 175-179. <https://doi.org/10.1023/A:1006409012669>

238. Seyed-Ali, K., Emadi, F., Naseri, M., Kamalinejad, M., Riahi, S.M., Alijaniha, F., & Roghani, M. (2021). The Effect of *Myrtus communis* Aqueous Extract-Containing Gel on Wound Healing in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Current Drug Discovery Technologies*, 18(4), 542 – 547. <https://doi.org/10.2174/1570163817666200712163956>

239. Shaapan, R. M., Al-Abodi, H. R., Alanazi, A. D., Abdel-Shafy, S., Rashidipour, M., Shater, A. F., & Mahmoudvand, H. (2021). *Myrtus communis* Essential Oil; Anti-Parasitic Effects and Induction of the Innate Immune System in Mice with *Toxoplasma gondii* Infection. *Molecules*, 26(4), 819. <https://doi.org/10.3390/molecules26040819>

240. Shahbazian, D., Karami, A., Raouf Fard, F., Eshghi, S., & Maggi, F. (2022). Essential Oil Variability of Superior Myrtle (*Myrtus communis* L.) Accessions Grown under the Same Conditions. *Plants (Basel)*, 11(22), 3156. <https://doi.org/10.3390/plants11223156>

241. Sheinenzon, A., Shehadeh, M., Michelis, R., Shaoul, E., & Ronen, O. (2021). Serum albumin levels and inflammation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 184, 857-862. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.140>

242. Singh, M., Thrimawithana, T., Shukla, R., & Adhikari, B. (2020). Managing Obesity through Natural Polyphenols: A Review. *Future Foods*, 1(2), 100002. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2020.100002>

243. Singla, E., Puri, G., Dharwal, V., & Naura, A. (2021). Gallic acid ameliorates COPD-associated exacerbation in mice. *Molecular and cellular biochemistry*, 476. <https://doi.org/10.1007/s11010-020-03905-5>

244. Siracusa, L., Napoli, E., Tuttolomondo, T., Licata, M., La Bella, S., Gennaro, M. C., & Ruberto, G. (2019). A two-year bio-agronomic and

chemotaxonomic evaluation of wild sicilian myrtle (*Myrtus communis* L.) berries and leaves. *Chemistry & Biodiversity*, 16(3), e1800575. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201800575>

245. Sisay, M., & Gashaw, T. (2017). Ethnobotanical, Ethnopharmacological, and Phytochemical Studies of *Myrtus communis* Linn: A Popular Herb in Unani System of Medicine. *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*, 22(4), 1035-1043. <https://doi.org/10.1177/2156587217718958>

246. Snoussi, A., Essaidi, I., Ben Haj Koubaier, H., Zrelli, H., Alsafari, I., Živoslav, T. ... Bouzouita, N. (2021). Drying methodology effect on the phenolic content, antioxidant activity of *Myrtus communis* L. leaves ethanol extracts and soybean oil oxidative stability. *BMC chemistry*, 15(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s13065-021-00753-2>

247. Soomro, S., Mesaik, M. A., Shaheen, F., Khan, N., Halim, S. A., Ul-Haq, Z., Ali Siddiqui, R., & Choudhary, M. I. (2019). Inhibitory Effects of *Myrtucommuacetalone 1* (MCA-1) from *Myrtus communis* on Inflammatory Response in Mouse Macrophages. *Molecule*, 25(1), 13. <https://doi.org/10.3390/molecules25010013>

248. Soulaimani, B. (2025). Comprehensive Review of the Combined Antimicrobial Activity of Essential Oil Mixtures and Synergism with Conventional Antimicrobials. *Natural Product Communications*, 20(3). doi:10.1177/1934578X251328241

249. Steglińska, A., Bekhter, A., Wawrzyniak, P., Kunicka-Styczyńska, A., Jastrzabek, K., Fidler, M., Śmigielski, K., & Gutarowska, B. (2022). Antimicrobial Activities of Plant Extracts against *Solanum tuberosum* L. Phytopathogens. *Molecules*, 27(5), 1579. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/molecules27051579>

250. Sugimoto, T., Kamei, Y. (2022). Regulation of Skeletal Muscle Function by Amino Acids, Especially Non-Proteinogenic Amino Acids. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 68(Suppl.), 31–S33. <https://doi.org/10.3177/jnsv.68.S31>

251. Sumbul, S., Mohd Aftab, A., Asif, M., Saud, I., & Akhtar. M. (2010). Evaluation of *Myrtus communis* Linn. berries (common myrtle) in experimental ulcer

models in rats. *Human & Experimental Toxicology*, 29(11), 935-944.
<https://doi.org/10.1177/0960327110364154>

252. Sumere, B. R., de Souza, M. C., Dos Santos, M. P., Bezerra, R. M. N., da Cunha, D. T., Martinez, J., & Rostagno, M. A. (2018). Combining pressurized liquids with ultrasound to improve the extraction of phenolic compounds from pomegranate peel (*Punica granatum L.*). *Ultrasonics sonochemistry*, 48, 151-162.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.05.028>

253. Talebi Ardakani, M., Farahi, A., Mojab, F., Moscowchi, A., & Gharazi, Z. (2022). Effect of an herbal mouthwash on periodontal indices in patients with plaque-induced gingivitis: A cross-over clinical trial. *J Adv Periodontol Implant Dent*, 14(2), 109-113. <https://doi.org/10.34172/japid.2022.017>

254. Tas, S., Tas, B., Bassalat, N. & Jaradat, N. (2018). *In vivo*, hypoglycemic, hypolipidemic and oxidative stress inhibitory activities of *Myrtus communis L.* fruits hydroalcoholic extract in normoglycemic and streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomed Res*, 29(13), 2727–2734. <https://doi.org/10.4066/biomedicalresearch.29-18-708>

255. Thoma, J. L., Cantrell, C. L., & Zheljzkov, V. D. (2024). Evaluation of Essential Oils as Sprout Suppressants for Potato (*Solanum tuberosum*) at Room Temperature Storage. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(22),3055.
<https://doi.org/10.3390/plants11223055>

256. Torabi, I., Sharififar, F., Izadi, A., & Ayatollahi Mousavi, S. A. (2022). Inhibitory effects of different fractions separated from standardized extract of *Myrtus communis L.* against nystatin-susceptible and nystatin-resistant *Candida albicans* isolated from HIV positive patients. *Heliyon*, 8(3), e09073.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09073>. eCollection 2022 Mar

257. Usai, M., Marchetti, M., Culeddu, N., & Mulas, M. (2018). Chemical Composition of Myrtle (*Myrtus communis L.*) Berries Essential Oils as Observed in a Collection of Genotypes. *Molecules*, 23(10), 2502.
<https://doi.org/10.3390/molecules23102502>

258. Usai, M., Marchetti, M., Culeddu, N., & Mulas, M. (2020). Chemotaxonomic Evaluation by Volatolomics Analysis of Fifty-Two Genotypes of *Myrtus communis* L. *Plants (Basel)*, 9(10), 1288. <https://doi.org/10.3390/plants9101288>
259. Uyarlar, C., Rahman, A., Ozcinar, U., Cetingul, İ. S., Gultepe, E. E., & Bayram, I. (2024). Effect of *Myrtus communis* L. Plant Extract as a Milk Supplement on the Performance, Selected Blood Parameters and Immune Response of Holstein Calves. *Animals*, 14(5), 725. <https://doi.org/10.3390/ani14050725>
260. Valor, D., Montes, A., Calderón-Domínguez, M., Aghziel, I., Sánchez-Gomar, I., Alcalá, M., Durán-Ruiz, M. C., & Pereyra, C. (2023). Generation of Highly Antioxidant Submicron Particles from *Myrtus communis* Leaf Extract by Supercritical Antisolvent Extraction Process. *Antioxidants (Basel)*, 12(2), 530. <https://doi.org/10.3390/antiox12020530>
261. Vancompernelle, B., Croes, K., & Angenon, G. (2016). Optimization of a gas chromatography-mass spectrometry method with methyl chloroformate derivatization for quantification of amino acids in plant tissue. *Journal of Chromatography*, 1017, C. 241-249. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.02.020>
262. Vega, E. N., González-Zamorano, L., Cebadera, E., Barros, L., da Silveira, T. F. F., Vidal-Diez de Ulzurrun, G. ... & Morales, P. (2025). Wild *Myrtus communis* L. Fruit By-Product as a Promising Source of a New Natural Food Colourant: Optimization of the Extraction Process and Chemical Characterization. *Foods*, 14(3), 520. <https://doi.org/10.3390/foods14030520>
263. Wang, A., Liu, Y., Zeng, S., Liu, Y., Li, W., Wu, D. ... Chen, H. (2023). Dietary Plant Polysaccharides for Cancer Prevention: Role of Immune Cells and Gut Microbiota, Challenges and Perspectives. *Nutrients*, 15(13), 3019. <https://doi.org/10.3390/nu15133019>
264. Yaghoobi, M., Sanikhani, M., Samimi, Z., & Kheiry, A. (2022). Selection of a suitable solvent for bioactive compounds extraction of myrtle (*Myrtus communis* L.) leaves using ultrasonic waves. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(3), e16357. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16357>

265. Yanqun, L., Kong, D., Ying, Fu , Michael, R. Sussman, & Hong, Wu . (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 148, 80-89. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>
266. Yarahmadi, R., Mumivand, H., Ehtesham Nia, A., Raji, M. R., & Argento, S. (2024). Natural Diversity in Total Phenol, Flavonoids, Antioxidant Properties, and Essential Oil Composition of Iranian Populations of *Myrtus communis* L. *Plants*, 13(24), 3458. <https://doi.org/10.3390/plants13243458>
267. Yazdanian, M., & Rajaei, A. (2024). Lethal effects of essential oils from eight Iranian pharmaceutical plants against two stored-product lepidopterans and their chemical composition. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 46(4), 25-56. doi: 10.22055/ppr.2024.45624.1724
268. Yezli, A., Hamid, B., & Arroussi, R. (2024). Components and toxicological effects of *Myrtus communis* L. (myrtales: myrtaceae) essential oil against mosquito *Culex pipiens* L. (diptera: culicidae). *Applied Ecology and Environmental Research*, 22, 2149-2164. https://doi.org/10.15666/aeer/2203_21492164
269. Yin, M., Zhang, Y., & Li, H. (2019). Advances in Research on Immunoregulation of Macrophages by Plant Polysaccharides. *Frontiers in immunology*, 10, 145. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00145>
270. Zaitsev, S., Mishurov, A., & Bogolyubova, N. (2022). Comparative Study of the Antioxidant Protection Level in the Duroc Boar Blood Based on the Measurements of Active Products of the Thiobarbituric Acid. In: Muratov, A., Ignateva, S. (eds) *Fundamental and Applied Scientific Research in the Development of Agriculture in the Far East (AFE-2021)*. AFE 2021. Lecture Notes in Networks and Systems, 354. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-91405-9_55
271. Zayani, R., BenSalem, E., Khouja, M., Bouhjar, A., Boussaid, M., & Messaoud, C. (2025). Optimization of Tunisian *Myrtus communis* L. Essential Oil Extraction by Complete Factorial Experimental Design. *Metabolites*, 15(6), 369. <https://doi.org/10.3390/metabo15060369>

272. Zeng, P., Li, J., Chen, Y., & Zhang, L. (2019). The structures and biological functions of polysaccharides from traditional Chinese herbs. *Progress in molecular biology and translational science*, 163, 423–444. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2019.03.003>

273. Zeytin Demiral G., Sarıtaş Z., Türk Börü Ü., Görücü Özbek F., Köseoğlu Toksoy C., Bülbül A. ... Yasar Tekmanoglulari Z. (2024). Therapeutic efficacy of *Myrtus communis* in sciatic nerve injury: an experimental research in rats. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 25(4), 525-535. <https://doi.org/10.18229/kocatepetip.1520464>

274. Zhao, Z., Yang, Q., Sun, Y., & Ruan, X. (2025). Unveiling the antioxidant and anti-inflammatory potential of syringic acid: mechanistic insights and pathway interactions. *Frontiers in pharmacology*, 16, 1615294. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1615294>

ДОДАТКИ

Додаток А

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Matsegorova O. Ye., & Odyntsova V. M. (2024). Prospects for the creation of new phytochemical medicinal products based on *Myrtus communis* L. (a review). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2024. 17(1), 70–78. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.290860>. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні літературного пошуку, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті).

2. Matsegorova O. Ye., & Odyntsova V. M. (2024). The anatomical and micromorphological structure of *Myrtus communis* L. leaves. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 17(2),:122–130 DOI: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.2.298403>. (Мацегорова О.Є. – брала участь у заготівлі сировини, проведенні літературного пошуку, проведенні дослідження, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті).

3. Odyntsova V. M., Matsegorova O. Ye., Tertyshnyi S. I., & Polkovnikov Yu. F. (2024). Micro- and ultramorphological features of the leaf cells of *Myrtus communis* L. as a parameter for the standardization of medicinal plant syrup are the basis for new herbal remedies. *Сучасні медичні технології*. 16(4), 292–302. DOI: [10.14739/mmt.2024.4.311096](https://doi.org/10.14739/mmt.2024.4.311096). (Мацегорова О.Є. – брала участь у заготівлі сировини, проведенні літературного пошуку, проведенні дослідження, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті, Тertyshnyi С.І. – концепція та дизайн дослідження, проведення дослідження, збір та компонування даних, критичний перегляд статті).

статті, остаточне затвердження статті, Полковніков Ю.Ф. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті).

4. Matsegorova O. Ye., & Odyntsova V. M. (2025). Chromatography-Mass Spectrometric Study of the Chemical Composition of *Myrtus communis* L. Leaf Essential Oil. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 18(2), 131–137. DOI: 10.14739/2409-2932.2025.2.322669. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні літературного пошуку, отриманні ефірної олії, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні статті, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті).

5. Matsegorova O. Ye., Odyntsova V. M., & Mykhailiuk Ye. O. (2025). Comparative study of anti-inflammatory activity and acute toxicity of thick *Myrtus communis* L. leaf extracts cultivated *in vivo* and *in vitro*. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 18(3), 271–277. DOI: 10.14739/2409-2932.2025.3.340983. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні літературного пошуку, отриманні екстракту, проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, оформленні статті, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд статті, остаточне затвердження статті, Михайлюк Є.О. – концепція та дизайн дослідження, збір та компонування даних, аналіз та інтерпретація даних).

6. Одинцова В. М., & Мацегорова О. Є. (2022). Вивчення хімічного складу мирту звичайного. *VI Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Хімія природних сполук», 27-28 жовтня 2022 року, м. Тернопіль*. с. 54–55. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні літературного пошуку, обробці одержаних результатів, написанні та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

7. Одинцова В. М., & Мацегорова О. Є. (2022). Перспективи дослідження мирту звичайного (*Myrtus communis* L.) як джерела біологічно активних речовин. *Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2022»*, 17-18 листопада 2022 р., м. Запоріжжя. с. 64–66. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні літературного пошуку, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

8. Одинцова В. М., & Мацегорова О. Є. (2023). Вивчення морфолого-анатомічної будови мирту звичайного листя. *IV Науково-практична конференція з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта»*, 20 лютого 2023 р., м. Київ. с. 100–102. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

9. Одинцова В. М., Шкопинська Т. Є., & Мацегорова О. Є. (2023). Переваги вирощування мирту звичайного методом клонального мікророзмноження в культурі *in vitro*. *VI Міжнародна наукова конференція «Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень»*, 25 березня 2023 р., с. Березоточа, Лубенський р-н, Полтавська обл., Україна. с. 129–132. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження, Шкопинська Т.Є. – концепція та дизайн дослідження, збір та компонування даних, аналіз та інтерпретація даних).

10. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2023). Фітохімічні дослідження мирту звичайного листків. *83 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини та фармації - 2023»*, 25-26 травня 2023 р., м. Запоріжжя. с. 108–109. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці

одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

11. Мацегорова О. Є., Одинцова В. М., & Шкопинська Т. Є. (2023). Результати використання мікроклонального розмноження *Myrtus communis* L. в культурі *in vitro*. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2023», 23-24 листопада 2023 р., м. Запоріжжя. с. 89–90. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження, Шкопинська Т.Є. – концепція та дизайн дослідження, збір та компонування даних, аналіз та інтерпретація даних).

12. Мацегорова О. Є. (2024). Визначення суми гідроксикоричних кислот у листі *Myrtus communis* L. 84 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2024» (Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, м. Запоріжжя, 23-24 травня 2024 р.). с. 141–142. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез).

13. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2024). Хромато-мас-спектрометричне дослідження компонентного складу ефірних олій *Myrtus communis* L., вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*. 83 Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2024», 21-22 листопада 2024 р., м. Запоріжжя. с. 83–84. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

14. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2025). Дослідження суми поліфенолів листя *Myrtus communis* L. V Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена пам'яті доктора хімічних наук, професорки Ніни Павлівни Максютіної (до 100-річчя від дня народження) «PLANTA+. Наука,

практика та освіта», 28-29 січня 2025 р., м. Київ. с. 140–142. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

15. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2025). Дослідження вмісту суми флавоноїдів у листі *Myrtus communis* L., вирощеного методом *in vivo* та мікроклональним розмноженням в умовах *in vitro*. VII Міжнародної наукової конференції «Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень», 25 березня 2025 р., с. Березоточа, Лубенський р-н, Полтавська обл., Україна. с. 214–216. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

16. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2025). Антиоксидантна активність густих екстрактів *Myrtus communis*, отриманих методами *in vivo* та *in vitro*. VII Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження», 11 квітня 2025 р., м. Харків. с. 149–151. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

17. Мацегорова О. Є., & Одинцова В. М. (2025). Вивчення моносахаридного складу листя мирту звичайного, вирощеного в умовах *in vivo* та *in vitro*. Міжрегіональна науково-практична конференція з міжнародною участю «Освіта, наука та практика в контексті розвитку фармацевтичної галузі», 30-31 травня 2025р., Івано-Франківськ – Яремче. с. 168–170. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження).

18. Мацегорова О. Є., Одинцова В. М., Количева Н. Л., & Михайлюк Є. О. (2025). Порівняльна оцінка біологічної активності та гострої токсичності густих екстрактів листя *Myrtus communis* L. *Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2025»*, 20-21 листопада 2025 р., м. Запоріжжя. с. 93–94. (Мацегорова О.Є. – брала участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез, Одинцова В.М. – концепція та дизайн дослідження, критичний перегляд тез, остаточне затвердження, Количева Н.Л. – концепція та дизайн дослідження, збір та компонування даних, аналіз та інтерпретація даних, Михайлюк Є.О. – концепція та дизайн дослідження, збір та компонування даних, аналіз та інтерпретація даних).

Додаток Б
ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

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

1. VI Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль 27–28 жовтня 2022 р., форма участі – публікація тез);

2. Всеукраїнській науково-практичній конференції «Запорізький фармацевтичний форум – 2022» (Запоріжжя, 17–18 листопада 2022 р., форма участі – доповідь на секційному засіданні та публікація тез);

3. Науково-практичній конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта» (Київ, 20 лютого 2023 р., форма участі – публікація тез);

4. VI Міжнародній науковій конференції «Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень» (Березоточа, 25 березня 2023 р., форма участі – публікація тез);

5. 83 Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини та фармації – 2023» (Запоріжжя, 25–26 травня 2023 р., форма участі – доповідь на секційному засіданні та публікація тез);

6. Всеукраїнській науково-практичній конференції «Запорізький фармацевтичний форум – 2023» (Запоріжжя, 23–24 листопада 2023 р., форма участі – доповідь на секційному засіданні та публікація тез);

7. 84 Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2024» (Запоріжжя, 23–24 травня 2024 р., форма участі – доповідь на секційному засіданні та публікація тез);

8. Всеукраїнській науково-практичній конференції «Запорізький фармацевтичний форум – 2024» (Запоріжжя, 21–22 листопада 2024 р., форма участі – доповідь на секційному засіданні та публікація тез);

9. V науково-практичній конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта», присвяченій пам'яті проф. Н. П. Максютіної (Київ, 28–29 січня 2025 р., форма участі – публікація тез);

10. VII Міжнародній науковій конференції «Лікарські рослини: традиції та перспективи досліджень» (Березоточа, 25 березня 2025 р., форма участі – публікація тез);

11. VII Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 11 квітня 2025 р., форма участі – публікація тез);

12. Міжрегіональній науково-практичній конференції з міжнародною участю «Освіта, наука та практика в контексті розвитку фармацевтичної галузі» (Івано-Франківськ, 30–31 травня 2025 р., форма участі – публікація тез);

13. Всеукраїнській науково-практичній конференції «Запорізький фармацевтичний форум – 2025» (Запоріжжя, 20–21 листопада 2025 р., форма участі – доповідь на секційному засіданні та публікація тез).

Додаток В

ІДЕНТИФІКАЦІЙНІ ВІДОМОСТІ



Національна академія аграрних наук України
Дослідна станція лікарських рослин
Інституту агроекології і природокористування

Україна, 37535, вул. Покровська, 16^а, с. Березоточа, Лубенський район, Полтавська обл., тел./факс (05361)90-110, (05361)90-634, E-mail: ukrvilar@ukr.net, код ЄДРПОУ 00482312, <http://dslr-naan.com.ua>

ІДЕНТИФІКАЦІЙНА ВІДОМІСТЬ

Наданий взірець цільної, культивованої, свіжозібраної сировини – «*Myrtus communis*»;

Країна походження Україна (м. Запоріжжя);

Дата отримання для ідентифікації: 16.10.2022 року;

Ідентифікований, як листя мирту звичайного – *Myrtus communis* L., а саме мирту звичайного дрібнолистої форми (*Myrtus communis* var. *romania* Mill.) – *Myrtus communis* Folia. Ідентифікаційна характеристика наведена нижче.

Макроскопічна ідентифікація:

Зразок цільної, свіжозібраної сировини представляє собою – суміш з частково фрагментованих облиствлених стебел, а також листків мирту звичайного дрібнолистої форми (*Myrtus communis* var. *romania* Mill.) – вічнозелений кущик родини миртових (Myrtaceae) (в Україні вирощується на Південному березі Криму та в умовах закритого ґрунту, в дикорослому стані в Україні не зустрічається).

При ідентифікації сировини мирту звичайного дрібнолистої форми (*Myrtus communis* var. *romania* Mill.) були використані лупи і бінокляр МБС-1 з відеокамерою USB-500.

За застосування макроскопічного аналізу було встановлено, що стебла здерев'янілі на зрізі округлі, розміщення листків на стеблі супротивне, листки прості, черешкуваті, форма листків продовгувато-яйцеподібна, із загостреною верхівкою і округлою злегка нерівносторонньою основою, що звужуються в черешок. Край листової пластинки цільний, довжина складає $1,2 \pm 0,1$ см, ширина $0,7 \pm 0,1$ см (з використанням цифрового штангенциркуля Electronic Digital Caliper). Жилкування – брехілодромне (перисто-петлеподібне), при якому жилки спрямовані до краю пластинки і з'єднуються з передньою бічною жилкою утворюючи петлю. Листки шкірясті на дотик, товщина листової пластинки $294,9 \pm 2,5$ мкм. За розміщенням стовпчастого мезофілу листок біфаціальний дорсовентральний типу.

Неозброєним оком добре помітні крапчасті ефіроолійні залозки і вмістилища (прозорі на просвіт), що розміщені біль-менш рівномірно по поверхні листової пластинки.

Макроскопічний опис відповідає опису рослинної сировини – *Myrtus communis* Folia, які наведені в доступних інформаційних джерелах, зокрема

Продовж. дод. В

ослини в *Определитель высших растений Украины*. Ред. Ю. Н. Прокудина. Київ: Наукова думка, 1987. с. 207. та сировини у чинному нормативному документі – «ДСТУ 4640:2006 Продукти перероблення субтропічних культур. Листя мирта, зизифуса, маслини та фейхоа. Технічні умови».

Інша органолептична ідентифікація цільної сировини:

Тактильна – свіжозібране листя цупке, шкірясте.

Забарвлення – з вентрального боку листка темно-зелене, з дорзального вігло-зелене.

Запах – терпко-бальзамічний, пряний, який підсилюється при розтиранні ніж пальцями (як свіжозібраної, так і висушеної сировини).

Смак – пряний, гіркий, злегка в'язучий.

Що відповідає опису сировини в «ДСТУ 4640:2006 Продукти перероблення субтропічних культур. Листя мирта, зизифуса, маслини та фейхоа. Технічні умови».

Зовнішні домішки:

– відсутні

Ідентифікацію проведено в Дослідній станції лікарських рослин ІАП НААН:

к.б.н., с.н.с. Глущенко Людмила Анатоліївна

Підписи засвідчують: фахівець з кадрової роботи Фелько Л.А.



Додаток Г
АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор з якості
ПрАТ ФФ «ВІОЛА», к.ф.п.
Наталія КАНДИБЕЙ
2025 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження:

Дослідження морфолого-анатомічної будови та визначення загальних мікро- та ультраморфологічних діагностичних ознак листя *Myrtus communis* L.

2. Установа, автор: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки, здобувачка – Ольга МАЦЕГОРОВА, науковий керівник – професорка Віра ОДИНЦОВА.

3. Джерела наукової інформації:

1. Вивчення морфолого-анатомічної будови мирту звичайного листя/ Мацегорова О.Є., Одинцова В.М.// IV Науково-практичної конференції з міжнародною участю «PLANTA+, Наука, практика та освіта», 20 лютого 2023 р., м. Київ.- С.100-102.

2. The anatomical and micromorphological structure of *Myrtus communis* L. leaves» / О. Ye. Matsegorova, V. M. Odyntsova // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024р. Том 17, № 2 (45) – С.122 – 130.

3. Micro- and ultramorphological features of the leaf cells of *Myrtus communis* L. as a parameter for the standardization of medicinal plant syrup are the basis for new herbal remedies/ V. M. Odyntsova, O. Ye. Matsegorova, S. I. Tertyshnyi, Yu. F. Polkovnikov //Сучасні медичні технології.2024р. Том 16, № 4– С. 292 – 302.

4. Місце впровадження: ПрАТ Фармацевтична фабрика «Віола», Департамент якості, відділ фармацевтичної розробки.

5. Суть впровадження: На підставі результатів мікроскопічного та ультраструктурного дослідження листя *Myrtus communis* L.:

- визначено чіткі діагностичні ознаки, що можуть бути використані як стандартизаційні параметри при заготівлі та контролі якості лікарської рослинної сировини;
- встановлено характерні анатомо-морфологічні та ультраморфологічні показники.

6. Мета впровадження:

Використання встановлених мікро- та ультраморфологічних характеристик листя *Myrtus communis* L. як стандартизованих параметрів у процесі:

- вхідного контролю якості сировини,
- створення нових фітопрепаратів,
- забезпечення надійної ідентифікації сировини в умовах заміщення імпортних компонентів.

7. Результати впровадження:

- Підвищено точність ідентифікації сировини *Myrtus communis* L.;
- Створено внутрішню настанову з мікроскопічного контролю для контролю якості сировини;
- Закладено науково обґрунтовані основи для подальшої розробки нового фітопрепарату на основі *Myrtus communis* L.

8. Строки впровадження: 2025 рік.

Начальник відділу
фармацевтичної розробки

Лілія АРТЕМЧУК

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

прокредитор з науково-педагогічної роботи
Одеського національного медичного



Директор кафедри Ольга КОТЮЖИНСЬКА

2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Дослідження морфолого-анатомічної будови та визначення загальних мікро- та ультраморфологічних діагностичних ознак листа *Myrtus communis* L.

2. Установа, автор: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки, здобувачка – Ольга МАЦЕГОРОВА, науковий керівник – професорка Віра ОДИНЦОВА.

3. Джерела інформації:

1. Вивчення морфолого-анатомічної будови мирту звичайного листа/ Матсегорова О.С., Одинцова В.М. // IV Науково-практичної конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта», 20 лютого 2023 р., м. Київ. – С.100-102.

2. The anatomical and micromorphological structure of *Myrtus communis* L. leaves / O. Ye. Matsegorova, V. M. Odyntsova // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Том 17, № 2 (45) – С.122 – 130.

3. Micro- and ultramorphological features of the leaf cells of *Myrtus communis* L. as a parameter for the standardization of medicinal plant syrup are the basis for new herbal remedies / V. M. Odyntsova, O. Ye. Matsegorova, S. I. Tertyshnyi, Yu. F. Polkovnikov // Сучасні медичні технології. 2024. Том 16, № 4 – С. 292 – 302.

Проведено морфолого-анатомічний аналіз представника роду миртових *Myrtus communis* L., визначено загальні діагностичні мікроскопічні та ультраморфологічні ознаки листа мирту.

4. Де впроваджено: кафедра загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету.

5. Форма впровадження: навчальний процес, у лекційному курсі, в науково-дослідній роботі.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань здобувачів освіти другого (магістерського) та третього (освітньо-наукового) рівнів вищої освіти з питань морфолого-анатомічної будови лікарської рослинної сировини *Myrtus communis* L.

7. Строки впровадження: 2025-2026 навчальний рік.

Завідувач кафедри загальної і клінічної
фармакології та фармакогнозії
д. мед. н., професор

Ярослав РОЖКОВСЬКИЙ

Продовж. дод. Г

ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти з наукової роботи
Тернопільського національного медичного
університету імені І. Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України
проф. Іван КЛІЩ



12 лютого 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Дослідження морфолого-анатомічної будови та визначення загальних мікро- та ультраморфологічних діагностичних ознак листа *Myrtus communis* L.

2. Установа, автор: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки, здобувачка – Ольга МАЦЕГОРОВА, науковий керівник – професорка Віра ОДИНЦОВА.

3. Джерела інформації:

1. Вивчення морфолого-анатомічної будови мирту звичайного листа / Мацегорова О.Є., Одинцова В.М. // IV Науково-практичної конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта», 20 лютого 2023 р., м. Київ. С.100-102.

2. The anatomical and micromorphological structure of *Myrtus communis* L. leaves» / О. Ye. Matsegorova, V. M. Odyntsova. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 2 (45). С.122 – 130.

3. Micro- and ultramorphological features of the leaf cells of *Myrtus communis* L. as a parameter for the standardization of medicinal plant syrup are the basis for new herbal remedies / V. M. Odyntsova, O. Ye. Matsegorova, S. I. Tertysnyi, Yu. F. Polkovnikov. Сучасні медичні технології. 2024. Т. 16, № 4, С. 292 – 302.

Проведено морфолого-анатомічний аналіз представника роду Миртові *Myrtus communis* L., визначено загальні діагностичні мікроскопічні та ультраморфологічні ознаки листа мирту.

4. Де впроваджено: кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України

5. Форма впровадження: навчальний процес, у лекційному курсі, в науково-дослідній роботі.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань здобувачів освіти другого (магістерського) та третього (освітньо-наукового) рівнів вищої освіти з питань морфолого-анатомічної будови лікарської рослинної сировини.

7. Строки впровадження: 2024-2025 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармакогнозії
з медичною ботанікою,
д. фарм. наук, професор

Світлана МАРЧИШИН

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 проректор з наукової роботи
 Ужгородського національного університету

д.мед.н., проф. Іван МИРОНИУК
 « 04 » _____ 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Дослідження морфолого-анатомічної будови та визначення загальних мікро- та ультраморфологічних діагностичних ознак листа *Myrtus communis* L.

2. Установа, автор: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки, здобувачка – Ольга МАЦЕГОРОВА, науковий керівник – професорка Віра ОДИНЦОВА.

3. Джерела інформації:

1. Вивчення морфолого-анатомічної будови мирту звичайного листа / Мацегорова О.С., Одинцова В.М. // IV Науково-практичної конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта», 20 лютого 2023 р., м. Київ. – С.100-102.

2. The anatomical and micromorphological structure of *Myrtus communis* L. leaves // О. Ye. Matsegorova, V. M. Odyntsova // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024р. Том 17, № 2 (45) – С.122 – 130.

3. Micro- and ultramorphological features of the leaf cells of *Myrtus communis* L. as a parameter for the standardization of medicinal plant syrup are the basis for new herbal remedies / V. M. Odyntsova, O. Ye. Matsegorova, S. I. Tertyshnyi, Yu. F. Polkovnikov // Сучасні медичні технології. 2024. Том 16, № 4– С. 292 – 302.

Проведено морфолого-анатомічний аналіз представника роду миртових *Myrtus communis* L., визначено загальні діагностичні мікроскопічні та ультраморфологічні ознаки листа мирту.

4. Де впроваджено: кафедра фармацевтичних дисциплін Ужгородського національного університету.

5. Форма впровадження: навчальний процес, у лекційному курсі, в науково-дослідній роботі.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань здобувачів освіти другого (магістерського) та третього (освітньо-наукового) рівнів вищої освіти з питань морфолого-анатомічної будови лікарської рослинної сировини.

7. Строки впровадження: 2025-2026 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармацевтичних
 дисциплін, к.фарм.н., доцент



Анжела ШТРОБЛЯ

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

проректор з наукової роботи та
інновацій Національного медичного
університету імені О.О. Богомольця

д.фарм.н., проф. Сергій ЗЕМСКОВ

«_____» 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Дослідження морфолого-анатомічної будови та визначення загальних мікро- та ультраморфологічних діагностичних ознак листя *Myrtus communis* L.

2. Установа, автор: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки, здобувачка – Ольга МАЦЕГОРОВА, науковий керівник – професорка Віра ОДИНЦОВА.

3. Джерела інформації:

1. Вивчення морфолого-анатомічної будови мирту звичайного листя / Мацегорова О.Є., Одинцова В.М. // IV Науково-практичної конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта», 20 лютого 2023 р., м. Київ. – С.100-102.

2. The anatomical and micromorphological structure of *Myrtus communis* L. leaves / O. Ye. Matsegorova, V. M. Odyntsova // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Том 17, № 2 (45) – С.122 – 130.

3. Micro- and ultramorphological features of the leaf cells of *Myrtus communis* L. as a parameter for the standardization of medicinal plant syrup are the basis for new herbal remedies / V. M. Odyntsova, O. Ye. Matsegorova, S. I. Tertyshnyi, Yu. F. Polkovnikov // Сучасні медичні технології. 2024. Том 16, № 4 – С. 292 – 302.

Проведено морфолого-анатомічний аналіз представника роду миртових *Myrtus communis* L., визначено загальні діагностичні мікроскопічні та ультраморфологічні ознаки листя мирту.

4. Де впроваджено: кафедра фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

5. Форма впровадження: навчальний процес, у лекційному курсі, в науково-дослідній роботі.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови лікарської рослинної сировини.

7. Строки впровадження: 2025-2026 навчальний рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 21 від « 28 » травня 2025 р.

Завідувачка кафедри фармакогнозії та ботаніки,
д. біол.н., професорка

Валентина МІНАРЧЕНКО

Відповідальний за впровадження:
Професорка кафедри фармакогнозії та ботаніки,
д.фарм.н, професор

Уляна КАРПЮК

Продовж. дод. Г



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

професор наукової роботи Запорізького
державного медико-фармацевтичного
університету.

д. мед. н., проф. Валерій ТУМАНСЬКИЙ

10

2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Дослідження морфолого-анатомічної будови та визначення загальних мікро- та ультраморфологічних діагностичних ознак листа *Myrtus communis* L.

2. Установа, автор: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки, здобувачка – Ольга МАЦЕГОРОВА, науковий керівник – професорка Віра ОДИНЦОВА.

3. Джерела інформації:

1. Вивчення морфолого-анатомічної будови мирту звичайного листа/ Мацегорова О.Є., Одинцова В.М.// IV Науково-практичної конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта», 20 лютого 2023 р., м. Київ.- С.100-102.

2. The anatomical and micromorphological structure of *Myrtus communis* L. leaves» / O. Ye. Matsegorova, V. M. Odyntsova // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024р. Том 17, № 2 (45) – С.122 – 130.

3. Micro- and ultramorphological features of the leaf cells of *Myrtus communis* L. as a parameter for the standardization of medicinal plant syrup are the basis for new herbal remedies/ V. M. Odyntsova, O. Ye. Matsegorova, S. I. Tertyshnyi, Yu. F. Polkovnikov //Сучасні медичні технології.2024р. Том 16, № 4– С. 292 – 302.

Проведено морфолого-анатомічний аналіз представника роду миртових *Myrtus communis* L., визначено загальні діагностичні мікроскопічні та ультраморфологічні ознаки листа мирту.

4. Де впроваджено: кафедра клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

5. Форма впровадження: навчальний процес, у лекційному курсі, в науково-дослідній роботі.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови лікарської рослинної сировини.

7. Строки впровадження: 2025-2026 навчальний рік.

Завідувач кафедри клінічної фармації, фармакотерапії,
фармакогнозії та фармацевтичної хімії,
д. мед.н., професор

Іван БІЛАЙ

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з навчальної роботи та рекрутації,

кандидат філологічних наук,
професор

Громик Юрій Васильович


«29» серпня 2025 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Дослідження морфолого-анатомічної будови та визначення загальних мікро- та ультраморфологічних діагностичних ознак листя *Myrtus communis* L.

2. Установа, автор: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки, здобувачка – Ольга МАЦЕГОРОВА, науковий керівник – професорка Віра ОДИНЦОВА.

3. Джерела інформації:

1. Вивчення морфолого-анатомічної будови мирту звичайного листя/ Мацегорова О.Є., Одинцова В.М.// IV Науково-практичної конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта», 20 лютого 2023 р., м. Київ.- С.100-102.

2. The anatomical and micromorphological structure of *Myrtus communis* L. leaves» / O. Ye. Matsegorova, V. M. Odyntsova // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024р. Том 17, № 2 (45) – С.122 – 130.

3. Micro- and ultramorphological features of the leaf cells of *Myrtus communis* L. as a parameter for the standardization of medicinal plant syrup are the basis for new herbal remedies/ V. M. Odyntsova, O. Ye. Matsegorova, S. I. Tertysnyi, Yu. F. Polkovnikov //Сучасні медичні технології.2024р. Том 16, № 4– С. 292 – 302.

Проведено морфолого-анатомічний аналіз представника роду миртових *Myrtus communis* L., визначено загальні діагностичні мікроскопічні та ультраморфологічні ознаки листя мирту.

4. Де впроваджено: кафедра фармації та фармакології Волинського національного університету імені Лесі Українки.

5. Форма впровадження: навчальний процес, у лекційному курсі, в науково-дослідній роботі.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови лікарської рослинної сировини.

7. Строки впровадження: 2025-2026 навчальний рік.

Завідувачка кафедри фармації та фармакології, д. фарм. н., професор

 Мар'яна ФЕДОРОВСЬКА

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор закладу вищої освіти
 з науково-педагогічної роботи
 Буковинського державного
 медичного університету
 доцент  Володимир ХОДОРОВСЬКИЙ
 « // » _____ 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Дослідження морфолого-анатомічної будови та визначення загальних мікро- та ультраморфологічних діагностичних ознак листа *Myrtus communis* L.

2. Установа, автор: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки, здобувачка – Ольга МАЦЕГОРОВА, науковий керівник – професорка Віра ОДИНЦОВА.

3. Джерела інформації:

1. Вивчення морфолого-анатомічної будови мирту звичайного листа/ Мацегорова О.Є., Одинцова В.М.// IV Науково-практичної конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта», 20 лютого 2023 р., м. Київ.- С.100-102.

2. The anatomical and micromorphological structure of *Myrtus communis* L. leaves» / O. Ye. Matsegorova, V. M. Odyntsova // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024р. Том 17, № 2 (45) – С.122 – 130.

3. Micro- and ultramorphological features of the leaf cells of *Myrtus communis* L. as a parameter for the standardization of medicinal plant syrup are the basis for new herbal remedies/ V. M. Odyntsova, O. Ye. Matsegorova, S. I. Tertyshnyi//Сучасні медичні технології.2024р. Том 16, № 4– С. 292 – 302.

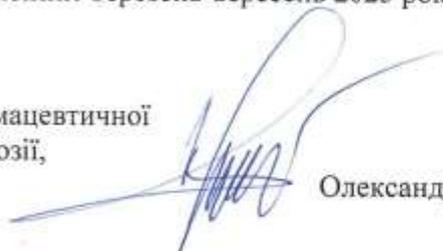
4. Де впроваджено: кафедра фармацевтичної ботаніки та фармакогнозії Буковинського державного медичного університету.

5. Форма впровадження: навчальний процес, у лекційному курсі.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань морфолого-анатомічної будови лікарської рослинної сировини роду миртових.

7. Строки впровадження: березень-вересень 2025 року.

Завідувач кафедри фармацевтичної
 ботаніки та фармакогнозії,
 д. мед. н., професор



Олександр ЗАХАРЧУК

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Івано-Франківського національного медичного
університету

д.мед.н., проф. Наталія КОЗАНЬ
« // » 2025 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. Найменування пропозиції для впровадження: Дослідження морфолого-анатомічної будови та визначення загальних мікро- та ультраморфологічних діагностичних ознак листа *Myrtus communis* L.

2. Установа, автор: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки, здобувачка – Ольга МАЦЕГОРОВА, науковий керівник – професорка Віра ОДИНЦОВА.

3. Джерела інформації:

1. Вивчення морфолого-анатомічної будови мирту звичайного листа / Мацегорова О.С., Одинцова В.М. // IV Науково-практичної конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта», 20 лютого 2023 р., м. Київ. – С.100-102.

2. The anatomical and micromorphological structure of *Myrtus communis* L. leaves» / O. Ye. Matsegorova, V. M. Odyntsova // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024р. Том 17, № 2 (45) – С.122 – 130.

3. Micro- and ultramorphological features of the leaf cells of *Myrtus communis* L. as a parameter for the standardization of medicinal plant syrup are the basis for new herbal remedies / V. M. Odyntsova, O. Ye. Matsegorova, S. I. Tertyshnyi, Yu. F. Polkovnikov // Сучасні медичні технології. – 2024. Том 16, № 4 – С. 292-302.

Проведено морфолого-анатомічний аналіз представника роду миртових *Myrtus communis* L., визначено загальні діагностичні мікроскопічні та ультраморфологічні ознаки листа мирту.

4. Де впроваджено: кафедра фармацевтичного управління, технології ліків та фармакогнозії Івано-Франківського національного медичного університету

5. Форма впровадження: в науково-дослідну роботу, в навчальний процес.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань з питань морфолого-анатомічної будови лікарської рослинної сировини.

7. Строки впровадження: 2025-2026 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармацевтичного управління,
технології ліків та фармакогнозії,
д. фарм. н., професор

Андрій ГРИЦИК

Відповідальний за впровадження:
к. біол. н., доцент

Світлана ДАНИЛІВ

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



прокредитор з наукової роботи Запорізького
державного медико-фармацевтичного
університету

10
проф. Валерій ТУМАНСЬКИЙ

2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Електронно-мікроскопічне дослідження цитоморфологічної будови листа мирту звичайного та систематизація його ультраструктурних діагностичних ознак.

2. Установа, автор: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки, здобувачка – Ольга МАЦЕГОРОВА, науковий керівник – професорка Віра ОДИНЦОВА.

3. Джерела інформації:

Micro- and ultramorphological features of the leaf cells of *Myrtus communis* L. as a parameter for the standardization of medicinal plant syrup are the basis for new herbal remedies/ V. M. Odyntsova, O. Ye. Matsehorova, S. I. Tertyshnyi, Yu. F. Polkovnikov //Сучасні медичні технології.2024р. Том 16, № 4– С. 292 – 302.

Проведено морфолого-анатомічний аналіз представника роду миртових *Myrtus communis* L., визначено загальні діагностичні ультраморфологічні ознаки листа мирту.

4. Де впроваджено: кафедра медбіології, паразитології та генетики Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

5. Форма впровадження:

У навчальному процесі:

- для ілюстрації ультраструктурної організації рослинної клітини (клітинна стінка, хлоропласти, мітохондрії, вакуолі, ендоплазматична сітка, апарат Гольджі);

- при вивченні спеціалізації клітин листка та їхніх цитоморфологічних особливостей;

- як приклад застосування електронної мікроскопії в сучасних біологічних дослідженнях.

У науково-дослідній роботі студентів:

- при виконанні курсових і кваліфікаційних робіт;

- під час підготовки студентських наукових доповідей з цитології та анатомії рослин;

- як модельний об'єкт для формування навичок аналізу ультраструктурних даних.

6. Ефект від впровадження:

Впровадження зазначених матеріалів у навчальний процес сприяє:

- поглибленню теоретичних знань студентів щодо ультраструктурної організації рослинних органів;

- формуванню сучасного наукового світогляду та практичних навичок інтерпретації електронно-мікроскопічних даних;

- підвищенню якості підготовки фахівців біологічного та медико-біологічного профілю.

7. Строки впровадження: 2025-2026 навчальний рік.

Завідувач кафедри медбіології,
паразитології та генетики, д. біол.н., доцент

Олександр ПРИХОДЬКО

Додаток Д
МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ (ПРОЄКТ)

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор Запорізького державного медико-фармацевтичного університету,
професор Олександр Юрій КОЛЕСНИК

15 » вересня 2025 р

Заявник, країна: Запорізький державний медико-фармацевтичний
університет, Україна

Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
(ПРОЄКТ)

Myrti communis folium

МИРТУ ЗВИЧАЙНОГО ЛИСТЯ

Лікарська рослинна сировина по 100 г у пачці

Продовж. дод. Д

ПАКУВАННЯ

По 100 г у чистих, сухих пачках із внутрішнім пакетом.

МАРКУВАННЯ (ТЕКСТ ЕТИКЕТУВАННЯ)

На пачці має бути вказана назва рослинної сировини латинською та українською мовами, найменування та місцезнаходження, номер телефону постачальника, знак для товарів та послуг, маса сировини в упаковці при максимально допустимій волозі, реєстраційний номер, номер партії (серії) та термін придатності.

ЗБЕРІГАННЯ

Зберігати в сухому, добре вентиляваному приміщенні, у щільно закупореній тарі, захищеній від світла, при температурі не вище 25 °С, якщо інше не зазначено в АНД/монографії.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 року.

Розробники

Доктор фармацевтичних наук,
професор кафедри фармакогнозії,
фармакології та ботаніки ЗДМФУ



Віра ОДИНЦОВА

Аспірантка кафедри фармакогнозії,
фармакології та ботаніки ЗДМФУ



Ольга МАЦЕГОРОВА

Продовж. дод. Д

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор Запорізького державного медико-фармацевтичного університету,

професор  Юрій КОЛЕСНИК

15 » вересня 2025 р

Заявник, країна: Запорізький державний медико-фармацевтичний
університет, Україна

Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

(ПРОЄКТ)

*Myrti communis extractum spissum***МИРТУ ЗВИЧАЙНОГО ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ**

у банках із скломаси для виробництва нестерильних лікарських
форм по 100 г

Продовж. дод.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробники

Доктор фармацевтичних наук,
професор кафедри фармакогнозії,
фармакології та ботаніки ЗДМФУ

Віра ОДИНЦОВА

Аспірантка кафедри фармакогнозії,
фармакології та ботаніки ЗДМФУ

Ольга МАЦЕГОРОВА

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ

створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 14:50:02 23.02.2026

Назва файлу з підписом: Дисертація Мацегорова Ольга Євгенівна.pdf.asice

Розмір файлу з підписом: 3.6 МБ

Перевірені файли:

Назва файлу без підпису: Дисертація Мацегорова Ольга Євгенівна.pdf

Розмір файлу без підпису: 4.0 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: Мацегорова Ольга Євгенівна

П.І.Б.: Мацегорова Ольга Євгенівна

Країна: Україна

РНОКПП: 3354007162

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 14:49:56 23.02.2026

Сертифікат виданий: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг

Серійний номер: 514B5C86A1E5DA1104000000D1AC0E0133AA2305

Тип носія особистого ключа: ЗНКІ криптомодуль ІІТ Гряда-301

Алгоритм підпису: ДСТУ 4145

Тип підпису: Кваліфікований

Тип контейнера: Підпис та дані в архіві (розширений) (ASiC-E)

Формат підпису: З повними даними для перевірки (XAdES-B-LT)

Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2025.08.25 13:00