

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
факультет фармацевтичних технологій та менеджменту
кафедра фармакогнозії та нутриціології**

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: **«ФІТОХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ ЕКСТРАКТІВ
ПЛОДІВ МАКЛЮРИ ПОМАРАНЧЕВОЇ»**

Виконала: здобувачка вищої освіти групи

Фм20(3,10д)-01

спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація

Соломія СЕБІЙ

Керівник: доцент закладу вищої освіти кафедри
фармакогнозії та нутриціології, к.фарм.н., доцент
Олена НОВОСЕЛ

Рецензент: завідувач кафедри загальної хімії,
д.фарм.н., професор Сергій КОЛІСНИК

Харків – 2024 рік

АНОТАЦІЯ

Кваліфікаційна робота присвячена фітохімічному вивченню екстрактів плодів маклюри помаранчевої. Розроблено спосіб одержання екстрактів з свіжих та висушених плодів маклюри помаранчевої. Проведено порівняльний якісний та кількісний аналіз біологічно активних речовин у одержаних екстрактів з свіжих та висушених плодів маклюри помаранчевої. Встановлено рівень антиоксидантної активності одержаних рідких екстрактів з свіжих та висушених плодів маклюри помаранчевої. Розроблена параметри якості для екстракту з свіжих плодів маклюри та проведено його стандартизація відповідно до встановлених вимог. Кваліфікаційна робота містить 50 сторінок, 16 таблиць, 9 рисунків, список літератури з 45 найменувань.

Ключові слова: маклюра помаранчева, свіжі та висушені плоди, фітохімічний аналіз, антиоксидантна активність, стандартизація

ANNOTATION

The qualification work is dedicated to the phytochemical study of extracts from osage orange fruits. A method for obtaining extracts from fresh and dried osage orange fruits has been developed. A comparative qualitative and quantitative analysis of biologically active substances in the obtained extracts from fresh and dried osage orange fruits has been conducted. The level of antioxidant activity of the obtained liquid extracts from fresh and dried osage orange fruits has been determined. Quality parameters for the extract from fresh osage orange fruits have been developed, and its standardization has been carried out in accordance with established requirements. The qualification work contains 50 pages, 16 tables, 9 figures, a list of references of 45 titles.

Key words: osage orange, fresh and dried fruits, phytochemical analysis, antioxidant activity, standardization

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	5
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ I БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА ХІМІЧНИЙ СКЛАД <i>M. POMIFERA</i> (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	9
1.1 Ботанічна характеристика, географічне поширення та заготівля <i>M. pomifera</i>	9
1.2 Хімічний склад плодів <i>Maclura pomifera</i>	12
1.3 Фармакологічні властивості <i>Maclura pomifera</i> та застосування в медицині.....	16
Висновки до розділу 1	18
РОЗДІЛ II ОДЕРЖАННЯ РІДКИХ ЕКСТРАКТІВ З ВИСУШЕНИХ ТА СВІЖИХ ПЛОДІВ <i>MACLURA POMIFERA</i>	19
2.1 Вибір оптимального екстрагенту	19
2.2 Вибір оптимального співвідношення "сировина–екстрагент"	21
2.3 Вибір оптимальної температури екстракції	22
2.4. Вибір оптимального часу екстракції.....	23
2.5 Вибір оптимальної кратності екстракції.....	24
2.6 Спосіб одержання рідкого екстракту зі свіжої та висушеної сировини.....	26
Висновки до розділу 2	26
РОЗДІЛ III ФІТОХІМІЧНЕ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РІДКИХ ЕКСТРАКТІВ ПЛОДІВ <i>MACLURA POMIFERA</i>	27
2.1 Якісний аналіз БАР у рідких екстрактах плодів <i>Maclura pomifera</i>	27
3.2 Вміст сухого залишку	32
3.3. Вміст суми фенольних сполук.....	33
3.4 Вміст суми флавоноїдів	33
3.5 Вміст суми гідроксикоричних кислот.....	34
3.6 Вміст суми органічних кислот.....	36
3.7 Антиоксидантна активність	37
Висновки до розділу 3	39

РОЗДІЛ ІV ПАРАМЕТРИ СТАНДАРТИЗАЦІЇ РІДКОГО ЕКСТРАКТУ	
СВІЖИХ ПЛОДІВ <i>MACLURA POMIFERA</i>	41
Висновки до розділу 4	49
ВИСНОВКИ.....	50
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	51
ДОДАТКИ.....	57

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт;

БАР – біологічно активні речовини;

ДФУ – Державна Фармакопея України;

ЛРС – лікарська рослина сировина;

ТШХ – тонкошарова хроматографія;

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок.

ВСТУП

Актуальність проблеми. На сьогодні великий інтерес вчених спрямований на вивчення похідних ізофлавоноїдів, їх фармакологічної активності, а також їх перспективних джерел одержання. Одним з таких на території України є маклюра помаранчева.

Маклюра помаранчева (*Maclura pomifera* L.) належить до родини Тутові (*Moracea*). У традиційній медицині ця рослина використовується при ревматоїдному артриті, невралгіях, ударах та вивихах. За рядом літературних джерел було встановлено, що *Maclura pomifera*, крім ізофлавоноїдів, містить у своєму складі органічні кислоти, тритерпени та фенольні сполуки. Тому *Maclura pomifera* є перспективною рослиною для фітохімічного дослідження.

Перед отриманням екстрактів, настоїв і настоек сировину передусім сушать з метою підвищення терміну зберігання. Але за рядом зарубіжних досліджень було відзначено, що процес висушування негативно впливає на вміст біологічно активних сполук. Таким чином, у нашій роботі необхідно вивчити, як впливає процес сушіння на вміст фенольних сполук та антиоксидантну активність одержаних екстрактів з плодів *Maclura pomifera*.

Мета дослідження. Метою цієї роботи стало фітохімічне вивчення екстрактів плодів *Maclura pomifera*.

Завдання дослідження. Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- провести літературний пошук щодо ботанічної характеристики, географічного поширення, заготівлі, хімічного складу та фармакологічних властивостей *Maclura pomifera*;
- розробити спосіб одержання рідкого екстракту зі свіжої та висушеної сировини *Maclura pomifera*;
- провести порівняльний якісний аналіз одержаних рідких екстрактів зі свіжих та висушених плодів *Maclura pomifera* на наявності флавоноїдів, полісахаридів, дубильних речовин і органічних кислот;

- провести порівняльний кількісний аналіз одержаних рідких екстрактів зі свіжих та висушених плодів *Maclura pomifera* на вміст сухого залишку, фенольних сполук, флавоноїдів, гідроксикоричних і органічних кислот;
- провести порівняльний аналіз рівня антиоксидантної активності рідких екстрактів зі свіжих та висушених плодів *Maclura pomifera*;
- розробити параметри якості та провести стандартизацію перспективного рідкого екстракту з плодів *Maclura pomifera*.

Предмет дослідження. Встановлення якісного складу та кількісного вмісту біологічно активних речовин витяжок, екстрактів зі свіжих та висушених плодів *Maclura pomifera* та параметрів стандартизації перспективного рідкого екстракту.

Об'єкт дослідження. Фітохімічне вивчення витяжок і рідких екстрактів зі свіжих та висушених плодів *Maclura pomifera*.

Методи дослідження. Для вирішення поставлених у роботі завдань були використані такі методи: ТШХ, реакції ідентифікації, спектрофотометричний метод. Антиоксидантну активність визначали потенціометричним методом. Статистичний метод використовували для обробки одержаних результатів.

Практичне значення одержаних результатів: У результаті проведених досліджень показано можливість розширення асортименту ЛРС за рахунок використання плодів *Maclura pomifera*. Встановлено наявність антиоксидантної активності рідких екстрактів плодів *Maclura pomifera* та проведена стандартизація рідкого екстракту зі свіжих плодів *Maclura pomifera*.

Елементи наукових досліджень. Розроблено спосіб одержання рідкого екстракту зі свіжих та висушених плодів *Maclura pomifera*. Встановлено, що оптимальними умовами для екстрагування є: екстрагент – 40% етанол, співвідношення "сировина–екстрагент" – 1:20, температура – 100°C, час екстракції – 60 хв, кратність екстракції – 3 рази.

Проведено якісний аналіз одержаних рідких екстрактів плодів *Maclura pomifera*. Встановлено, що в екстрактах присутні флавоноїди, полісахариди, дубильні речовини та органічні кислоти. Також, методом ТШХ у рідких екстрак-

тах ідентифіковані: рутин, поміферин, осаїн, лимона, щавлева, яблучна та кофейна кислоти. Встановлено, що у екстракті зі свіжої сировини вміст фенольних сполук був вищий на 29 %, флавоноїдів – 30 %, гідроксикоричних кислот – 29 % і органічних кислот – 20 %. Визначено, що рівень антиоксидантної активності екстракту зі свіжих плодів *Maclura pomifera* більше на 30 %, ніж екстракту з висушених плодів. Розроблено параметри стандартизації рідкого екстракту зі свіжих плодів *Maclura pomifera* як перспективного АФІ. Проведено стандартизацію 3 серій рідкого екстракту зі свіжих плодів *Maclura pomifera*.

Апробація результатів дослідження та публікації. Результати дослідження були представлені на ХХІХ міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених "Актуальні питання створення нових лікарських засобів", яка відбулася 19-21 квітня 2023 р. (м. Харків) За результатами кваліфікаційної роботи опубліковано 1 тези доповіді.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Робота складається зі вступу, анотації українською та англійською мовами, огляду літератури, 3-х розділів власних досліджень, загальних висновків, списку використаної літератури, який включає 45 джерел, у тому числі 37 латиницею, та додатків. Зміст роботи викладено на 50 сторінках, ілюстровано 16 таблицями та 9 рисунками.

РОЗДІЛ 1

БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА ХІМІЧНИЙ СКЛАД *M. POMIFERA* (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Ботанічна характеристика, географічне поширення та заготівля *M. pomifera*

Maclura pomifera – це дводомне листопадне дерево заввишки до 20 м родини Тутові (*Moraceae*) (рис. 1.1). Має густу крону з колючими гілками. Має такі назви: адамово яблуко, конське яблуко и дорожнє яблуко [1].



Рис. 1.1 *Maclura pomifera* у природі

Листя цілі, від яйцеподібної до довгасто-ланцетної форми, на верхівці загострені, розташовані на гілках спірально (рис 1.2) [1].



Рис. 1.2 Листя *Maclura pomifera*

Тичинкові квітки зібрані в сержкоподібні, маточкові – в густі головчасті суцвіття (рис 1.3) [1].



А

Б

Рис. 1.3 Тичинкові (А) та маточні квітки (Б) *Maclura pomifera*

Супліддя мають кулясту форму, зовнішня поверхня зморшкувата, золотаво-жовтого кольору, дещо нагадує апельсин. Вони складаються з численних су-

хих однонасінних плодиків, які занурені разом з оцвітиною в м'ясисту вісь розрослого суцвіття. Супліддя досягають восени, маса яких може коливатися від 300 до 800 г. Плодики містять від 270 до 700 насінин. Супліддя маклюри неїстівна (рис. 1.4) [2].



Рис. 1.4 Зовнішній вигляд плоду *Maclura pomifera*

Maclura pomifera невибаглива до умов зростання та може витримувати посуху. Надає перевагу відкритим сонячним місцям. Може рости на різних типах ґрунтів, але найкращим для маклюри є рН ґрунту 4,5 і добре дренований [3].

Географічно *Maclura pomifera* походить з Північна Америки, зі штатів Оклахома, Арканзас і Техас. Сьогодні широко розповсюджена по всій території США, у Південній Європі, Африці, Середній Азії та Закавказзі [4]. В Україні *Maclura pomifera* росте на південному сході країни – у Херсонській, Донецькій і Запорізькій областях. Рослина була інтродукована в середині дев'ятнадцятого століття, а протягом двадцятого – перенесена в степову частину Тавриди, де успішно розповсюдилися. У 60-х роках минулого століття *Maclura pomifera* почали масово висаджувати у посадках, метою яких було створення вітрозахисних бар'єрів для запобігання ерозії ґрунту [5].

Урожайність маклюри залежить від генетичних особливостей сорту, віку, місця зростання та вологості, яка може бути від кількох до 100 кг, а у окремих дерев – 400-500 кг і вище. Сухе насіння становить 2,4-3,9 % від ваги яблука [6].

1.2 Хімічний склад плодів *Maclura pomifera*

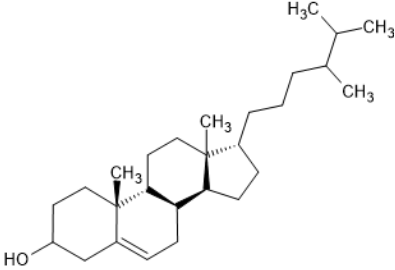
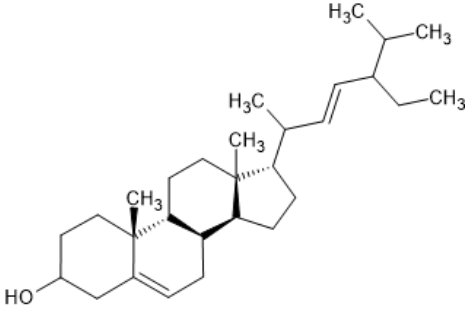
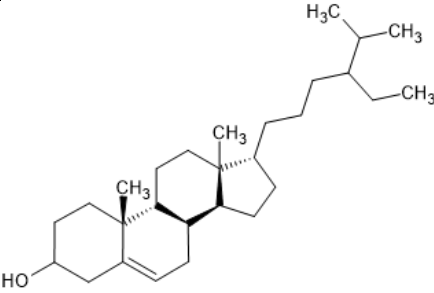
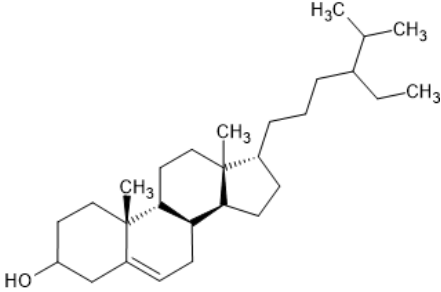
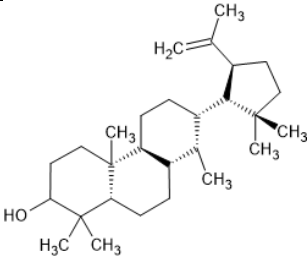
Хімічний склад плодів *Maclura pomifera* представлено фітостеролами, органічними кислотами та флавоноїдами. Домінуючими БАР є похідні органічних кислот (5925 мг/100 г), у найменшій кількості містяться фітостероли (800,92 мг/100 г). Серед фітостеролів ідентифіковані кампестерол, стигмастерол, β -ситостерол, люпеол та Δ^5 -авенастерол. У сировині маклюри β -ситостерол (660,12 мг/100 г) присутній у найбільшій кількості, у найменшій – Δ^5 -авенастерол (30,42 мг/100 г) (табл. 1.1) [6].

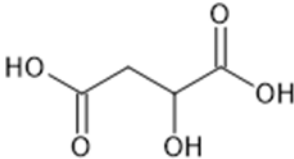
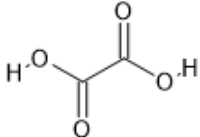
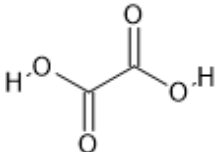
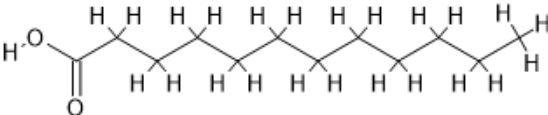
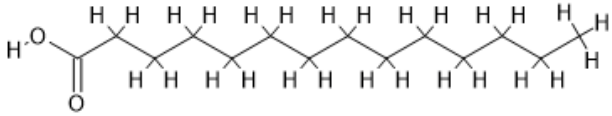
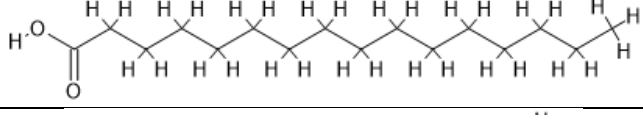
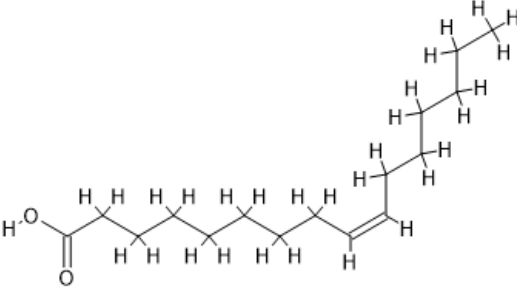
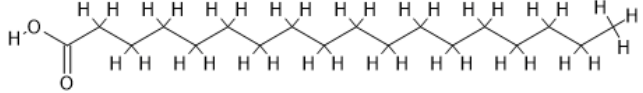
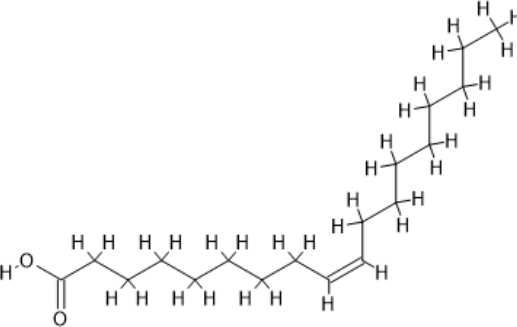
У плодах *Maclura pomifera* містяться жирні та дикарбонові кислоти. Кількісний вміст дикарбонових кислот складає 5000 мг/100 г, а жирних кислот – 925 мг/100 г. Жирні кислоти представлені лауриною, міристиною, пальмітиною, пальметолеїною, стеариною, олеїною, лінолевою, ліноленою, арахідоною та бегеновою кислотами. Лідерами серед жирних кислот є ліолева (70,10 мг/100 г), олеїнова (11,94 мг/100 г) і пальматинова кислоти (6,00 мг/100 г). Серед дикарбонових кислот виявлені яблучна, щавлева та тартратна кислоти. Найбільша кількість визначено для щавлевої кислоти (2200 мг/100 г), найменший – для яблучної (табл. 1.1) (1210 мг/100 г) [8, 9].

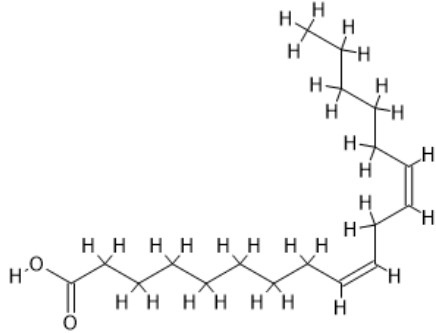
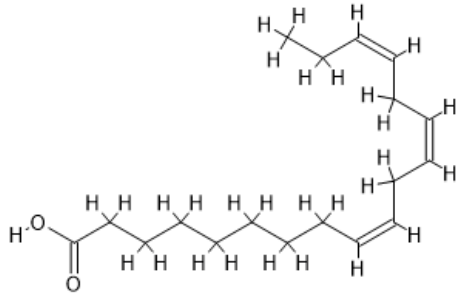
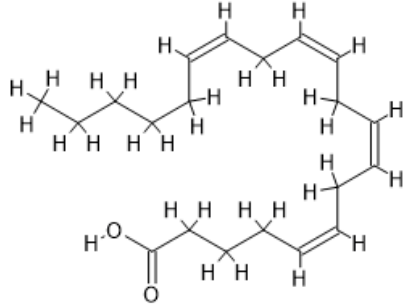
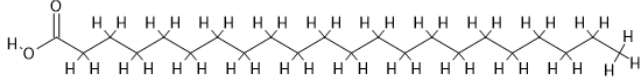
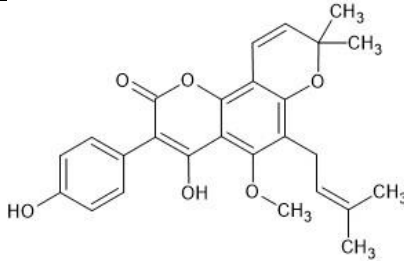
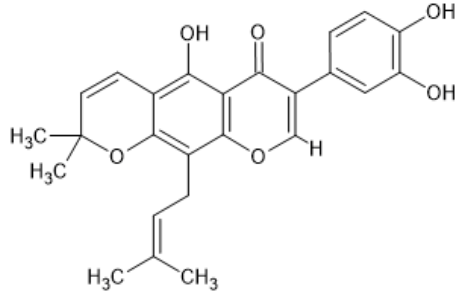
Серед флавоноїдів основними сполуками є поміферин (1500 мг/100 г) та осаїн (500 мг/100 г), які належать до ізофлавоноїдів. Також ідентифіковані кверцетин (100 мг/кг) та кемпферол (500 мг/100 г), вміст якого у 5 разів вищий, ніж кверцетину (табл. 1.1) [10].

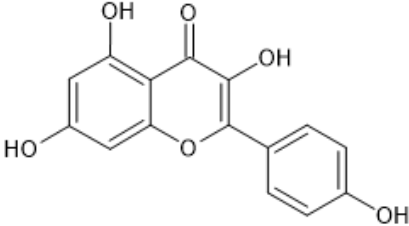
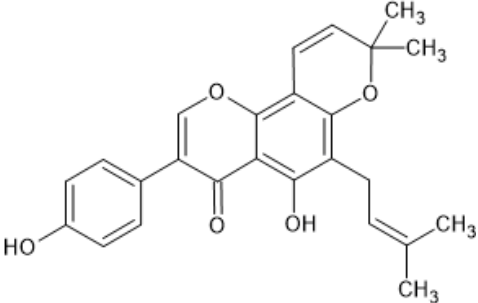
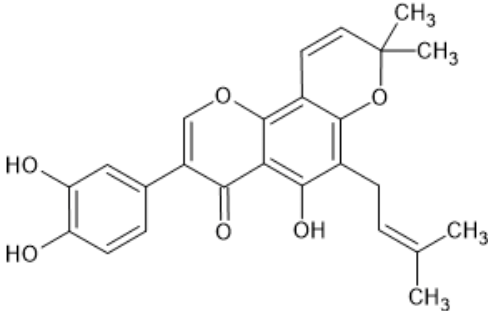
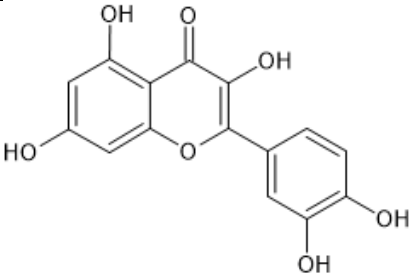
Узагальнені відомості щодо хімічного складу маклюри помаранчевого наведено у табл. 1.1.

Хімічний склад плодів *Maclura pomifera*

Назва сполуки	Хімічна формула	Вміст, мг/100 г у перерахунку на суху сировину
1	2	3
Фітостероли		
Кампестерол		55,29 [8]
Стигмастерол		35,00 [8]
β -Сітостерол		660,12 [8]
Люпеол		20,13 [8]
Δ^5 -Авенастерол		30,42 [8]
Сума фітостеролів		800,92

1	2	3
Органічні кислоти		
Яблучна кислота		1210 [11, 12]
Щавлева кислота		2200 [11, 12]
Янтарна кислота		1570 [11, 12]
Сума дикарбонових кислот		5000
Жирні кислоти		
Лауринова кислота		0,22 [13]
Міристинова кислота		0,40 [13]
Пальмітинова кислота		6,00 [13]
Пальметолейнова кислота		0,05 [13]
Стеаринова кислота		2,00 [13]
Олейнова кислота		11,94 [13]

1	2	3
Ліолева кислота		70,10 [14]
Ліноленовая кислота		0,34 [14]
Арахідонова кислота		0,10 [14]
Бегенова кислота		0,10 [14]
Сума жирних кислот		925
Сума органічних кислот		5925
Флавоноїди		
Сканденін		до 200,0 [15]
Аурікулазін		до 100,0 [15]

1	2	3
Кемпферол		до 500,0 [16]
Осаїн		до 500,0 [17]
Поміферін		до 1500,0 [18]
Кверцетин		до 100,0 [19]
Сума флавоноїдів		2900

1.3 Фармакологічні властивості *Maclura pomifera* та застосування в медицині

Завдяки наявності осаїну та поміферіну екстракти плодів *Maclura pomifera* виявляють антимікробну [20], протиракову [21], протизапальну [22], кардіопротекторну [23] та антиоксидантну [24] активності.

У дослідженнях *in vitro* методом дифузії в агар на штамах *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus* була вивчена протимікробна активність екстрактів плодів *Maclura pomifera*. Згідно з результатами дослі-

дження, встановлено виражену антимікробну дію відносно *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus* [20].

Мун і співавтори дослідили протизапальну дію етанольного екстракту плодів *Maclura pomifera* на моделі каррагінанового набряку лапки щурів. У ході дослідження виявлено, що у дозі 50 мг/кг екстракт значно зменшував набряк лапки порівняно зі стандартом диклофенаком натрію. Також відзначено зменшення гіперемії суглоба та поліпшення біохімічних показників крові: зниження рівня С-реактивного білка та рівня вільних радикалів [22].

Холегхі та співавтори провели дослідження антиоксидантної дії етанольного та етилацетатного екстрактів плодів *Maclura pomifera*. За результатами дослідження встановлено, що рівень антиоксидантної активності був значно вищий у етилацетатного екстракту, що, на думку авторів, пов'язано з високим вмістом фенольних сполук. Порівняно зі стандартом – аскорбіновою кислотою рівень антиоксидантної активності етилацетатного екстракту був вищий на 30 % [24].

Янг і співавтори вивчали антипроліферативну дію етилацетатного екстракту плодів *Maclura pomifera* на клітинних лініях грудей MCF-7. Дослідники виявили, що при застосуванні екстракту в дозі 50 мМ рівень вмісту маркерів пухлин зменшувався вдвічі. Також під час дослідження встановлено, що при прийомі екстракту рівень експресії генів, що відповідають за розвиток раку, також зменшувався вдвічі порівняно з контролем [21].

Вчені Флора та співавтори провели дослідження щодо вивчення кардіопротекторної дії екстрактів плодів *Maclura pomifera in vivo* на щурах на моделі ішемії серця. За результатами дослідження встановлено, що досліджуваний екстракт знижував вміст вільних радикалів, С-реактивного білка та фактору некрозу пухлини Альфа. Також екстракт у дозі 30 мг/кг підвищував кровообіг в ішемічній ділянці порівняно зі стандартним препаратом тіотріазоліном на 10 % ефективніше, ніж препарат порівняння [23].

У традиційній медицині *Maclura pomifera* застосовується при остеохондрозі, забиттях, ревматоїдному артриті, раці передміхурової залози, простаті. Ро-

слину використовують у вигляді настоїв, мазей і крапель. Наприклад, при забиттях застосовують мазь на основі ланоліну або свинячого жиру, яка містить настоянку з плодів на 70 % етанолу, як протизапальний засіб. Для лікування простатиту 70 % етанольну настоянку плодів *Maclura pomifera* застосовують по 10 крапель двічі на день [24].

Крім усього вище переліченого, використовують також латексний сік плодів *Maclura pomifera*. Його наносять на тканину або марлю, накладають на запалений суглоб і тримають протягом 1–2 годин [25].

Висновки до розділу 1

1. Проведено аналіз і узагальнено дані літератури щодо ботанічної характеристики, розповсюдження, хімічного складу та застосування маклюри помаранчевого. Встановлено, що *Maclura pomifera* в Україні зростає у Херсонській, Запоріжській і Донецькій областях. Хімічний склад рослини представлений в основному органічними кислотами, флавоноїдами та фітостеролами. Проведені фармакологічні дослідження довели наявність у екстрактів плодів *Maclura pomifera* протимікробної, протипухлинної, антиоксидантої, кардіопротекторної та протизапальної дій. Крім того, маклюра широко застосовується у традиційній медицині для лікування різних захворювань.

2. Таким чином, аналіз сучасної наукової літератури показав перспективність проведення фітохімічних досліджень сировини та АФІ маклюри помаранчевої.

РОЗДІЛ II

ОДЕРЖАННЯ РІДКИХ ЕКСТРАКТІВ З ВИСУШЕНИХ ТА СВІЖИХ ПЛОДІВ *MACLURA POMIFERA*

Висушену сировину використовують для виробництва екстрактів, настоїв і настоянок. Процес сушіння забезпечує збільшення термінів зберігання сировини та впливає на інтенсивність біохімічних і хімічних процесів, що протікають у сировині. Природне сушіння в затінку, в приміщенні, що добре вентильоване, або на сонці – це найдоступніший, недорогий і простий у використанні спосіб. Але при висушуванні сировини можуть відбуватися певні зміни у складі БАР [26, 27, 28, 29]. Тому для вивчення впливу процесу сушіння на хімічний склад сировини, нам було одержано рідкі екстракти з висушеної та свіжої сировини й проведено їх фітохімічний та фармакологічний аналіз. Для розробки способу одержання рідких екстрактів нам здійснено дослідження щодо вибору оптимальних умов екстракцій, саме: екстрагенту, співвідношення "сировина–екстрагент", температури, кратності та часу екстракції.

2.1 Вибір оптимального екстрагенту

Для вибору оптимального екстрагенту нами здійснено екстракцію свіжої та висушеної сировини різними екстрагентами методом мацерації при співвідношенні "сировина–екстрагент" 1:10 та визначили вміст суми фенольних сполук в одержаних витяжках.

Методика екстракції. 20,0 г (точна наважка) сировини екстрагували 200,0 мл відповідного екстрагенту – 96 %, 70 %, 40 %, 20 % етанолу, води очищеної протягом доби методом мацерації, відфільтровували одержані витяжки крізь фільтрувальний папір "синя стрічка".

Методика визначення вмісту фенольних сполук у одержаних витяжках. 2,0 мл витяжки переносили у мірну колбу ємністю 25,0 мл, доводили до позначки відповідним екстрагентом (вихідний розчин). Аліквоту 1,0 мл вихідного

розчину поміщали у мірну колбу ємністю 25,0 мл та доводили до позначки 40 % етанолом (випробовуваний розчин). Компенсаційний розчин – 40 % етанол [30].

Вміст суми фенольних сполук (X , мг/100 г) у перерахунку на галову кислоту розраховували по формулі:

$$X (\text{мг}/100\text{г}) = \frac{A \cdot 25,0 \cdot 25,0 \cdot V_{\text{витягу}} \cdot 1000}{540 \cdot m_{\text{зал}} \cdot 2,0 \cdot 1,0}, \quad (2.1)$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину; 540 – коефіцієнт питомого поглинання розчину галової кислоти в 40 % етанолі при довжині хвилі 270 нм; $V_{\text{витяжки}}$ – об'єм витяжки, мл; m – сухого залишку, г.

Результати представлені у табл. 2.1

Таблиця 2.1

Вміст суми фенольних сполук в одержаних витяжках з висушеної та свіжої сировини

Екстрагент	Вміст фенольних сполук у витяжці зі свіжої сировини, мг/100 г	Вміст фенольних сполук у витяжці з висушеної сировини, мг/100 г
96 % етанол	58,00±2,09	41,00±1,47
70 % етанол	60,00±2,16	41,00±1,47
40 % етанол	62,00±2,23	43,00±1,55
20 % етанол	41,00±1,47	27,00±0,97
вода очищена	20,00±0,72	12,00±0,43

Примітка. $n = 3$, $p > 0,05$

По результатам дослідження встановлено, що найбільша кількість фенольних сполук спостерігалася у витяжках зі свіжої та висушеної сировини, які були одержані 40 % етанолом.

2.2 Вибір оптимального співвідношення "сировина–екстрагент"

Для вибору співвідношення "сировина–екстрагент" нами була проведена екстракція свіжої та висушеної сировини при різних співвідношеннях: 1:10, 1:15 та 1:20 та визначено вміст суми фенольних сполук.

Методика екстракція. Екстракцію 20,0 г (точна наважка) сировини здійснювали 200,0, 300,0 та 400,0 мл 40 % етанолу методом мацерації протягом доби, відфільтровували одержані витяжки крізь фільтрувальний папір "синя стрічка".

Вміст суми фенольних сполук визначали молекулярно-адсорбційним методом при довжині хвилі 270 нм за методикою, наведеною у розділі 2.1.

Результати представлені у табл. 2.2.

Таблиця 2.2

Вміст фенольних сполук у витяжках при різних співвідношеннях "сировина–екстрагент"

Співвідношення "сировина–екстрагент"	Вміст фенольних сполук у витяжці зі свіжих плодів, мг/100 г	Вміст фенольних сполук у витяжці з висушених плодів, мг/100 г
1:10	62,00±2,23	43,00±1,55
1:15	63,10±2,27	44,50±1,60
1:20	65,00±2,34	45,00±1,62

Примітка. n = 3, p > 0,05

Встановлено, що найбільша кількість фенольних сполук визначена у витяжках, які були одержані при співвідношенні "сировина–екстрагент" 1:20.

2.3 Вибір оптимальної температури екстракції

Для зменшення часу екстракції БАР із сировини, потрібно обрати оптимальний температурний режим. Для цього екстракцію провидили протягом 1 години при температурі 20°C, 50°C, 70°C та 100°C на водяній бані з наступним визначенням вмісту фенольних сполук.

Методика екстракція. 20,0 г (точна наважка) екстрагували 400,0 мл 40 % етанолу на водяній бані протягом 1 години при температурі 20°, 50°, 70° та 100°C. Одержані витяжки фільтрували крізь фільтрувальний папір "синя стрічка".

Вміст суми фенольних сполук визначали при довжині хвилі 270 нм за методикою, наведено у розділі 2.1 молекулярно-адсорбційним методом.

Результати представлені у табл. 2.3

Таблиця 2.3

Вміст фенольних сполук у витяжках, одержаних при різному температурному режимі

Температура, °C	Вміст фенольних сполук у витяжках зі свіжих плодів, мг/100 г	Вміст фенольних сполук у витяжках з висушених плодів, мг/100 г
20	31,00±1,12	21,50±0,77
50	42,10±1,51	28,10±1,01
70	55,00±1,98	36,70±1,32
100	64,00±2,30	42,70±1,54

Примітка. n = 3, p > 0,05

Результати дослідження свідчать, що найбільший вміст фенольних сполук спостерігається у витяжках, які були одержані при температурі 100°C – 64,00±2,30 зі свіжої та 42,70±1,54 мг/100 г з висушеної сировини, а найменша при температурі 20°C – 31,00±1,12 і 21,50±0,77 мг/100 г відповідно.

2.4. Вибір оптимального часу екстракції

Для розуміння того, який час потрібен для екстракції БАР із сировини, ми екстрагували досліджувану сировину протягом 30, 60, 90 та 120 хвилин, після чого визначили вміст фенольних сполук.

Методика екстракція. Екстракцію 20,0 г (точна наважка) сировини проводили 400,0 мл 40 % етанолу на водяній бані при температурі 100°C від 30 до 120 хвилин з наступним фільтруванням витяжок крізь фільтрувальний папір "синя стрічка".

Вміст суми фенольних сполук визначали за методикою, наведеною у розділі 2.1.

Результати представлені у табл. 2.4

Таблиця 2.4

Вміст фенольних сполук у витяжках при різному часі екстрагування

Час, хв	Вміст фенольних сполук у витяжках з свіжих плодів, мг/100 г	Вміст фенольних сполук у витяжках з висушених плодів, мг/100 г
30	54,00±1,94	36,00±1,30
60	64,20±2,31	42,80±1,54
90	65,10±2,34	43,40±1,56
120	65,50±2,36	43,70±1,57

Примітка. n = 3, p > 0,05

Вміст фенольних сполук у найбільшій кількості визначено у витяжках, які були одержані при екстракції протягом 120 хв – 65,50±2,36 зі свіжих плодів і 43,70±1,57 мг/100 г з висушених плодів. При екстрагуванні протягом 30 хв встановлено найменший вміст фенольних сполук – 54,00±1,94 і 36,00±1,30 мг/100 г відповідно. Але, вміст фенольних сполук при екстракції протягом 90 та 120 хв збільшувався лише на 1,40 і 2,00 % відповідно порівняно з екстракцією

протягом 60 хв. Таким чином, при виборі оптимального часу 120 хв буде більше затрат на електроенергію та трудові ресурси, а вихід фенольних сполук збільшиться незначно. Тому, оптимальним часом екстрагування обрано 60 хв.

2.5 Вибір оптимальної кратності екстракції

Для обрання оптимальної кратності екстракції було проведено шість екстракцій однієї сировини 40 % етанолом та встановлено вміст сухого залишку.

Методика екстракції. Екстрагування 20,0 г (точна наважка) вели 400,0 мл 40 % етанолу шість разів протягом 60 хв на водяній бані при температурі 100°C. Екстракти фільтрували крізь фільтрувальний папір "синя стрічка".

Методика визначення сухого залишку. 5,0 мл відповідної витяжки, вміщеної у бюкс, доведений до сталої маси, випаровували на водяній бані до сухого залишку та висушували при температурі від 100 до 105°C протягом 3 годин. Бюкс охолоджували в ексікаторі за кімнатної температури протягом 30 хв і зважували [31, 32]. Сухий залишок (w, %) розраховували за формулою:

$$w(\%) = \frac{m_{\text{сух}} \cdot 100}{V_a}, \quad (2.2)$$

де $m_{\text{сух}}$ – маса сухого залишку після висушування аліквоти витяжки, г; V_a – об'єм аліквоти проби витяжки, мл.

Результати представлені у табл. 2.5 і на рис. 2.1.

Таблиця 2.5

Вміст сухого залишку у витяжках з досліджуваної сировини

Екстракція	Вміст сухого залишку у витяжках зі свіжих плодів, %	Вміст сухого залишку у витяжках з висушених плодів, %
1	2	3
1 екстракція	1,19±0,09	0,92±0,07

Продовж. табл. 2.5

1	2	3
2 екстракція	0,60±0,04	0,46±0,03
3 екстракція	0,28±0,02	0,22±0,02
4 екстракція	0,15±0,01	0,12±0,01
5 екстракція	0,06±0,01	0,05±0,01
6 екстракція	0,02±0,01	0,02±0,01

Примітка. n = 3, p > 0,05

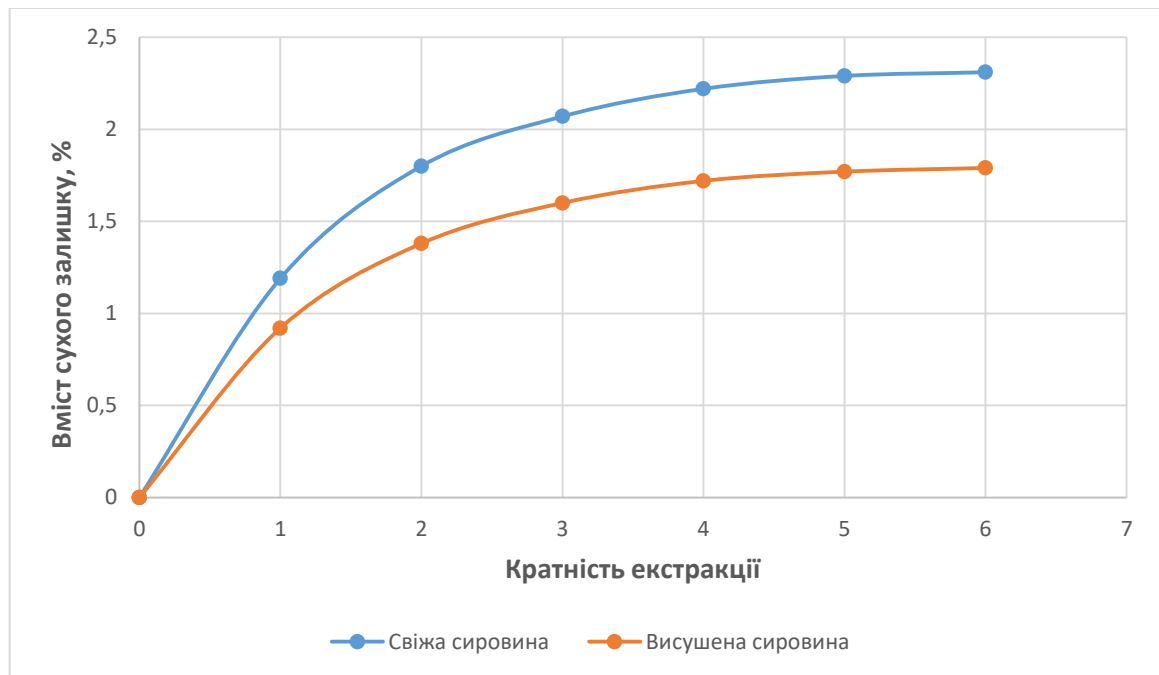


Рис. 2.1 Динаміка виходу екстрактивних речовин

На рис. 2.1 можна побачити, що при трикратній екстракції вилучалося 90,0 і 91,1 % екстрактивних речовин зі свіжої та висушеної сировини відповідно. Таким чином, оптимальна кратність екстракції свіжої та висушеної сировини складає три рази.

2.6 Спосіб одержання рідкого екстракту зі свіжої та висушеної сировини

За вищенаведеними результатами дослідження було визначено оптимальні умови екстракції та розроблено спосіб одержання рідких екстрактів зі свіжих та висушених плодів *Maclura pomifera*, а саме: 20,0 г (точна наважка) сировини поміщали у колбу для екстракції, додавали до кожної наважки 400,0 мл 40 % етанолу, екстрагували три рази протягом 60 хв при температурі 100° С на водяній бані. Витяжки відфільтровували крізь фільтрувальний папір "синя стрічка", відстоювали та випаровували до співвідношення 1:1 до маси сировини на ротаторному випаровувачі при температурі 30–50° С під вакуумом.

Висновки до розділу 2

1. Встановлено оптимальні умови екстракції плодів *Maclura pomifera*: екстрагент, співвідношення "сировина : екстрагент", температура, час екстрагування і кратність екстракції.
2. Розроблено спосіб одержання та отримано рідкий екстракт зі свіжих та висушених плодів *Maclura pomifera*.

РОЗДІЛ III

ФІТОХІМІЧНЕ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РІДКИХ ЕКСТРАКТІВ ПЛОДІВ *MACLURA POMIFERA*

Наступним етапом досліджень стало вивчення впливу сушіння на вміст БАР та фармакологічну активність плодів *Maclura pomifera*. Нами було проведено якісний та кількісний аналіз фенольних сполук, зокрема флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, та органічних кислот, а також визначено рівень антиоксидантної активності одержаних рідких екстрактів.

2.1 Якісний аналіз БАР у рідких екстрактах плодів *Maclura pomifera*

Якісний аналіз проводили за допомогою хімічних реакцій та методу ТШХ. За результатами літературного пошуку було визначено, що до основних груп БАР плодів маклюри помаранчевої належать полісахариди, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, фенольні сполуки.

Наявність полісахаридів доводили реакціями з реактивом Фелінга, Моліша та срібного дзеркала [33].

Результати наведені у табл. 3.1

Таблиця 3.1

Результати реакцій виявлення полісахаридів у рідких екстрактах з плодів *Maclura pomifera*

Назва реакції/реактиву	Рідкий екстракт з свіжої сировини	Рідкий екстракт з висушеної сировини
1	2	3
Реактив Фелінга	Випадіння цегляного-червоного осаду (<i>відновлювальні вуглеводи</i>)	Випадіння цегляного-червоного осаду (<i>відновлювальні вуглеводи</i>)

Продовж. табл. 3.1

1	2	3
Реакція Моліша	Кільце червоного кольору на поділі двох фаз (<i>моносахариди, дисахариди, полісахариди</i>)	Кільце червоного кольору на поділі двох фаз (<i>моносахариди, дисахариди, полісахариди</i>)
Реакція срібного дзеркала	Блискуче дзеркало на стіnce (відновлювальні вуглеводи)	Блискуче дзеркало на стіnce (відновлювальні вуглеводи)

Результати хімічних реакцій, наведені у табл. 3.1, свідчили, що у рідких екстрактах зі свіжої та висушеної сировини присутні полісахариди.

Наявність флавоноїдів встановлювали такими реакціями: ціанідінова проба, розчин аміаку, осадження з плюмбуму ацетату основного розчином [33].

Результати представлені у табл. 3.2

Таблиця 3.2

Результати реакцій встановлення наявності флавоноїдів у рідких екстрактах з плодів *Maclura pomifera*

Назва реакції/реактиву	Рідкий екстракт з свіжої сировини	Рідкий екстракт з висушеної сировини
Ціанідінова проба	Оранжево-червоне забарвлення (<i>флавоноли, флаволи, флаванони</i>)	Оранжево-червоне забарвлення (<i>флавоноли, флаволи, флаванони</i>)
Розчин аміаку 10%	Жовте забарвлення	Жовте забарвлення
Плюмбуму ацетату основного розчин	Жовтий осад (<i>флаволи</i>)	Жовтий осад (<i>флаволи</i>)

Результати, наведені у табл. 3.2, довели, що у рідких екстрактах зі свіжої та висушеної сировини присутні флавоноїди.

Для встановлення дубильних речовин використовували такі реакції: з розчинами желатини, хініну гідрохлориду та феруму (III) амонію сульфату [33].

Результати представлені у табл. 3.3

Таблиця 3.3

Результати реакцій виявлення дубильних речовин у рідких екстрактах з плодів *Maclura pomifera*

Назва реакції/реактиву	Рідкий екстракт з свіжої сировини	Рідкий екстракт з висушеної сировини
Феруму (III) амонію сульфату розчин 1 %	Зелене забарвлення	Зелене забарвлення
Розчин желатини 1 %	Утворення аморфного осаду	Утворення аморфного осаду
Хініну гідрохлориду розчин 1 %	Утворення білої каламуті	Утворення білої каламуті

У табл. 3.3 наведено результати реакцій виявлення дубильних речовин, які свідчать про присутність цієї групи сполук у рідких екстрактах зі свіжої та висушеної сировини маклюри помаранчевої.

Для ідентифікації флавонохдів, гідроксикоричних та органічних кислот використовували метод ТШХ [33].

Хроматографування здійснювали на пластинках "Сорбфіл ПТСХ – АФ – А – УФ" (20×20 см). Нанесення досліджуваних зразків проводили мікрошприцом МШ-10 (ТУ 2.833.106) виробництва АО «Цвет».

Для ідентифікації флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у досліджуваних екстрактах використовували рухому фазу: етилацетат – оцтова кислота – мурашина кислота – вода (100:11:11:26) [33]. Стандарти: рутин, поміферин, осаїн і кофейна кислота. Проявником слугував розчин натрію гідроксиду.

Пробопідготовка стандартних розчинів флавоноїдів. 20,0 мг (точна навеска) рутину, поміферину і осаїну розчиняли в 70 % етанолі у мірній колбі

об'ємом 25,0 мл, підігрівали на водяній бані при температурі 80°C, доводили об'єм до позначки тим же розчинником.

Пробопідготовка стандартних розчинів гідроксикоричних кислот. 10,0 мг (точна наважка) кофейної кислоти розчиняли у 70 % етанолі у мірній колбі об'ємом 25,0 мл та доводили до позначки тим же етанолом.

Пробопідготовка випробовуваного розчину. 1,0 мл рідкого екстракту розчиняли у 40 % етанолі у мірній колбі місткістю 50,0 мл та доводили об'єм до позначки тим же розчинником.

Наносили зразки смугами мікрошприцем по 10,0 мкл.

Схема хроматограм наведені на рис. 3.1.

Верхня частина пластинки		
Рутин: жовта зона	Жовта зона (рутин)	Жовта зона (рутин)
Поміферин: жовта зона	Жовта зона (поміферин)	Жовта зона (поміферин)
Осаїн: жовта зона	Жовта зона (осаїн)	Жовта зона (осаїн)
Кофейна кислота: бла- китна зона	Блакитна зона (кофеїна кислота)	Блакитна зона (кофеїна кислота)
Розчин порівняння	Випробуваний розчин (свіжі плоди)	Випробуваний розчин (висушені плоди)

Рис. 3.1 Схема хроматограми флавоноїдів і гідроксикоричних кислот рідких екстрактів плодів *Maclura pomifera*

У результаті хроматографічного дослідження в рідких екстрактах зі свіжих і висушених плодів маклюри помаранчевої ідентифіковані рутин ($R_f = 0,65$), поміферин ($R_f = 0,54$), осаїн ($R_f = 0,50$) і кофейна кислота ($R_f = 0,45$).

Ідентифікацію органічних кислот здійснювали у рухомій фазі: етилацетат – оцтова кислота – мурашина кислота – вода (100:11:11:25). Стандарти: лимона, яблучна, оксалатна кислота. Для проявлення хроматограми використовували розчин бромкрезолового зеленого [33].

Пробопідготовка стандартних розчинів органічних кислот. 50,0 мг (точна наважка) лимонної, яблучної та оксалатної кислот розчиняли в мірній колбі об'ємом 25,0 мл у 96 % етанолі з наступним доведенням об'єму до позначки тим же розчинником.

Пробопідготовка випробовуваного розчину. 1,0 мл рідкого екстракту розчиняли в мірній колбі на 50,0 мл у 40 % етанолі та доводили об'ємом до мітки тим же розчинником.

Зразки наносили мікрошприцем смугами по 10,0 мкл.

Схема хроматограми наведена на рис. 3.2.

Верхня частина пластинки		
Яблучна кислота: жовта зона	Жовта зона (яблучна кислота)	Жовта зона (яблучна кислота)
Лимонна кислота: жовта зона	Жовта зона (лимонна кислота)	Жовта зона (лимонна кислота)
Щавлева кислота: жовта зона	Жовта зона (щавлева кислота)	Жовта зона (щавлева кислота)
Розчин порівняння	Випробуваний розчин (свіжі плоди)	Випробуваний розчин (висушені плоди)

Рис. 3.2 Схема хроматограми органічних кислот рідких екстрактів плодів *Maclura pomifera*

"У результаті хроматографічного аналізу в обох рідких екстрактах були ідентифіковані щавлева ($R_f=0,36$), лимона ($R_f = 0,41$) та яблучна ($R_f=0,80$) кислоти.

3.2 Вміст сухого залишку

Вміст сухого залишку визначали гравіметричним методом відповідно до методики ДФУ [31, 32].

2,0 мл рідкого екстракту випаровували на водяній бані при температурі 80°C у бюксі, доведеному до сталої маси, до сухого залишку, а потім сушили у сушильній шафі при температурі від 100 до 105° С протягом 3 годин з наступним охолодженням в ексікаторі при кімнатній температурі протягом 30 хв і зважували. Вміст сухого залишку w , (%) обчислювали за формулою:

$$\omega = \frac{m_{\text{сyx}} \cdot 100}{V_a}, \quad (3.1)$$

де: $m_{\text{сyx}}$ – маса сухого залишку після висушування аліквоти екстракту, г; V_a – об'єм аліквоти екстракту, мл.

Результати представлені у табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Вміст сухого залишку в рідких екстрактах зі свіжих та висушених плодів

Maclura pomifera

Екстракт	Вміст, %
Екстракт зі свіжих плодів <i>Maclura pomifera</i>	11,93±0,76
Екстракт з висушених плодів <i>Maclura pomifera</i>	8,59±0,55

Примітка. $n = 3$, $p > 0,05$

З табл. 3.4 можна побачити, що вміст сухого залишку в рідкому екстракті зі свіжих плодів склав $11,93 \pm 0,76$ %, а з висушених плодів – $8,59 \pm 0,55$ %. Кількісний вміст сухого залишку в рідкому екстракті зі свіжих плодів був на 31 % більший, ніж у екстракті з висушених.

3.3. Вміст суми фенольних сполук

Фенольні сполуки визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту за методикою, наведеною у розділі 2.1.

Результати представлені в табл. 3.5.

Таблиця 3.5

Вміст фенольних сполук у рідких екстрактах зі свіжих та висушених плодів *Maclura pomifera*

Екстракт	Вміст, мг/100 г
Екстракт з свіжих плодів <i>Maclura pomifera</i>	650,00±23,06
Екстракт з висушених плодів <i>Maclura pomifera</i>	470,00±17,55

Примітки: n=3, p>0,05

З табл. 3.5 видно, що вміст фенольних сполук у рідкому екстракті зі свіжих плодів склав 650,00±23,06 мг/100 г, а з висушених – 470,00±17,55 мг/100 г. Встановлено, що вміст фенольних сполук у рідкому екстракті зі свіжих плодів був на 28 % вищий, ніж у екстракті з висушених плодів.

3.4 Вміст суми флавоноїдів

Для визначення вмісту флавоноїдів у рідких екстрактах використовували таку методику: 1,0 мл вихідного розчину вміщували у мірну колбу на 25,0 мл, додавали 1 % розчин алюмінію хлориду в метанолі та доводили об'єм до позначки 5 % розчином оцтової кислоти в метанолі (випробовуваний розчин). Через 30 хв вимірювали оптичну густину розчину за довжини хвилі 415 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм. Розчином порівняння був розчин, що містив 1,0 мл вихідного розчину, доведений до позначки 5 % розчином оцтової кислоти в метанолі у мірній колбі на 25,0 мл. Паралельно вимірювали оптичну густину

розчину ФСЗ рутину [33]. Вміст суми флавоноїдів (X, мг/100 г) у перерахунку на рутин обчислювали за формулою:

$$X (\text{мг} / 100\text{г}) = \frac{A \times m_{\text{ст}} \times K_{\text{розв}} \times 100 \times 1000 \times 100}{A_{\text{ст}} \times m_{\text{н}}}, \quad (3.2)$$

де: A – оптична густина випробовуваного розчину; A_{ст} – оптична густина комплексу розчину ФСЗ рутину з алюмінієм хлоридом; m_н – маса сухого залишку, г;

K_{розв} – коефіцієнт розведення.

Результати представлені в табл. 3.6.

Таблиця 3.6

Вміст флавоноїдів у рідких екстрактах зі свіжих та висушених плодів

Maclura pomifera

Екстракт	Вміст, мг/100 г
Екстракт з свіжих плодів <i>Maclura pomifera</i>	140,00±5,64
Екстракт з висушених плодів <i>Maclura pomifera</i>	100,00±4,03

Примітка. n = 3, p > 0,05

З табл. 3.6 видно, що вміст флавоноїдів у рідкому екстракті зі свіжих плодів був на 29 % вищий, ніж в екстракті з висушених, і склав 140,00±5,64 мг/100 г. Вміст флавоноїдів у рідкому екстракті з висушених плодів *Maclura pomifera* визначений у кількості 100,00±4,03 мг/100 г.

3.5 Вміст суми гідроксикоричних кислот

За результатами дослідження було встановлено, що рідкі екстракти містять у своєму складі гідроксикоричні кислоти.

Суму гідроксикоричних кислот визначали за такою методикою: у мірну колбу ємністю 25,0 мл вносили 1,0 мл рідкого екстракту, доводили до позначки 40 % етанолом (вихідний розчин). 2,0 мл вихідного розчину поміщали в мірну колбу на 25,0 мл, додавали 2,0 мл 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти, 2,0 мл 10 % розчину натрію нітриту, 2,0 мл 10 % розчину натрію молібдату, доводили об'єм розчину водою очищеною до позначки та перемішували (випробуваний розчин). Оптичну густину випробуваного розчину відразу вимірювали за довжиною хвилі 525 нм. Компенсаційну рідину готували наступним чином: 2,0 мл 0,5 М розчину хлористоводневої кислоти, 2,0 мл 8,3 % розчину натрію гідроксиду змішували та доводили об'єм розчину водою очищеною до позначки 25,0 мл [34]. Вміст суми гідроксикоричних кислот (X, мг/100 г) у перерахунку на хлорогенову кислоту обчислювали за формулою:

$$X(\text{мг}/100\text{г}) = \frac{A \times K_{\text{розв}} \times 1000}{A_{1\text{см}}^{1\%} \times m}, \quad (3.3)$$

де: A – оптична густина випробуваного розчину, $A_{1\text{см}}^{1\%}$ – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти, що дорівнює 188; m – маса сухого залишку, г, $K_{\text{розв}}$ – коефіцієнт розведення.

Результати наведені в табл. 3.7

Таблиця 3.7

Вміст гідроксикоричних кислот у рідких екстрактах зі свіжих та висушених плодів *Maclura pomifera*

Екстракт	Вміст, мг/100 г
Екстракт з свіжих плодів <i>Maclura pomifera</i>	600,00±19,64
Екстракт з висушених плодів <i>Maclura pomifera</i>	410,00±13,42

Примітка. n = 3, p > 0,05

Як видно з результатів дослідження (табл. 3.7), вміст гідроксикоричних кислот у рідкому екстракті зі свіжих плодів склав $600,00 \pm 19,64$ мг/100 г, що на 30 % більше, ніж у рідкому екстракті з висушених плодів – $410,00 \pm 13,42$ мг/100 г.

3.6 Вміст суми органічних кислот

У ході якісного аналізу було встановлено, що одержані екстракти містять у своєму складі лимону, щавлеву та яблучну кислоти. Для визначення суми органічних кислот ми користувалися алкаліметричним методикою з потенціометричним фіксуванням кінцевої точки титрування.

"Методика визначення: 1,0 мл рідкого екстракту вносили до колби 50,0 мл, розчиняли у воді очищеній та доводили до позначки тим же розчинником (випробовуваний розчин). 10,0 мл випробовуваного розчину переносили у колбу для титрування, додавали 50 мл свіжопрокип'яченої води та і титрували 0,05 М розчином натрію гідроксиду потенціометрично (рН-метр – HANNA 2550, з електродом скляним комбінованим HI 1131P). Для визначення еквівалентного об'єму титранту використовували диференціальну криву титрування (рис. 3.3) [35].

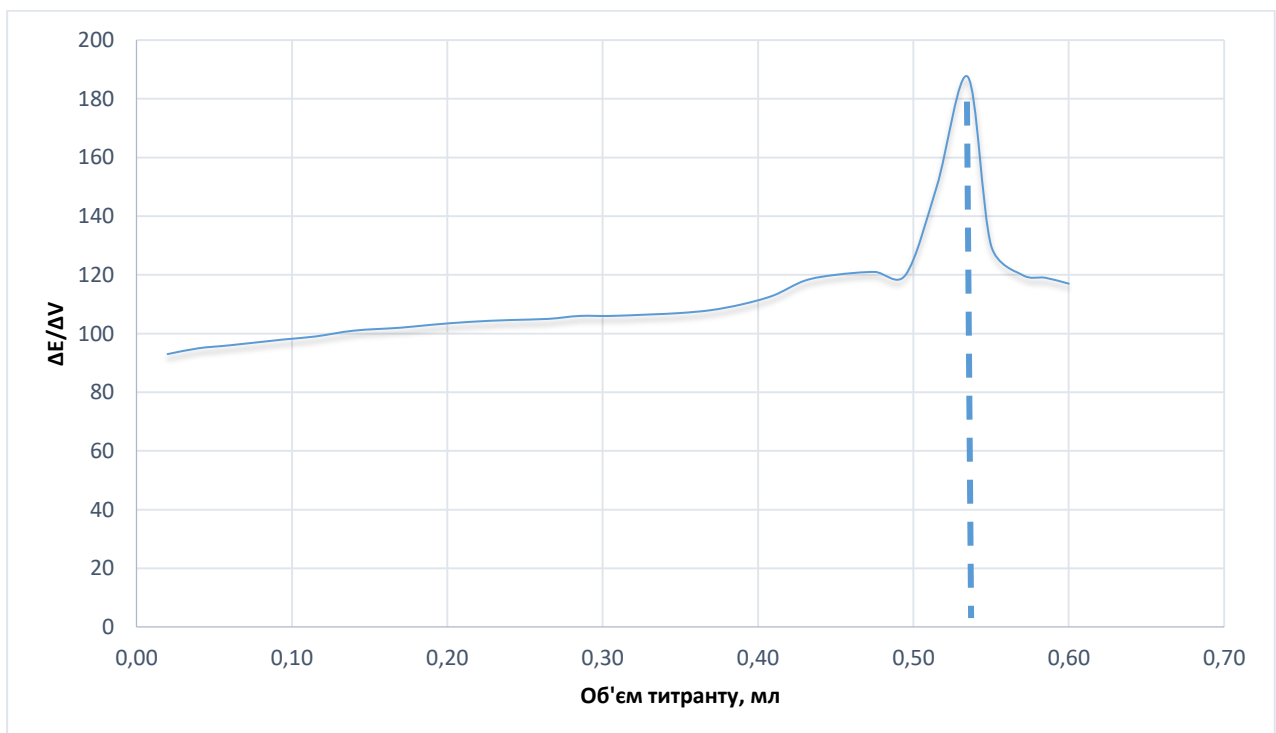


Рис 3.3 Диференційна крива титрування суми вільних кислот

Вміст суми органічних кислот (X, мг/100 г) у перерахунку на лимону кислоту обчислювали за формулою:

$$X(\text{мг}/100\text{г}) = \frac{(V_{\text{екв}} - V_{\text{хд}}) \cdot 0,0036 \cdot 20 \cdot 50 \cdot 100 \cdot \text{КП} \cdot 1000}{m \cdot 10}, \quad (3.4)$$

де: 0,0036 – кількість лимонної кислоти, що відповідає 1 мл 0,05 М розчину натрію гідроксиду, г; $V_{\text{екв}}$ – об'єм 0,05 М розчину натрію гідроксиду, мл; $V_{\text{х}}$ – об'єм 0,05 М розчину натрію гідроксиду, використаного для титрування в холостому досліді, мл; КП – поправочний коефіцієнт; m – маса сухого залишку, г.

Результати приведені у табл. 3.8.

Таблиця 3.8

Вміст органічних кислот у рідких екстрактах зі свіжих та висушених плодів *Maclura pomifera*

Екстракт	Вміст, мг/100 г
Екстракт з свіжих плодів <i>Maclura pomifera</i>	1000,00±32,73
Екстракт з висушених плодів <i>Maclura pomifera</i>	800,00±26,18

Примітка. n = 3, p > 0,05

Встановлено, що вміст органічних кислот у рідкому екстракті зі свіжих плодів склав 1000,00±32,73 мг/100 г, а з висушених – 800,00±26,18 мг/100 г. Таким чином, вміст органічних кислот у рідкому екстракті зі свіжих плодів був на 20 % вищий, ніж у рідкому екстракті з висушених плодів.

3.7 Антиоксидантна активність

Результати проведеного фітохімічного аналізу показали, що сушіння сировини впливає на кількісний вміст БАР у ній, що може бути пов'язано зі зміною структури, зокрема фенольних сполук. Таким чином, при одержанні з ви-

сушеної сировини екстрактів, настоїв та настоек ми можемо отримати не антиоксиданти, а прооксиданти. Тому нами проведено визначення антиоксидантої активності рідких екстрактів як зі свіжої, так і з висушеної сировини та здійснено її порівняльний аналіз.

Для визначення антиоксидантної активності використовували потенціометричну методику, яка була розроблена та валідована асистентом кафедри загальної хімії Масловим О. Ю. під керівництвом завідувача кафедри загальної хімії, професора, д.фарм.н. Колісника С. В. Потенціометричний метод має ряд вагомих переваг порівняно зі спектрофотометричним методом: по-перше, потенціометрична методика є більш експресивною; по-друге, більш точною; по-третє, не потребує коштовного обладнання та реагентів.

Для визначення антиоксидантної активності використовували медіаторну систему, яка складалася з $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ з концентрацією 0,002/0,00002 моль/л, відповідно. Визначали початковий потенціал вихідного медіаторного розчину, після чого в електрохімічну комірку вносили аліквоту досліджуваного розчину та вимірювали кінцевий потенціал. Встановлювали різницю між початковим та кінцевим потенціалами. Як стандарт для порівняння використовували лікарський препарат «Аскорутин» [36, 37, 38]. Рівень антиоксидантної активності (ммоль-екв./ $m_{\text{сух зал}}$) екстракту визначали за формулою [39]:

$$AOA = \frac{C_{ox} - \alpha \cdot C_{red}}{1 + \alpha} \cdot K_{dil} \cdot 10^3 \cdot m_{\text{сухзал}}, \quad (3.5)$$

де: $\alpha = C_{ox}/C_{red} \cdot 10^{(\Delta E - E_{\text{стан}})nF / 2.3RT}$; C_{ox} – концентрація $K_3[Fe(CN)_6]$, М; C_{red} – концентрація $K_4[Fe(CN)_6]$, М; ΔE – різниця потенціалів до та після взаємодії з антиоксидантом; $E_{\text{стан}} = 0,0546 \cdot C_{\%} - 0,0091$; $C_{\%}$ – концентрація етанолу; $F = 96485,333$ Кл/моль – стала Фарадея; $n = 1$ – кількість електронів в електродній реакції; $R = 8,314$ Дж/моль·К – універсальна газова стала; $T = 298$ °К; K_{dil} – коефіцієнт розведення; $m_{\text{сух зал}}$ – маса сухого залишку в 1 мл, г.

Результати представлені у табл. 3.9.

Рівень антиоксидантної активності рідких екстрактів зі свіжих та висушених плодів *Maclura pomifera*

Екстракт	Рівень антиоксидантної активності, ммоль-екв./m_{сух зал}
Екстракт зі свіжих плодів <i>Maclura pomifera</i>	68,88±4,25
Екстракт з висушених плодів <i>Maclura pomifera</i>	45,86±2,83
"Аскорутин"	50,21±3,10

Примітка. n = 3, p > 0,05

За допомогою потенціометричного методу встановлено, що рівень антиоксидантної активності рідкого екстракту зі свіжих плодів маклюри склав 68,88±4,25 ммоль-екв./m_{сух зал}, а з висушених – 45,86±2,83 ммоль-екв./m_{сух зал}. Рідкий екстракт зі свіжих плодів мав на 30 % вищий рівень антиоксидантної активності, ніж екстракт з висушених плодів. Також рідкий екстракт зі свіжих плодів показав більший рівень антиоксидантної активності, ніж референс-препарат «Аскорутин». Таким чином, одержані дані свідчили про те, що при сушінні сировини певна кількість фенольних сполук перетворюється на прооксиданти.

Висновки до розділу 3

1. Одержано рідкі екстракти зі свіжих та висушених плодів маклюри помаранчевої та проведений їх фітохімічний аналіз. Встановлено, що досліджувані рідкі екстракти мають у своєму складі полісахариди, флавоноїди та гідроксикоричні кислоти.

2. Методом ТШХ у рідких екстрактах ідентифіковані поміферин, осаїн, рутин, кофейна, лимона, щавлева та яблучна кислоти.

3. Гравіметричним, спектрофотометричним і потенціометричним методами у рідких екстрактах визначено вміст: сухого залишку – 11,93±0,76 і

8,59±0,55 %, суми фенольних сполук – 650,00±23,06 і 470,00±17,55 мг/100 г, суми флавоноїдів – 140,00±5,64 і 100,00±4,03 мг/100 г, суми гідроксикоричних кислот – 600,00±19,64 і 410,00±13,42 мг/100 г, суми органічних кислот – 1000,00±32,73 і 800,00±26,18 мг/100 г відповідно.

4. Методом потенціометричного титрування визначено рівень антиоксидантної активності рідких екстрактів, який склав 68,88±4,25 ммоль-екв./m_{сух зал} у рідкому екстракті зі свіжих і 45,86±2,83 ммоль-екв./m_{сух зал} у рідкому екстракті з висушених плодів маклюри помаранчевої.

5. Результати проведеного дослідження свідчать, що рідкий екстракт зі свіжої сировини маклюри домінує за усіма визначеними параметрами та є найбільш перспективним для проведення подальших досліджень.

РОЗДІЛ IV
ПАРАМЕТРИ СТАНДАРТИЗАЦІЇ РІДКОГО ЕКСТРАКТУ СВІЖИХ
ПЛОДІВ *MACLURA POMIFERA*

"Згідно результатів проведених дослідження встановлено, що екстракт, який був одержаний зі свіжих плодів *Maclura pomifera* має вищий рівень антиоксидантної активності, вміст фенольних сполук, флавоноїдів, гідроксикоричних та органічних кислот, що свідчить про вплив сушіння на кількість БАР та його фармакологічну активність. Оскільки екстракт з висушених плодів програє за цими показниками, ми вважаємо, що більш перспективним є рідкий екстракт зі свіжої сировини, який може бути використаний як АФІ для розробки лікарських засобів. Тому стандартизацію доцільно провести саме для цього екстракту."

Було проведено дослідження трьох серій рідкого екстракту свіжих плодів *Maclura pomifera* на відповідність параметрам стандартизації. Методики, які були використані для стандартизації розроблено відповідно до загальних статей та методик кількісного визначення БАР, які зазначені у ДФУ.

Опис. Рідина темно-жовтого кольору з характерним запахом.

Ідентифікація.

А. Вихідний розчин. 1,0 мл рідкого екстракту свіжих плодів *Maclura pomifera* розчиняють в 25 мл *етанолу 40 (% об/об) Р*. Отриманий розчин використовують для проведення реакцій ідентифікації.

До 5,0 мл вихідного розчину додають 1,0 мл 10 г/л *заліза (III) хлориду Р*; з'являється зелене забарвлення (*фенольні сполуки*).

В. Тонкошарова хроматографія (ДФУ, 1 вид., 2.2.27)

Випробуваний розчин. 1,0 мл рідкого екстракту розчиняють в 50 мл *етанолу 96 (% об/об) Р*, фільтрують крізь паперовий фільтр "синя стрічка", відбирають 5,0 мл вихідного розчину та переносять у фарфорову чашку, після розчинник видаляють і сухий залишок розчиняють в 2 мл *метанолу Р*.

Розчин порівняння. 10 мг *рутину*, 15 мг *поміферину* і 20 мг *осаїну* розчиняють в 25 мл *метанолу Р*.

Пластинка: ТШХ пластинка з шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: етилацетат – оцтова кислота – мурашина кислота – вода (100:11:11:26).

Об'єм проби, що наноситься: 10 мкл, смугами.

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

Висушування: на повітрі.

Виявлення: пластинку обробляють розчином 100 г/л натрію гідроксиду Р в етанолі 96 (% об/об) Р, висушують на повітрі протягом 10 хвилин і переглядають у денному світлі.

"Результати А.: нижче (рис. 4.1) наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися жовті зони в такій послідовності: вище середини – зона рутину; у середній третині – зона поміферину; у нижній третині хроматограми – зона осаїну. На хроматограмі випробовуваного розчину повинні виявлятися жовті зона на рівні зони рутину, поміферина і осаїну розчину порівняння. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші жовті зони."

Верхня частина пластинки	
Рутин: жовта зона	Жовта зона (рутин)
Поміферин: жовта зона	Жовта зона (поміферин)
Осаїн: жовта зона	Жовта зона (осаїн)
Розчин порівняння	Випробуваний розчин

Рис. 4.1 Схема хроматограми випробовуваного розчину і розчину порівняння

Випробування

Сухий залишок: не менше 10,00 % (ДФУ, доп. 1, 2.8.16).

Вміст етанолу: не менше 40,0 % (об/об) (ДФУ, доп. 1, 2.9.10, N, 5.5).

Вміст метанолу і 2-пропанолу: Не більше 0,05 % (об/об) метанолу і не більше 0,05 % 2-пропанолу (ДФУ, 2.9.11).

Важкі метали. Виявлення проводять із 5 мл препарату. Вміст важких металів має бути не більше 100 ppm (ДФУ, доп. 3, 2.4.8, метод А).

"Мікробіологічна чистота. Для фітохімічних засобів характерне мікробне обсіменіння, тому слід контролювати кількість життєздатних бактерій та грибів в екстракті. Випробування проводили відповідно до вимог ДФУ, 2.6.12."

"Для визначення загальної кількості життєздатних аеробних бактерій 10 г препарату поміщали в стерильний мірний посуд, доводили до 500 мл стерильною нейтралізуючою рідиною, що містить 10 % полісорбату-80 і 20 % ізопропілміристану. По 1 мл підготованого зразка сіяли двошаровим методом на кожну з п'яти чашок Петрі з густим живильним середовищем № 1."

"Для визначення загальної кількості життєздатних грибів 10 г препарату поміщали в стерильний мірний посуд, доводили до 500 мл стерильною нейтралізуючою рідиною, що містить 10 % полісорбату-80 і 20 % ізопропілміристану."

По 1 мл підготовленого зразка сіяли двошаровим методом на кожну з п'яти чашок Петрі з густим живильним середовищем № 2.

"Для випробування на наявність ентеробактерій та інших грамнегативних бактерій, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus* 10 г препарату поміщали в стерильний мірний посуд, доводили до 500 мл стерильною нейтралізуючою рідиною, що містить 10 % полісорбату-80 і 20 % ізопропілміристану. По 50 мл підготовленого зразка вносили в 500 мл поживних середовищ № 3 і 8."

"Вимоги до мікробіологічної чистоти препарату встановлено відповідно до вимог ДФУ, 5.1.4, категорія 2. У препараті допускається загальна кількість життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 100 мікроорганізмів (бактерій та грибів сумарно) в 1 г. Не допускається наявність ентеробактерій та інших

грам-негативних бактерій в 1 г. Не допускається наявність *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г. Не допускається наявність *Staphylococcus aureus* в 1 г."

Кількісне визначення

Сума фенольних сполук

Вихідний розчин. 1,0 мл екстракту розчиняють в 50,0 мл *етанолу* (40 об/об) *P*, фільтрують через паперовий фільтр у мірну колбу на 50,0 мл, доводять тим же розчинником до позначки та перемішують (розчин А).

Випробовуваний розчин. 2,0 мл вихідного розчину А поміщають у мірну колбу об'ємом 50,0 мл, доводять до позначки *етанолом* (40 об/об) *P* і перемішують (розчин 2).

Компенсаційний розчин. Вода P.

Після приготування вимірюють оптичну густину розчину 2 за довжини хвилі 270 нм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Суму фенольних сполук (*X*, %), у перерахунку на галову кислоту обчислюють за формулою (5.1):

$$X(\%) = \frac{1200 \cdot A}{540 \cdot V} \quad (4.1)$$

де: A_1 – оптична густина досліджуваного розчину; 540 – коефіцієнт питомого поглинання розчину *галової кислоти P* в *етанолі* 40 (% об/об) *P* при довжині хвилі 270 нм; *V* – об'єм екстракту, у мл.

Сума фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту має бути не менше 0,60 %.

Вміст суми флавоноїдів

Вихідний розчин. 1,0 мл екстракту розчиняють в 50,0 мл *етанолу* 40 (% об/об) *P*, фільтрують через паперовий фільтр у мірну колбу на 50,0 мл, доводять тим же розчинником до позначки та перемішують (розчин А).

Випробовуваний розчин. До 3,0 мл вихідного розчину А додають 2 мл 10 г/л розчину *алюмінію (III) хлориду P*, доводять об'єм 50 г/л розчином *оцтової кислоти P* у *метанолі P* до 25,0 мл і перемішують.

Стандартний розчин. 40 мг (точна наважка) рутину *P* кількісно перенесли у мірну колбу об'ємом 100 мл, розчиняють в *етанолі 40 (% об/об) P* і доводять до мітки тим же розчинником. 2,0 мл приготовленого розчину в мірну колбу об'ємом 50 мл і доводять до мітки *етанолом 70 (% об/об) P*.

Компенсаційний розчин. 3,0 мл випробуваного розчину *A* розчиняють у 50 г/л розчині *оцтової кислоти P* у *метанолі P*, доводять до 25,0 мл тим же розчинником і перемішують.

Через 30 хв після приготування випробуваного розчину оптичну густину розчину вимірюють за довжини хвилі 415 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст суми флавоноїдів (X , %) у перерахунку на рутин обчислюють за формулою (4.2):

$$X(\%) = \frac{25 \cdot A_1}{A_2 \cdot V \cdot m_{ст}} \quad (4.2)$$

де: A_1 – оптична густина досліджуваного розчину при довжині хвилі 415 нм; A_2 – оптична густина стандартного розчину рутину при довжині хвилі 415 нм; $m_{ст}$ – маса наважки стандарту рутину, у грамах; V – об'єм екстракту, мл.

Сума флавоноїдів у перерахунку на рутин має бути не менше 0,14 %.

Результати представлені у таблиці 4.1.

Відповідність серій рідкого екстракту свіжих плодів *Maclura pomifera* параметрам його стандартизації

Показники якості	Параметри якості	Результати аналізу серій		
		МП121221	МП131221	МП151221
Опис	Рідина темно-жовтого кольору з характерним запахом	✓	✓	✓
Ідентифікація				
Якісні реакції		✓	✓	✓
Метод ТШХ	<ul style="list-style-type: none"> – пластинка з шаром <i>силікагелю Р</i> – розчин порівняння: рутин, поміферин, осаїн – рухома фаза: <i>етилацетат – оцтова кислота – мурашина кислота – вода (100:11:11:26)</i>. – відстань, що має пройти рухома фаза: 10 см – розчинник: <i>метанол Р</i> – проявлення: 100 г/л <i>натрію гідрок-</i> 	✓	✓	✓

Показники якості	Параметри якості	Результати аналізу серій		
		МП121221	МП131221	МП151221
	<i>сиду Р в етанолі 96 (% об/об) Р – перегляд при денному світлі</i>			
Випробування				
Вміст етанолу	Не менше 40,00 %	✓	✓	✓
Метанол і 2 пропанол	Не більше 0,05 % (об/об) метанолу і 0,05 % 2-пропанолу	✓	✓	✓
Сухий залишок	Не менше 10,00 %	✓ (11,12%)	✓ (11,20%)	✓ (11,20%)
Важкі метали	Не більше 100 ppm	✓	✓	✓
Мікробіологічна чистота	В 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій та грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій та інших грамнегативних бактерій в 1 г; не допускається наявність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> і <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г.	✓	✓	✓
Кількісне визначення				
Вміст фенольних спо-	Вміст суми феноль-	✓	✓	✓

Показники якості	Параметри якості	Результати аналізу серій		
		МП121221	МП131221	МП151221
лук	них сполук у перерахунку на галову кислоту – не менше 0,60 %	(0,65%)	(0,68%)	(0,68%)
Вміст флавоноїдів	Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин – не менше 0,14 %	✓ (0,16%)	✓ (0,18%)	✓ (0,18%)

Примітки: «✓» - відповідає параметру, «-» - не відповідає параметру

Усі досліджувані серії екстракту свіжих плодів *Maclura pomifera* відповідають встановленим параметрам стандартизації.

Висновки до розділу 4

1. Розроблено параметри стандартизації рідкого екстракту свіжих плодів *Maclura pomifera*.

2. Проведено дослідження 3 серій рідкого екстракту свіжих плодів *Maclura pomifera* на відповідність розробленим параметрам якості та встановлено, що усі серії екстракту відповідають розробленим вимогам якості.

ВИСНОВКИ

1. Проведено аналізу даних літератури щодо ботанічного опису, розповсюдження, хімічного складу, фармакологічних властивостей і застосування маклюри помаранчевої.

2. Визначено оптимальні умови та розроблено спосіб одержання рідкого екстракту зі свіжих і висушених плодів *Maclura pomifera*.

3. Проведено вивчення якісного складу БАР одержаних рідких екстрактів плодів *Maclura pomifera* та встановлено наявність флавоноїдів, полісахаридів, дубильних речовин та органічних кислот. Методом ТШХ в досліджуваних екстрактах виявлені рутин, поміферин, осаїн, лимона, щавлева, яблучна, кофейна кислоти.

4. Визначено вміст суми фенольних сполук, флавоноїдів, гідроксикоричних і органічних кислот в рідких екстрактах зі свіжих та висушених плодів *Maclura pomifera*. Встановлено, що за вмістом усіх груп БАР переважав рідкий екстракт зі свіжої сировини.

5. Визначено рівень антиоксидантної активності рідких екстрактів зі свіжих і висушених плодів маклюри помаранчевої. Встановлено, що рівень антиоксидантної активності рідкого екстракту зі свіжої сировини на 30 % вищий, ніж екстракту з висушеної.

6. Розроблено параметри стандартизації перспективного рідкого екстракту свіжих плодів *Maclura pomifera*.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Finkenstadt V. L., Tisserat B. P. Orange wood fiber composites for agricultural mulch films. *Industrial Crops and Products*. 2010. Vol. 31, № 2. P. 316–320. DOI: [10.1016/j.indcrop.2009.11.012](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.11.012) (Date of access: 25.12.2023).
2. Comparison of chemical composition and antioxidant activity from fresh and dried osage orange (*Maclura pomifera*) fruits extracts / O. Maslov et al. *Annals of Mechnikov's Institute*. 2023. Vol. 3. P. 49–54.
3. Comparison of chemical composition and antioxidant activity of extracts from fresh and dried fruits of osage orange / S. M. Sebi et al. *Modern Pharmaceutics: Actual Problems and Prospects : Abstract Book Of The IV International Scientific Conference*. Toshkent, 2023. P. 234–235.
4. HPLC Determination of Isoflavone Levels in Osage Orange from the Midwest and Southern United States / K. Darji et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013. Vol. 61, № 28. P. 6806–6811. DOI: [10.1021/jf400954m](https://doi.org/10.1021/jf400954m) (Date of access: 25.12.2023).
5. Peterson C., Zhu J., Coats J. R. Identification of Components of Osage Orange Fruit (*Maclura pomifera*) and Their Repellency to German Cockroaches. *Journal of Essential Oil Research*. 2002. Vol. 14, № 3. P. 233–236. DOI: [10.1080/10412905.2002.9699833](https://doi.org/10.1080/10412905.2002.9699833) (Date of access: 25.12.2023).
6. Коротков В., Кухтенко А., Ордабаева С. Анализ элементного состава плодов и экстрактов маклюры оранжевой. *Вестник КазНМУ*. 2014. №5(3). С. 51–53.
7. Ferro M. A Cultural and Entomological Review of the Osage Orange (*Maclura pomifera* (Raf.) Schneid.) (*Moraceae*) and the Origin and Early Spread of “Hedge Apple” Folklore. *Southeastern Naturalist*. 2014. Vol. 13, № 7. P. 1–34. DOI: [10.1656/058.013.m701](https://doi.org/10.1656/058.013.m701) (Date of access: 25.12.2023).
8. Osage Orange (*Maclura pomifera* L.) Seed Oil Poly (α -hydroxydibutylamine) Triglycerides: Synthesis and Characterization / R. E. Harry-

O'kurutain et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015. Vol. 63, № 29. C. 6588–6595. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b01625 (Date of access: 25.12.2023).

9. Macro- and micro-element composition of Osage orange *Maclura pomifera* L. (*Moraceae*) / S. Petrovic et al. *Journal of Elementology*. 2018. № 4/2018. DOI: 10.5601/jelem.2018.23.1.1484 (Date of access: 25.12.2023).

10. Phenolics from the Fruits of *Maclura pomifera* / Z. Su et al. *Natural Product Communications*. 2017. Vol. 12, № 11. P. 1934578X1701201. DOI: 10.1177/1934578x1701201122 (Date of access: 25.12.2023).

11. Osage orange (*Maclura pomifera* (Raf.) Schneid) fruit extracts: UHPLC-DAD-ESI-MS/MS analysis, antioxidant activity and *in vivo* skin tests / I. Gajić et al. *Natural Product Research*. 2023. Vol. 12 P. 1–6. DOI: 10.1080/14786419.2023.2208361 (Date of access: 25.12.2023).

12. Quantitative analysis of biologically active substances and the investigation of antioxidant and antimicrobial activities of some extracts of Osage orange fruits / A. S. Dadayan et al. *Pharmacia*. 2021. Vol. 68, № 4. P. 731–739. DOI: 10.3897/pharmacia.68.e70180 (Date of access: 25.12.2023).

13. Battaloglu R. Determination of Essential Oils Components of *Maclura pomifera* (Osage Orange) Fruit from Turkey. *International Journal of Secondary Metabolite*. 2017. Vol. 68. P. 459–462. DOI: 10.21448/ijsm.376898 (Date of access: 25.12.2023).

14. Preparation of Fatty Acid Methyl Esters from Osage Orange (*Maclura pomifera*) Oil and Evaluation as Biodiesel / B. R. Moser et al. *Energy & Fuels*. 2011. Vol. 25, № 4. P. 1869–1877. DOI:10.1021/ef200195v (Date of access: 25.12.2023).

15. Characterization of prenylated xanthenes and flavanones by liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry / C. T. da Costa et al. *Journal of Mass Spectrometry*. 2000. Vol. 35, № 4. P. 540–549. DOI: 10.1002/(sici)1096-9888(200004)35:4%3C540::aid-jms966%3E3.0.co;2-y (Date of access: 25.12.2023).

16. Osajin and Pomiferin, Two Isoflavones Purified from Osage Orange Fruits, Tested for Repellency to the Maize Weevil (Coleoptera: Curculionidae) / C. Peterson

et al. *Environmental Entomology*. 2000. Vol. 29, № 6. P. 1133–1137. DOI: 10.1603/0046-225x-29.6.1133 (Date of access: 25.12.2023).

17. Isolation and Biological Evaluation of Prenylated Flavonoids from *Maclura pomifera* / Y. Orazbekov et al. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2018. Vol. 2018. P. 1–8. 10.1155/2018/1370368 (Date of access: 25.12.2023).

18. New Lupane Triterpene Fatty Acid Ester from Leaves of *Maclura pomifera* / S.-J. Lee et al. *Natural Product Letters*. 1997. Vol. 10, № 4. P. 313–317. DOI: 10.1080/10575639708043746 (Date of access: 25.12.2023).

19. Morphological, physiochemical and antioxidant responses of *Maclura pomifera* to drought stress / A. Khaleghi et al. *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9, № 1. DOI: 10.1038/s41598-019-55889-y (Date of access: 25.12.2023).

20. Canli K., Bozyel M. E., Altuner E. M. In Vitro antimicrobial activity screening of *Maclura pomifera* fruits against wide range of microorganisms. *Int J Pharm SciInv*. 2017. Vol. 6, № 8. P. 19–22.

21. Antiproliferative Activity of Pomiferin in Normal (MCF-10A) and Transformed (MCF-7) Breast Epithelial Cells / R. Yang et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011. Vol. 59, № 24. P. 13328–13336. DOI: 10.1021/jf202898g (Date of access: 25.12.2023).

22. Anti-inflammatory and antinociceptive potential of *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider fruit extracts and its major isoflavonoids, scandenone and auriculasin / E. Kupeli et al. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006. Vol. 107, № 2. P. 169–174. DOI: 10.1016/j.jep.2006.02.021 (Date of access: 25.12.2023).

23. Effects of prenylated isoflavones osajin and pomiferin in premedication on heart ischemia-reperfusion / T. Florian et al. *Biomedical Papers*. 2006. Vol. 150, № 1. P. 93–100. DOI: 10.5507/bp.2006.013 (Date of access: 25.12.2023).

24. Tsao R., Yang R., Young J. C. Antioxidant Isoflavones in Osage Orange, *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003. Vol. 51, № 22. P. 6445–6451. DOI: 10.1021/jf0342369 (Date of access: 25.12.2023).

25. Antioxidant potential of some natural and semi-synthetic flavonoid derivatives and the extracts from *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider (osage orange) and its essential oil composition / I. E. Orhan et al. *Turkish Journal of Biochemistry*. 2016. Vol. 41, № 6. DOI: 10.1515/tjb-2016-0125 (Date of access: 25.12.2023).

26. Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Extracts of Selected Fresh and Dried Herbal Materials / M. Kozłowska et al. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 2021. P. 269–278. DOI: 10.31883/pjfns/139035 (Date of access: 25.12.2023).

27. Comparison of Traditional and Novel Drying Techniques and Its Effect on Quality of Fruits, Vegetables and Aromatic Herbs / Á. Calín-Sánchez et al. *Foods*. 2020. Vol. 9, № 9. P. 1261. DOI: 10.3390/foods9091261 (Date of access: 25.12.2023).

28. *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider %80 metanol ekstresinin in vitro yaşlanma karşıtı potansiyelinin değerlendirilmesi ve kantitatif HPTLC analizi / T. H. Barak et al. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021. P. 0. DOI: 10.4274/tjps.galenos.2021.65087 (Date of access: 25.12.2023).

29. Effect of drying method on the antioxidant capacity of six *Lamiaceae* herbs / M. B. Hossain et al. *Food Chemistry*. 2010. Vol. 123, № 1. P. 85–91. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.04.003 (Date of access: 25.12.2023).

30. The study of the qualitative composition and the quantitative content of phenolic compounds in dietary supplements with lingonberry / O. Y. Maslov et al. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2021. Vol. 19, № 4(76). P. 40–46. DOI: 10.24959/ophcj.21.243782 (Date of access: 25.12.2023).

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

32. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків: Державне

підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

33. Умаров У. А. Фітохімічне дослідження продуктів комплексної переробки анісу звичайного : дис. канд. наук. Харків, 2021. 175 с.

34. Умаров У., Колесник С. В., Гриценко И. С. Количественное определение содержания флавоноидов в траве аниса обыкновенного. *Modern achievements of pharmaceutical technology and biotechnology: proceedings papers Issue 6 collection of scientific works*, с. Kharkiv, 7-8 November 2019. Kharkiv: NUPh publishing house, 2019. С. 469.

35. Development and Validation of a Titrimetric Method for Quantitative Determination of Free Organic Acids in Green Tea Leaves / O. Y. Maslov et al. *Pharmakeftiki*. 2021. Vol. 33, № 4. P. 304–311

36. Study of total antioxidant capacity of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) shoots / O. Y. Maslov et al. *Vitae*. 2023. Vol. 30, № 1. DOI: 10.17533/udea.vitae.v30n1a351486 (Date of access: 25.12.2023).

37. Investigation the influence of biologically active compounds on the antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activities of red raspberry (*Rubus idaeus*) leaf extract / O. Maslov et al. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2022. DOI: 10.2478/cipms-2022-0040 (Date of access: 25.12.2023).

38. The study of the effect of ethyl alcohol concentrations on the antioxidant activity of ascorbic acid solutions / O. Y. Maslov et al. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2021. Vol. 19, № 2(74). P. 44–47. DOI: 10.24959/ophcj.21.231947 (Date of access: 25.12.2023).

39. Study and evaluation antioxidant activity of dietary supplements with green tea extract / O. Y. Maslov et al. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2021. Vol. 14, № 2. P. 215–219. DOI: 10.14739/2409-2932.2021.2.233306 (Date of access: 25.12.2023).

40. ГОСТ 29251–91 (ИСО 385–1–84). Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки. Часть 1. Общие требования. М. : Стандартинформ, 2008. 15 с.

41. ГОСТ 1770–74 (ИСО 1042–83, ИСО 4788–80). Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия. М. : Стандартинформ, 2008. 22 с.

42. Calibration of Burets and Pipets : Chemistry 321 : Laboratory Manual. California State University, 2014. P. 13 – 15.

43. IS/ISO 4787 (2010): Laboratory Glassware – Volumetric Instruments – Methods for Testing of Capacity and for Use. New Delhi : Bureau of Indian Standards, 2012. 29 p.

44. Danzer K., Otto M., Currie L. A. Guidelines for calibration in analytical chemistry. Part 2. Multispecies calibration. Pure Appl. Chem. 2004. Vol. 76 (6). P. 1215–1225.

ДОДАТКИ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ
НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

МАТЕРІАЛИ
XXIX МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ МОЛОДИХ ВЧЕНИХ ТА СТУДЕНТІВ

19-21 квітня 2023 року
м. Харків

Харків
НФаУ
2023

XXIX Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених та студентів
«АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН
У 40% ЕТАНОЛЬНОМУ ЕКСТРАКТІ СВІЖИХ ПЛОДІВ
МАКЛЮРИ ПОМАРАНЧЕВОЇ**

Ляхович А.В., Себій С.М., Дорошенко С.Р.

Наукові керівники: Ахмедов Е.Ю., Колісник О.В., Маслов О.Ю.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна
alexmaslov392@gmail.com

Вступ. Маклюра помаранчева (*Maclura aurantica*), відома як "адамове яблуко" в Україні, була названа на честь американського дослідника Вільямса Маклюра. Плід, що нагадує апельсин, має лікувальні властивості, а його сік містить значну кількість поліфенолів зі значною мембраностабілізуючою дією. Ці потужні антиоксиданти мають анти-склеротичні та анти-ракові властивості. В традиційній медицині, екстракти та бальзами, зроблені на основі маклюри, використовуються для лікування радикуліту, ревматизму, поліартриту, варикозної хвороби, геморагічних патологій та різних шкірних захворювань, таких як дерматити, екземи, рани та доброякісні пухлини.

Мета дослідження. Визначити вміст біологічно активних речовин (БАР), а саме фенольних сполук, флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у 40% етанольному екстракті свіжих плодів маклюри помаранчевій.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження став 40% етанольний екстракт свіжих плодів маклюри помаранчевій, який був отриманий наступним чином 20.0 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщали в колбу зі шліфом на 1000 мл, заливали 400 мл 40% етанолом і витримували 1 годину на киплячій водній бані, фільтрували через паперовий фільтр, екстракцію проводили двічі. Об'єднували витяги та упарювали на роторному випарнику до співвідношення 1:1 до маси наважки сировини.

Для визначення суми фенольних сполук в мірну колбу ємністю 50.0 мл вносили 1.0 мл екстракту, доводили до мітки 40% етанолом. Потім відбирали аликвоту 1.0 мл приготованого розчину та вносили в мірну колбу на 25.0 мл, додавали 1.0 мл реактиву Фоліну-Чіколтау, 10.0 мл води дистильованої та доводили 29% розчином Na_2CO_3 об'єм до мітки. Через 30 хвилин вимірювали оптичну густина при 760 нм, як компенсаційний розчин використовували воду дистильовану. Кількісне визначення фенольних сполук проводили із застосуванням стандартного зразка (галова кислота), інтервал концентрації $1.0 - 5.0 \cdot 10^{-3}$ мг/мл. Вміст фенольних сполук (X, %) в перерахунку на галову кислоту в екстракті розраховували за формулою:

$$X(\%) = \frac{C_x \times K_{\text{розд}} \times 100}{m_{\text{сух зал}}}$$

де: C_x – концентрація галової кислоти за градувальним графіком, $\text{С} \cdot 10^{-3}$; $m_{\text{сух зал}}$ – маса сухого залишку екстракту, г; $K_{\text{розд}}$ – коефіцієнт розведення.

Для визначення суми флавоноїдів в мірну колбу ємністю 50.0 мл вносили 1.0 мл екстракту, доводили до мітки 40% етанолом (розчин А). Потім відбирали аликвоту 2.0 мл приготовленого розчину А та вносили в мірну колбу 25.0 мл, додавали 1% розчин алюмінію хлориду в метанолі і доводили об'єм до позначки 5% розчином оцтової кислоти в метанолі (випробований розчин). Через 30 хв вимірювали оптичну густина розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 417 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували розчин, що містив 2.0 мл розчину А, і доведений до позначки 5% розчином оцтової кислоти в метанолі у мірній колбі ємністю 25,0 мл до мітки. Паралельно

Секція 2

«ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН ТА СТВОРЕННЯ ФІТОПРЕПАРАТІВ»

вимірювали оптичну густина розчину ФСЗ ДФУ рутину. Вміст суми флавоноїдів, у відсотках, у перерахунку на рутин обчислювали за формулою:

$$X(\%) = \frac{A \times K_{\text{розл}} \times m_{\text{ст}} \times 100}{A_{\text{ст}} \times m_{\text{сух зал}}}$$

де: А – оптична густина випробовуваного розчину, А_{ст} – оптична густина комплексу розчину ФСЗ ДФУ рутину з алюмінієм хлоридом; m_{сух зал} – маса сухого залишку в екстракті, г; m_{ст} – маса наважки ФСЗ ДФУ рутину, г.

Для визначення суми гідроксикоричних кислот в мірну колбу ємністю 25.0 мл вносили 1.0 мл екстракту, доводили до мітки 40% етанолом (розчин А). Потім відбирали аликвоту 2.0 мл приготовленого розчину А та вносили в мірну колбу 25.0 мл, додавали 2.0 мл 0.5 М розчину хлористоводневої кислоти, 2.0 мл 10% розчину натрію нітриту, 2.0 мл 10% розчину натрію молібдату, потім додавали 2.0 мл 8.3% розчину натрію гідроксиду, потім доводили об'єм розчину водою дистильованою і перемішували (випробовуваний розчин). Оптичну густина випробовуваного розчину відразу вимірювали за довжини хвилі 525 нм. Компенсаційну рідину готували наступним чином: 2.0 мл 0.5 М розчину хлористоводневої кислоти, 2.0 мл 8.3% розчину натрію гідроксиду змішували і доводили об'єм розчину водою дистильованою до позначки. Вміст суми гідроксикоричних кислот, у відсотках, у перерахунку на хлорогенову кислоту обчислювали за формулою:

$$X(\%) = \frac{A \times K_{\text{розл}} \times 100}{A_{1\text{ см}}^{1\%} \times m_{\text{сух зал}}}$$

де: А – оптична густина випробовуваного розчину, А_{1 см}^{1%} – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти, що дорівнює 188; m_{сух зал} – маса сухого залишку в екстракті, г.

Результати дослідження. Кількісний вміст суми фенольних сполук в 40% етанольному екстракті свіжих плодів маклюри помаранчевої склав 0.65±0.02%, флавоноїдів – 0.14±0.01% і гідроксикоричних кислот – 0.60±0.01%.

Висновки. Отриманні результати дослідження можуть бути використані в розробці фітозасобів, дієтичних добавок та лікарських препаратів.

ПРОТИПУХЛИННА ТА ПРОТИРАКОВА ДІЯ ІМБИРУ

Морока Р.К.

Науковий керівник: Денисенко С.А.

Харківський національний медичний університет, Харків, Україна

rkmoroka.3m21@kmmu.edu.ua

Вступ. Онкологічні захворювання є одними з найбільш поширених факторів смертності як у світі, так і в Україні на сьогоднішній день. За даними ВООЗ станом на 2020 рік на частку захворювань, пов'язаних з онкологією, припало приблизно 10 мільйонів смертей. В Україні також висока кількість онкологічних хворих. Але більшість з них не спроможна отримувати своєчасне лікування у зв'язку з недостатністю коштів на ліки або неможливістю знаходитись у безпечному місці в умовах ведення військових дій. Тому будь-які дослідження у сфері пошуку та виготовлення доступних рослинних засобів лікування ракових захворювань є актуальними на наш час. У зв'язку з цим великий інтерес викликає імбир, який, як загальне відомо, сприяє підвищенню імунітету

СЕКЦІЯ 1. СИНТЕЗ ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН	
SYNTHESIS OF PHYSIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES	
Аамід Р.; Н. к.: Власов С.В.	5
Бабанассер І., Власов С.В.	5
Веремійчук Д.О., Сулейман М.М., Єр'оміна Г.О.; Н. к.: Кобзар Н.П.	6
Горда А.О.; Н. к.: Шпичак Т.В.	8
Кузьменко Т.В.; Н. к.: Шпичак Т.В.	9
Марченко М.В., Сулейман М.М.; Н. к.: Кобзар Н.П.	11
Онушак Г.В., Білов І.Є.	12
Чех І.С., Гудименко Д.С.; Н. к.: Шпичак Т.В.	13
Шкода А.Г.; Н. к.: Зубков В.О.	15
Botsula I.V.; S. s.: Kireyev I.V.	16
Essabii S., Kobzar N.P., Perekhoda L.O.; S. s.: Suleiman M.M.	17
Hryzohlazov I.V.; S. s.: Podolsky I.M.	19
Iham Makane; S. s.: Perekhoda L.O.	20
Khrypko A. V.; S. s.: Severina H.I.	21
Kovalskiy A.V., Bryzyska O.A.	23
Maazuzi Ibtissam; S. s.: Zubkov V.O.	24
Maizou E., Semenets A.P., Kobzar N.P.; S. s.: Suleiman M.M.	25
Myshlakova O.P.; S. s.: Severina H.I.	28
Napkhanenko V.V.; S. s.: Podolsky I.M.	29
Tis Achraf; S. s.: Podolsky I.M.	30
СЕКЦІЯ 2. ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН ТА СТВОРЕННЯ ФІТОПРЕПАРАТІВ	
STUDY OF MEDICINAL PLANTS AND CREATION OF HERBAL MEDICINAL PRODUCTS	
Авад А.А.Дж.А.; Н. к.: Король В.В.	33
Авад А.А.Дж.А.; Н. к.: Антоненко О.В.	35
Авад А.А.Дж.А., Тетуани Яссин; Н. к.: Король В.В.	37
Адамова Д.О.; Н. к.: Ковальова А.М.	39
Гуріна В.О.; Н. к-и: Георгіяни В.А., Михайленко О.О.	41
Капріор І.О.; Н. к.: Журавель І.О.	43
Кахніашвілі А.С.; Н. к.: Ковальова А.М.	44
Ковреґін О.В.; Н. к.: Владимірова І.М.	46
Кулакова Ю.А., Новосел О.М.; Н. к.: Кисличенко В.С.	48
Кулакова Ю.А.; Н. к.: Новосел О.М.	48
Ляхович А.В., Себій С.М., Дорошенко С.Р.; Н. к-и: Ахмедов Е.Ю., Колісник О.В., Маслов О.Ю.	51