

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Посохова Ірина Юріївна

УДК 615.32.635.621.3:582.678.13

ДИСЕРТАЦІЯ

**Фармакогностичне дослідження вітчизняних представників родини
лаврові як перспективних джерел лікарської рослинної сировини**

226 – Фармація, промислова фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

_____ І. Ю. Посохова

Науковий керівник Хворост Ольга Павлівна, доктор фармацевтичних наук,
професор

Харків – 2023

АНОТАЦІЯ

Посохова І. Ю. Фармакогностичне дослідження вітчизняних представників родини лаврові як перспективних джерел лікарської рослинної сировини.

– Кваліфікаційна робота на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» (22 – Охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2023.

Дисертаційна робота присвячена системному фармакогностичному вивченню представників родини Лаврові, вивченню хімічного складу сировини та одержанню лікарського засобу на її основі, розробці параметрів стандартизації найперспективнішої сировини та лікарського засобу з листя лавра благородного.

Першим етапом роботи було вивчення морфолого-анатомічної будови сировини вітчизняних представників родини лаврові – лавру благородного (пагони, листя, нестигли плоди) та персеї американської (листя). Вивчено морфологічну будову цільної сировини – пагонів, листя та нестиглих плодів лавру благородного з урахуванням морфометричних показників. Встановлено діагностичні риси зовнішньої будови пагону – характер поверхні та характер зламу. Встановлено діагностичні риси зовнішньої будови листя – форма листкової пластинки та її складових, консистенція та колір листкової пластинки, характер розміщення та ступінь опуклості жилок. Також вивчено морфологічну будову нестиглих плодів лавру благородного.

Досліджено морфологічні особливості листя персеї американської з виділенням діагностичних ознак та встановленням морфометричних показників.

Досліджено анатомічну будову пагонів та листя лавра звичайного. Встановлено діагностичні риси внутрішньої будови пагону – тип видільної тканини та локалізація ефірної олії, тип ксилеми, характер розміщення

серцевинних променів, для листя – тип листкової пластинки, особливості опушення – тип, його локалізація лише з адаксіального боку центральної жилки та черешка, характер розміщення продихів.

Досліджено анатомічну будову листя персеї американської. Встановлено діагностичні риси внутрішньої будови листя цієї рослини – тип листкової пластинки, особливості опушення – тип опушення (наявність простих та деінде булавоподібних волосків), його локалізація, наявність поодиноких тетраедричних кристалів кальцію оксалату в паренхимі, характер розміщення продихів, особливості пучка центральної жилки та черешка.

На підставі проведених досліджень морфолого-анатомічної будови обрано макро- та мікроскопічні діагностичні риси будови сировини, що дозволило скласти відповідний розділ проєкту методів контролю якості «*Lauri nobili Folia*» «Лавру благородного листя» та може бути положено в основу нормативної документації на перспективні види рослинної сировини – проєкту методів контролю якості «*Lauri nobili Cormus*» «Лавру благородного пагони» та проєкту методів контролю якості «*Perseae americanae Folia*» «Персеї американської листя».

За допомогою тонкошарової (ТШХ), газової хроматографії (ГХ), хромато масспектрометрії (ГХ/МС), високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), атомно-емісійної спектрографії (АЕС) було встановлено компонентний склад основних груп біологічно активних речовин (БАР) у сировині лавру благородного: сполук, що переганяються з водяною парою, органічних, в тому числі жирних, кислот, фенольних сполук (гідроксикоричних кислот, похідних флавану та флавону), макро- та мікроелементів. У досліджуваній сировині ідентифіковано не менше 139 БАР, з яких 78 сполук, що переганяються з водяною парою, 17 органічних кислот, 11 жирних кислот, 14 сполук фенольної природи, 19 мінеральних речовин.

За допомогою ГХ/МС визначено та проаналізовано компонентний склад сполук, що переганяються з водяною парою, 2 серій пагонів, 2 серій листя та 1 серії нестиглих плодів лавру благородного. В нестиглих плодах лавра

благородного винайдено 33 сполуки, що переганялися з водяною парою, з яких ідентифіковано 30 речовин. Високий вміст характерний для спатуленола (1947,10 мг/кг) и γ -бетуленола (925,3 мг/кг). В обох серіях листя винайдено лише 3 сполуки, що є загальними – ароматичні сполуки метилевгенол (251,3 мг/кг в листі серії 1 та 243,0 мг/кг в в листі серії 2), транс-метилізоєвгенол (вміст становив 200,6 мг/кг в листі серії 1, що вдесятеро вище ніж в листі серії 2 – 21,0 мг/кг) та сесквітерпеноїд каріофіленоксид (різниця в 4 рази: листя серії 1 – 460,6 мг/кг проти 113,5 мг/кг в листі серії 2).

Визначено компонентний склад гідроксикоричних кислот в пагонах і листі лавру благородного методом ВЕРХ та доведено наявність хлорогенової кислоти.

Встановлено компонентний склад похідних флавону в пагонах та листі лавру благородного методом ВЕРХ. В листі винайдено не менш 4 сполук, з яких 3 похідних флавону – аглікони апігенін, лютеолін, неідентифікований глікозид апігеніну та один флавоноловий глікозид ізокверцитрин ($0,035 \pm 0,005$ %); в нестиглих плодах знайдено не менше 4 сполук, з яких 1 сполука – це флавоновий аглікон апігенін, решта – це глікозиди кверцетину: рутин ($0,017 \pm 0,003$ %), ізокверцитрин ($0,042 \pm 0,003$ %) та гіперозид ($0,014 \pm 0,002$ %).

Визначено компонентний склад фенолкарбонових кислот та похідних флавану в нестиглих плодах та листі лавру благородного методом ВЕРХ. В листі винайдено не менше 3, в нестиглих нестиглих плодах – не менше 4 сполук флаванового ряду, загальними для обох видів сировини є епікатехін та епігалокатехін (домінуючий компонент епікатехін – в листі $1,32 \pm 0,01$ % та в нестиглих плодах $0,66 \pm 0,02$ %, відповідно).

Визначено компонентний склад органічних кислот в пагонах та листі лавру благородного методом ГХ/МС. Кількісний вміст оксалатної кислоти в пагонах становив більш ніж в шість разів вище, ніж лимонної ($1554,82 \pm 0,59$ мг/кг); в листі – вміст оксалатної кислоти в 1,3 рази вище, ніж лимонної кислоти ($846,18 \pm 1,01$ мг/кг). Вміст решти органічних кислот в пагонах і листі становив не більше 10 % від загального вмісту.

Визначено компонентний склад жирних кислот в пагонах, листі та нестиглих плодах лавру благородного методом ГХ. Пагони та листя мають однаковий компонентний склад ідентифікованих жирних кислот (по 11 сполук, з яких 5 насичених та 6 ненасичених). В нестиглих плодах знайдено 8 жирних кислот, з яких 3 насичених. Вміст суми ненасичених жирних кислот в усіх досліджуваних видах сировини вищий, ніж суми насичених: в 1,27 рази в листі, в 1,57 рази в нестиглих плодах, в 1,62 рази в пагонах. В пагонах домінували за вмістом ненасичена лінолева кислота ($38,14 \pm 0,05$ % від суми – це найвищий вміст в досліджуваній сировині) та насичена пальмітинова ($32,00 \pm 1,30$ % від суми), в листі – насичена пальмітинова ($33,15 \pm 0,04$ % від суми) та ненасичена ліноленова ($28,01 \pm 0,06$ % від суми), в нестиглих плодах – насичена пальмітинова ($36,69 \pm 0,09$ % від суми), до речі, це найвищий вміст в цих видах сировини, та ненасичена лінолева ($33,83 \pm 0,05$ % від суми).

Визначено елементний склад пагонів та листя лавру благородного в порівнянні з ґрунтом з-під рослини. Домінуючими елементами у пагонах були калій ($5345,00 \pm 6,22$ мг/кг), кальцій ($1552,00 \pm 5,56$ мг/кг) та силіцій ($1429,00 \pm 3,41$ мг/кг). Домінуючими елементами у листі були калій ($6544,00 \pm 5,20$ мг/кг), кальцій ($1753,00 \pm 5,56$ мг/кг) та силіцій ($1113,00 \pm 3,40$ мг/кг). Вміст важких металів знаходився в межах гранично допустимих норм для ЛРС згідно з вимогами ДФУ 2.0.

Визначено кількісний вміст ефірної олії (метод ДФУ 2.0) у 3 серіях пагонів (не менше 0,58 %), 3 серіях листя (не менше 3,31 %) та 1 серії нестиглих плодів (не менше 0,98 %) лавру благородного.

Визначено кількісний вміст суми органічних кислот у перерахунку на кислоту яблучну (монографія «Шипшини плоди» ДФУ 2.0) у 3 серіях пагонів (не менше 2,4 %), 3 серіях листя (не менше 4,3 %) та 1 серії нестиглих плодів (не менше 2,2 %) лавру благородного. Набільший кількісний вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол (монографія «Деревію трава»^N ДФУ 2.0) характерно для листя лавру благородного – не менше 6,2 %, майже вдвічі нижчий вміст в серіях пагонів – не менше 3,2 %, в нестиглих плодах – не менше

4,6 %. Визначено кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту (монографія «Ясена листя» ДФУ 2.0) у 3 серіях пагонів (не менше 1,1 %), 3 серіях листя (не менше 1,9 %) та 1 серії нестиглих плодів (не менше 0,9 %) лавру благородного.

Визначено кількісний вміст суми флавоноїдів у перерахунку на гіперозид (монографія «Сафлору квітки» ДФУ 2.0) у 3 серіях пагонів (не менше 1,2 %), 3 серіях листя (не менше 2,0 %) та 1 серії нестиглих плодів (не менше 2,6 %) лавру благородного. Визначено кількісний вміст суми хлорофілів та суми каротиноїдів в у 3 серіях пагонів (не менше, відповідно, 316 мкг/г та 209 мкг/г), 3 серіях листя (не менше, 456 мкг/г та 312 мкг/г, відповідно) та 1 серії нестиглих плодів (не менше, 309 мкг/кг та 197 мкг/кг, відповідно) лавру благородного.

Гравіметричним методом визначено кількісний вміст полісахаридів в сировині лавра благородного. В серіях пагонів містилося не менше 3,2 %, в серіях листя – не менше 4,3 %, в серії нестиглих плодів – не менше 3,1 % полісахаридів.

Результати дослідження хімічного складу серій сировини, що заготовлено з культивованих рослин, показало спорідненість цих показників сировини з дикорослих екземплярів.

Одержані результати системного фармакогностичного дослідження сировини лавра благородного вітчизняної заготівлі використано при розробці відповідних розділів проєктів МКЯ на сировину.

В результаті проведених системних фармакогностичних досліджень сировини вітчизняних представників родини лаврові, беручи до уваги доступність сировинної бази, було обрано найперспективніший вид сировини – листя лавру благородного. Для розробки проєкту нормативної документації на обрану сировину визначено наступні показники якості за вимогами ДФУ 2.0: (втрата в масі при висушуванні, загальна зола) та ряд технологічних параметрів. Запропоновано параметри стандартизації сировини: «Ідентифікація А» та «Ідентифікація В» – ідентифікація за макро- та мікроскопічними ознаками,

«Ідентифікація С» за якісним складом фенольних сполук (ідентифікація катехіну методом ТШХ), кількісним вмістом сполук, що переганяються з водяною парою (не менше 3,2 %), суми поліфенолів (не менше 6,0 %).

Встановлено технологічні параметри листя лавру благородного та персеї американської: втрату в масі при висушуванні, середній розмір часток, питому, об'ємну, насипну маси, пористистість сировини, порізність шару, вільний об'єм шару, питому поверхню часток, плинність, коефіцієнти поглинання води та 70% етанолу.

Для розробки технології одержання густого екстракту із листя лавру благородного визначено динаміку вилучення екстрактивних речовин, суми поліфенолів в перерахунку на пірогалол, суми гідроксикоричних кислот в перерахунку на хлорогенову кислоту, суми флавоноїдів в перерахунку на гіперозид при використанні ряду екстрагентів (вода очищена, 10 % етанол, 20 % етанол, 30 % етанол, 40 % етанол, 50 % етанол, 60 % етанол, 70 % етанол, 80 % етанол, 90 % етанол та 96 % етанол). Встановлено, що оптимальну екстракцію основних груп БАР з листя лавра благородного забезпечує 70 % спирт етиловий. Визначено оптимальні параметри технологічного процесу одержання густого екстракту з листя лавру благородного. Оптимальний екстрагент – 70 % етанол, співвідношення сировина-екстрагент 1:10, кратність зливів – 2, загальний час екстрагування – 24 год, температура процесу – 25 °С, критеріями оцінки обрано – вихід екстрактивних речовин, вихід суми поліфенолів, суми гідроксикоричних кислот та суми флавоноїдів. На основі проведеної роботи розроблено технологію одержання густого екстракту з листя лавра благородного, вихід субстанції у перерахунку на повітряно-суху сировину становив 20,5 %.

Для густого екстракту з листя лавра благородного обрано параметри стандартизації: опис, розчинність, ідентифікація фенольних сполук за методом ТШХ, втрата в масі при висушуванні, важкі метали (відповідає зазначеним нормам), мікробіологічна чистота, кількісний вміст ефірної олії (складав не

менше 0,6 %), суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол (становив не менше 1,2 %).

Для одержаного густого екстракту з листя лавра благородного дослідями *in vitro* методом дифузії в агар проведено скринінг антимікробної активності. Встановлено, що субстанція проявляє антимікробну активність відносно практично усіх тест-штамів мікроорганізмів. Встановлено антиоксидантну активність густого екстракту з листя лавра благородного дослідями *in vitro* по відношенню до іону DPPH.

Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель 151438 «Спосіб одержання лікарського засобу з антимікробною та антиоксидантною дією».

Проведені системні фармакогностичні дослідження стали підґрунтям для розробки проєктів МКЯ «Лавру благородного листя» та «Лавру благородного листя екстракт густий». Результати дослідження хімічного складу та анатомічної будови сировини представників родини лаврові впроваджено в науково-дослідну роботу споріднених кафедр закладів вищої освіти України.

Ключові слова: лавр благородний, персея американська, рослинна сировина, фармакогностичне вивчення, густий екстракт, антимікробна активність, антиоксидантна активність.

Список публікацій здобувача

1. Посохова І. Ю., Хворост О. П., Федченкова Ю. А. Порівняльний аналіз морфолого-анатомічних особливостей будови листя поширених представників родини *Lauraceae*. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 2. С. 46-50. <https://doi.org/10.33617/2522-9680-2019-4-46> (Особистий внесок здобувача – проведено пробопідготовку та аналіз літературних даниї, проведено морфометричні виміри, брала участь у виконанні

- мікроскопічних досліджень, в аналізі даних, формулюванні висновків, оформленні статті).
2. Дослідження компонентного складу ефірної олії нестиглих плодів *Laurus nobilis* L. української заготівлі / І. Ю. Посохова І., О. П. Хворост, К. С. Скребцова, Ю. А. Федченкова. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2021. Т. 19, № 3(75). С. 47-52. <https://doi.org/10.24959/ophcj.21.240777> (Особистий внесок здобувача – заготовлено сировину, проведено інформаційний пошук, узагальнені результати, приймала участь в аналізі даних, формулюванні висновків, оформленні статті).
 3. Component composition of essential oil shoots and leaves of *Laurus nobilis* L. Ukrainian origin / O. Khvorost, I. Posohova, Y. Fedchenkova, & K. Skrebtsova. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2021. Vol. 4(32). P. 50–58. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2021.239335> (Особистий внесок здобувача – проведено пробопідготовку, проведено узагальнення та аналіз результатів, оформлена робота).
 4. Вибір оптимального екстрагенту для вилучення фенольних сполук з листя *Laurus nobilis* L. / І. Ю. Посохова, К. С. Скребцова, О. П. Хворост, Ю. А. Федченкова. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2021. № 19. С. 60-64. <https://doi.org/10.24959/ophcj.21.244366> (Особистий внесок здобувача – проведено пробопідготовку та експериментальні дослідження, узагальнено результати, оформлена стаття).
 5. Хворост О. П., Посохова І. Ю., Скребцова К. С. Спосіб одержання лікарського засобу з антимікробною та антиоксидантною дією: пат. на кор. мод. А 61 36/57 151438, Україна. № заявки а202106475; заявл. 17.11.2021; опубл. 27.07.2022, Бюл. № 30. (Особистий внесок здобувача – брала участь у патентному пошуку, одержанні лікарського рослинного засобу та оформленні патенту).
 6. Посохова, І. В., Хворост О. П., Федченкова Ю. А. Встановлення закономірностей екстрагування різних груп БАР екстрагентами різної

- полярності з сировини лавра благородного та персеї американської. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 11 берез. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 143.
7. Посохова І. Ю., Хворост О. П. Кількісне визначення суми фенольних сполук у сировині представників родини Lauraceae. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: зб. IV міжнар. наук.-практ. internet-конф. (26-27 листопада 2020 р. НФаУ, м. Харків, Україна), Харків: НФаУ 2020. С. 210.
 8. Посохова І. Ю., Хворост О. П. Дослідження комплексів БАР різної полярності, що одержано з сировини рослин родини Lauraceae / *Стратегічні пріоритети розвитку науки, освіти та технологій*: зб. праць міжнар. наук.-практич. конф. (25 листопада 2021 р. м. Полтава, Україна), Полтава, 2021. С. 25.
 9. Посохова І. Ю., Хворост О. П. Порівняльний фармакогностичний аналіз листя лавра звичайного та листя персеї американської. *Topical issues of new medicines development*: мат. XXVIII Міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 150-річчю з дня народж. М.О.Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків). Х.: НФаУ, 2021. С. 115.
 10. Посохова І. Ю., Хворост О. П. Встановлення морфометричних показників серій листя лавра звичайного та персеї американської. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи*: зб. праць міжнар. наук.-практич. конф., присвяч. 100-річчю НФаУ (10 вересня 2021 р. . НФаУ, м. Харків, Україна), Харків: НФаУ 2021. С.242.
 11. Хворост О. П., Посохова І. Ю. Кількісний вміст суми фенольних сполук в серіях сировини лавру благородного. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : мат. V

Міжнар. наук.-практич. інтернет-конф. (м. Харків, 14 квітня 2023 р.).
Електрон. дані. Х. : НФаУ, 2023. С. 171. – Назва з тит. екрана.

12. Определение оптимальных параметров технологии получения субстанций из перспективных видов растительного сырья / О. П. Хворост, И. Ю. Посохова, Б. С. Леонтьев, Е. Ю. Зудова. *Актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли*: мат. I-ой Республиканской науч.-практич. конф. с междунар. уч. (г. Ташкент, 25-26 апреля 2023 г. Электрон. данные. Ташкент: 2023. С. 172. – Название с тит. экрана.
13. Хворост О. П., Посохова И. Ю. Дослідження хімічного складу сировини *Laurus nobilis*. *Modern chemistry of medicines*: мат. Міжнар. Internet-конф. (18 травня 2023 р., м. Харків). Електрон. дані. Х. : НФаУ, 2023. С. 274.
14. Перспективи застосування природних антиоксидантів в відновленні пацієнтів після ряду захворювань / О. П. Хворост, Т. В. Опрощанська, І. Ю. Посохова, Є. Ю. Зудова, Б. С. Леонтьєв. *Мультидисциплінарний підхід у фізичній реабілітаційній медицині*: мат. Всеукр. конф. (26 травня 2023 року, м. Харків). Х.: НфаУ, 2023. С. 37.

Posohova I. Yu. Pharmacognostic study of domestic representatives of the *Lauraceae* family as promising sources of medicinal plant raw materials.

– Qualified work on manuscript rights

Dissertation for obtaining the scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty 226 "Pharmacy, industrial pharmacy" (22 - Health care). – National Pharmaceutical University, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2023

The dissertation work is devoted to the systematic pharmacognostic study of representatives of the *Lauraceae* family, the study of the chemical composition of the raw material and the preparation of a medicinal product based on it, the development of standardization parameters of the most promising raw material and medicinal product from the leaves of the *Laurus nobilis*.

The first stage of the work was the study of the morphological and anatomical structure of raw materials of domestic representatives of the *Lauraceae* family – *Laurus nobilis* (shoots, leaves, unripe fruits) and *Persea americana* (leaves). The morphological structure of the whole raw material – shoots, leaves and fruits of the noble laurel was studied, taking into account the morphometric indicators.

Diagnostic features of the external structure of the shoot were established – the nature of the surface and the nature of the fracture. Diagnostic features of the external structure of the leaves were established – the shape of the leaf surface and its components, the consistency and color of the leaf surface, the nature of placement and the degree of bulging of the veins. The morphological structure of the unripe fruits of the *Laurus nobilis* was also studied.

The morphological features of *Persea americana* leaves were studied with the identification of diagnostic features and the establishment of morphometric indicators.

The anatomical structure of the shoots and leaves of *Laurus nobilis* was studied. Diagnostic features of the internal structure of the shoot were established – the type of excretory tissue and the localization of essential oil, the type of xylem, the nature of the location of the core rays, for the leaves – the type of leaf surface, the features of pubescence – the type, its localization only on the adaxial side of the central vein and petiole, the nature of the location of stomata.

The anatomical structure of *Persea americana* leaves was studied. Diagnostic features of the internal structure of the leaves of this plant have been established – the type of leaf surface, features of pubescence – the type of pubescence (presence of simple and sometimes mace-shaped like hairs), its localization, the presence of single tetrahedral calcium oxalate crystals in the parenchyma, the nature of stomata placement, features of the central vein bundle and petiole.

On the basis of the morphological and anatomical structure studies, macro- and microscopic diagnostic features of the structure of the raw material were selected, which made it possible to draw up the appropriate section of the the project "Methods of quality control of "*Lauri nobili Folia*" and can be used as a basis for normative

documentation for promising types of plant raw materials – the project "Methods of quality control of *Lauri nobili Cormus*" and the project of "Methods of quality control of *Perseae americanae Folia*".

With the help of thin-layer (TLC), gas chromatography (GC), chromatography-mass spectrometry (GC/MS), high-performance liquid chromatography (HPLC), atomic emission spectroscopy (AES), the component composition of the main groups of biologically active substances (BAS) in raw *Laurus nobilis* was determined noble: compounds that distil with water vapor, organic, including fatty, acids, phenolic compounds (hydroxycinnamic acids, flavan and flavone derivatives), macro- and microelements. At least 138 BAS were identified in the studied raw materials, of which 78 compounds are distilled with water vapor, 17 organic acids, 11 fatty acids, 14 phenolic compounds, and 19 mineral substances. Using GC/MS, the component composition of steam-distilled compounds of 2 series of shoots, 2 series of leaves and 1 series of fruits of noble laurel was determined and analyzed. In the fruits of *Laurus nobilis*, 33 compounds were found that were distilled with water vapor, of which 30 substances were identified. A high content is typical for spatulenol (1947,10 mg/kg) and γ -betulenol (925,3 mg/kg). Only 3 common compounds were found in both series of leaves – aromatic compounds methyleugenol (251,3 mg/kg in leaves of series 1 and 243,0 mg/kg in leaves of series 2, trans-methylisoeugenol (the content was 200,6 mg/kg in the leaves of series 1, which is ten times higher than in the leaves of series 2 – 21,0 mg/kg) and sesquiterpenoid caryophyllene oxide (a 4-fold difference: leaves of series 1 – 460,6 mg /kg against 113,5 mg/kg in leaves of series 2).

The component composition of hydroxycinnamic acids in the shoots and leaves of *Laurus nobilis* was determined by the HPLC method and the presence of chlorogenic acid was proven. A component warehouse similar to flavones in fruits and leaves of *Laurus nobilis* was determined for the HPLC method. At least 4 compounds were found in the leaf, of which 3 are flavone derivatives - aglycones apigenin, luteolin and an unidentified glycoside of apigenin and one flavonol glycoside isoquercitrin ($0.035 \pm 0.005\%$); no less than 4 compounds were found in unripe fruits, of which 1 compound is the flavone aglycon apigenin, the rest are

quercetin glycosides: rutin ($0.017 \pm 0.003\%$), isoquercitrin ($0.042 \pm 0.003\%$) and hyperoside ($0.014 \pm 0.002\%$).

The component stock of phenolcarboxylic acids similar to flavan in shoots and leaves of the *Laurus nobilis* was determined using the UP method. At least 3 wines were found in the leaves, at least 4 in the fruits of the flavan series, the main ones for both types of raw material are epikatechin and epigallocatechin (the dominant component of epikatechin is respectively , in the leaves $1,32 \pm 0,01 \%$ and in the fruits $0,66 \pm 0,02 \%$).

The component composition of organic acids in the shoots and leaves of *Laurus nobilis* was determined by the GC/MS method. The quantitative content of oxalic acid in shoots was more than six times higher than citric acid ($1554,82 \pm 0,59$ mg/kg); in the leaf, the content of oxalic acid is 1,3 times higher than that of citric acid ($846,18 \pm 1,01$ mg/kg). The content of the remaining organic acids in shoots and leaves was no more than 10% of the total content.

The component composition of fatty acids in the shoots, leaves and unripe fruits of the *Laurus nobilis* was determined. Shoots and leaves have the same component composition of identified fatty acids (11 compounds each, of which 5 are saturated and 6 are unsaturated). Unripe fruits contain 8 fatty acids, of which 3 are saturated. The content of the amount of unsaturated fatty acids in all studied types of raw materials is higher than the amount of saturated: 1,27 times in leaves, 1,57 times in unripe fruits, 1,62 times in shoots. The shoots were dominated by the content of unsaturated linoleic acid ($38,14 \pm 0,05\%$ of the amount – this is the highest content in the studied raw material) and saturated palmitic acid ($32,00 \pm 1,30 \%$ of the amount), in leaves – saturated palmitic ($33,15 \pm 0,04 \%$ of the total) and unsaturated linolenic ($28,01 \pm 0,06 \%$ of the total), in unripe fruits – saturated palmitic ($36,69 \pm 0,09\%$ of the total), by the way, this is the highest content in these types of raw materials, and unsaturated linoleic acid ($33,83 \pm 0,05\%$ of the total).

The elemental composition of the shoots and leaves of *Laurus nobilis* was determined in comparison with the soil under the plant. The dominant compounds in the shoots were potassium ($5345,00 \pm 6,22$ mg/kg), calcium ($1552,00 \pm 5,56$ mg/kg)

and silicon ($1429,00 \pm 3,41$ mg/kg). The dominant compounds in the leaf were potassium ($6544,00 \pm 5,20$ mg/kg), calcium ($1753,00 \pm 5,56$ mg/kg) and silicon ($1113,00 \pm 3,40$ mg/kg). The content of heavy metals was within the maximum allowable norms according to the requirements of DFU 2.0.

The quantitative content of essential oil (SPhU 2.0 method) was determined in 3 series of shoots (not less than 0,58 %), 3 series of leaves (not less than 3,31%) and 1 series of fruits (not less than 0,98 %) of *Laurus nobilis*. The quantitative content of the sum of organic acids in terms of malic acid (“*Rosa Fruit*” monograph DFU 2.0) was determined in 3 series of shoots (not less than 2,4 %), 3 series of leaves (not less than 4,3 %) and 1 series of fruits (not less 2,2 %) of *Laurus nobilis*. The highest quantitative content of the sum of polyphenols in terms of pyrogallol (monograph “*Millefolii Herba*”^N SPhU 2.0) is characteristic of the leaves of the *Laurus nobilis* – at least 6,2 %, the content is almost twice as low in the series of shoots – at least 3,2 %, in the fruits – no less than 4,6 %. The quantitative content of the sum of hydroxycinnamic acids in terms of chlorogenic acid (monograph “*Ash leaves*” DFU 2.0) was determined in 3 series of shoots (not less than 1,1 %), 3 series of leaves (not less than 1,9 %) and 1 series of fruits (not less less than 0,9 %) of *Laurus nobilis*.

The quantitative content of the sum of flavonoids in terms of giperosid (monograph “*Safflower flower*” SPhU 2.0) was determined in 3 series of shoots (not less than 1,2 %), 3 series of leaves (not less than 2,0 %) and 1 series of fruits (not less than 2,6 %) of *Laurus nobilis*. The quantitative content of the amount of chlorophylls and the amount of carotenoids in 3 series of shoots (at least 316 mg/g and 209 mg/g), 3 series of leaves (at least 456 mg/g and 312 mg/g), and 1 series of fruits (at least 309 mg/kg and 197 mg/kg, respectively) of *Laurus nobilis*.

The quantitative content of polysaccharides in the raw material of *Laurus nobilis* was determined by the gravimetric method. Shoots contained at least 3,2 %, leaves – at least 4,3 %, and unripe fruits – at least 3,1 % of polysaccharides.

The results of the study of the chemical composition of the series of raw materials collected from cultivated plants showed the affinity of these indicators of raw materials from wild specimens.

The obtained results of the systematic pharmacognostic study of the raw materials of the *Laurus nobilis* of the domestic harvest can be useful in the development of the relevant sections of the projects Methods of quality control on raw materials As a result of systematic pharmacognostic studies of raw materials of domestic representatives of the *Lauraceae* family and taking into account the availability of the raw material base, the most promising type of raw material was chosen – *Laurus nobilis* leaves. For the development of the normative documentation project for the selected raw materials, the following quality indicators have been determined according to the requirements of the SPhU 2.0: (loss on drying, total ash) and a number of technological parameters. The raw material standardization parameters are proposed: "Identification A" and "Identification B" – identification by macro- and microscopic features, "Identification C" by the qualitative composition of phenolic compounds (identification of catechin by TLC method), the quantitative content of compounds distilled with water vapor (at least 3,2 %), the amount of polyphenols (at least 6,0 %).

The technological parameters of *Laurus nobilis* leaves and *Persea americana* leaves were established: loss on drying, average particle size, specific gravity, volumetric mass, bulk mass, porosity of raw materials, porosity of raw materials, layer difference, free volume of the layer, specific surface of particles, fluidity, water and 70% ethyl alcohol absorption coefficients of.

In order to develop a technology for obtaining thick extracts from the leaves of *Laurus nobilis*, the dynamics of extraction of extractive substances, the amount of polyphenols with the reference into pyrogallol, the amount of hydroxycinnamic acids with the reference into chlorogenic acid, the amount of flavonoids with the reference into rutin when using a number of extractants (purified water, 10% ethyl alcohol) were determined, 20% ethyl alcohol, 30% ethyl alcohol, 40% ethyl alcohol, 50% ethyl alcohol, 60% ethyl alcohol, 70% ethyl alcohol, 80% ethyl alcohol, 90% ethyl alcohol and 96% ethyl alcohol).

It was established that the optimal extraction of the main groups of BAS from the leaves of the *Laurus nobilis* is provided by 70% ethyl alcohol. The optimal

parameters of the technological process of obtaining a thick extract from the leaves of the *Laurus nobilis* were determined. The optimal extractant is 70% ethyl alcohol, the raw material-extractant ratio is 1:10, the multiplicity of pours is 2, the total extraction time is 24 hours, the process temperature is 25 °C, the evaluation criteria are chosen as extractive substances yield, the yield of the amount of polyphenols, the amount of hydroxycinnamic acids and amounts of flavonoids.

Standardization parameters were chosen for the thick extract from the leaves of *Laurus nobilis*: description, solubility, identification of phenolic compounds (catechin)+ by TLC method, loss on drying, heavy metals, met the specified standards, microbiological purity, quantitative content, quantitative content of essential oil (was not less than 0,6 %), the amount of polyphenols with the reference into of pyrogallol (was at least 1,2 %).

Antimicrobial activity was screened for the obtained thick extract from the leaves of the *Laurus nobilis* by in vitro experiments using the diffusion method in agar. It was established that the substance exhibits antimicrobial activity against almost all test strains of microorganisms. The antioxidant activity of the thick extract from the leaves of the *Laurus nobilis* was established by in vitro experiments in relation to the DPPH ion. The novelty of the research is confirmed by the patent of Ukraine for the utility model 151438 "Method of obtaining a medicinal product with antimicrobial and antioxidant action".

The conducted systematic pharmacognostic studies became the basis for the developed projects of "Methods of quality control "*Lauri nobili* leaves" and project "Methods of quality control "*Lauri nobili* leaves thick extract". The results of the study of the chemical composition and anatomical structure of the raw materials of representatives of the *Lauraceae* family have been implemented in the research work of related departments of higher education institutions of Ukraine.

Key words: *Laurus nobilis*, *Persea americana*, plant material, pharmacognostic study, thick extract, antimicrobial activity, antioxidant activity.

ЗМІСТ

	АНОТАЦІЯ.....	2
	ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	22
	ВСТУП	23
РОЗДІЛ 1	ПРЕДСТАВНИКИ РОДИНИ ЛАВРОВІ – ПЕРСПЕКТИВНІ ДЖЕРЕЛА ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ (огляд літератури).....	29
1.1	Ботанічна характеристика родини лаврові Lauraceae	29
1.1.1	Ботанічна характеристика роду лавр Laurus L.	18
1.1.2	Ботанічна характеристика роду персея Persea Mill.	18
1.2	Хімічний склад сировини рослин родини лаврові Lauraceae	34
1.2.1	Хімічний склад сировини лавру благородного	34
1.2.2	Хімічний склад сировини персеї американської.....	37
1.3	Застосування рослин родини лаврові у медицині, фармації, косметології та інших галузях.....	38
РОЗДІЛ 2	ОБ’ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	49
РОЗДІЛ 3	МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СИРОВИНИ РОСЛИН РОДИНИ ЛАВРОВІ.....	59
3.1	Діагностичні особливості морфологічної будови сировини рослин родини лаврові.....	60
3.1.1	Діагностичні особливості морфологічної будови пагонів лавра благородного.....	60
3.1.2	Діагностичні особливості морфологічної будови листя лавра благородного.....	62
3.1.3	Діагностичні особливості морфологічної будови плодів лавра благородного.....	65
3.1.4	Діагностичні особливості морфологічної будови сировини персеї американської.....	65
3.2	Діагностичні особливості анатомічної будови сировини рослин родини лаврові	67
3.2.1	Діагностичні особливості анатомічної будови пагонів лавра	

		19
	благородного	67
3.2.2	Діагностичні особливості анатомічної будови листя лавра благородного	70
3.2.3	Діагностичні особливості анатомічної будови листя персеї американської.....	78
	Висновки до розділу 3.....	81
	РОЗДІЛ 4 ВИВЧЕННЯ ХІМІЧНОГО СКЛАДУ СИРОВИНИ ЛАВРА БЛАГОРОДНОГО.....	83
4.1	Дослідження сполук, що переганяються з водяною парою, сировини лавра благородного.....	83
4.1.1	Дослідження компонентного складу сполук, що переганялися з водяною парою, пагонів лавра благородного	84
4.1.2	Дослідження компонентного складу сполук, що переганялися з водяною парою, листя лавра благородного.....	87
4.1.3	Дослідження компонентного складу сполук, що переганялися з водяною парою, плодів лавра благородного.....	91
4.1.4	Вивчення компонентного складу ефірної олії лавра благородного промислового виробництва.....	94
4.1.5	Визначення кількісного вмісту ефірної олії в сировині лавра благородного.....	97
4.2	Дослідження фенольних сполук сировини лавра благородного.....	97
4.2.1	Вивчення компонентного складу гідроксикоричних кислот у сировині лавра благородного та їх кількісного вмісту.....	98
4.2.2	Дослідження похідних флавону у сировині лавра благородного.....	100
4.2.3	Вивчення компонентного складу фенолкарбонових кислот та похідних флавану у сировині лавра благородного.....	103
4.2.4	Визначення кількісного вмісту суми поліфенолів в сировині лавра благородного.....	105
4.3	Дослідження компонентного складу органічних кислот сировини	

	лавру благородного та встановлення їх кількісного вмісту.....	106
4.4	Дослідження жирнокислотного складу сировини лавру благородного.....	111
4.5	Вивчення елементного складу пагонів, листя та нестиглих плодів лавра благородного в порівнянні з ґрунтом	114
4.6	Визначення кількісного вмісту суми хлорофілів в пагонах, листі та нестиглих нестиглих плодах плодів лавра благородного	116
4.7	Визначення кількісного вмісту суми каротиноїдів в пагонах, листі та нестиглих нестиглих плодах плодів лавра благородного	117
4.8	Визначення кількісного вмісту полісахаридів в пагонах, листі та нестиглих нестиглих плодах плодів лавра благородного	117
	Висновки до розділу 4.....	118

РОЗДІЛ 5	ВИЗНАЧЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ЛИСТЯ РОСЛИН РОДИНИ ЛАВРОВІ, ПАРАМЕТРІВ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ОТРИМАННЯ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ЛАВРУ БЛАГОРОДНОГО ТА ПАРАМЕТРІВ СТАНДАРТИЗАЦІЇ СИРОВИНИ ТА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ.....	123
5.1	Визначення технологічних параметрів листя рослин родини лаврові	123
5.2	Розробка технології одержання густого екстракту з листя лавра благородного	131
5.2.1	Визначення ряду технологічних параметрів екстракції сировини	131
5.2.2	Відпрацювання технологічних параметрів одержання густого екстракту з листя лавра благородного.....	13
5.3	Визначення основних показників листя лавра благородного та густого екстракту з досліджуваної сировини.....	138

5.3.1	Розробка розділів проекту методів контролю якості на листя лавра благородного.....	138
5.3.2	Розробка проекту методів контролю якості лавра благородного листя густого екстракту.....	143
5.4	Дослідження біологічної активності субстанцій з сировини лавра благородного.....	148
5.4.1	Дослідження спектру антимікробної активності густого екстракту з листя лавра благородного та настойки пагонів лавра благородного	148
5.4.2	Дослідження антиоксидантної дії густого екстракту з листя лавра благородного.....	150
	Висновки до розділу 5.....	151
	ВИСНОВКИ	154
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	156
	ДОДАТКИ.....	177

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЕС – атомно-емісійна спектрометрія

БАР – біологічно активні речовини

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

ГХ – газова хроматографія

ГХ/МС – газова хроматографія(мас-детектування)

ДФУ 2.0 – Державна Фармакопея України 2 видання

ЛР – лікарські рослини

ЛРС – лікарська рослинна сировина

МКЯ – методи контролю якості

МОЗ – Міністерство охорони здоров'я

СФ – спектрофотометрія

ТШХ – тонкошарова хроматографія

УФ– ультрафіолетова область

DRPH• – 2,2-дифеніл-1-пікрилгідрозил радикал

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Все більше людей довіряють народним методам лікування, усвідомлюючи їх переваги перед терапією синтетичними препаратами [41,54,55-57,64]:

- полівалентність лікувальних трав, тобто різнобічна спрямованість дії рослин на організм, широкий спектр лікувально-профілактичних ефектів починаючи від нормалізації сну і закінчуючи лікуванням пухлин [30,43];
- можливість індивідуального підбору лікарських трав хворими зі складними «букетами» захворювань;
- м'який вплив лікувальних трав і трав'яних чаїв на організм;
- можливість безпечного застосування протягом тривалого часу, виключається передозування цими лікарськими засобами;
- невисока ціна, а тому доступність цього виду терапії всім верствам населення;
- простота приготування трав'яних чаїв в домашніх умовах;
- смачна і ароматна форма профілактики і лікування захворювань - чаювання;
- загальнооздоровчий ефект лікарських рослин, їх здатність не тількивилікувати понад 700 захворювань, але і зміцнити імунітет, поліпшити самопочуття, відновити сили і нормальну роботу всіх систем організму.

Родина лаврові *Lauraceae* нараховує майже 3000 видів, що належать до 45 родів. Представники цієї родини, багаторічні вічно-зелені чагарники та дерева [25], широко представлені в південних районах земної кулі. До родини належать такі популярні рослини як лавр благородний *Laurus nobilis* L. та персея американська (авокадо) *Persea americana* Mill. [74,89]. Важко переоцінити значення лавра благородного як джерела спецій (листя, ефірна олія), компонентів косметологічних засобів (мило, лосьйони, тощо), засобів народної медицини, що виявляють антисептичну дію [69,78,82,83,105,109]. В нашій країні сировина лавра благородного не є офіційною [10].

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

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

Мета і завдання дослідження

Мета роботи – системне фармакогностичне вивчення пагонів, листя, нестиглих плодів лавра благородного та листя персеї американської.

Завдання дослідження такі:

- провести аналіз морфолого-анатомічної будови сировини лавра благородного та персеї американської;
- здійснити дослідження хімічного складу сировини рослини;
- провести кількісне визначення основних груп БАР в сировині;
- визначити основні числові показники сировини;
- визначити технологічні параметри сировини та основні параметри технологічного процесу одержання густого екстракту;
- стандартизувати сировину та густий екстракт;
- підтвердити перспективність розробки визначенням основних аспектів біологічної дії;
- розробити проекти МКЯ на сировину та густий екстракт.

Об'єкт дослідження: системне фармакогностичне вивчення пагонів, листя та плодів лавра благородного та листя персеї американської.

Предмет дослідження: ідентифікація, визначення кількісного вмісту БАР у сировині лавра благородного та персеї американської, розробка технології одержання густого екстракту, проведення стандартизації сировини та засобу.

Методи дослідження

Якісний склад та кількісний вміст БАР визначали фармакопейними методами за допомогою ТШХ, ГХ, ГХ/МС, ВЕРХ, гравіметрії, титриметрії,

АЕС, СФ. Морфологічну будову досліджували за допомогою збільшувальної апаратури та вимірних засобів. Анатомічну будову сировини встановлювали на препаратах з поперхні, поперечних, поздовжньо-радіальних та поздовжньо-тангентальних зрізах. Дослідження біологічної активності проводили *in vitro*. Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням критерію Ст'юдента та однофакторного дисперсійного аналізу за ДФУ 2.0.

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше проведено системне фармакогностичне вивчення пагонів, листя, нестиглих плодів лавру благородного вітчизняної заготівлі. За допомогою хроматографічних методів аналізу в сировині лавру благородного встановлено компонентний склад сполук, що переганялися з водяною парою, органічних кислот, ряду груп фенольних сполук: гідроксикоричних кислот, флавоноїдів.

Методом атомно-адсорбційної спектрометрії, газової хроматографії, ВЕРХ проведено визначення кількісного вмісту сполук, що переганялися з водяною парою, органічних, в тому числі жирних, кислот, макро- та мікроелементів, фенольних сполук в сировині лавру благородного.

Вперше визначено кількісний вміст суми хлорофілів, суми каротиноїдів, полісахаридів в 3 серіях листя, 3 серіях пагонів та серії плодів (як дикорослих рослин, так і культивованих в штучних умовах).

Встановлено наявність та кількісний вміст 17 органічних моно-, ди-, трикарбонових, ароматичних кислот, 11 жирних кислот, Встановлено наявність 19 елементів, серед яких за вмістом переважали калій та кальцій. Встановлено компонентний склад сполук, що переганялися з водяною парою (78 сполук).

Встановлено наявність та визначено кількісний вміст хлорогенової та галлової кислот, флавонових агліконів лютеоліну та апігеніну, флавонолових глікозидів ізокверцитрину, рутину та гіперозиду, ряду катехінів.

Визначено кількісний вміст суми поліфенолів, суми гідроксикоричних кислот, суми флавоноїдів в серіях пагонів, листя та плодів лавру благородного.

Вперше для листя лавру благородного та листя персеї американської встановлено технологічні параметри сировини, параметри технологічного

процесу (оптимальний екстрагент, часовий термін, співвідношення сировина-екстрагент) одержання густого екстракту з листя лавру благородного.

Вперше розроблено технологію одержання густого екстракту з листя лавру благородного та визначено основні параметри контролю його якості.

Вперше визначено антиоксидантну та антимікробну активність густого екстракту листя лавру благородного.

Новизну досліджень підтверджено патентом 151438 (приоритет 28.07.2022) на корисну модель «Спосіб одержання лікарського засобу з антимікробною та антиоксидантною дією» № заявки а202106475; заявл. 17.11.2021; опубл. 27.07.2022, Бюл. № 30 [62].

Практичне значення отриманих результатів

- Розроблено проекти МКЯ «Лавру благородного листя», «Лавру благородного листя екстракт густий».

Розроблено технологію одержання густого екстракту з листя лавру благородного.

Результати досліджень впроваджено в науково-дослідну роботу кафедр фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського; фармацевтичної хімії, кафедри хімії та фармації Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя, фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.

Особистий внесок здобувача

Безпосередньо автором здійснено:

- інформаційний пошук та аналіз літературних даних за темою дисертації, аналіз стану фармакогностичного вивчення представників родини лаврові, зокрема лавру благородного та персеї американської;
- встановлено морфолого-анатомічну будову сировини лавру благородного та персеї американської;
- встановлено комопнентний склад та визначено кількісний вміст основних груп БАР у сировині: ефірних олій, органічних, в тому числі жирних,

кислот, мінеральних сполук, основних груп фенольних сполук, каротиноїдів, хлорофілів;

- проведено стандартизацію сировини та густого екстракту;
- розроблено технологію одержання густого екстракту з листя лавру, визначено основні параметри контролю його якості;
- розроблено проекти МКЯ «Лавру благородного листя», «Лавру благородного листя екстракт густий».

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з Зудовою Є. Ю., Леонтієвим Б. С., Опрошанською Т. В., Скребцовою К. С. Федченковою Ю. А., Хворост О. П. Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Постановка мети та завдань, обговорення результатів проведені разом з науковим керівником.

Апробація матеріалів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції *«Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження»* (м. Харків, 11 берез. 2020 р.); IV міжнародній науково-практичній internet-конференції *«Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин»*, (м. Харків, 26-27 листопада 2020 р.); XXVIII Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 150-річчю з дня народження М. О. Валяшка (м. Харків, 18-19 березня 2021 р., м.), міжнародній наукової-практичній конференції *«Стратегічні пріоритети розвитку науки, освіти та технологій»* (м. Полтава, 25 листопада 2021 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 100-річчю Національного фармацевтичного університету *«Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи:»* (м. Харків, 10 вересня

2021 р.); V Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (м. Харків, 14 квітня 2023 року), Міжнародній Internet-конференції «*Modern chemistry of medicines*» (м. Харків, 18 травня 2023 року), Всеукраїнській конференції «Мультидисциплінарний підхід у фізичній реабілітаційній медицині» (м. Харків, 26 травня 2023 року).

Обсяг та структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 194 сторінках машинописного тексту, складається із анотації, вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел та 4 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 145 машинописних сторінок. Робота проілюстрована 34 таблицями та 41 рисунком. Список використаних джерел налічує 177 найменувань, із них 64 кирилицею та 113 латиницею.

РОЗДІЛ 1
ПРЕДСТАВНИКИ РОДИНИ ЛАВРОВІ – ПЕРСПЕКТИВНІ
ДЖЕРЕЛА ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ
(огляд літератури)

Родина лаврові *Lauraceae* об'єднує понад 45 родів та 2000 видів, які беруть значну участь в формуванні структури лісів тропічних і субтропічних зон Землі. У третинному періоді лаврові, були поширені і в областях нині помірного і навіть холодного клімату.

Відбитки листя *Cinnamomum*, *Sassafras* та інших виявлено у відкладах неогену та палеогену в північній півкулі.

У неогеновому і палеогеновому бурштині Балтики знайдено і квітки в доброму стані.

Лаврові - деревні рослини (за винятком паразитуючого роду *Cassytha*) з шкірястим, простим, цільним ланцетоподібним або еліптичним, або розчленованим листям, без прилистків. Багато видів родини лаврових є джерелом прянощів (лавровий лист і кориця), їстівних плодів (авокадо), лікарських речовин – камфори, ефірних олій, будівельної і виробної деревини та інших цінних продуктів [83].

Так, з деревини і листя камфорного лавра (*Cinnamomum camphora*), що зростає в Китаї, Японії, отримують камфору; кора коричневого дерева (*C. zeylanicum*), поширеного в Південній Індії і на Шрі-Ланці, використовується як прянощі (кориця); нестиглі плоди груші авокадо (*Persea americana*), що зустрічається в тропічній Америці, їстівні; листя благородного лавра, звичайного в середземноморських країнах і культивується як декоративне дерево (в Криму і Закавказзі), використовуються як прянощі (лаврове листя) [84].

1.1 Ботанічна характеристика поширених представників родини лаврові

1.1.2 Ботанічна характеристика роду лавр *Laurus* L.

Лавр (*Laurus* L.) — рід вічнозелених дерев або чагарників родини Лаврові (*Lauraceae*). Крона лавра густа, переважно пірамідальної форми. Листя чергове, шкірясте, цілюнокрає, по краях слабо хвилясте. Квітки в зонтикоподібних пазушних суцвіттях. Нестиглі плоди однонасінневі, кістянкоподібні, синьо-чорні. Листя лавру благородного широко використовується в кулінарії. Вміст ефірної олії в листі сягає 3-5,5%. До її складу входять еugenol, pinen, mircen, camphor, linalool, різні органічні кислоти. Лавр поширений у Середземноморській області, на Канарських островах, Закавказзі, Грузії, Кримському півострові, Німеччини, Азії [4, 25].

Рід Лавр (*Laurus*) налічує три основних види — лавр благородний (*Laurus nobilis*), лавр азорський (*Laurus azorica*) і лавр камфорний (*Cinnamomum camphora*). Хоча в сучасній англійській таксономії рід налічує близько 40 видів рослин [4, 9, 36].

Камфорний лавр (*Cinnamomum camphora*). Батьківщина — Південно-Західний Китай, о. Тайвань, Корея, Японія, Північний В'єтнам. Широко культивується в Азії, Південній Індії, Шрі-Ланці, Індонезії, Малайзії, Філіппінах, Східній і Північній Африці, на півдні США, Бразилії, Австралії. Вічнозелене дерево з черговим, черешковим, ланцетоподібним, цілокрайом, голим, блискучим листям, вкритим дрібними залозками-крапками (клітини яких з ефірною олією занурені). Квітки дрібні, шостичленні, жовто-зелені, зібрані в кутові волотисті суцвіття. Всі частини рослини містять ефірну олію, основний компонент якої — камфора (до 94%); найбільша кількість камфори міститься в деревині, де вона локалізується в ефіроолійних клітинах — мішках. В Китаї і Японії камфору одержують шляхом перегонки деревної стружки з водяною парою. З меншими виходами камфору одержують з гілок і пожовклого листя. У ефірній олії весняного листя мало камфори і багато сафролу. Камфора — один з найважливіших лікарських засобів, що збуджують центральну нервову систему.

Посилює діяльність серця при захворюваннях, що супроводжуються гострою серцево-судинною недостатністю, а також при шоккових станах (лікарська форма — в 10 і 20% стерильних олійних розчинах або *per os* в порошках). Зовнішньо — для розтирань при ревматизмі, артритах і інших захворюваннях у вигляді олійних розчинів, лініментів і мазей [22, 23].

Лавр азорський (*Laurus azorica*), або лавр канарський (*Laurus canariensis*). Росте у вологих лаврових лісах в нижньому поясі гір на Канарських, Азорських островах і на острові Мадейра. Деревя до 15 м заввишки; пагони волосисто опушені. Листя яйцеподібне, до 10-12 см завдовжки і 2-6 см завширшки, тьмяно-зелене. Квітки зібрані в зонтикоподібні суцвіття, розташовані в пазухах листя по декілька, світло-жовті. Цвіте у квітні—травні. Декоративний вид [25].

Лавр благородний, або звичайний *Laurus nobilis* L. (*Lauraceae*) – популярна рослина, що використовується як у офіційній, так й у народній медицині. Більше 2 тисяч років тому рослину вирощували римляни [45].

Лавр благородний росте на різних ґрунтах у лісах в прибережній смузі, на висоті до 300 м над рівнем моря, в Середземноморській області, в Західному Закавказзі. Чагарники або дерева 4-8 м заввишки. Гілки голі. Листя просте, довгасто-ланцетне, шкірясте, 7-20 см завдовжки і 2,5 - 8 см завширшки, загострене, голе, блискуче, на коротких черешках з сильним специфічним запахом, пряним злегка гіркуватим, смаком. Квітки дрібні, зібрані в зонтикоподібні суцвіття, розташовані в пазухах листя. Квітки одностатеві, дрібні, білі, або жовті, у 4–6 квіткових зонтикоподібних суцвіттях, розміщених по 1–3 у пазухах листків. Чоловічі квітки з 8–12 тичинками і нерозвиненою маточкою. Жіночі квітки з однією маточкою і 4 недорозвиненими тичинками. Плід — синьо-чорна однонасінна еліптична кістянка. Цвіте у квітні-травні. Нестиглі плоди дозрівають у жовтні–листопаді. Цінна харчова (пряна), ефіроолійна, а також декоративна рослина. Широко застосовується для озеленення інтер'єрів, а також для експозиції у відкритому ґрунті в літній період (у діжках і горщиках за межами субтропічних районів). Підходить для

розміщення в прохолодних приміщеннях. Є ряд форм, що відрізняються за формою і розміром листя [4, 9, 36, 45].

Розмноження лавра. Лавр рідко розмножується живцюванням з-за важкого укорінення живців. Але при можливій спробі живці укорінюються в квітні і червні - липні і взимку тримають в прохолодному приміщенні. Мала продуктивність розмноження відводками. Набагато зручніше розмноження насінням. Кращі строки посіву - осінь, початок зими. Можна зберегти насіння і до весни у вологих тирсі, або піску, внизу холодильника. Насіння занурюють на глибину 2-3 см, зазвичай схожість - до 95 % [105,169]].

Лист лавра накопичує багато ефірну олію. На 1мм² листя - до 60 олієвмістищ. Кора зелена, так як у верхніх шарах хлорофілові зерна. Внутрішня частина кори містить крохмаль. Форми лавра можуть відрізнятися за величиною листя. Навіть на Чорноморському узбережжі відзначено до 10 форм лавра. В результаті систематичного підрізання стебел кількість листя збільшувалася, тобто кущ давав більше продукції. Середня тривалість росту листя лавра - до 4 років. Найактивніші - це молоді однорічні пагони, листя яких найбільш продуктивні [4].

Квіткові бруньки у лавра закладаються на пагонах поточного року. Період зимового спокою в середньому 5 місяців. Лавр вільно витримує короточасний мороз до -18°C. Однорічні недозрілі пагони можуть обмерзати при -10°C, при -12°C можуть обмерзати і дворічні пагони, при -15°C може частково пошкоджуватися штамб, при -30°C гине все надземна рослина. Треба мати на увазі, що морозостійкість і зимостійкість лавра залежать від віку [4].

При посадці лавр обов'язково заглиблюють до 10 см, при цьому утворюється багато підземних бруньок. Тому навіть у середній смузі Росії лавр добре вегетує у відкритому ґрунті [102,114,150]. Якщо він у 2-3-річному віці висаджений навесні із заглибленням у ґрунт, а до заморозків рослину зрізають на 5-10 см вище ґрунту, зверху присипають землею, то навесні, розкритий від землі, він утворює красивий кущ, який до зими може досягти і 3 м заввишки.

До зими його знову необхідно обрізати. Рослина має дуже високу відновлювальну здатність [4].

Сорти лавру благородного. Виведення сортів є перспективним напрямком покращення показників культивованих рослин [11]. Сорт 'Aureus' - це ефектна рослина, що відрізняється золотисто-жовтим листям. Рідше зустрічається сорт 'Crispa' (відомий як 'Undulata') з хвилястим по краях листям, у сорту 'Sunspot' темно - зелене листя з кремово-жовтими візерунками і плямами.

1.1.2 Ботанічна характеристика роду *Persea* Mill.

Рід *Persea* Mill. Об'єднує понад 70 видів вічнозелених деревних рослин, що поширені переважно у країнах з тропічним та субтропічним кліматом.

Persea americana Mill. – найпоширеніший та найвідоміший вид роду. Це вічнозелене дерево у природі до 15-20 м заввишки, при вирощуванні у штучних умовах його висота сягає 5 м у оранжереях та до 2 м у кімнатних умовах. Листя почергові прості черешкові, яскраво- або темно-зелені, блискучі, шкірясті, видовжені, еліптичні, або обернено-ланцетні за формою листової пластинки, верхівка загострена або гостра, основа клиноподібна, іноді нерівнобічна, край цільний або ледь хвилястий. Квітки непоказні зібрані у волотеподібні суцвіття. Плід однокістянка, іноді пишуть, що однонасінна ягода, за формою грушеподібної форми, із зморшкуватим екзокарпієм темно-зеленого, коричневого, або червонуватого кольору. Насіння кулеподібне, розмішено в плівчастому ендокарпії [94,177].

М'якоть плоду є їстівною, в той час як листя, кора стовбурів, екзокарпій плоду та насіння містять токсин персин фунгіцидної активності. Прояв отруєння у людини найчастіше – це прояв алергії. Високі дози персину можуть призвести до ушкодження міокарду, асфіксії зі смертю через 12-24 год. Також вживання в їжу цих видів сировини персеї американської викликає симптоми отруєння у свійських тварин. Сьогодні відомо понад 400 сортів персеї американської, що відрізняються в першу чергу за морфологічними ознаками

плодів: «Хасс», «Етингер», «Пінкертон», «Набал», «Фуерто», «Ардис», «Зутано», «Ріан», «Бекон», «Рід», «Гвен». Країни-експортери Чілі, Перу, Колумбія, Ізраїль, Кенія [177].

1.2 Хімічний склад сировини рослин родини лаврові

1.2.1 Хімічний склад сировини лавру благородного

Відомості щодо хімічного складу в доступній нам літературі переважно стосуються таких видів сировини як листя, нестиглі плоди, а також корені, кора, деревина та насіння [116]. З точки зору наявності груп БАР найдокладніше вивченню склад ефірної олії [67,87-89]. Листя та нестиглі плоди містять фенольні сполуки та гіркоти [65,123-125,134,139,144], плоди – антоціани [133], сесквітерпеноїди [77,157,158].

Листя цієї рослини містить до 4,5 % ефірної олії (в складі якої цинеол, пінен, гераніол, евгенол) [67,95-98,138,163], оцтову, валеріанову та капронову кислоти. Лаврова ефірна олія – рухлива безкольорова або світло-жовта рідина зі специфічним пряним запахом та гострим смаком. Кислотне число не більш за 3, ефірне число= 30-50. Отримують з листя та їх відходів, дрібних нездерев'янілих пагонів шляхом перегонки з водяною парою. Вихід 0,5-0,6 %. Хімічний склад – цинеол - 30-70 %, (-)-ліналоол, мірцен, (+)-лімонен, α -феландрен, β -феландрен, елемен, α -пінен, β -пінен, камфен, 3-карен, сабінен, β -селинен, кадинен, каріофілен, терпеніол, гераніол [67,95-98]. З сировини лавру благородного отримують два різновиди олії – власне ефірну олію з листя (хроматограма компонентного складу – рис.1.1) та олію з плодів. Є відомості про переробку, крім листя, гілочок, деревини для одержання ефірної олії: *Oil of Bays*, *Oil of Laurel*, *Oleum Lauri Expressum*, *Oleum Laurinum*, *Oleum Lauri Unguinosum*.

Так, ефірна олія листя з виходом 1-3 %, являє собою безкольорову або слабко-жовту рухливу рідину, $d_{4}^{20}=0,9217-0,9296$, $[n]_{D}^{20} = 1,469-1,470$, $[\alpha]_{D}^{20}=-13$ - -14. Кислотне число не більше 3, ефірне число не більше 50. Запах

специфічний сильний. Смак пряно-гострий. Розчинна в бензилбензоаті, диетилфталаті, рослинних оліях, нерозчинна в воді, гліцерині, мінеральних оливах. $LD_{50} = 3,95$ (щури перорально), $LD_{50} > \%$ (кролики на шкірі) [101].

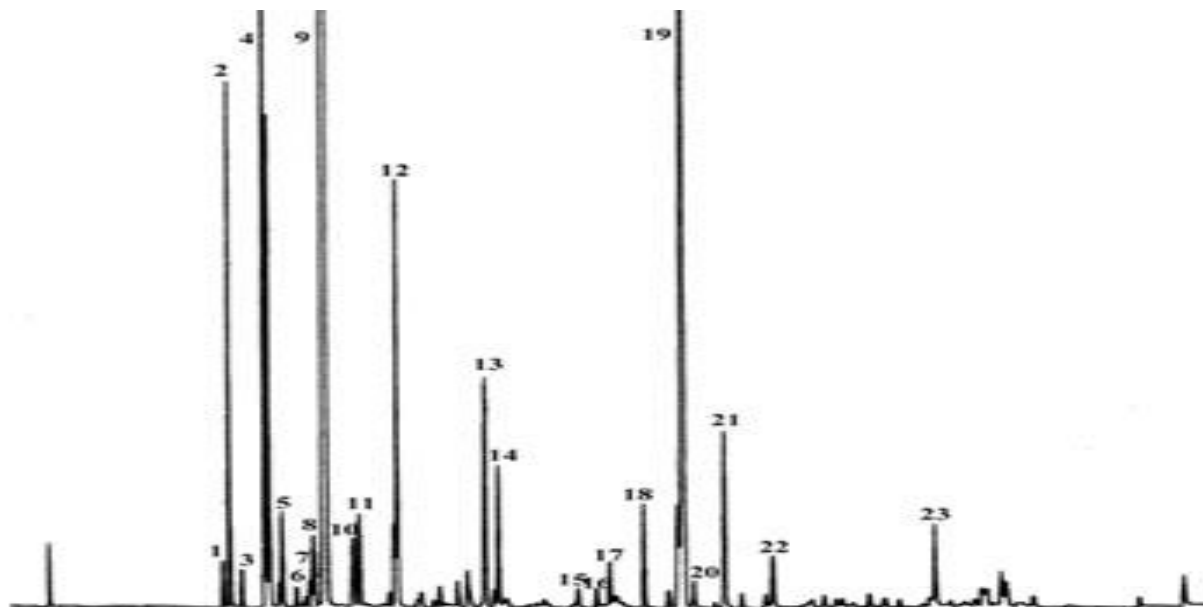


Рис. 1.1 Хроматограма лаврової ефірної олії (SE-30) [40].

1 – α -туйон, 2 – α -пінен, 3 – камфен, 4 – сабінен, 5 – β -пінен, 6 – мірцен, 7 – α -фелландрен, 8 – α -терпиінен, 9 – пара-цимен, 10 – 1,8-цинеол, 11 – γ -терпінен, 12 – транс-сабіненгідрат, 13 – ліналоол, 14 – терпінен-4-ол, 15 – α -терпінеол, 16 – ліналилацетат, 17 – орнілацетат, 18 – α -терпінилацетат, 19 – евгенол, 21 – метилевгенол, 22 – β -каріофілен.

За літературними даними містить вуглеводні $C_{10}H_{16}$ і $C_{16}H_{24}$, а також пінен, цинеол (від 30 % до 70 %), метилхавікол і евгенол, метилевгенол, (-)-ліналоол, мірцен, (+)-лимонен, евкаліптол, α - та β -фелландрени, елемен, α - і β -пінени, камфора, камфен, 3-карен, сабінен, β -селінен, кадинен, каріофілен, терпинеол, гераніол, інші терпенові та сесквітерпенові вуглеводні, спирти, кетони [115,122,166]].

З плодів вичавлюванням, виварюванням водою або гарячим пресуванням отримують суміш жиру і ефірної олії, що має консистенцію м'якої мазі (це і є загальновідома бобкова мазь), зелений колір, зернисто-кристалічну структуру.

Вихід олії з плодів становить близько 10 %, питома вага 0,915 -0,935; $\alpha_D = -14^\circ$. Може містити до 5-10% ефірної олії [66]].

Склад стеролів аналогічний оливковій олії, з переважанням бета-ситостеролу (84%). Приблизний жирнокислотний склад: лауринова кислота (Lauric Acid) - 24,55, міристинова кислота (Myristic Acid) - 1,00, пальмитинова кислота (Palmitic Acid) - 14,76, стеаринова кислота (Stearic Acid) - 1,46, олеїнова кислота (Oleic Acid) - 30,74 (Omega 9), лінолева кислота (Linoleic Acid) - 25,80 (Omega 6) Ліноленова кислота (Linolenic Acid) - 1,09 (Omega 3), еїкозанова кислота (Eicosanoic Acid) - 0,60. Також містить лаврову камфору ($C_{22}H_{30}O_3$), міріціловий спирт і хлорофіл [81,93].

Жирова частина являє собою головним чином тригліцерид лауринової кислоти, що часто називають трилаурином, або просто лаурином. Крім лаурина містяться в невеликій кількості тригліцериди олеїнової, стеаринової, пальмітинової та міристинової кислот. Лаврова олія розчиняється в диетиловому ефірі та в бензолі; 90% спирт розчиняє барвник і ефірну олію, але не розчиняє жир. При $40^\circ C$ лаврова олія плавиться, утворюючи темно-зелену рідину ароматного запаху [120].

Олія з плодів виготовляється переважно в Голландії, Іспанії, Італії і Швейцарії. Але мають місце фальсифікації сумішшю сала, куркуми і індиго з незначною кількістю натурального продукту, або сумішшю лаврової олії з салом, підфарбованою солями купруму, що надають зелений колір. З'ясування підробки проводять в першому випадку збівтуванням з водою, яка вилучає з субстанції куркуму і індиго, тоді як натуральний зелений барвник водою не екстрагується, в другому випадку олію спалюють і в золі аналітичними методами ідентифікують купрум. Чиста лаврова олія має питому вагу 0,9331 ($15^\circ C$), а при додаванні навіть незначного відсотка солей купруму цей показник значно підвищується – тобто визначення питомої ваги також може вказати на фальсифікат.

Лавр благородний – джерело класичних прянощів – листя та плодів. Традиційно сировину лавра використовують як антимікробне, протизапальне

для лікування хронічних холециститів, жовчнокам'яної хвороби, як збуджуюче апетит, поліпшуюче травлення, при псоріазі, артритих, ревматизмі, суглобних болях, діабеті, стоматиті, гінгівіті [75,90,126]. Листя, нестигли плоди, квітки являються джерелом ефірної олії, яку використовують в харчовій, парфумерній, миловаренній промисловості [141-143,175]. Лавр - потужний антиоксидант [119,139,167], але протипоказаний при вагітності, амилоїдозі, гломерулонефриті, схильності до кровотеч [26,112].

При характеристиці лавру благородного неможливо не згадати таку рослину як лавр американський *Pimenta racemosa* (Mill.) J.W. Moore), що культивується та зустрічається дикоросло у Центральній Америці – Домініці, Пуерто-Ріко та островах Карибського регіону. З листя цієї рослини одержують так звану байєву ефірну олію (хроматографічний профіль даної ефірної олії – рис. 1.2) Ця назва пов'язана з англійською назвою цього дерева "Bay tree" або "Bay rum tree". До лавру благородного ця рослина не має ніякого відношення.

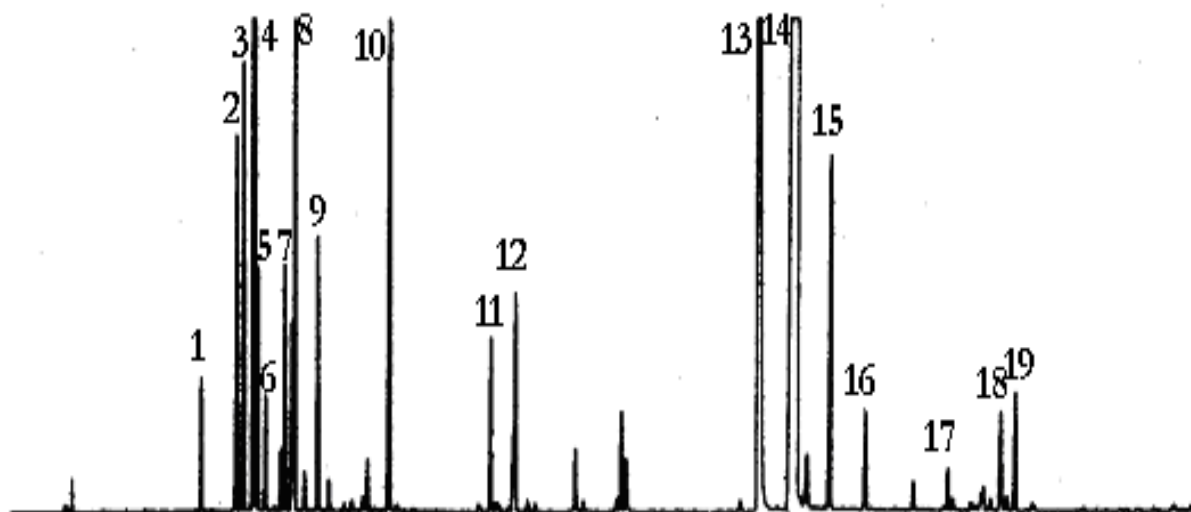


Рис. 1.2 Хроматограма ефірної олії американського лавра (SE-30)

1 – α -пінен, 2 – сабінен, 3 – β -пінен, 4 – мирцен, 5 – октанол-3, 6 – α -феландрен, 7 – пара-цимен, 8 – 1,8-цинеол, 9 – γ -терпінен, 10 – ліналоол, 11 – нераль, 12 – гераніаль, 13 – хавікол, 14 – евгенол, 15 – транс-ізоєвгенол

1.2.2 Хімічний склад сировини персеї американської

Найдокладніше досліджено хімічний склад плодів цієї рослини [74,94,173}. Нестиглі плоди містять цілу низку вітамінів: групи В, Е, D, К, провітамін А, фолієву кислоту; широкий спектр мінеральних сполук – калій, натрій, кальцій, силіцій, фосфор, ферум, манган; жирну олію до 30 %, протеїни (1,5-2,0 %), вуглеводи (1,5-2,0 %), алкалоїд теобромін. Також вони містять глікопротеїн, що може викликати алергію, особливо у людей з підвищеною чутливістю до латексвмісної сировини.

Листя містять ефірну олію, гіркоту абокатин. Насіння багате на жирну олію (до 45 %). Листя, кора стовбурів та екзокарпій містять отруйний ліпофільний токсин персин (рис.1 3).

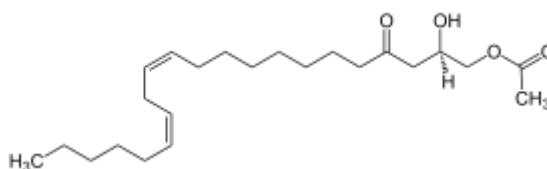


Рис. 1.3 Формула токсину персину $C_{23}H_{40}O_4$ ((2R,12Z,15Z)-2-гідроксо-4-оксогенойкозан-12,15-дієн-1-ил ацетат

Також листя містить цілу низку сполук флавоноїдної природи (не менше 10) в тому числі, астрагалін, кверцитрин, югланін та нову сполуку кемпферол-3-О-β-D-фукопіранозид, мегастигманові глікозиди, два лігнани, в тому числі (+)-ліонрезінол [115].

Найважливішим є той факт, що, не зважаючи на поширеність та різноплановість застосування представників родини лаврові, хімічний склад різних видів сировини досліджено з різною глибиною та лікарських препаратів на фармацевтичному ринку нашої країни немає.

1.3 Застосування рослин родини лаврові у медицині, фармації, косметології та інших галузях

В древній та сучасній медицині та господарстві широко застосовувалися листя, корені, кора, нестиглі плоди, кісточки плодів, а також чиста лаврова олія [108,109,121,131,136]. Листя ціле і мелене використовується як прянощі.

Нестиглі плоди було включено до Фармакопей СРСР I – VI видань.

Застосовується лаврова олія і в сучасній медицині. Її отримують при пресуванні плодів та додають в мазі для розтирання при ревматизмі і застудах [26,67].

Але найчастіше при лікуванні використовується листя лавра. Воно містить ефірну олію [159-160]. Лавр має добре зігріваючі і підсушуючі властивості. Він є гарним засобом від нервових розладів, загального паралічу і паралічу лицьового нерва, допомагає при пухлинах печінки і селезінки, корисний від кольок і допомагає від болей в суглобах, а його олія знімає втому. Лаврове листя має також цукро-знижувальні властивості. Показаннями до застосування являються ревматизм, подагра, відкладення солей, застуди, отити, цистити, алкоголізм, депресія, використовують як інсектицид [27,132,153-156].

Жирна олія з плодів лавра (відома під назвою «бобкова мазь») містить тригліцериди лауринової кислоти, ефірні сполуки.

Медико-фармацевтичні аспекти використання лавра. *Ранозагоювальний ефект*. Водні екстракти *Laurus nobilis* були оцінені для загоєння ран у щурів і порівняно з водним екстрактом *Allamanda cathartica*. Висічення і розріз рани моделей були використані для оцінки ранозагоювальної активності. Загоєння ран оцінювали по швидкості закриття ран, у період епітелізації, оцінювали міцність, вагу з грануляційної тканини, вмісту гідроксипроліну і гістопатології грануляційної тканини. У тварин, підданих лікуванню *Laurus nobilis*, швидкість скорочення рани, відсоток грануляції тканини та вміст гідроксипроліну були помірно високими ($P < 05$). Гістологічні дослідження грануляційної тканини лікованих тварин *Laurus nobilis* показали, що збільшувалася кількість здорових клітин і знижувався вміст колагену в порівнянні з *Allamanda cathartica* (лікування групи з а 27 тварин) [68].

Було досліджено *нейропротекторну активність*. Вплив п-гексанової фракції з листя *Laurus nobilis* на виробництво дофамін індукованих внутрішньоклітинних активних форм кисню та апоптозу у клітин нейробластоми людини SH-SY5Y. Порівняно з апоморфіном (АРО, $IC_{50}=18,1$

мкм) як позитивним контролем, значення IC_{50} гексанової фракції апоптозу було 3,0 мкг/мл, і двох сполук, констуноліді і дегідрокостус лактону, були 7,3 мкм і 3,6 мкм, відповідно. Гексанова фракції і ці сполуки значно інгібують дофамін індуковані внутрішньоклітинні активні форми кисню [79,83].

Вивчали *антиоксидантні властивості* ліофілізату водних та спиртових екстрактів *Laurus nobilis* [70]. Для визначення загального антиоксидантного потенціалу цих субстанцій встановлювали кількість вільних радикалів, супероксид-аніон радикалів, тощо [78,80,82,106]. Обидва екстракти показали потужну загальну антиоксидантну активність в емульсії лінолевої кислоти. Обидва екстракти показали в концентраціях 20, 40 і 60 мкг/мл 84,9 %, 94,2 %, 95,7 %, 96,8 %, 97,7 % і 98,6 % інгібування перекисного окислення ліпідів емульсії лінолевої кислоти [78,113,161]. З іншого боку, у дозі 60 мкг/мл стандартні антиоксиданти бутилгідроксіанізол, бутилгідроксітолуен і α -токоферол виявили, відповідно, 96,6 %, 99,1 % та 76,9 % інгібування перекисного окиснення ліпідів у емульсії лінолевої кислоти. Загальна сума фенольних сполук у кожному екстракті насіння була визначена в перерахунку на галову кислоту. [152,172]

Противиразкову активність насіння *Laurus nobilis* були досліджено експериментально на етанол-індукованій виразці шлунка у щурів. Результати показали противиразкову дію для 20 і 40 % водних екстрактів, а також наявність цього ефекту для ліпофільної фракції цього виду сировини [135].

Оцінювали ефірну олію листя лавру благородного на предмет *протисудомної активності* проти експериментальних судом. Ефірна олія захищала мишей від тонічних судом, індукованих максимальним електрошоком і особливо пентилентетразолом. Компонентами, що відповідальні за цей ефект, можуть бути метилевгенол, евгенол і пінен, що присутні в ефірній олії. В протисудомних дозах ефірна олія ефективна при седації і рухових порушеннях. Цей ефект, мабуть, зумовлюють цинеол, євгенол і метилевгенол [128,130].

Знеболююча і протизапальна дія. Оцінку знеболюючої і протизапальної дії лавру благородного *Laurus nobilis* L. проводили на вивченні фізичних

навантажень та відпочинку у мишей і щурів. Ефірна олія відзначалася значним протизапальним дозозалежним ефектом формалін-індукованого набряку і виявляла помірну седативну дію при протизапальних дозах [176]. Знеболювальна і протизапальна дія ефірної олії була порівнянна з активністю референс-препаратів анальгетиків і нестероїдних протизапальних засобів, таких як морфін і пироксикам. Етанольні, водні екстракти, отримані з листя і насіння *Laurus nobilis* також вивчалися на моделі карагенан-індукованого набряку задніх кінцівок мишей, що не спричиняло будь-яку шкоду для шлунка та при цьому показано видатну протизапальну активність етанольного екстракту [145-148].

Антимутагенна активність. Антимутаген очищали хроматографічно з етилацетатного екстракту лаврового листя і виявлено інструментально 3-кемпферил *n*-кумарат [68,171]. Вихід склав 20 мг з 100 г листя, і його значення IC_{50} , сума, необхідна для 50% інгібування мутагенності, була 1,9 мкг. Це значення близько до дії таких потужних антимутагенів як флавоноли [10,103,129]].

Імуностимулюючий вплив лаврового порошку досліджено на райдужній форелі. Після 14 днів адаптації на контрольній дієті 3 групи райдужної форелі годували експериментальною дієтою, що містила 0,5 % і 1% порошку лаврового листя протягом 21 дня. Риб були потім переведено назад на контрольну дієту. Неспецифічний імунітет було досліджено наприкінці 21 дня експериментального періоду годування, а потім, відповідно, знову на 42-й та 63-й день. Неспецифічні параметри імунного захисту були оцінені: рівні позаклітинного і внутрішньоклітинного дихального вибуху, фагоцитозу лейкоцитів крові, лізоциму і загального білка плазми. Лавр не мав імуностимуляторної дії, тому як це дослідження не виявило впливу на дихальний вибух, активність лізоциму і рівень загального плазматичного білка [110].

Антивірусна активність ефірної олії лавру благородного оцінювалася з точки зору її інгібуючої активності проти SARS-CoV реплікації *in vitro* шляхом

візуального підрахунку вирусіндукованого цитопатогенного ефекту. Ця олія показала активність проти SARS-CoV з IC_{50} у дозі 120 мкг/мл та мала індекс селективності 4,16. Ця субстанція характеризувалася наявністю як основних складових: β -оцимену, 1,8-цинеолу, α -пінену та β -пінену [68,131,136].

На антихолінергічну активність досліджували ефірну олію, етанольний екстракт і відвар з *Laurus nobilis* шляхом визначення їх активності по відношенню до ферменту ацетилхолінестерази. Інгібуюча здатність до ацетилхолінестерази вище за 50 % у ефірної олії. Дослідження також показало високе значення інгібування ацетилхолінестерази у етанольної фракції - 64% (1 мг/мл).

Ефірні олії насіння та свіжого листя лавру благородного було протестовано на їх репеленту активність проти дорослих самиць *Culex pipiens*, зазвичай найбільш поширених шкідників-москітів в міських і приміських районах провінції Анталія. Ефірні олії проявили репеленту активність [169].

Антибактеріальна активність [69,72,73] визначалася *in vitro* для ефірної олії насіння, жирної олії насіння, і метанольного екстракту олії насіння лавру благородного. У метанольного екстракту насіння виявлено більшу антибактеріальну активність порівняно з рештою зразків [47, 48].

Вивчення протигрибкової активності лавру благородного було проведено *in vitro* на семи штаммах фітопатогенних грибів, культивованих в чашках Петрі у трьох різних концентраціях (50, 125 і 250 мкг/мл). Результати продемонстрували, що найбільша протигрибкова активність спостерігалася для субстанцій в концентрації 250 мкг/мл проти грибка *Botrytis cinerea* Pers. [76,111].

Акарицидна активність. 10 % концентрація ефірної олії листя *Laurus nobilis* проти *Psoroptes cuniculi* призвела до смертності у розмірі 73 %; при 5 % концентрації - середня активність був істотно скорочена до 51 %, в той час як у розведеннях 2,5 %, 1,25 % і 0,625 % ефекту не спостерігалось [126].

Таким чином, у результатах вище згаданих досліджень зроблено спробу сфокусувати терапевтичний потенціал *Laurus nobilis*. Можна побачити, що

пошук нових лікарських засобів на основі *Laurus nobilis* буде вчасним, а виділені субстанції та ізольовані індивідуальні сполуки потребують в майбутньому додаткових клінічних оцінок [84,85,99].

Відхаркувальні засоби з давніх давен часто включали рослини, багаті на цинеол. Пізніше було введено термін «цинеол», який походить від «кине» - рух і «еол» - бог вітру, що означає «сильно впливає на дихальну функцію». Завдяки своїм поверхнево-активним властивостям, ефірні олії з цинеолом [92] заважають пластинам слизу залишатися зклеєними в області альвеол та таким чином вони очищують дихальні шляхи. До цього додається протизапальна дія на слизові оболонки, бронхи і ніс. Також має місце кортизоноподібний ефект, тобто спонукання використання організмом кортизону. Цинеол добре впливає на парасимпатичну мускулатуру (відповідає за серцевий ритм, травну секрецію і травлення). У цьому сенсі, цинеол допомагає розслабленню гладких м'язів бронхів і кишечника. Саме з цієї причини, до речі, лаврове листя дуже часто використовують у приготуванні гострих приправ до страв, які зазвичай важкі для травлення. Монотерпен 1,8-цинеол (евкаліптол) - основний компонент ефірної олії евкаліпту. Препарат активний відносно грампозитивних і грамнегативних бактерій, деяких вірусів, найпростіших і грибів. Посилює дренажну функцію миготливого епітелію дихальних шляхів, полегшує утворення і виділення мокротиння. При нанесенні на шкіру чинить протисвербіжну, місцеву подразнювальну дію. 1,8-Цинеол метаболізується в печінці з утворенням гідроксильованих похідних, які кон'югують з глюкуроною кислотою. Виводиться нирками та через легені. У складі комбінованих препаратів використовується для лікування ринітів, назофарингітів, тонзилітів, бронхітів; міалгій, невралгій, артралгій, головного болю; свербіжу, укусів комах. Застосовують у складі комбінованих препаратів per os, ректально, зовнішньо, у вигляді інгаляцій. Доза, частота і тривалість застосування залежать від показань і використаної лікарської форми [127,163].

Можливі алергічні реакції, гіперемія та подразнення шкіри і слизових оболонок у місці нанесення. При інгаляційному застосуванні - сухість слизової оболонки носоглотки і бронхоспазм.

Не застосовують у вигляді інгаляцій при атрофічних змінах слизової оболонки дихальних шляхів. Препарати, що містять евкаліптол, не застосовують ректально при колітах, тріщинах товстої кишки, легеневої недостатності, бронхоспазмі, порушеннях функцій печінки та нирок, при вагітності, лактації, а також підвищеної чутливості до евкаліптолу.

Експериментально доведено, що жирна олія плодів лавра може бути використана для виготовлення супозиторіїв та шариків замість масла какао. Гостра її токсичність, перорально дорівнювала LD₅₀ 3,9 г/кг (щури), нашкірно LD₅₀ > 5 г/кг (кролики). У вигляді 10 % розчину в петролятумі за 48 годин не викликає подразнення шкіри людини і реакції сенсibiliзації. Фототоксичний ефект відсутній. Олія не має обмежень IFRA на застосування в парфумерії і косметиці [175].

Рецепти з лавра [9].

В домашніх умовах можна приготувати настойку з висушеного листя лавра на 40-70 % спирті. Подрібнене листя заливають спиртом з розрахунку 1:5. Щільно закривають і витримують при кімнатній температурі 7 діб. Потім проціджують і виливають у темну пляшку, зберігають у прохолодному місці.

Для одержання ароматичної олії можна рекомендувати наступний спосіб: 30 г подрібненого листя заливають 200 г соняшникової олії і настоюють 1 тиждень. Якщо приймати цю олію по 1 ст л 2 - 3 рази в день після їжі, то це викликає місячні при їх затримці.

Готують також відвар з листя лавра, який корисний при порушеннях обміну речовин в до- і післяпологовий період, при остеохондрозі, запальних захворюваннях.

При раку горла: 1 склянку подрібненого лаврового листя настоюють в 0,5 л горілки протягом 2 тижнів у темному теплому місці, періодично струшуючи

вміст, проціджують. Приймають по 1 столовій ложці 3 рази в день за 30 хв до їжі.

Для зовнішнього застосування рекомендується мазь наступного складу: 6 частин порошку лаврового листа, 1 частина подрібненого листа ялівцю і 12 частин несолоного вершкового масла. Все це ретельно стовкти. На кожні 100 г мазі необхідно додати 10-15 крапель пихтової або лавандової олії.

Олія для зміцнення і стимуляції росту волосся: до 4 ст. л олії жожоба додати (в краплях) олії: лавра - 4, лаванди - 3, лимона - 3, розмарину - 3, рожевого дерева - 3 і 1 ст. л кунжутної або касторової олії. У теплом вигляді суміш нанести на волосся і обернути голову рушником. Через 15-30 хв вимити волосся шампунем.

При діабеті рекомендують 30-40 шт листя залити 0,5 л окропу, настояти добу, приймати до їжі по 2 ст л 3-4 рази на день.

Як засіб від головного болю при нападі мігрені пропонують протягом 2 год полежати на подушечці, набитій сумішшю листя ефіроолійних рослин, взятих у рівних частинах: лавра, лавровишні, евкаліпта і мірри.

При виділеннях з вуха відвар: 5 г листя лавру благородного заливають 200 г дистильованої води, доводять до кипіння і витримують у закритому посуді на водяній бані 2 год. Охолоджують 45 хв, проціджують і віджимають. Закапувати відвар у хворе вухо по 8-10 крапель і випивати по 2-3 ст л теплого відвару. Процедуру повторити 2-3 рази.

При холециститі рекомендують 2-3 рази на день приймати по 10-15 крапель лаврової ефірної олії додаючи до молока, кефіру або чаю.

Лавр виявляє інсектицидні властивості, тому його можна використовувати для приготування мазі проти вошей. Також, розтерті нестиглі плоди лавра або лаврову ефірну олію додають в мазь проти коростяного кліща.

За рецептами народної медицини, алкоголізм лікується настоянкою з лавра: залити 1 корінь любистка і 2 листя лавру благородного 250 г горілки - настоювати 2 тижні. Дайте хворому випити 200 г такої настойки, вона викликає у алкоголіка огиду не лише до горілки, але і до всього спиртного.

При медикаментозній алергії рекомендують приймати до їжі 3 рази на день за 30 хв 5 крапель лаврової ефірної олії на шматочку цукру, а після їжі випити 1 ч л хлористого кальцію, розведеного в 200 г холодної кип'яченої води.

Косметична лаврова олія знімає суглобові і м'язові болі, використовується при розтяжках [137,151].

Виявляє антисептичну та протимікробну дію, заспокоює і викликає розслаблюючий ефект. У бальнеології 5 крапель олії на ванну розслабляє, заспокоює, знімає напругу перед сном, знімає підвищену пітливість.

Являється джерелом вітамінів для шкіри, омолоджує її, в суміші з кунжутною олією застосовується при целюліті. Також відновлює колір обличчя, стимулює оновлення клітин, підсилює кровопостачання, ефективно бореться з акне, також ефективна при почервонінні і запаленнях шкіри. Використовується для жирної, запаленої і вугруватої шкіри, оскільки володіє очисними властивостями, відновлює гідроліпідний баланс, здатна жити, освіжати і пом'якшувати шкіру. При регулярному застосуванні олія лавру благородного нормалізує себорегуляцію, загоює дрібні ранки і запалення, заспокоює роздратовані ділянки шкіри. Завдяки незамінним жирним кислотам здатна відновлювати ліпідний бар'єр шкіри і загоювати різного роду подразнення, ефективна при екземі і псоріазі. Необхідно наносити в чистому вигляді на проблемні ділянки шкіри на 20 хвилин, потім видалити залишки сухою паперовою або тканинною серветкою [168,174,176].

Благотворно впливає на волосся, покращує живлення цибулини волосся і стимулює їх ріст, покращує капілярний кровообіг, надає блиск і шовковистість, позбавляє від лупи, зміцнює ламке і посічене волосся.

Деревина лавра благородного використовується в якості будівельного матеріалу, для виготовлення виробів, має здатність до гарної поліровки.

Застосовують сировину цієї рослини у харчовій промисловості, горілчаній промисловості, при консервації, для ароматизації кухонної солі, як компонент харчових есенцій, парфумерних композицій і віддушок для косметичних виробів, у миловарінні [160,164]. Лаврове листя має приємний слабо

ароматний пряний запах і гіркуватий смак. Лаврове листя не втрачає свого аромату при тривалому зберіганні. В якості прянощів лаврове листя широко використовується в приготуванні домашніх ковбас, м'ясних страв, холодцю, маринадів при консервуванні овочів, грибів, риби, м'яса, дичини. Особливо добре гармонує з маринованими огірками, помідорами, буряком, капустою, квасолею. Лаврове листя надає приємний смак соусам.

Алеппське мило - це мило з оливкової і лаврової олії. Весь процес виготовлення цього мила проходить за старовинними технологіями у листопаді-грудні щороку після збору врожаю оливок і плодів лавру благородного. Мило вариться в кам'яних чанах масою 5 тон гарячим способом. В процесі варіння, шляхом додавання в масу солоної води, з неї видаляється гліцерин і надлишок лугу. Готове мило виливається і стікає по жолобах на спеціально підготовлену підлогу, там відбувається його застигання та нарізка. Нарізане мило вноситься в добре провітрюване приміщення, де і дозріває до повної готовності не менш 9 місяців. Існують різні сорти цього мила – вони відрізняються відсотковим вмістом жирної олії лавру благородного. У продажу зустрічається мило з вмістом 5 %, 20 % і 40 % олії лавра. Чим більше олії лавра, тим більше ціна та більш виражений антисептичний ефект. Мило з 20 % вмістом олії лавра підходить для будь-якого типу шкіри, 5 % - для сухої чутливої шкіри, 40 % - для жирної, проблемної шкіри. Свіжозварене мило має насичений зелений колір і своєрідний терпкий запах – колір і аромат надає милу олія лавра. До моменту дозрівання воно зовні стає коричневим, а всередині продовжує залишатися зеленим. Ще одна особливість цього мила – чим довше зріє, тим краще за своїми властивостями. Ідеальний термін визрівання - 2,5 роки. Дозріле мило стає майже повністю коричневим [26,132].

Персея американська також достатньо широко використовується у фармації. Нестиглі плоди, листя та насіння виявляють загальнозміцнюючу та тонізуючу, цукрознижувальну та протизапальну, протипаразитарну та антимікробну активність [71,86,91,107,140,170]. Олія, що отримують з плодів виявляє антиоксидантні, імуностимулюючі, регенеруючі, протизапальні та

антивірусні властивості. Насіння авокадо позиціонують як природний антибіотик, що здатний знищувати патогенні бактерії та гриби. Так, м'якоть плодів використовується у фармації як чудовий нутрієнт у хворих на атеросклероз, діабет, гіпертонію, гастрити, ожиріння, нервові виснаження, малокров'я, авітамінози тощо. Як профілактичний засіб підвищує імунітет, покращує стан серцево-судинної системи, проявляє гепатопротекторні властивості. Засоби на основі листя виявляють в'яжучі та протизапальні властивості, дієві при діарей та запаленнях.

Персея американська (авокадо) – знане джерело плодів, що популярні практично у всіх країнах земної кулі в харчовій промисловості.

Так м'якоть плодів широко використовується кулінарами світу найчастіше у холодних стравах. Знаний соус, створений ще ацтеками, гуакомоле, в який окрім пюре з м'якоті плодів авокадо, входить сіль, сік лайму та інші овочі та спеції, широко застосовується в кухнях народів світу. Також виготовляють салати, суші, гамбургери, бутерброди, холодні суми, коктейлі, морозиво. Гармонійний хімічний склад сприяє дієтичності цього продукту з високою калорійністю – 200 кал/100 г.

Основні країни-імпортери плодів – це країни Центральної та Південної Америки, країни африканського континенту, Ізраїль тощо. Найбільші плантації розміщені у Мексиці, у Сполучених Штатах Америки (штат Каліфорнія). На сьогодні культивується у південних районах узбережжя Чорного моря та у закритому ґрунті. Жирна олія, що одержана гарячим чи холодним пресуванням, широко застосовується у фармації при артриті, псоріазі, дрібних ушкодженнях шкіри та запаленнях, в косметології – як пом'якшувальне, покращуюче тургор шкіри, антиейдж засіб.

Зважаючи на ступінь вивченості сировини лавру благородного та персеї американської, різнопланове застосування у фармацевтичній практиці, можливість та ступінь легкості культивування як у відкритому, так й закритому

ґрунті, більш поглиблене системне фармакогностичне вивчення сировини цих представників родини лаврові вітчизняної заготівлі є актуальним.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Об'єктами для вивчення є пагони та листя лавра благородного, заготовані у листопаді 2013 р. в м. Алушта (АР Крим). (серія 1) та пагони, листя та нестигли плоди лавра благородного, заготовані у листопаді 2013 р. п. Рибач'є (АР Крим) (серія 2), пагони та листя лавра благородного (серії 3-5), що заготовлено з екземплярів, культивованих у штучних умовах рослин (оранжерея), та листя культивованої у штучних умовах персеї американської (м. Харків, 2015-2022) [13].

2.2 Елементний аналіз проводили з використанням методу АЕС із фотографічною реєстрацією на приладі ДФС-8. Градувальні графіки в інтервалі вимірюваних концентрацій елементів будували за допомогою стандартних проб розчинів солей металів (ІСОМР-23-27). Проби випаровували з кратерів графітових електродів у розряді дуги змінного струму силою 16 А при експозиції 60 с; як джерело збудження спектрів використовували ІВС-28. Реєстрували спектри на фотоплівці за допомогою спектрографа ДФС-8 з трилінзовою системою освітлення щілини та дифракційною решіткою 600 штр/мм.

Фотометрували смуги спектрів при довжині хвилі від 240 до 347 нм в пробах у порівнянні з державними зразками суміші мінеральних елементів, за допомогою мікрофотометру МФ-4. Відносне стандартне відхилення (для п'яти паралельних вимірів) не перевищувало 30% при визначенні чисельних величин концентрацій елементів [29].

2.3 Для хроматографування застосовували пластинки “Silufol UV-254” і “Silufol UV-366”(Чехія) та “Sorbfil”-ПТСХ-П-В.

Використовували метод висхідної і нисхідної, одновимірної, двовимірної і багаторазової хроматографії в тонкому шарі (ТШХ) [4,5,58]. Результати значення R_f на хроматограмах є середніми величинами 5-6 визначень.

Розчинники для приготування хроматографічних систем використовували

кваліфікації ч.д.а. або х.ч.; співвідношення розчинників, позначені цифрами, взяті в об'ємних одиницях.

На хроматограмах речовини виявляли до і після обробки різними реактивами за забарвленням у видимому світлі та за флуоресценцією їх у фільтрованому УФ-світлі [12, 64].

2.4 Статистичну обробку результатів досліджень проводили за ДФУ 2.0 [7].

2.5 Дослідження компонентного складу та кількісного вмісту органічних кислот проводили на базі Національного інституту винограду і вина "Магарач" Української академії аграрних наук з консультативною допомогою Б. О. Виноградова за такою методикою: до 50 мг повітряно-сухої сировини у віалі об'ємом 2 мл додавали внутрішній стандарт (50 мкг тридекану в гексані), доливали 1,0 мл метилювального агента (14% трихлориду бору в метанолі, Supelco 3-3033). Суміш витримують у герметично закритій віалі 8 годин при температурі 65°C. За цей час прометилювались вільні органічні кислоти (карбонові аліфатичні і ароматичні).

Введення проби (2 мкл) у хроматографічну колонку проводили в режимі splitless, без поділу потоку, що дозволило ввести пробу без втрат на поділ та істотно (у 10-20 разів) збільшити чутливість методу хроматографування. Швидкість введення проби 1,2 мл/хв протягом 0,2 хв. Хроматограф Agilent Technologies 6890 з мас-спектрометричним детектором 5973. Хроматографічна колонка – капілярна INNOWAX (внутрішній діаметр 0,5 мм, довжина 30 м). Швидкість газу-носія (гелій) 1,2 мл/хв. Температура нагрівача введення – 250 °C. Програмований режим температур 50-250 °C зі швидкістю нагрівання 4 °/хв.

Компоненти ідентифікували шляхом порівняння отриманих мас-спектрів зі спектрами стандартних речовин бібліотеки мас-спектрів NIST05 и WILEY 2007, з використанням програм для ідентифікації AMDIS и NIST.

Для кількісних розрахунків використовували метод внутрішнього стандарту. Розрахунок вели за формулою:

$$Z = K_1 \times K_2 \times 1000, \text{ мг/кг} \quad (2.1)$$

де: Z – концентрація речовини, мг/кг;

$K_1 = P_1/P_2$ (P_1 – площа піку досліджуваної речовини; P_2 – площа піку стандарту);

$K_2 = 50/M$ (50 – маса внутрішнього стандарту (мкг), що введений в зразок; M – наважка зразка (мг)).

2.6 Для кількісного визначення вмісту суми кислот органічних застосували методику, що викладено в монографії «Шипшини плоди» ДФУ 2.0 [9] – титриметрія в перерахунку на кислоту яблучну.

2.7 Кількісний вміст суми поліфенолів визначали за методикою монографії «Деревію трава»^N ДФУ 2.0 [9].

2.8 Встановлення кількісного вмісту суми кислот гідроксикоричних у сировині лавра благородного проводили спектрофотометричним методом [4]. в розрахунку на кислоту хлорогенову. Для цього користувалися методикою, викладеною монографії «Ясена листя» ДФУ 2.0 [9].

2.9 Встановлення кількісного вмісту суми флавоноїдів у сировині лавра благородного проводили спектрофотометричним методом в розрахунку на гіперозид. Для цього користувалися методикою, викладеною монографії «Сафлору квітки» ДФУ 2.0 [9].

2.10 Встановлення кількісного вмісту полісахаридів у сировині лавра благородного проводили гравіметричним методом [2]. Для цього користувалися методикою, викладено у монографії «Алтеї корінь» ДФУ 2.0 [9].

2.11 Встановлення кількісного вмісту суми хлорофілів у сировині лавра благородного проводили спектрофотометричним методом [4] в розрахунку на хлорофіли а та b.

Для проведення аналізу до 0,50 г (точна наважка) сировини лавру благородного додавали магнію карбонат. Одержану суміш розтирали у ступці із 5 мл 96 % етанолу охолодженого. Одержаний витяг відокремлювали шляхом фільтрації крізь скляний фільтр. Операцію проводили до того, коли фільтрат цілком знебарвлювалися. Фільтрати вміщували у мірну колбу місткістю 25 мл і доводили 96 % етанолом до позначки [22, 23]. Брали 1 мл розчину та

вимірювали оптичну густину витягу за довжини хвилі 665, 649 та 441 нм, оскільки за таких значень спостерігали максимуми поглинання хлорофілу а, хлорофілу b та каротиноїдів, відповідно [22, 23]. Розчином порівняння виступав 96 % етанол. Концентрації хлорофілу а, і хлорофілу b та суми каротиноїдів обчислювали за формулами:

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

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

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

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

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

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

$(C_{\text{хл.а}} + C_{\text{хл.б}})$ — сумарний вміст хлорофілів а і b у розчині, мг/л [6, 7].

Після встановлення концентрації хлорофілів та каротиноїдів у витяжках обчислювали їх кількісний вміст (X, мг/кг) за формулою:

$$X = \frac{V \times C \times 100}{M \times (100W)} \quad (2.5)$$

де V — об'єм 96 % етанольної витяжки, мл;

C — концентрація пігменту в 96 % етанольному розчині, мг/л;

m — наважка сировини, г;

W — в масі при висушуванні сировини, %.

2.12 Встановлення кількісного вмісту суми каротиноїдів у сировині лавра благородного проводили спектрофотометричним методом (див. п.2.11 як різницю [22,23].

2.13 Пробопідготовка для визначення за методом ВЕРХ *гідроксикоричних кислот*: сировину подрібнювали, відбирали біля 1,0 г (точна наважка), вміщували в круглодонну колбу ємністю 100 мл, екстрагували протягом 30 хв 50,0 мл гарячої води бидистильованої на киплячій водяній бані зі зворотнім холодильником при перемішуванні. Після цього пробу обробляли ультразвуком протягом 10 хв, відфільтровували від часток сировини, фільтрат кількісно

переносили в мірну колбу ємністю 100 мл, об'єм розчину доводили до мітки тим же розчинником. Дослідження проводили за допомогою обернено-фазної хроматографії, використовували хроматографічну колонку Supelco Discovery C₁₈ розміром 250 × 4,6 мм із сорбентом: силікагель, модифікований октадецильними групами, діаметр зерен 5 мкм [9]. Як рухомих фаз використовували: сольвент А — 0,1 % трифлуороцтова кислота, 5 % ацетонітрил та сольвент В — 0,1 % трифлуороцтова кислота (Fluca) та ацетонітрил. Режим хроматографування: швидкість подачі рухомих фаз та робочий тиск: 0,8 мл/хв, 0,1 мл/хв, 400 bar, температура термостата колонки 25 °С.; об'єм введеної проби 5-20 мкл, час хроматографування — 40 хв. Час сканування 0,6 с, діапазон детектування — 190-400 нм.

Режим елюювання, градієнтний: для гідроксикоричних кислот: 0 хв 100 % сольвента В, 8 хв, 10 хв 88 % сольвента А, 12 % сольвента В, 15 хв, 20 хв 75 % сольвента А, 25 % сольвента В, 25 хв, 28 хв 25 % сольвента А, 75 % сольвента В, 29- 40 хв 100 % сольвента В, довжина хвилі 280 нм [17].

2.14 Пробопідготовка у визначенні за методом ВЕРХ *флавоноїдів*: сировину подрібнювали, відбирали 1,0 г (точна наважка), поміщали в круглодонну колбу ємністю 100 мл, екстрагували протягом 15 хв 50,0 мл 90 % метанолу на киплячій водяній бані зі зворотним холодильником при перемішуванні. Після цього пробу обробляли ультразвуком протягом 10 хв, відфільтровували від часток сировини, фільтрат кількісно переносили в мірну колбу ємністю 100 мл, доводили об'єм розчину до мітки 60 % метанолом [65]. Дослідження проводилися за допомогою обернено-фазної хроматографії, використовували хроматографічну колонку Supelco Discovery C₁₈ розміром 250 × 4,6 мм з сорбентом: силікагель, модифікований октадецильними групами, діаметр зерен 5 мкм. Як рухомих фаз використовували: при визначенні гідроксикоричних кислот і флавоноїдів — сольвент А — 0,005 N ортофосфорна кислота, сольвент В — ацетонітрил. Режим хроматографування: максимальна швидкість подачі рухомих фаз +0,8 мл/хв, робочий тиск елюентів 156 bar, температура термостату колонки 25 °С, обсяг введеної проби 5-20 мкл, час

хроматографування – 50 хв. Час сканування 0,6 с, діапазон детектування – 190-400 нм. Режим елюювання градієнтний: для гідроксикоричних кислот: 0 хв 95 % сольвент А, 5 % сольвенту В, 8 мін 92 % сольвент А, 8 % сольвент, 15 хв 90 % сольвент А, 10 % сольвент, 30 хв 80 % сольвент А, 20 % сольвент, 40 хв 60 % сольвент А, 40 % сольвент, 41-42 хв 25 % сольвент А, 75 % сольвент В, 43-50 хв 95 % сольвент А, 5 % сольвент, довжина хвилі 320, 330 нм; для флавоноїдів: 0 хв 88 % сольвент А, 12 % сольвент, 30 хв 75 % сольвент А, 25 % сольвент, 33 хв 75 % сольвент, 25 % сольвент, 38 хв 70 % сольвент, 30 % сольвент, 40 хв 60 % сольвент А, 40 % сольвент, 41 хв 20 % сольвент А, 80 % сольвент, 49 хв 88 % сольвент А, 12 %; сольвент, довжина хвилі 255 нм [18].

2.15 Пробопідготовка у визначенні за методом ВЕРХ *складових дубильних речовин* із досліджуваних об'єктів: (подрібнена ЛРС масою 1,00 г (точна наважка) екстрагували 50 мл бідистильованої гарячої води протягом 30 хв. Екстракт охолоджували і фільтрували, доводили до мітки розчинником. Елюенти: (А) 0,1 % трифлуороцтова кислота, 5 % ацетонітрил, (В) 0,1 % трифлуороцтова кислота (Fluca) та ацетонітрил – фрагментів дубильних речовин. Градієнтний режим елюювання (табл. 2.1). Швидкість подачі рухомої фази та робочий тиск: 0,8 мл/хв, $156 \cdot 10^5$ Па (флавоноїди) і 0,1 мл/хв, 400 bar (складові дубильних речовин), температура термостата колонки 25 °С [18].

Таблиця 2.1

Параметри градієнтного режиму елюювання

Фрагменти дубильних речовин								
Час, хв	0	8	10	15	20	25	28	29-40
Елюент В, %	100	12	12	25	25	75	75	100

2.16 Якісне та кількісне визначення сполук, що переганяються з водяною парою, досліджуваної сировини проводили на базі Національного інституту винограду і вина «Магарач» під керівництвом провідного інженера лабораторії хроматографії, докт. біол. наук Б. О. Виноградова.

Ефірну олію отримували методом перегонки із водяною парою [9].

Застосували метод для рослинної сировини, що містить незначну кількість ефірної олії. Для відгонки ефірної олії використовували віали «Agilent» на 22 мл (part number 5183-4536) з відкритими кришками та силіконовим ущільнювачем.

Наважку сировини (0,5-5,0 г) поміщають у віалу на 20 мл. Додають внутрішній стандарт із розрахунку 50 мкг на наважку з наступним розрахунком отриманої концентрації внутрішнього стандарту, яка потім використовується для розрахунків. В пробу додають 10 мл води і відганяють леткі речовини проби із водяним паром протягом 2 год із використанням зворотнього холодильника з повітряним охолодженням. В процесі відгонки леткі речовини адсорбуються на внутрішній поверхні зворотнього холодильника. Адсорбовані речовини після охолодження системи змивають повільним додаванням 3 мл особливо чистого пентану в суху віалу на 10 мл.

Змив концентрують продуванням (100 мл/хв) особливо чистого нітрогену до залишкового об'єму екстракту 10 мкл, який повністю відбирають хроматографічним шприцом. Подальше концентрування проби проводять в самому шприці до об'єму 2 мкл.

Склад ефірної олії досліджували на газовому хроматографі Agilent Technology 6890 із мас-спектрометричним детектором 5973. Умови аналізу: хроматографічна колонка капілярна INNOWAX; довжина колонки 30 м; внутрішній діаметр 0,25 мм; швидкість газу-носія (гелій) 1,2 мл/хв. Введення проби з розділенням потоку 1/50.

Температура термостату програмується від 50 °C до 220 °C зі швидкістю 4 °C/хв. Температура детектора і випарювача 250 °C.

Хроматографування. Введення проби (2 мкл) в хроматографічну колонку проводять в режимі splitless, тобто без розділення потоку, що дозволяє ввести пробу без втрати на розподіл і значно (в 10-20 раз) збільшити чутливість методу хроматографування. Швидкість введення проби 1,2 мл/с протягом 0,2 хв.

Для ідентифікації компонентів використовується бібліотека мас-спектрів NIST05 і WILEY 2007 із загальною кількістю спектрів більше 470000, разом із програмами для ідентифікації AMDIS та NIST.

Для кількісного визначення використовується метод внутрішнього стандарту. Розрахунок вмісту компонентів (мг/кг) проводять за формулою:

$$X=K_1 \cdot K_2 \cdot 1000 \quad (2.6)$$

$$K_1=\Pi_1 / \Pi_2 \quad (2.7)$$

де: Π_1 – площа піку досліджуваного зразку,

Π_2 – площа піку стандарту.

$$K_2=50 / m \quad (2.8)$$

де: 50 – маса внутрішнього стандарту, введенного в зразок, мкг.

2.17 *Мікропрепарати* для вивчення анатомічної будови пагонів та листя готували зі свіжозібраної сировини, фіксованої в суміші спирт-гліцерин-вода (1:1:1) і висушеної, а потім розмоченої сировини. Анатомічну будову вивчали на препаратах з поверхні, поперечних (пагони, листя), поздовжньо-радіальних та поздовжньо-тангентальних (пагони) зрізах, які робили за загальноприйнятими методиками [8]. Отримані дані фіксували цифровою фотокамерою OLYMPUS FE - 140 з наступною обробкою в програмі Adobe Photoshop CS3. Для роботи використовували світловий мікроскоп "МБІ-6" при збільшенні у 200, 400 та 800 разів [1, 28].

2.18 Визначення антиоксидантної активності *in vitro* [47]. Сировину (наважкою 0,5 г), поміщають у віали (з кришками, що герметично загвинчуються), заливають 4,5 мл 80 % розчином етанолу в воді очищеній і екстрагують 18-20 годин при кімнатній температурі в темряві. Проби центрифугують (10 хв при 3000 g) на центрифугі ОПН-3 і по 2 мл надосадових рідин переносять у чисті віали.

Перед початком аналізу проводять вимірювання оптичної густини розчину, отриманого додаванням 0,5 мл 80 % спирту етилового до 3,5 мл розчину DPPH• на спектрофотометрі при 517 нм і якщо екстинкція перевищує 1,4 один., то розчин додатково розводять 80% розчином етанолу, щоб його екстинкція дорівнювала 1,4 одиниці. (Робочий розчин DPPH•, приблизно 125 мкМ).

До 3,5 мл робочого розчину DPPH• приливають 0,5 мл екстракту, або розчину субстанції при кімнатній температурі, швидко перемішують, вміщують в темне місце на 2 год і спостерігають зміну світлопоглинання отриманої суміші. Реакція починається дуже швидко і практично повністю закінчується в межах 1,5-2 год. У контрольному зразку до 3,5 мл робочого розчину DPPH• додають 0,5 мл 80 % етанолу. Здатність зразка нейтралізувати стабільний вільний радикал DPPH• (анти-радикальна активність –АА) визначається як:

$$AA = (A - B) / A \times 100 \%, \quad (2.9)$$

де А –світлопоглинання контрольного зразка,

В –світлопоглинання дослідного зразка (через 2 год після змішування з робочим розчином радикалу DPPH•).

Як стандарт антиоксидантної активності використовують аскорбінову кислоту та кверцитин, або дегідрокверцетин і антирадикальну активність виражають в мг цих сполук на 1 г зразка. У разі проведення аналізу антирадикальної активності сировини з дуже високими значеннями цього показника слід зменшити кількість екстракту, що додається, до розчину DPPH•, наприклад, 0,2 мл. У цьому випадку робиться новий калібрувальний графік стандарту.

Необхідно відзначити деякі обмеження методу. Як правило, добре відпрацьовані непрямі методи, такі як тест-системи з використанням DPPH•, більш продуктивні та прості у проведенні аналізів.

Сучасні методи скринінгу антиоксидантної активності мають як концептуальні, і технічні обмеження [47]. Вони розроблялися на основі припущення, що екстракти антиоксидантів у тест-системах *in vitro* нейтралізуватимуть вільні радикали за тими ж механізмами, як вони це роблять у реальних біосистемах (тобто *in vivo*), нехтуючи тим фактом, що більшість антиоксидантів адсорбовано на стінках внутрішньоклітинних органел з полісахаридами та складними білковими комплексами і працюють у тісній кооперації один з одним, що й закладено в основу поняття функціонування єдиної антиоксидантної системи як окремих клітин, органів і тканин, так і всього організму (рослини чи тварини) загалом.

Як правило, добре відпрацьовані непрямі методи, такі як тест-системи з використанням DPPH•, більш продуктивні і прості у проведенні аналізів. Критичним для їх використання є низька інформативність отриманих результатів, які дають загальне уявлення про здатність природних зразків нейтралізувати стабільні вільні радикали у зразку і дозволяють оцінити антиоксидантну активність тільки в першому наближенні. Залишається відкритим питання про відповідність отриманих даних та дійсну здатність природних зразків інгібувати окислювальні процеси.

Іншою проблемою використання непрямих методів оцінки антиоксидантної активності є низька відтворюваність результатів та менша чутливість аналізів. Для методу з використанням DPPH• характерний ще один недолік - вузька лінійна ділянка діапазону концентрації барвника, тому аналізи зразків з найбільшою антиоксидантною активністю доводиться переробляти з додатковим розведенням екстрактів. Розчин стабільного радикала має обмежений термін служби, тому готувати новий розчин необхідно щодня.

Враховуючи неповну розчинність барвника в 80% розчині етанолу (осад у вигляді крупинок, які бажано розтирати маточкою) і необхідність фільтрування отриманого розчину, важко отримати розчини DPPH• з однаковою оптичною щільністю. І, нарешті, показано, що реакція DPPH• з деякими фенолами є частково оборотною і результати визначення здатності нейтралізувати радикали є заниженими.

РОЗДІЛ 3

МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СИРОВИНИ РОСЛИН РОДИНИ ЛАВРОВІ

Для розробки нормативної документації на сировину необхідно проведення комплексу фармакогностичних досліджень [61,63], в який обов'язково входить, а найчастіше цей комплекс досліджень починається з проведення морфолого-анатомічного вивчення сировини [24,31,32,54]. Це перший крок в з'ясуванні питання ідентифікації ЛРС. В останні часи даному аспекту приділяється все більша увага – при цьому можна виділити декілька напрямків: так, вивчаються інші види сировини рослини, що є джерелом відомого різновиду ЛРС (наприклад, анатомо-гістологічне вивчення коренів ехінацеї пурпурної, в якій використовується надземна частина), другий напрямок - проведення морфолого-анатомічного вивчення вже відомої та широко застосованої ЛРС для уточнення діагностичних ознак шляхом більш поглиблених досліджень (наприклад, уточнення діагностичних ознак плодів перцю стручкового та коренів жень-шеню, виділення більш достовірних ознак, що дозволяють діагностувати кору крушини ламкої від кори жостера проносного, виділення діагностичних ознак плодів та насіння лимонника китайського, вивчення вегетативних органів видів евкаліпту за допомогою морфолого-анатомічного, анатомо-гістологічного та петіолярного методів, встановлення закономірностей накопичення антраценпохідних в коренях щавлю кінського, або досліджень менш вивчених складових сировини - як то стебел - у складі подрібненої сировини та порошка трави чабрецю плазкого) або шляхом застосування сучасних підходів, так, петіолярні підходи застосовано до вивчення сировини ехінацеї пурпурової, цмину піскового тощо. Третій напрямок – це дослідження сировини раніше не досліджених рослин (для розробки відповідних розділів документації вивчають зовнішні та внутрішні ознаки листя листя кабачків [15, 28], полину боже дерево, насіння чорнушки посівної та чорнушки дамаської.

3.1 Вивчення морфологічних особливостей сировини представників родини лаврові

Для складання опису морфологічних ознак [53] було використано по 5 серій кожного виду сировини (див. розд. 2, п. 2.1). Для більш наочного підходу було застосовано морфометричні принципи [49] з вимірюванням тих частин сировини, що мають стале діагностичне значення. Зовнішній вигляд олистяних пагонів – рисунок 3.1.

3.1.1 Вивчення морфологічних особливостей пагонів лавра благородного

Цільна сировина. Морфометричні показники та деякі ознаки морфологічної будови пагонів лавра благородного наведено в таблиці 3.1.



Рис. 3.1 Зовнішній вигляд пагонів з листям лавра благородного

Таблиця 3.1

Морфометричні показники пагонів лавра благородного

№ серії	Колір поверхні	Характер поверхні	Діаметр пагону, см	Особливості зламу
1	зелений	блискучий	$0,73 \pm 0,04$	Шаруватий, з чітко відокремленою серцевиною
2	зелений	блискучий	$1,04 \pm 0,05$	Шаруватий, з чітко відокремленою серцевиною
3	зелений	блискучий	$0,98 \pm 0,05$	Шаруватий, з чітко відокремленою серцевиною
4	зелений	блискучий	$1,10 \pm 0,05$	Шаруватий, з чітко відокремленою серцевиною
5	зелений	блискучий	$0,88 \pm 0,05$	Шаруватий, з чітко відокремленою серцевиною

Особливості морфологічної будови пагонів лавру благородного наведено на рисунку 3.2.

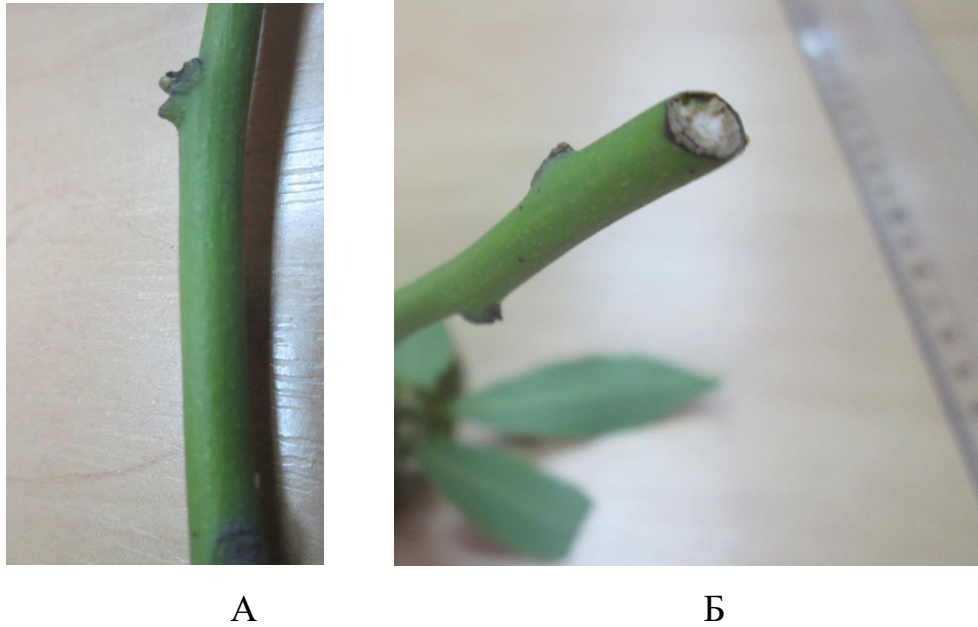


Рис. 3.2 Колір, характер поверхні (А) та характер зламу (Б) пагону лавра благородного

3.1.2 Вивчення морфологічних особливостей листя лавра благородного

Цільна сировина. Листя почергове просте короткочерешкове. Морфометричні показники та ряд ознак морфологічної будови серій листя лавра благородного наведено в таблиці 3.2.

Зовнішній вигляд листя лавра благородного з різною формою листкової пластинки наведено на рисунках 3.3. та 3.4.

Листкова пластинка шкіряста, згори темно-зеленого кольору блискуча, з ледь опуклими жилками, що утворюють перисто-сітчасту інервацію.

Жилки за кольором набагато світліші, жовтувато-салатного кольору матові. Зісподу листкова пластинка матова та за кольором набагато світліша за верхній бік. Жилки опукліше з нижнього боку ніж з верхнього.

Розмір листя лавра благородного: довжина – від 6,8 см до 9,8 см, ширина – 2,5-3,5 см, черешок до 1,2 см завдовжки.

Таблиця 3.2

Морфологічні ознаки листя лавра благородного (m=5)

№ серії	Морфометричні показники			Форма				Колір
	довжина черешка	довжина листової пластинки	ширина листової пластинки	листової пластинки	верхівки	основи	края	
1	1,24±0,07	9,62±0,10	2,52±0,10	широко ланцетна	гостра	клино подібна	Цільний, помітна світла смужка по краю	Верхній бік – блискучий темно-зелений, нижній–матовий світло сіро- зелений
2	0,70±0,09	7,60±0,15	3,52±0,10	вузьколанц етна	гостра	Вузько клинопод ібна нерівнобо ка	Цільний, помітна світла смужка по краю	Верхній бік – блискучий темно-зелений, нижній–матовий світло сіро- зелений
3	1,06±0,07	9,84±0,07	2,84±0,07	широко ланцетна	гостра	Широко клинопод ібна	Цільний, помітна світла смужка по краю	Верхній бік – блискучий темно-зелений, нижній–матовий світло сіро- зелений
4	0,64±0,07	6,86±0,07	3,46±0,07	вузьколанц етна	гостра	клино подібна	Цільний, помітна світла смужка по краю	Верхній бік – блискучий темно-зелений, нижній–матовий світло сіро- зелений
5	1,36±0,07	8,82±0,10	2,82±0,06	вузьколанц етна	гостра	клино подібна	Цільний, помітна світла смужка по краю	Верхній бік – блискучий темно-зелений, нижній–матовий світло сіро- зелений

Подрібнена сировина - порошок світло-зеленого кольору. Запах характерний запашний пряний, смак гіркуватий.



А



Б

Рис. 3.3 Зовнішній вигляд листя лавра благородного з широко- (А) та вузьколанцентною (Б) формою листкової пластинки



А



Б



В



Г

Рис. 3.4 Форма верхівки (А), основи (Б), вигляд нижнього (В) та верхнього (Г) боків листкової пластинки листя лавра благородного

3.1.3 Вивчення морфологічних особливостей нестиглих плодів лавра благородного

Цільна сировина. Достиглий плід однокістянка куляста, або видовжена, діаметром до 1,5 см, або завдовжки до 2 см. Кісточка досить велика видовжена, мезокарпій розвинений слабо, шар тонкий напівсоковитий. Зовні стиглий плод - блискучий чорно-синій. Плідоніжка біля 1 см завдовжки, часто С-подібно зігнута, зеленого кольору. Запах плодів духмянний, смак плодів специфічний пряно-гіркуватий. Нестиглі нестигли плоди світло-зеленого кольору кулясті діаметром 3-4 мм. Зовнішній вигляд нестиглих плодів наведено на рисунку 3.5.



Рис. 3.5 Зовнішній вигляд нестиглих плодів лавра благородного

3.1.4 Морфологічні особливості листя персеї американської

Зовнішній вигляд листя персеї американської з адаксіального та абаксіального боків наведено на рис. 3.6-3.8, морфометричні показники – у таблиці 3.3.

Листя просте короткочерешкове. Листкова пластинка цільна, форма її овальна, край листя цільний, іноді злегка хвилястий. Верхівка листової пластинки гострокінцева. Основа - клиноподібна, жилкування перистокрайове,

жилки різко опуклі з нижнього боку, трохи світліші, ніж колір листя над мезофілом. Поверхня блискуча, адаксіальний бік листкової пластинки персеї американської - темно-зелений, абаксіальний бік листкової пластинки – відповідно, світліший. Розмір листя персеї американської: довжина – від 12,5 см до 14,5 см, ширина – 3,5-4,0 см, черешок до 1,5 см завдовжки.



А



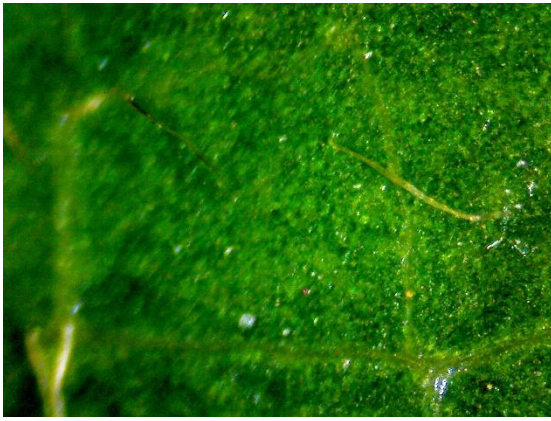
Б

Рис. 3.6 Морфологічні особливості листя персеї американської: А – адаксіальний бік листя, Б- абаксіальний бік листя

Таблиця 3.3

Морфометричні показники листя персеї американської (n=5, см)

Номер серії	Довжина черешка, см	Довжина листкової пластинки, см	Ширина листкової пластинки, см
1	1,38±0,10	13,64±0,11	3,82±0,06
2	1,50±0,09	14,56±0,14	4,02±0,10
3	1,16±0,07	12,84±0,11	3,78±0,10
4	1,46±0,11	14,20±0,09	3,86±0,07
5	1,26±0,07	12,64±0,14	3,52±0,37



А



Б

Рис. 3.7 Морфологічні особливості поверхонь верхньої епідерми (А) та нижньої епідерми (Б) листової пластинки листа персеї американської

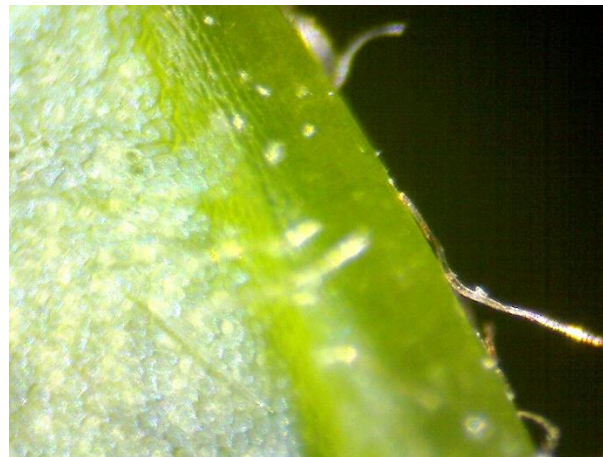


Рис. 3.8 Опушення нижньої епідерми черешка листа персеї американської з поверхні

3.2 Вивчення анатомічних особливостей сировини представників родини лаврові

3.2.1 Вивчення анатомічних особливостей пагонів лавра благородного

Цільна сировина. Протягом декілька років (до 4-х) вкриті епідермою, що представлена досить широко просвітними (на поперечному зрізі майже квадратної форми) клітинами з коричневими тонкими оболонками (методика

розд. 2, п. 2.17). На поперечному зрізі добре помітна розвинена могутня кутикула, що здіймається над кожною клітиною покривної тканини горбочком (рисю 3.9).

Корова частина складається з дрібних паренхімних клітин, що часто звивисто зплющені як у радіальному, так й у тангентальному напрямках (рис. 3.10).

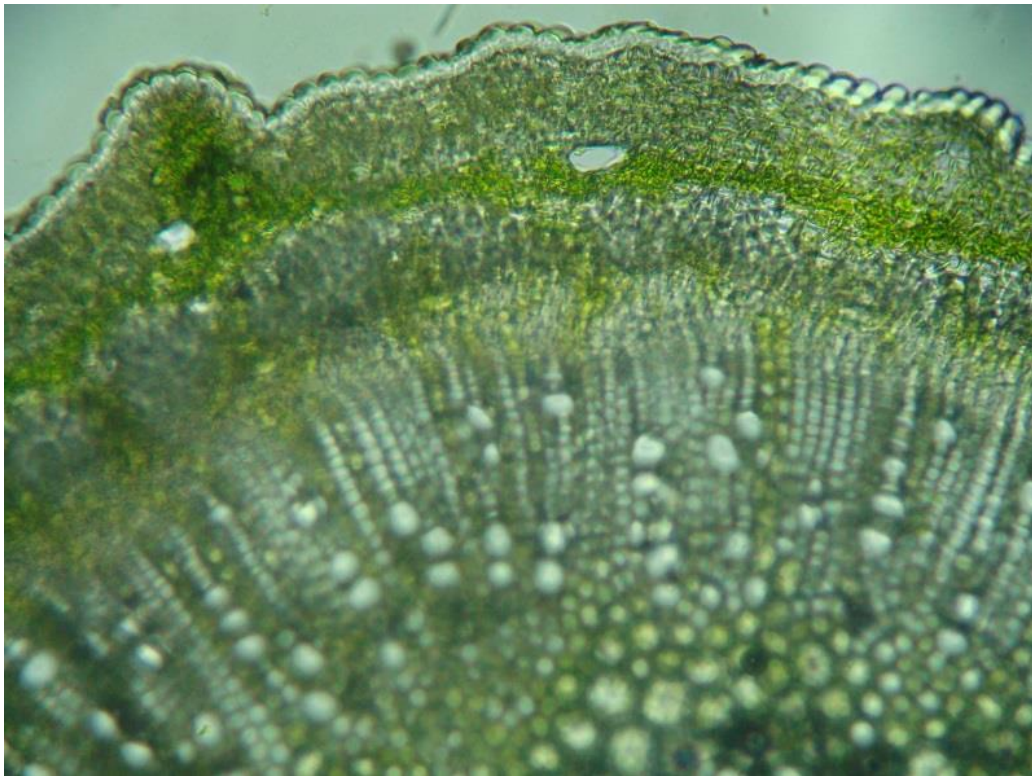


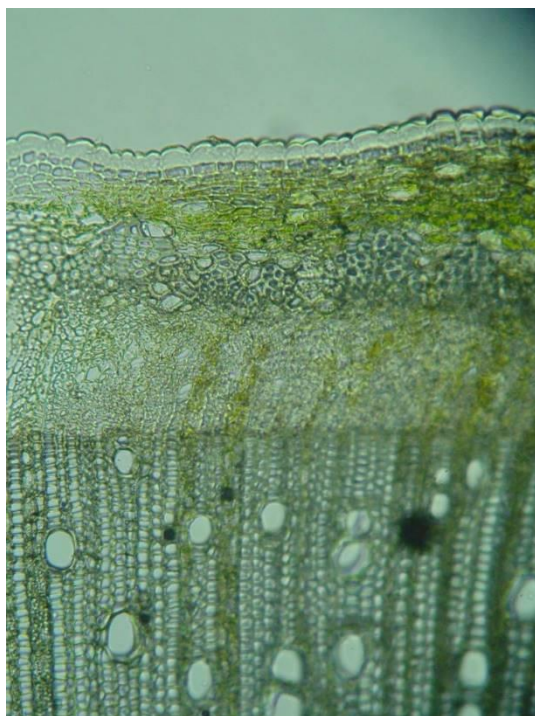
Рис. 3.9 Поперечний зріз пагону лавра благородного (фрагмент)

У флоемі де інде зустрічаються невеликі групи клітин механічної тканини. Крім того, переважно у флоемній частині зустрічаються вмістища, скоріш за все змішаного типу.

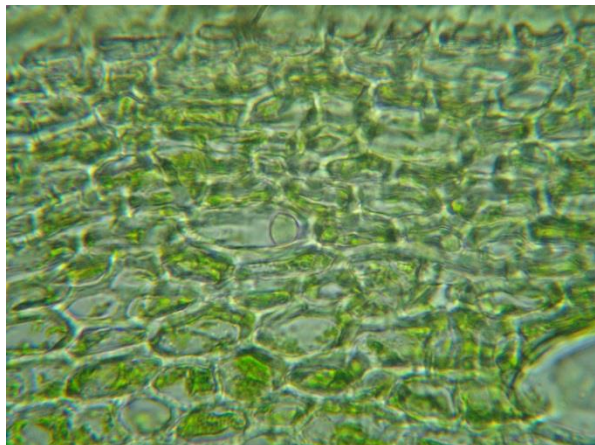
Ксилема розсіяносудинна, досить часті вузькі промені переважно з трахеїд та лібриформу чергуються з однорядними дрібноклітинними первинними серцевинними променями, клітини яких часто заповнені забарвленим вмістом (рис. 3.11).

Судини переважно кільчасті та спіральні.

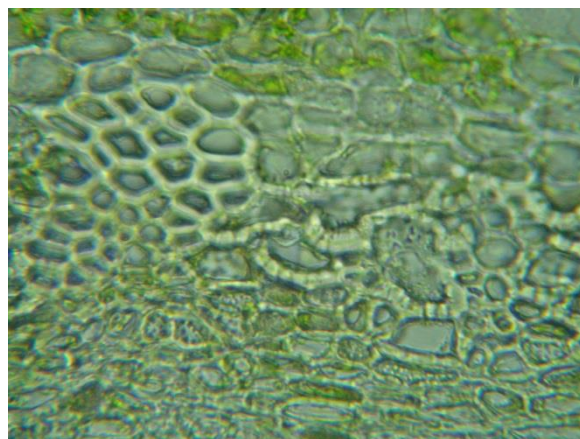
Перимедулярна зона вирізняється розміром та забарвленням клітин.



А



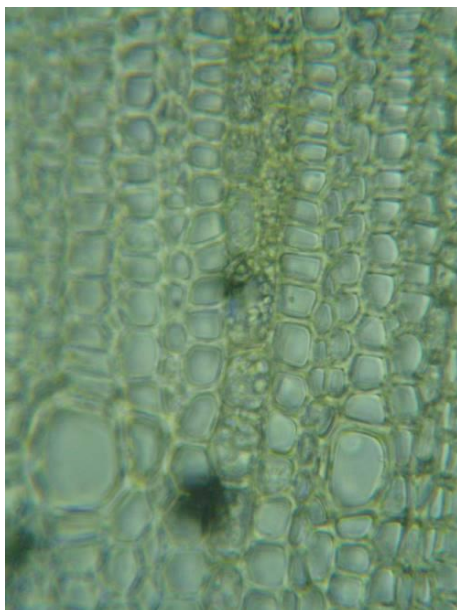
Б



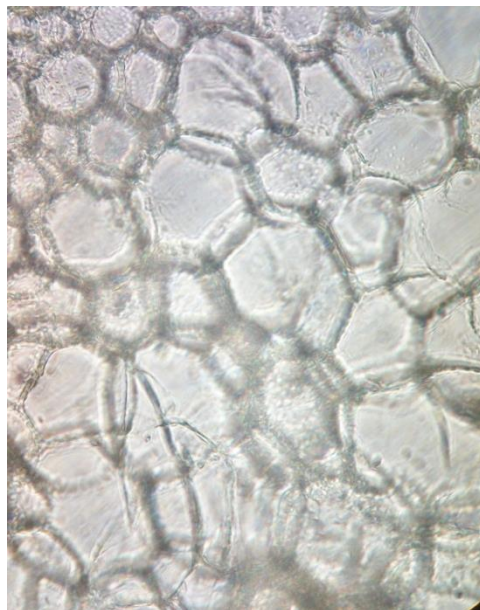
В

Рис. 3.10 Корова частина пагону лавра благородного (А), коро́ва паренхі́ма (Б) та механічні елементи (В) на поперечному зрізі

Серцевина колоподібна, складається з різних за розмірами тонкостінних паренхімних клітин (досить великих в центрі).



А



Б

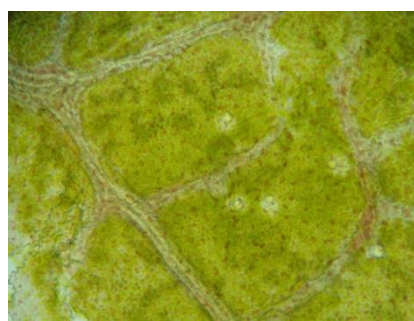
Рис. 3.11 Елементи ксилеми провідної системи (А) та клітини серцевини (Б) пагону лавру благородного

3.2.2 Вивчення анатомічних особливостей листа лавра благородного

Цільна сировина. Листя гіпостоматичне, дорсивентрального типу будови (рис. 3.12).



А



Б

Рис. 3.12 Листкова пластинка листа лавра благородного на поперечному зрізі (А) та вигляд з поверхні (Б)

Верхня епідерма утворена паренхімними, багатокутними (переважно чотирикутними) прямокутними клітинами (рис. 3.13).

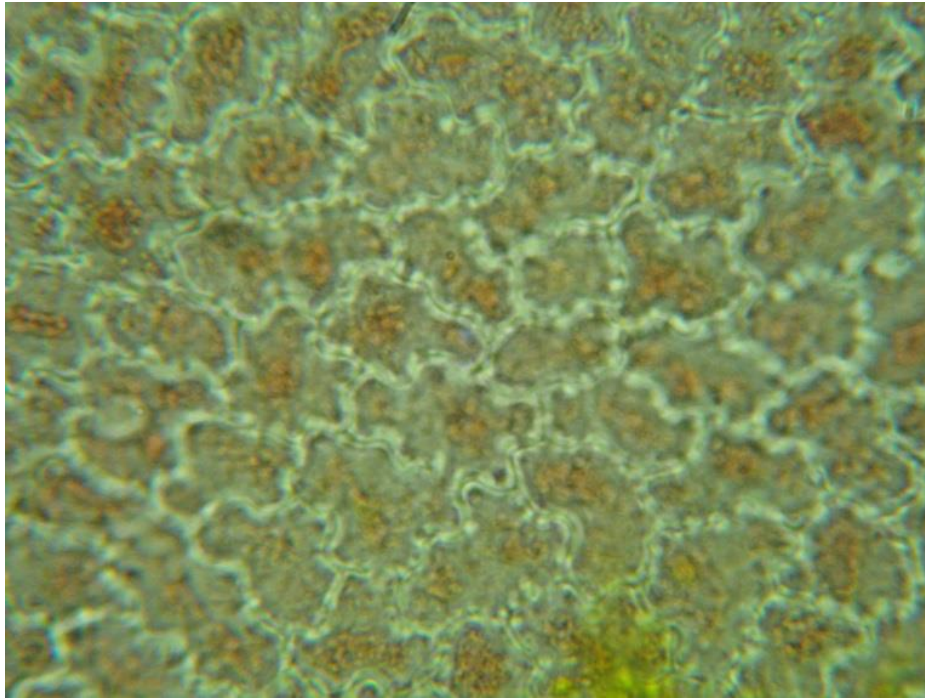


Рис.3.13 Верхня епідерма листової пластинки листя лавра благородного (препарат з поверхні)

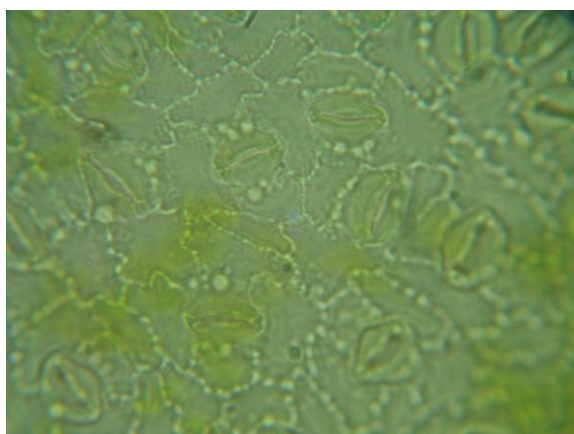
Оболонки злегка потовщені. Присутня розвинена кутикула.

Нижня епідерма відрізняється від верхньої більш звивистими оболонками клітин. Тип продихів аномоцитний, продихи дуже часті (рис. 3.14, А). Епідерма над жилкою представлена прозенхімними клітинами, продихи відсутні (рис. 3.14, Б). На поперечному зрізі центральна жилка куляста, опукла з обох боків, це більш виражено з верхнього боку. Клітини епідерми з розвиненою кутикулою.

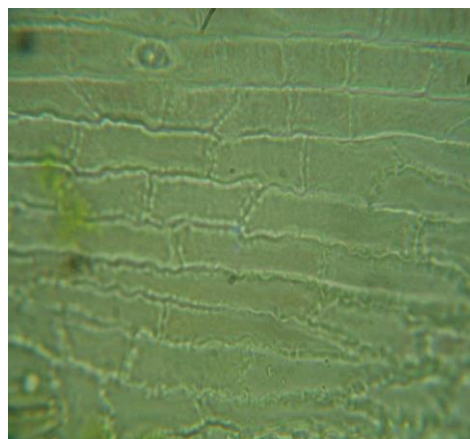
В центральній жилці майже відсутній фотосинтезуючий мезофіл. Безпосередньо під епідермою розміщено коленхіматозну дрібноклітинну тканину з рівномірно потовщеними оболонками. Центральна жилка однопучкова, пучок має розвинену ксилему, що віялоподібно розходитьсь,

за формою злегка подовжений в горизонтальному напрямку. Провідні та механічні тканини пучка досить розвинені. Ксилема пучка центральної жилки віялоподібна, провідні тканини розміщені одно-, дворядно та чергуються з ланцюгами механічної тканини (рис.3.15).

Відомо, що петіолярна анатомія базується на порівнянні анатомо-гістологічних ознак черешка листя []. Це важливо, в першу чергу, з точки зору діагностики квіткових рослин різних рангів, аж до виду, а в свою чергу, це важливо з точки зору діагностики ЛРС завдяки сталості ознак. У відповідності з принципами петіолярної анатомії найбільш значущими ознаками є форма черешка на поперечному зрізі, розміри провідних пучків, здерев'яніння або



А



Б

Рис. 3.14 Нижня епідерма листкової пластинки (А) та епідерма над жилкою (Б) листя лавра благородного (препарат з поверхні)

руйнування центральної паренхіми, наявність на ступінь розвитку коленхіми та склеренхіми наявність у члениках механічної тканини секреторних каналців, опушення та будова трихом тощо [].

Таким чином, дослідження і виявлення діагностичних особливостей будови черешка листка рослини може використовуватися для визначення достовірності та аналізу якості лікарської рослинної сировини. Анатомо-

гістологічне вивчення петіолярних ознак листя лавра благородного може в подальшому застосовуватися в діагностиці ЛРС даної рослини.

Черешок, як й центральна жилка, однопучковий. Епідерма черешка без продихів, клітини за будовою схожі з клітинами епідерми центральної жилки. У ребрах черешка розташована коленхіма, субепідермально розміщено коленхіматозну паренхіму, більш розвинену з нижнього боку (рис.3.16).

Пучок черешка могутньо армований дрібноклітинною склеренхімою, що складається з 6-13 шарів клітин та оточений ланцюгом дуже великих за розмірами тонкостінних клітин основної хлоренхіми, що відрізняються від клітин серцевини та кори (рис.3.17-3.18).



А



Б



В

Рис. 3.15 Центральна жилка листової пластинки листя лавру благородного (поперечний зріз): А - загальний вигляд, Б – провідна система головної жилки, В – субепідермальна механічна тканина центральної жилки

За формою черешок значно відрізняється у базальній, середній частині та під листовою пластинкою.

Так, борозенко з верхнього боку присутня на усьому протязі черешка, але більш виражена у базальній частині. Крім того, у базальній частині більш помітна на поперечному зрізі хвилястість контурів.

Також відмінності у будові спостерігаються на рівні ступеня розвинутості не механічних тканин, а провідних тканин пучка, в першу чергу, ксилеми.

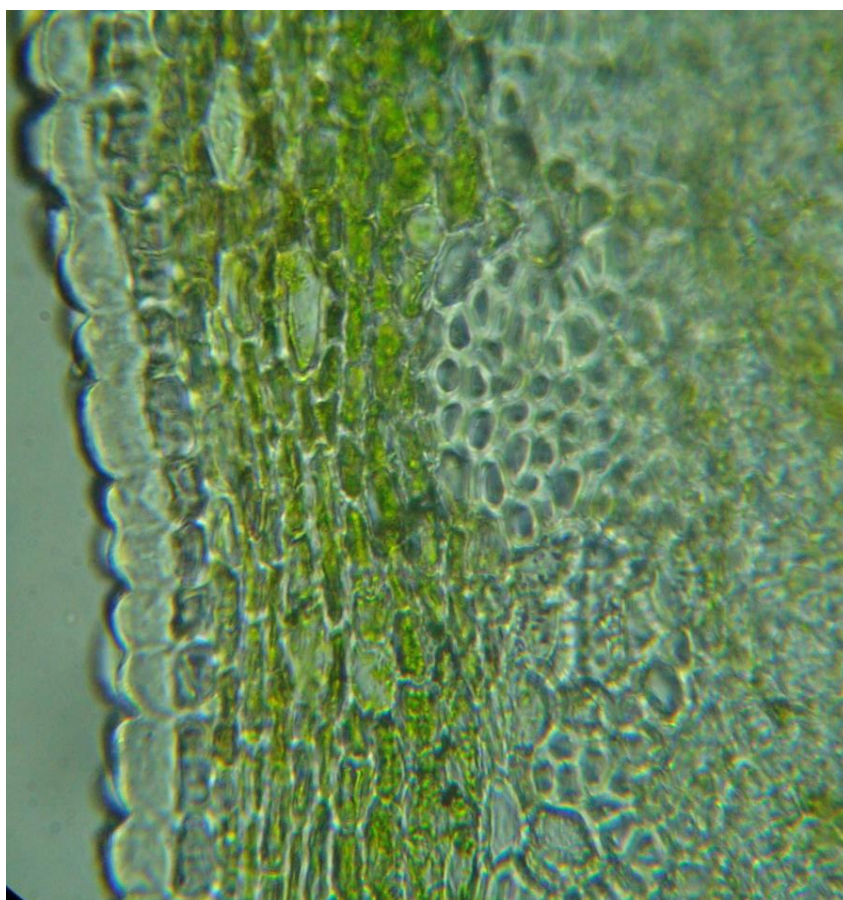


Рис. 3.16 Субепідермальні тканини черешка листа лавру благородного

До діагностичних ознак черешка листа лавру благородного належать топографія опушення – приуроченість до епідерми борозенки, а також тип опушення – це прості одноклітинні волоски, порожнина клітини яких заповнена коричневим вмістом.



А

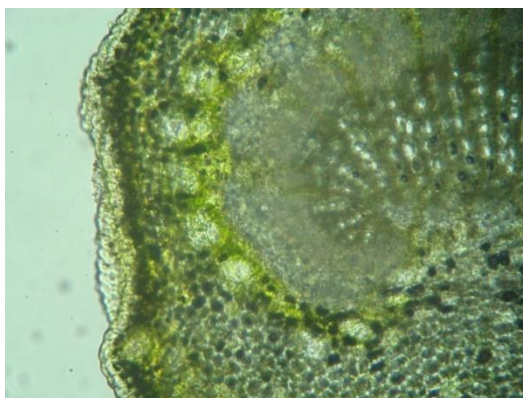


Б

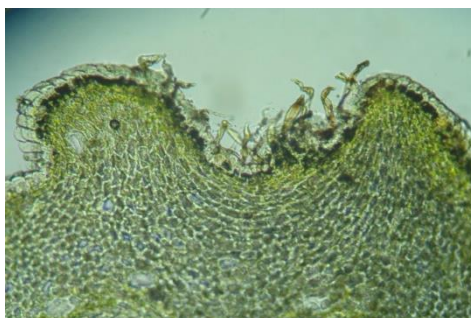


В

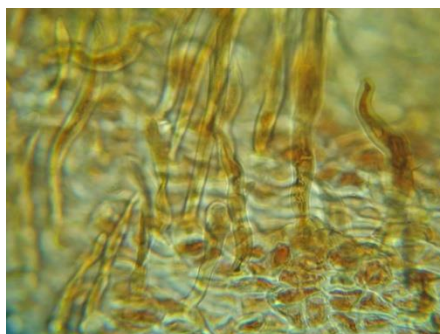
Рис. 3.17 Черешок листа лавру благородного на поперечному зрізі у базальній (А), середній (Б) та верхній частині (В)



А



Б



В

Рис. 3.18 Діагностичні ознаки черешка листа лавру благородного: А – провідна система черешка, Б – опушення борозенки адаксіального боку черешка, В – прості одноклітинні волоски, порожнини клітин яких та порожнини епідермальних клітин заповнено коричневим вмістом

Також яскравими діаностичним ознаками є ефірноолійні клітини мезофілу листкової пластинки листа лавру благородного (рис. 3.19).

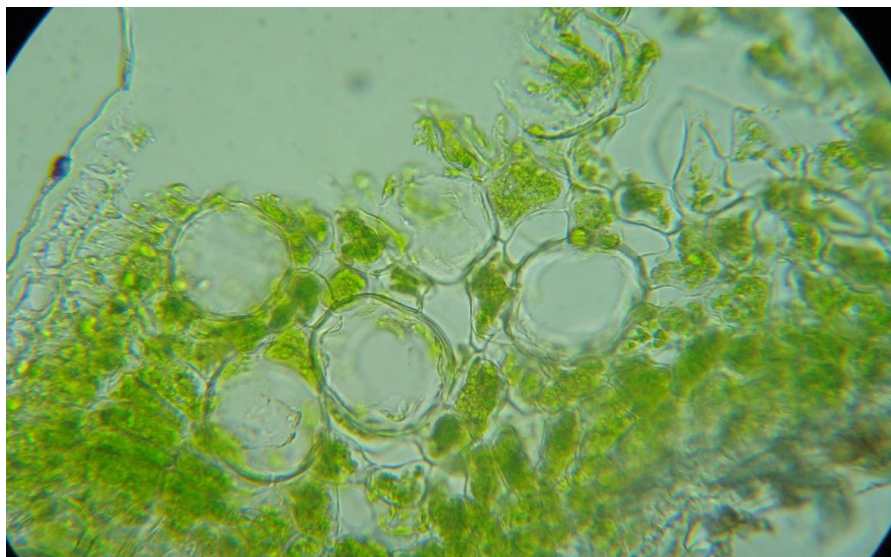


Рис. 3.19 Ефірноолійні клітини мезофілу листкової пластинки листа лавру благородного

До діагностичних ознак листа лавру благородного також належить опушення адаксіальної епідерми центральної жилки листкової пластинки листа, яке представлено також трихомами, аналогічними опушенню черешка. (рис. 3.20), та ступінь розвитку механічних тканин, що оточують провідний пучок центральної жилки (рис.3.21).



Рис. 3.20 Нещільне опушення адаксіальної епідерми центральної жилки листкової пластинки листа лавру благородного

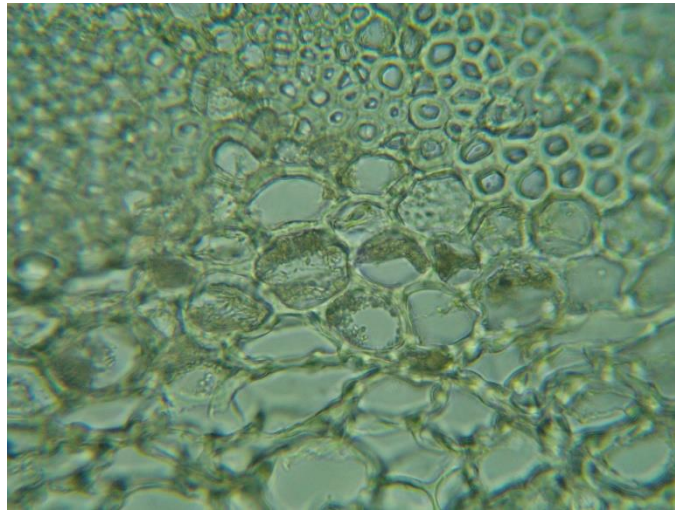
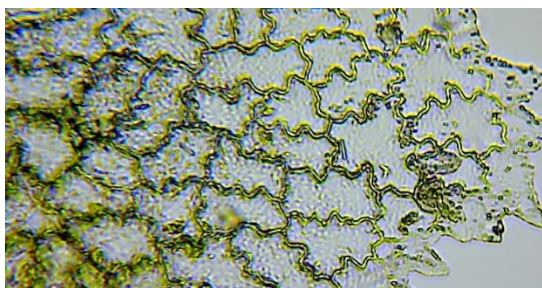


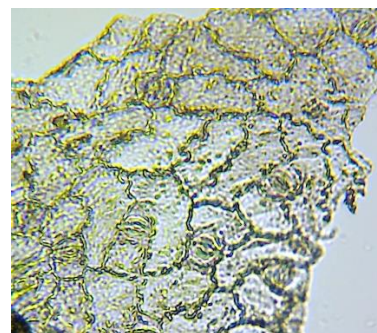
Рис. 3.21 Механічні елементи центральної жилки листової пластинки листа лавру благородного

3.2.3 Результати дослідження анатомічної будови листа персеї американської

Листя дорсиветрального типу будови, гіпостоматичне. Епідерма верхнього боку листової пластинки представлена ізодіаметричними, досить товстостінними, клітинами з пористими оболонками (рис.3.22, А). Епідерма нижнього боку має більш звивисті оболонки та продихи аномоцитного типу (рис.3.22, Б). Опушення представлено поодинокими простими одноклітинними волосками різної довжини з потовщеними оболонками.



А



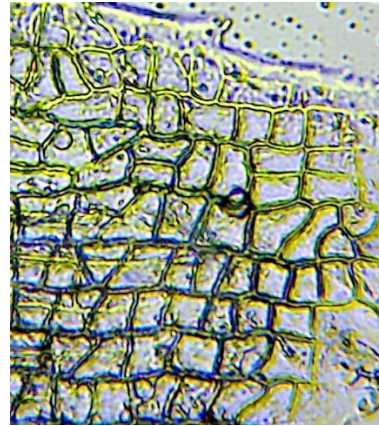
Б

Рис. 3.22 Епідерма листової пластинки персеї американської з адаксіального (А) та абаксіального (Б) боків (препарат з поверхні)

Центральна жилка однопучкова (рис.3.23).



А



Б

Рис. 3.23 Центральна жилка листкової пластинки листа персеї американської на поперечному зрізі (А) та епідерма на препараті з поверхні (Б)

Черешки практично голі. Опушення представлено поодинокими простими волосками, що тяжіють до адаксиального боку.

Черешок листа персеї американської гладенький колоподібний з уплющенням з адаксиального боку. Епідерма без продихів (рис.3.24).

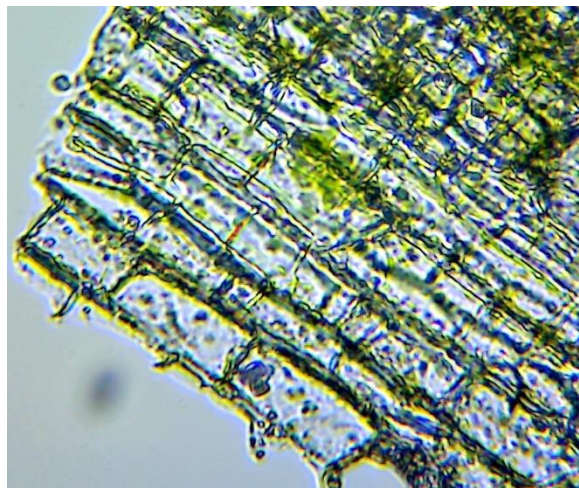


Рис. 3.24 Епідерма черешка листа персеї американської (препарат з поверхні)

Черешок виповнений основною паренхімою, що представлена колоподібними клітинами ізодіаметричної форми на поперечному січінні.

Розмір клітин мезофілу варіює (рисунок 3.25). Найбільші за розмірами клітини паренхіми все-таки тяжіють до центру зрізу, тобто до серцевини. Дрібніші – до периферії. В черешку листя персеї американської великі паренхімні клітини розміщено досить безладно, вони чергуються з дрібнішими, мають часті дрібні міжклітинники три-, чотирикутної форми. В паренхімі черешка листя персеї американської зустрічаються численні дрібні тетраедричні кальцію кристали оксалату. Так, пучок черешка та центральної жилки листя персеї американської розміщений по центру поперечного зрізу, підковоподібної форми, тяжіє до адаксіального боку, ззовні оточений декількома дрібними ділянками склеренхіми.

Субепідермально у черешку листя персеї американської не спостерігалось механічного кільця, що, скоріш за все, пов'язано з віком рослини.

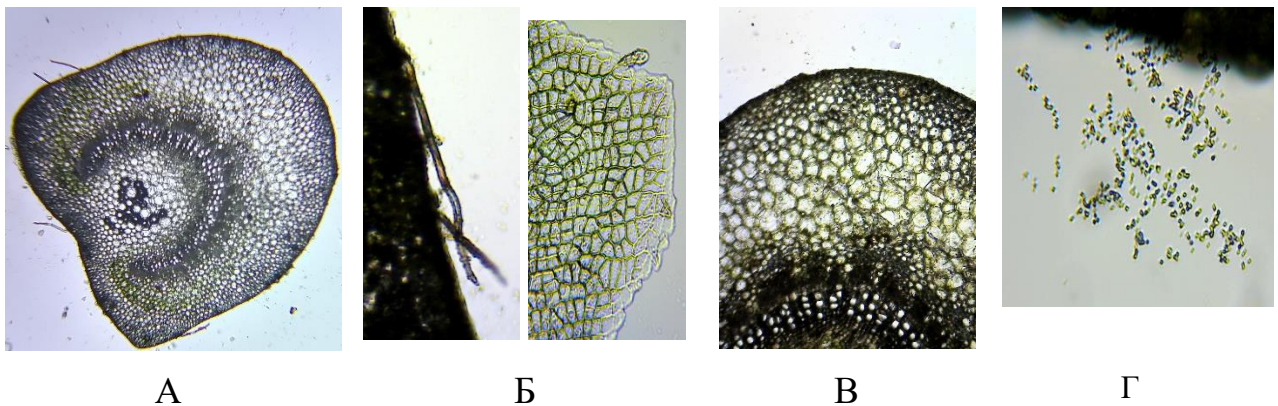


Рис. 3.25 Особливості анатомічної будови черешка на поперечному зрізі (А), опушення епідерми простими та булавоподібними волосками (Б), особливості субепідермальних тканин (В) та тетраедричні кристали кальцію оксалату (Г)

Таким чином, аналіз морфолого-анатомічної будови сировини представників родини лаврові: лавру благородного та персеї американської з використанням цифрової мікроскопії дозволив визначити риси зовнішньої будови пагонів, листя, нестиглих плодів лавру благородного та листя персеї американської, а

також риси внутрішньої будови пагонів, листя лавру благородного та листя персеї американської, що характерно для родини певного еволюційного рівня.

Подальше порівняльне вивчення морфології та анатомії цільної сировини дозволило визначити діагностичні ознаки, що характерні власне для кожного виду рослини і це, в свою чергу, дасть можливість розробити об'єктивну методику діагностики в межах розділів «Зовнішні ознаки» та «Внутрішні ознаки» проєктів МКЯ «*Lauri nobili Folia*» «Лавру благородного листя» та на новий вид ЛРС – «*Lauri nobili Cormus*» «Лавру благородного пагони» та в перспективі для розробки розділів «Ідентифікація А» та «Ідентифікація В» нормативної документації на листя персеї американської проєкту «Методи контролю якості «Персеї американської листя» «*Perseae americanae Folia*» як альтернативного виду лікарської рослинної сировини.

Висновки до розділу 3

1. Вивчено морфологічну будову цільної сировини – пагонів, листя та плодів лавру благородного. Встановлено діагностичні риси зовнішньої будови пагону – характер поверхні та характер зламу. Встановлено діагностичні риси зовнішньої будови листя – форма листкової пластинки та її складових, консистенція та колір листкової пластинки, характер розміщення та ступінь опуклості жилок.

2. Досліджено анатомічну будову пагонів та листя лавра звичайного. Встановлено діагностичні риси внутрішньої будови пагону – тип видільної тканини та локалізація ефірної олії, тип ксилеми, характер розміщення серцевинних променів, для листя – тип листкової пластинки, особливості опушення –тип, його локалізація лише з адаксіального боку центральної жилки та черешка, характер розміщення продихів.

3. Досліджено анатомічну будову листя персеї американської. Встановлено діагностичні риси внутрішньої будови листя – тип листкової пластинки, особливості опушення – тип опушення (наявність простих та деінде

булавоподібних волосків), його локалізація, наявність поодиноких тетраедричних кристалів кальцію оксалату в паренхимі, характер розміщення проростів, особливості пучка центральної жилки та черешка.

4. На підставі проведених досліджень морфолого-анатомічної будови обрано макро- та мікроскопічні діагностичні риси будови сировини, що лягло в основу відповідного розділу проєкту МКЯ «*Lauri nobili Folia*» «Лавру благородного листя» та буде положено в основу проєктів МКЯ перспективних видів рослинної сировини «*Lauri nobili Cormus*» «Лавру благородного пагони» та «*Perseae americanae Folia*» «Персеї американської листя».

Результати експериментальних досліджень розділу наведено у таких публікаціях:

1. Посохова І. Ю., Хворост О. П., Федченкова Ю. А. Порівняльний аналіз морфолого-анатомічних особливостей будови листя поширених представників родини *Lauraceae* // *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 2. С. 46-50. <https://doi.org/10.33617/2522-9680-2019-4-46>
2. Посохова І. Ю., Хворост О. П. Порівняльний фармакогностичний аналіз листя лавра звичайного та листя персеї американської. *Topical issues of new medicines development*: мат. XXVIII Міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 150-річчю з дня народж. М.О.Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків). Х.: НФаУ, 2021. С. 115.
3. Посохова І. Ю., Хворост О. П. Встановлення морфометричних показників серій листя лавра звичайного та персеї американської. «Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи»: зб. праць міжнар. наук.-практич. конф., присвяч. 100-річчю НФаУ (10 вересня 2021 р. . НФаУ, м. Харків, Україна), Харків: НФаУ 2021. С. 242.

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ ОСНОВНИХ ГРУП БАР СИРОВИНИ ЛАВРА БЛАГОРОДНОГО ТА ЇХ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ

Досліджували серії пагонів, серії листя та 1 серію нестиглих плодів лавру благородного з точки зору системності підходів [24]: компонентний склад сполук, що переганяються з водяною парою, органічних, в тому числі жирних кислот, різних груп фенольних сполук, зокрема гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, мінеральних сполук.

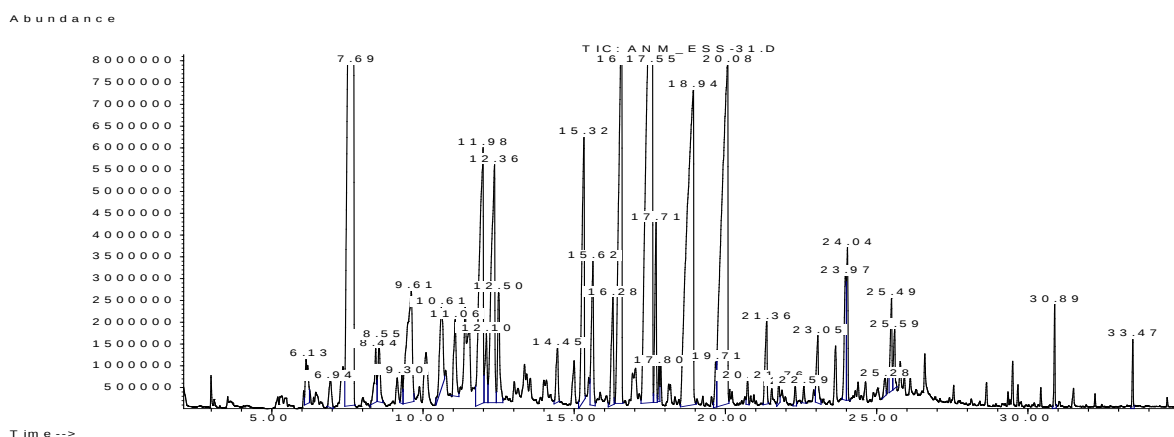
4.1 Дослідження сполук, що переганялися з водяною парою, сировини лавра благородного

Вивчення складу сполук, що переганялися з водяною парою, сировини різних місць заготівлі має значення й з точки зору індикації стану забруднення рослин. Так, вплив техногенних факторів призводить до пригнічення зелених насаджень, особливо при підвищеній щільності промислових об'єктів та малої ефективності очисних споруд. Індикація рівня забруднення рослин можлива по відгунку рослин на стресові фактори (техногенне забруднення, механічні ушкодження, бактеріальні та грибкові ураження) на фізіолого-біохімічному рівні по біохімічних показниках. Ними є такі сполуки в тканинах як білки, вуглеводи, амінокислоти. Але мінливий їх вміст як протягом доби так і періоду вегетації. Тому більшу увагу приділяють вторинним метаболітам та широке розповсюдження для оцінки впливу техногенних факторів середовища знаходять терпеноїдні сполуки асиміляційного комплексу. Відомо, що компоненти ефірної олії хвої сосни, такі як α -пінен, швидко реагують на стрес, викликаний впливом забруднення та є оптимальним індикатором діагностики стану рослин.

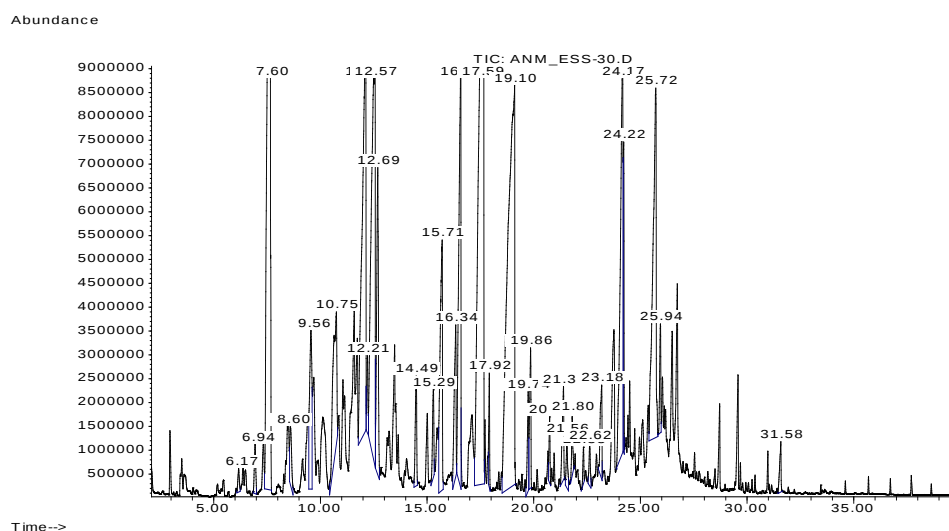
Олії від різних популяцій дерев лавра показали прозорий хімічний поліморфізм. Основний компонент ієрархічний кластерний аналіз розділив ефірні олії листя *Laurus nobilis* на три групи [92].

4.1.1 Вивчення компонентного складу сполук, що переганялися з водяною парою, пагонів лавра благородного

За літературними відомостями, не тільки листя чи нестиглі плоди, а й гілки та пагони являються джерелом одержання ефірної олії (див. розд. 2, п. 2.16). Результати наведено на рисунку 4.1 та таблиці 4.1.



А



Б

Рис. 4.1 Газова хроматограма сполук, що переганялися з водяною парою, пагонів лавра благородного серії 1 (А) та серії 2 (Б)

Таблиця 4.1

**Порівняльний аналіз компонентного складу сполук, що переганялися
з водяною парою, серій пагонів лавра благородного**

№ з/п	Назва сполуки	Пагін			
		серії 1		серії 2	
		час утрим., хв	вміст, мг/кг	час утрим. хв	вміст, мг/кг
1	2	3	4	5	5
1.	Сабінен	6,13	8,5	6,16	3,1
2.	α -Феландрен	6,94	4,7	6,94	6,4
3.	1,8-Цинеол	7,69	221,3	7,59	199,5
4.	γ -Терпінен	8,43	7,7	-	-
5.	транс-Сабіненгідрат	8,54	8,9	8,60	9,8
6.	цис-Сабіненгідрат	9,30	3,0	9,55	32,0
7.	β -Фенілетиловий спирт	9,60	40,0	-	-
8.	Пінокарвеол	10,60	18,3	10,74	49,2
9.	Пінокарвон	11,06	12,8	-	-
10.	Терпінен-4-ол	11,98	64,6	12,12	132,3
11.	Міртеналь	12,09	9,6	12,20	7,7
12.	α -Терпінеол	12,36	54,6	12,56	138,8
13.	Миртенол	12,49	15,9	12,68	48,4
14.	Додеканон-2	14,44	7,7	14,49	14,8
15.	Борнілацетат	15,32	41,6	15,29	10,9
16.	Ундеканон-2	15,61	19,8	15,71	51,7
17.	Терпінен-4-ол ацетат	16,27	15,3	16,34	25,7
18.	α -Терпінілацетат	17,54	182,9	17,58	247,3

Продовж. табл.4.1.

1	2	3	4	5	6
19.	3-Феніл-1-пропілацетат	17,7	18,9	-	-
20.	Геранілацетат	17,79	2,7	-	-
21.	транс-Метилізоєвгенол	18,94	136,0	-	-
22.	Метілевгенол	-	-	19,1	244,1
23.	β -Каріофілен	19,71	5,5	19,73	11,7
24.	Циннамілацетат	20,07	138,0	19,85	16,7
25.	Тетрадеканон-2	20,73	2,2	20,74	5,9
26.	транс-Метилізоєвгенол	21,36	11,1	21,39	13,7
27.	α -селинен	-	-	21,55	6,6
28.	Пентадеканон-2	21,76	2,3	21,8	6,7
29.	α -аморфен	22,3	2,0	22,33	3,4
30.	δ -кадинен	22,59	1,7	22,62	5,0
31.	Елеміцин	23,05	9,1	23,18	14,3
32.	Спатуленол	23,96	17,5	24,16	94,5
33.	Каріофіленоксид	24,03	12,3	24,21	20,9
34.	Неідентифікована сполука	25,27	2,4	-	-
35.	γ -бетуленол	25,49	10,6	25,71	103,7
36.	транс-ізоелеміцин	25,59	6,5	-	-
37.	Евдесмол	-	-	25,94	11,2
38.	Нонадекан	30,88	7,0	-	-
39.	Пальмітинова кислота	-	-	31,58	6,6
40.	Хенейкозан	33,46	4,4	-	-

Склад сполук, що переганяються з водяною парою, серій пагонів схожі як набором компонентів, так й відносним вмістом ряду окремих сполук та структурно-споріднених груп сполук [100]. З таблиці 4.1 витікає, що в пагонах лавра благородного серії 1 визначено 36, а в пагонах серії 2 – 32 компоненти, що

переганяються з водяною парою. 9 сполук (з яких 1 неідентифікована) винайдено лише в пагонах серії 1, а 4 – лише в пагонах серії 2.

Тільки для пагонів серії 1 характерна наявність γ -терпінену, β -фенілетилового спирту, пінокарвону, 3-феніл-1-пропілацетату, геранілацетату, транс-ізоелеміцину, нонадекану та хенейкозану.

Тільки в пагонах серії 2 винайдено метилевгенол, α -селинен, евдесмол та пальмітинову кислоту.

За вмістом в серіях цієї сировини домінували 1,8-цинеол (221,3 мг/кг та 199,5 мг/кг, відповідно), α -терпинілацетат (182,9 мг/кг та 247,3 мг/кг, відповідно). В пагонах лавра благородного серії 2 визначено високий вміст метилевгенолу (244,1 мг/кг).

Цинамілацетат та транс-ізоєвгенол в значній кількості (138,0 мг/кг та 136,0 мг/кг, відповідно) винайдено в пагонах серії 1. В пагонах серії 2 досить значний вміст α -терпіненолу (138,8 мг/кг), терпінен-4-олу (132,3 мг/кг) та γ -бетуленолу (103,7 мг/кг).

4.1.2 Вивчення компонентного складу сполук, що переганялися з водяною парою, листя лавра благородного

Результати вивчення компонентного складу сполук, що переганялися з водяною парою, серій листя лавра благородного наведено на рисунку 4.2 та таблицях 4.2-4.3.

На відміну від серій пагонів лавра благородного, для яких загальними було 28 сполук, що переганяються з водяною парою, в серіях листя цієї рослини спостерігалася інша закономірність [100]. Склад сполук, що переганяються з водяною парою, листя різних серій значно різнився як набором компонентів, так й відносним вмістом структурно-споріднених груп сполук.

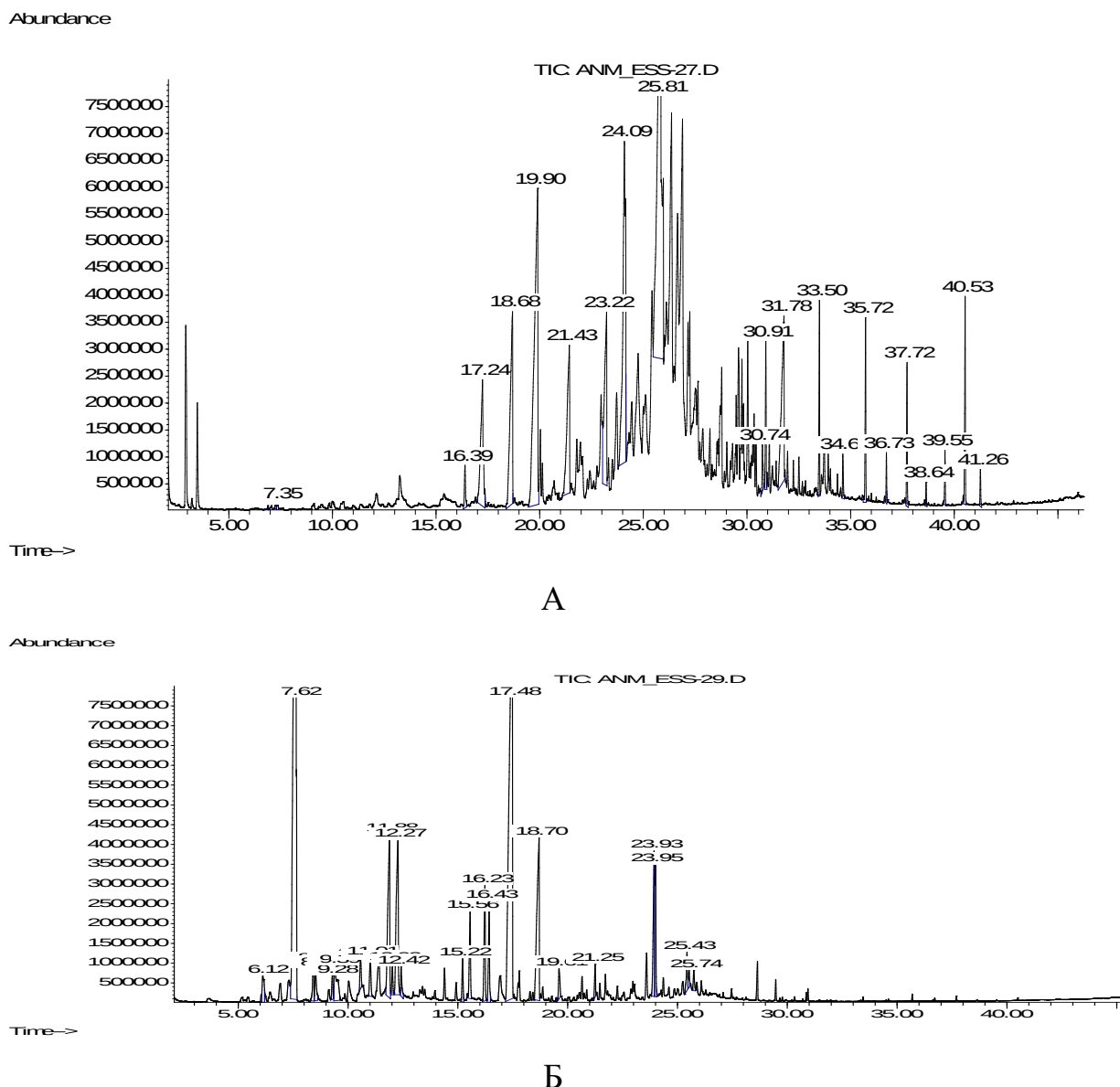


Рис. 4.2 Газова хроматограма сполук, що переганялися з водяною парою, листя лавра благородного серії 1 (А) та серії 2 (Б)

В обох серіях цієї сировини винайдено лише 3 сполуки, що є загальними – ароматичні сполуки метилевгенол (251,3 мг/кг в листі серії 1 та 243,0 мг/кг в листі серії 2), транс-метилізоєвгенол (вміст становив 200,6 мг/кг в листі серії 1, що вдесятеро вище ніж в листі серії 2 – 21,0 мг/кг) та сесквітерпеноїд каріофіленоксид (різниця в 4 рази: листя серії 1 – 460,6 мг/кг проти 113,5 мг/кг в листі серії 2). В серії 1 листя лавра благородного ідентифіковано 22 речовини, з яких в найбільшій кількості містилися сполуки каріофіланового типу каріофила-4(12),8(13)-дієн-5-ол (935,6 мг/кг) и каріофіленоксид (460,6 мг/кг), а

також складний естер коричневого спирту цинамілацетат 595,7 мг/кг. Вуглеводні

Таблиця 4.2

**Компонентний склад сполук, що переганялися з водяною парою,
листя лавра благородного серії 1**

№ з/п	Назва сполуки	Час утрим., хв.	Вміст, мг/кг
1	цис-2,6-Диметил-1,3,5,7-октатриєн	6,88	1,8
2	Алілбензол	7,25	3,1
3	транс-2,6-Диметил-1,3,5,7-октатриєн	7,35	4,1
5	Евгенол	17,23	176,9
6	Метилевгенол	18,68	251,3
7	Циннамілацетат	19,9	595,7
8	транс-Метилізоєвгенол	21,43	200,6
9	Елеміцин	23,22	219,3
10	Каріофіленоксид	24,08	460,6
11	Кариофіла-4(12),8(13)-дієн-5-ол	25,8	935,6
12	Фарнезилацетон	30,74	23,6
13	Нонадекан	30,91	59,1
14	Пальмітинова кислота	31,78	231,0
15	Хенейкозан	33,49	75,5
16	Докозан	34,62	19,2
17	Трикозан	35,72	70,9
18	Тетракозан	36,72	15,9
19	Пентакозан	37,72	53,1
20	Гексакозан	38,64	8,4
21	Гептакозан	39,55	18,9
22	Сквален	40,52	81,3
23	Нонакозан	41,26	13,9

представлено значним різноманіттям – це і сполуки групи нормальних парафінів (алканів) від нонадекану до нонакозану (C_{19} - C_{29}).

Таблиця 4.3

**Компонентний склад сполук, що переганялися з водяною парою,
листя лавра благородного серії 2**

№ з/п	Назва сполуки	Час утрим., хв.	Вміст, мг/кг
1	2	3	4
1	Сабінен	6,11	32,0
2	1,8-Цинеол	7,62	956,4
3	γ -Терпінен	8,41	30,3
4	транс-Сабіненгидрат	8,51	31,5
5	Терпінолен	9,28	17,2
6	цис-Сабфненгидрат	9,38	69,8
7	Пінокарвеол	10,56	24,4
8	Пінокарвон	11,01	34,7
9	Терпінен-4-ол	11,88	205,0
10	Миртеналь	12,02	20,5
11	α -Терпінеол	12,27	203,6
12	Миртенол	12,41	23,1
13	Борнилацетат	15,21	31,0
14	Ундеканон-2	15,55	69,9
15	Терпінен-4-ол ацетат	16,22	91,1
17	α -Терпінилацетат	17,47	803,5
18	Метилэвгенол	18,69	243,0
19	β -Каріофілен	19,6	27,1
20	транс-Метилизоевгенол	21,25	21,0
21	Спатуленол	23,93	105,6

Продовж. табл. 4.3

1	2	3	4
22	Каріофіленоксид	23,95	113,5
23	Каріофила-4(12),8(13)-дієн-5-ол	25,43	28,8
24	транс-Ізоелеміцин	25,52	12,6
25	β -евдесмол	25,74	16,1

Їх сума дорівнювала 275,8 мг/кг, а також ненасичений вуглеводень тритерпенового походження сквален (81,3 мг/кг), для якого властиво антиканцерогенну, антимікробну, фунгіцидну та імуностимулюючу активність. Наявність алілбензолу (3,1 мг/кг), гіпотетично, зумовлена місцем збирання сировини - у місті, тому що ця сполука є компонентом смолоподібних продуктів піролізу фракцій нафти та входить до складу пом'якшувачів гуми і, можливо, потрапила на сировину як техногенне забруднення.

З даних таблиці 4.3 видно, що в ефірній олії листя лавру благородного серії 2 визначено 25 сполуки, з яких домінують α -терпінілацетат (803,5 мг/кг), 1,8-цинеол (956,4 мг/кг).

4.1.3 Вивчення компонентного складу сполук, що переганялися з водяною парою, нестиглих плодів лавра благородного

Ми проаналізували компонентний склад сполук, що переганяються з водяною парою, нестиглих плодів лавра благородного серії 2.

Газова хроматограма цих речовин наведена на рис. 4.3, результати визначення компонентного складу у таблиці 4.4.

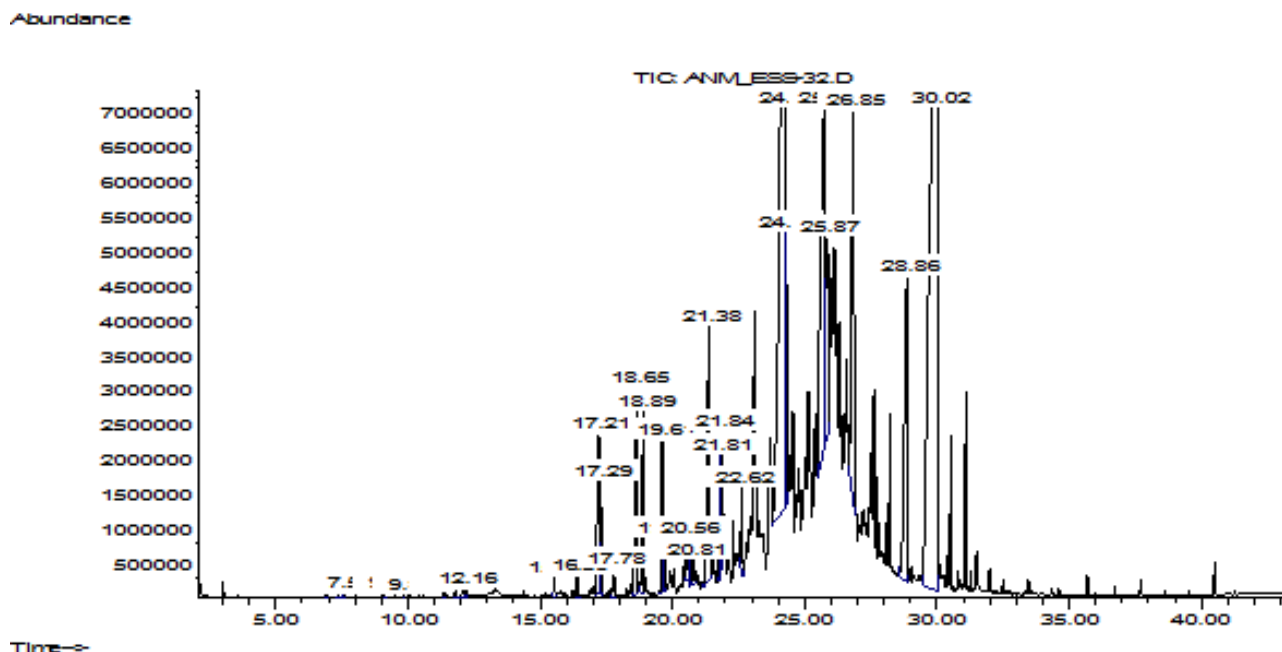


Рис. 4.3 Газова хроматограма сполук, що переганялися з водяною парою, нестиглих плодів лавра благородного (серія 2)

Таблиця 4.4

**Компонентний склад сполук, що переганялися з водяною парою,
нестиглих плодів лавра благородного (серія 2)**

№ з/п	Назва сполуки	Час утрим., хв.	Вміст, мг/кг
1	2	3	4
1	Мента-1,4,8-триєн	6,89	4,8
2	1,3,8- <i>n</i> -Ментатриєн	7,36	6,6
3	1,8-Цинеол	7,52	2,6
4	Лімонен	7,58	3,6
6	1,3,8- <i>m</i> -Ментатриєн	9,85	2,7
7	цис- <i>n</i> -Мент-1,5-дієн-8-ол	11,35	6,0
8	Терпінен-4-ол	11,78	6,6

Продовж. табл.4.4

1	2	3	4
9	транс- <i>n</i> -Мент-1,5-дієн-8-ол	12,05	8,4
10	α -Терпінеол	12,16	9,9
11	Ундеканон-2	15,52	14,8
13	Евгенол	17,2	208,4
14	α -Терпинілацетат	17,28	68,6
15	Додеканон-2	17,77	26,2
16	Метилевгенол	18,64	252,4
17	β -Елемен	18,89	163,8
18	β -Каріофілен	19,61	123,4
19	Циннамілацетат	19,66	28,3
20	Гумулен	20,55	36,8
21	Тетрадеканон-2	20,65	8,4
22	Гермакрен D	20,8	17,7
23	транс-Метилізоевгенол	21,37	376,9
24	Пентадеканон-2	21,81	86,7
25	Біциклогермакрен	21,84	90,3
26	δ -Кадинен	22,62	69,3
27	Спатуленол	24,24	1947,0
28	Каріофіленоксид	24,28	129,2
29	γ -Бетуленол	25,74	925,3
30	транс-Ізоелеміцин	25,86	212,2
31	Неідентифікована сполука	26,85	565,9
32	Неідентифікована сполука	28,85	445,5
33	Неідентифікована сполука	30,02	2677,2

В нестиглих плодах лавра благородного винайдено 33 сполуки, що переганялися з водяною парою, з яких ідентифіковано 30 речовин [12]. Високий вміст характерний для спатуленола (1947,10 мг/кг) и γ -бетуленола (925,3 мг/кг). Сесквітерпеновий спирт спатуленол типу аромадендрану входить до складу ефірних олій *Hyssopus officinalis* L. (Lamiaceae), *Aniba roseaeodora* Ducke (Lauraceae), *Achillea millefolium* L. (Asteraceae), *Matricaria recutita* L. (Asteraceae), *Artemisia vulgaris* L. (Asteraceae), *Juniperus communis* (Cupressaceae). Тритерпеновий спирт ряду лупана бетуленол хімічної формули $C_{30}H_{50}O_2$ виявляє фунгіцидну дію, міститься у таких рослинах як ліщина, нагідки, солодка тощо, але в промислових масштабах одержується екстракцією з берести зовнішнього шару кори берези білої (*Betula alba*). Бетуленол та його похідні виявляють різні види біологічної активності – протизапальну, активізують синтез колагену, пригнічують активність еластази, що відповідає за втрату пружності еластичними волокнами шкіри, захищають шкіру від дії протеїнкаїназ, пригнічують меланогенез і таким чином відбілюють шкіру, також мають сонцезахисний ефект. Для цих сполук характерно протівірусну, в тому числі проти різних форм герпесу, протигрибкову, в тому числі й при мікозах шкіри, нігтів, волосся, дію.

4.1.4 Вивчення компонентного складу ефірної олії лавра благородного промислового виробництва

Для порівняльного аналізу складу та вмісту сполук, що переганяються з водяною парою, з сировини лавра благородного доцільно було проаналізувати зразок ефірної олії лавра промислового виробництва фірми «Квіта» [48]. Газова хроматограма цих сполук наведена на рисунку 4.4, а компонентний склад – у табл. 4.5.

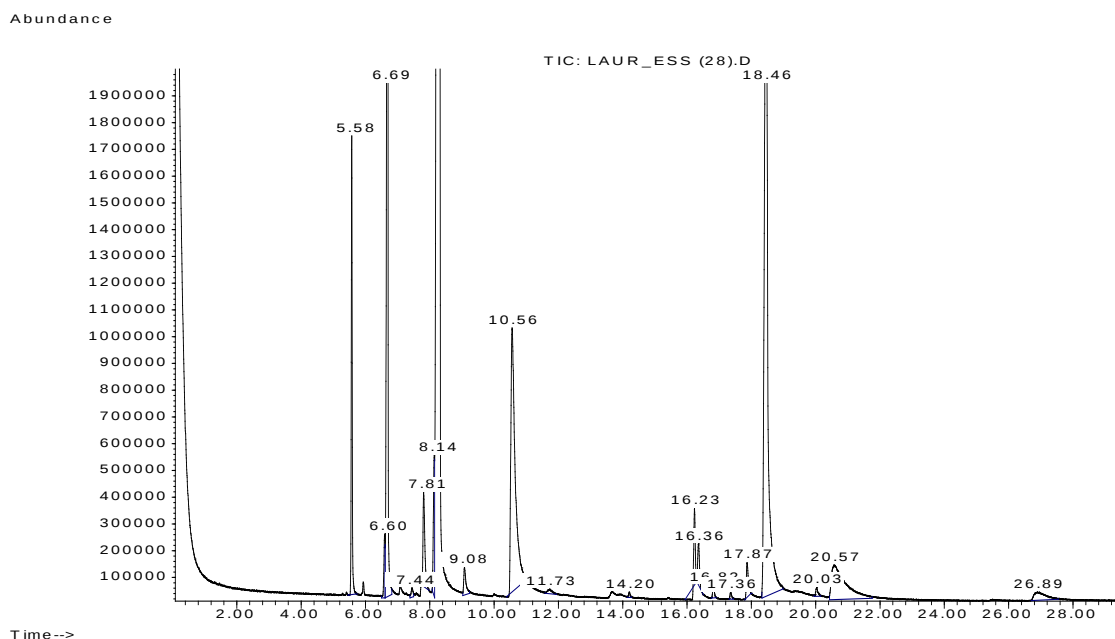


Рис. 4.4 Газова хроматограма ефірної олії лавра благородного промислового виробництва

У складі ефірної лаврової олії заводського виробництва визначено наявність не менш 19 речовин, з яких 17 ідентифіковано. Ефірна олія містить синтетичні добавки (α -терпинілацетат – 16,58 % от субстанції) та супутні цій сполуці домішки, що характерні для синтетичного α -терпинілацетата та ліналоола (дигідроліналоол). Домінуючими сполуками виявилися 1,8-цинеол (52,169% від суми) и α -терпинілацетат (16,581% від суми). Привертає увагу наявність юніпену (кураматциєну, лонгіфолєну) – сесквітерпенового вуглеводню, що винайдений в шкіпідарах *Pinus longifolia*, *Pinus khasya*, *Pinus merkusii* та ефірній олії *Chamaecyparis obtusa*.

Таблиця 4.5

Компонентний склад сполук ефірної олії лавра благородного

№ з/п	Назва сполуки	Час утрим., хв	Вміст, % від суми
1	2	3	4
1.	α -Пінен	5,57	3,025

Продовж. табл.4.5

1	2	3	4
2.	Сабінен	6,59	0,477
3.	β -Пінен	6,68	11,281
4.	α -Феландрен	7,44	0,116
5.	α -Терпінен	7,81	1,136
6.	п-Цимен	8,14	1,288
7.	1,8-Цинеол	8,31	52,169
8.	γ -Терпінен	9,08	0,417
9.	Ліналоол	10,56	7,661
10.	Дигідроліналлол	11,73	0,142
11.	Фенхіловий спирт	14,20	0,057
12.	Цис- β -терпенілацетат	16,23	0,474
13.	Неідентифікована сполука	16,35	0,485
14.	Неідентифікована сполука	16,82	0,139
15.	σ -Терпенілацетат	17,35	0,078
16.	транс- β -Терпенілацетат	17,87	0,447
17.	Юніпен	20,03	0,135
18.	Метилевгенол	20,57	3,255
19.	Ацетилевгенол	26,89	0,635

Методом ГХ/МС встановлено компонентний склад сполук, що переганяються з водяною парою, 2 серій пагонів, 2 серій листя лавра благородного та нестиглих плодів цієї рослини (серія 2), а також лаврової ефірної олії промислового виробництва. Найрізноманітніший склад цих сполук в пагонах лавра благородного (відповідно, 36 та 32 сполуки) і для цього виду сировини спостерігається певна кореляція «якісний склад – вид сировини», тому що 28 сполук винайдено в пагонах обох серій.

Домінуючими компонентами ефірної олії з різних видів сировини лавру благородного були 1,8-цинеол, α -терпінілацетат.

Одержані результати буде взято до уваги в подальших дослідженнях.

4.1.5 Визначення кількісного вмісту ефірної олії в сировині лавра благородного

Методом перегонки з водяною парою в апараті Клевенджера (ДФУ 2.0, 2.8.12) було одержано ефірну олію з 3 серій пагонів та 3 серій листя лавра благородного та 1 серії плодів цієї рослини (серія 2), результати наведено у таблиці 4.6. Набільший вихід характерно для листя (в залежності від серії сировини коливається в межах від $3,21 \pm 0,02$ % (серія 2) до $3,96 \pm 0,02$ % (серія 3), тобто не менше 3,2 %.

Таблиця 4.6

Результати визначення кількісного вмісту ефірної олії в сировині лавра благородного ($m = 5$, %, у перерахунку на абсолютно суху сировину)

Серія сировини	Кількісний вміст ефірної олії
Пагони (серія 1)	$0,63 \pm 0,01$
Пагони (серія 2)	$0,58 \pm 0,01$
Пагони (серія 3)	$0,68 \pm 0,01$
Листя (серія 1)	$3,88 \pm 0,02$
Листя (серія 2)	$3,21 \pm 0,02$
Листя (серія 3)	$3,96 \pm 0,02$
Нестиглі плоди (серія 2)	$0,97 \pm 0,02$

В пагонах кількісний вміст ефірної олії набагато нижче – не менше 0,5 %, а в нестиглих нестиглих плодах – $0,97 \pm 0,02$ %.

4.2 Дослідження фенольних сполук сировини лавра благородного

За літературними даними (розд. 1, п.1.3) в пагонах, листі та нестиглих плодах містяться сполуки фенольної природи, в тому числі фенолкарбонові

кислоти, флавоноїди, катехіни. Тому більш глибоке дослідження цієї групи БАР було доцільним.

4.2.1 Вивчення компонентного складу гідроксикоричних кислот у сировині лавра благородного та їх кількісного вмісту

Дослідження гідроксикоричних кислот в сировині лавра благородного проводили за методом ВЕРХ (методику – див. розд.2, п 2.13). Хроматограму цих сполук пагонів лавру благородного наведено на рисунку 4.5.

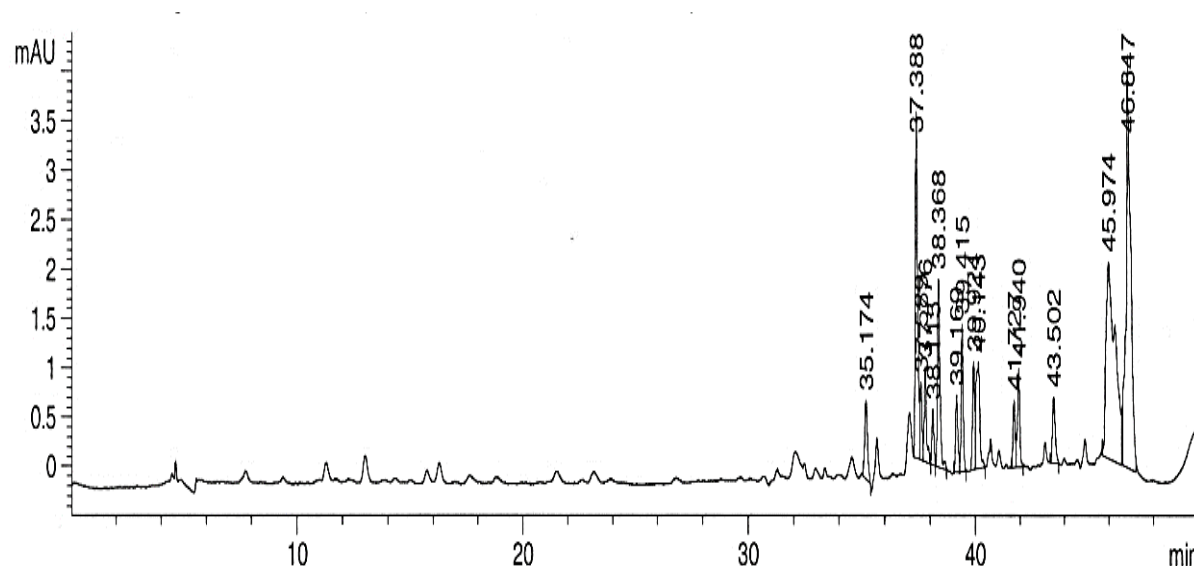


Рис. 4.5 Хроматограма ВЕРХ гідроксикоричних кислот пагонів лавра благородного

З результатів дослідження витікає, що в пагонах лавра благородного знайдено хлорогенову кислоту. Хроматограму ВЕРХ цих сполук листя лавру благородного наведено на рисунку 4.6. Аналіз одержаних даних свідчив про те, що в листі лавра благородного знайдено хлорогенову кислоту [59].

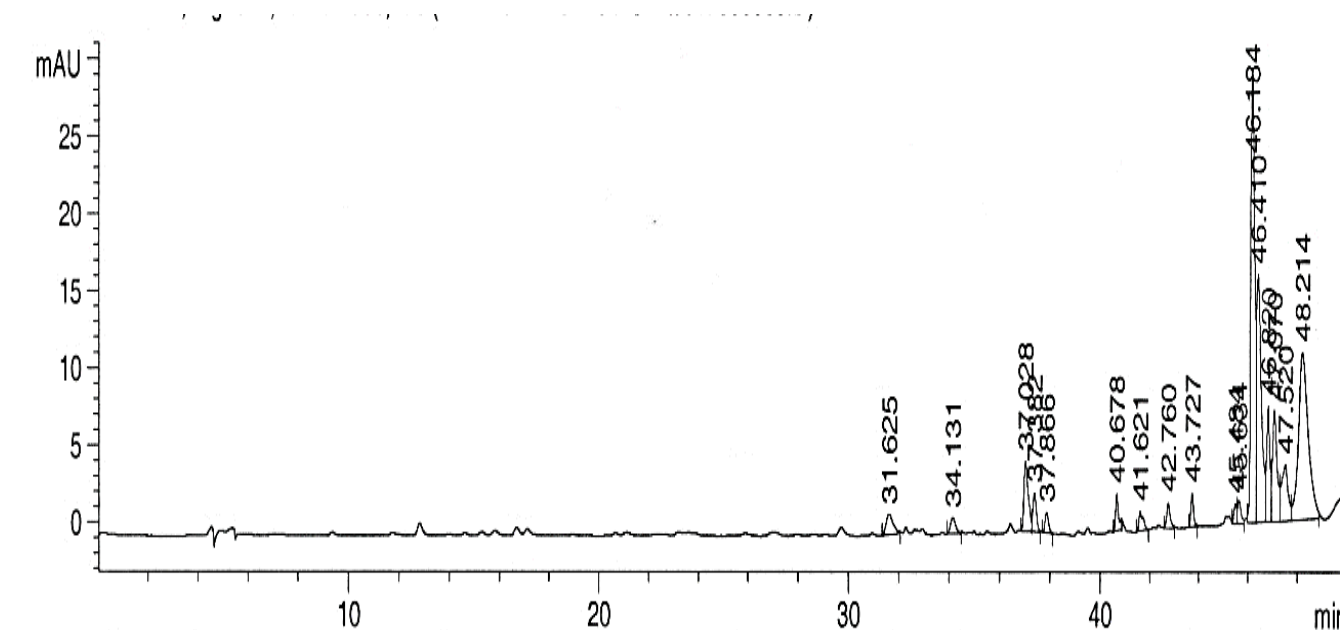


Рис. 4.6 Хроматограма ВЕРХ гідроксикоричних кислот листя лавра благородного

Визначення кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот в сировині лавра благородного

Методом диференційної спектрофотометрії з реактивом Арнова (ДФУ 2.0, монографія «Ясена листя») було визначено кількісний вміст гідроксикоричних кислот у 3 серіях пагонів, 3 серіях листя лавра благородного та 1 серії нестиглих плодів цієї рослини (серія 2) у перерахунку на хлорогенову кислоту, результати наведено у таблиці 4.7.

Найбільший кількісний вміст характерно для серій листя – не менше 1,9 %, в пагонах винайдено не менше 1,1 %, а в нестиглих плодах – не менше 0,9 % сполук цієї груп [51].

Одержані результати є фрагментом системного фармакогностичного дослідження сировини лавра благородного вітчизняної заготівлі та можуть стати у нагоді при розробці відповідних розділів проєктів МКЯ на сировину.

Таблиця 4.7

Результати визначення кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот в сировині лавра благородного ($m=5$, %, у перерахунку на хлорогенову кислоту та абсолютно суху сировину)

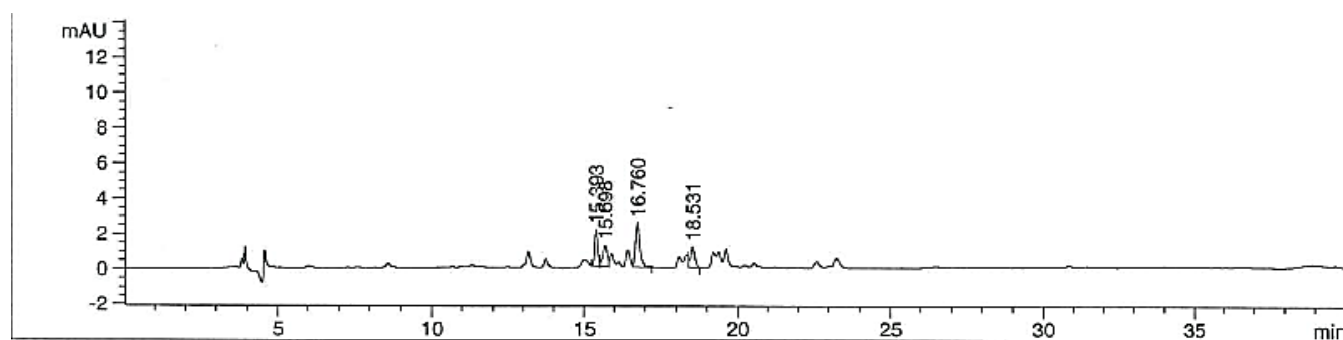
Серія сировини	Кількісний вміст сполук
Пагони (серія 1)	$1,13 \pm 0,02$
Пагони (серія 2)	$1,27 \pm 0,02$
Пагони (серія 3)	$1,11 \pm 0,02$
Листя (серія 1)	$1,96 \pm 0,02$
Листя (серія 2)	$2,13 \pm 0,02$
Листя (серія 3)	$2,58 \pm 0,03$
Нестиглі плоди (серія 2)	$0,97 \pm 0,02$

4.2.2 Дослідження похідних флавону у сировині лавра благородного

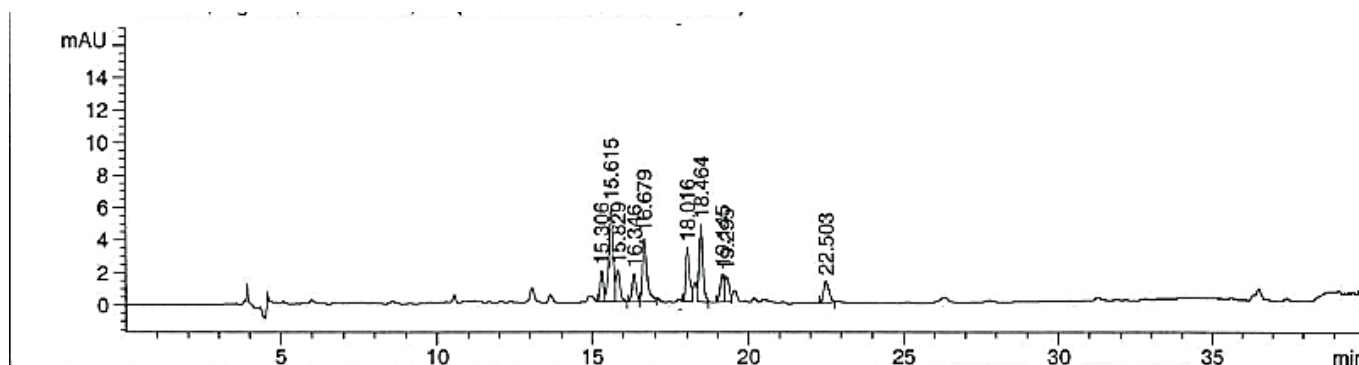
Дослідження компонентного складу похідних флавону в сировині лавра благородного проводили за методом ВЕРХ (методику – див. розд.2, п 2.14). Хроматограми наведено на рисунку 4.7.

Результати вивчення компонентного складу цієї групи фенольних сполук в сировині лавра благородного наведено в таблиці 4.8.

В листі винайдено не менш 4 сполук, з яких – 3 похідних флавону – аглікони апігенін, лютеолін та неідентифікований глікозид апігеніну та один флавоноловий глікозид ізокверцитрин ($0,035 \pm 0,005$ %); в нестиглих плодах винайдено не менше 4 сполук, з яких 1 сполука – це флавоновий аглікон апігенін, решта – це глікозиди кверцетину: рутин ($0,017 \pm 0,003$ %), ізокверцитрин ($0,042 \pm 0,003$ %) та гіперозид ($0,014 \pm 0,002$ %) [59].



А



Б

Рис. 4.7 Хроматограми ВЕРХ похідних флавонолу пагонів (А) та листя (Б) лавра благородного

Таблиця 4.8

Компонентний склад похідних флавонолу в сировині лавру благородного

№ з/п	Назва сполуки	листя			нестиглі плоди		
		час утри манн я, хв.	Площа піку	вміст, %	час утри манн я, хв.	Площа піку	вміст, %
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Рутин	15,12	-	-	15,70	18,65924	0,017±0,003
2	Кверцетин-3- О- глюкозид	15,62	68,09260	0,035±0,005	18,53	84,39176	0,042±0,005
3	Кверцетин	30,26	-	-	30,26	-	-

Продовж. табл.4.9

1	2	3	4	5	6	7	8
4	Кемпферол	34,91	-	-	34,92	-	-
5	Апігенін	15,83	16,70749	$3,07 \cdot 10^{-3}$	15,39	15,10531	$2,95 \cdot 10^{-3}$
6	Глікозиди апигеніну	-	18,60534	$3,21 \cdot 10^{-3}$	-	-	-
7	Лютеолін	18,02	29,21696	$0,006 \pm 0,002$	36,07	-	-
8	Гіперозид	-	-	-	16,77		$0,012 \pm 0,002$

Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів в сировині лавра благородного [51,60].

Методом диференційної спектрофотометрії з реагентом алюмінію(III) хлоридом (монографія «Сафлору квітки» ДФУ 2.0, 2.8.12) було визначено кількісний вміст суми флавоноїдів у 3 серіях пагонів та у 3 серіях листя лавра благородного та 1 серії нестиглих плодів цієї рослини (серія 2), результати наведено у таблиці 4.9. *Розчин А.* 0.250 г здрібненої на порошок сировини (180) (2.9.12) поміщають у колбу місткістю 250 мл, додають 95 мл метанолу *Р*, нагрівають зі зворотним холодильником на водяній бані протягом 30 хв, охолоджують і фільтрують. Фільтр обполіскують 5 мл метанолу *Р*. Фільтрат і промивний розчин об'єднують у мірній колбі, доводять об'єм розчину метанолом *Р* до 100 мл.

Випробовуваний розчин. 5.0 мл розчину А поміщають у мірну колбу, доводять об'єм розчином 20 г/л алюмінію хлориду *Р* у метанолі *Р* до 20.0 мл.

Компенсаційний розчин. 5.0 мл розчину А поміщають у мірну колбу, доводять об'єм розчину метанолом *Р* до 20.0 мл. Оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину вимірюють точно через 15 хв за довжини хвилі 420 нм відносно компенсаційного розчину. Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$A/m$$

де A — оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 420 нм;
 m — маса наважки випробовуваної сировини, у грамах. Використовують
 питомий показник поглинання гіперозиду, що дорівнює 400.

Найбільший вміст характерно для нестиглих плодів - $2,63 \pm 0,01$ %, в листі
 міститься не менше 2,0 %, а в пагонах — не менше 1,27 % суми флавоноїдів в
 перерахунку на гіперозид.

Таблиця 4.9

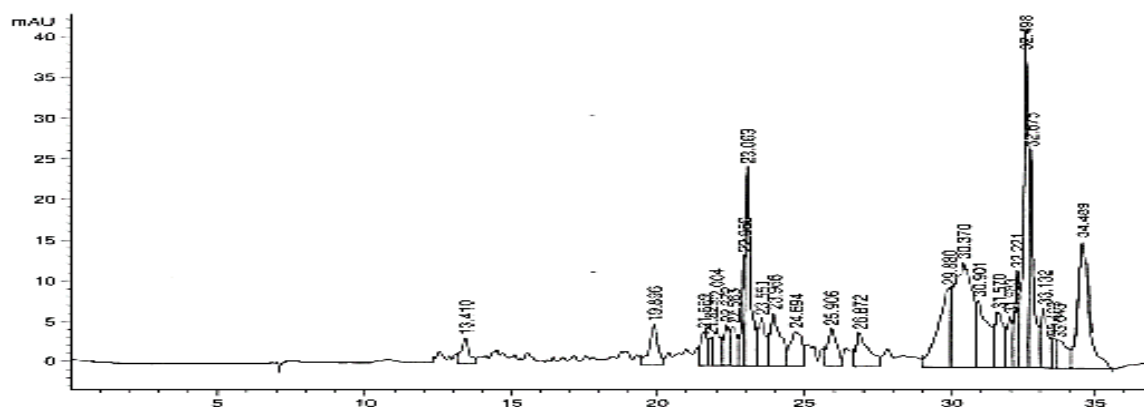
**Результати визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів в сировині
 лавра благородного ($m = 5$ %, у перерахунку на гіперозид та абсолютно
 суху сировину)**

Серія сировини	Кількісний вміст сполук
Пагони (серія 1)	$1,27 \pm 0,02$
Пагони (серія 2)	$1,35 \pm 0,02$
Пагони (серія 3)	$1,28 \pm 0,02$
Листя (серія 1)	$2,09 \pm 0,02$
Листя (серія 2)	$2,20 \pm 0,02$
Листя (серія 3)	$2,50 \pm 0,02$
Нестиглі плоди (серія 2)	$2,63 \pm 0,01$

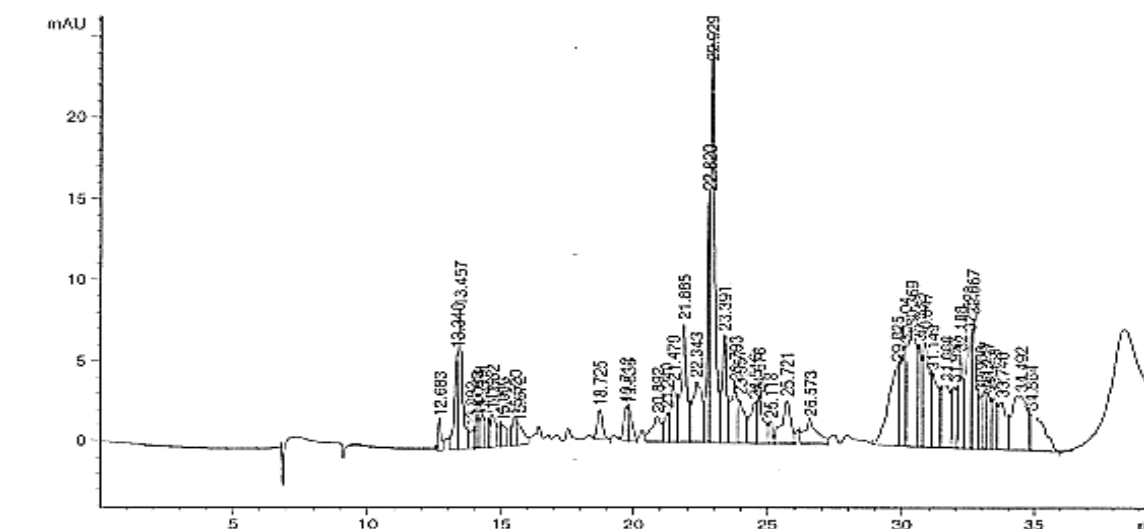
Одержані результати є фрагментом системного фармакогностичного
 дослідження сировини лавра благородного вітчизняної заготівлі та буде
 використано при розробці проєктів МКЯ на сировину.

4.2.3 Вивчення компонентного складу фенолкарбонових кислот та похідних флавану у сировині лавра благородного

Дослідження компонентного складу фенолкарбонових кислот та похідних
 флавану в сировині лавра благородного проводили за методом ВЕРХ (методику
 — див. розд. 2, п 2.15). Хроматограми наведено на рисунку.4.8.



А



Таблиця 4.10

**Якісний склад фенолкарбонових кислот, похідних флавану та кількісний
вміст цих компонентів в сировині лавру благородного**

№ з/п	Назва сполуки	листя			нестиглі плоди		
		Час утри манн я, хв.	Площа піку	Вміст, %	Час утрима ння, хв.	Площа піку	Вміст, %
1.	Галова кислота	-			13,45	81,76861	0,02±0,01
2.	Галокатехін	-			-		
3.	Катехінгалат	-			-		
4.	Катехін	23,01	755,92678	1,03±0,01	-		
5.	Епікатехін	23,97	244,57733	1,32±0,01	22,95	534,49482	0,66±0,02
6.	Епігалокатехін	24,45	31,03952	0,41±0,01	19,73	43,68755	0,52±0,01
7.	Епікатехін галат	-			30,36	378,64928	0,17±0,01
8.	Елагова кислота	-			-		

Примітка. «-» – сполуку не знайдено.

Таким чином, в листі винайдено не менше 3, в нестиглих плодах – не менше 4 сполук фенольної природи цієї групи БАР, загальними для обох видів сировини є епікатехін та епігалокатехін (домінуючий компонент епікатехін – відповідно, в листі 1,32±0,01% та в нестиглих плодах 0,66±0,02 %).

Отримані дані будуть використані в подальших дослідженнях сировини лавра благородного.

4.2.4 Визначення кількісного вмісту суми поліфенолів в сировині лавра благородного

Методом диференційної спектрофотометрії з реагентом Фоліна-Чокальтеу за методикою монографії ДФУ 2.0 «Деревію трава»^N було визначено кількісний вміст суми поліфенолів у 3 серіях пагонів та 3 серіях листя лавра благородного, а

також в 1 серії нестиглих плодів цієї рослини (серія 2), результати наведено у таблиці 4.11. Набільший кількісний вміст цієї групи сполук характерно для листя лавру благородного – не менше 6,2 %, майже вдвічі нижчий вміст в серіях пагонів – не менше 3,2 % [51,59].

Таблиця 4.11

Результати визначення кількісного вмісту суми поліфенолів в сировині лавра благородного ($m=5$, %, у перерахунку на пірогалол та абсолютно суху сировину)

Серія сировини	Кількісний вміст сполук
Пагони (серія 1)	3,59±0,01
Пагони (серія 2)	3,28±0,02
Пагони (серія 3)	3,96±0,02
Листя (серія 1)	6,28±0,02
Листя (серія 2)	6,96±0,02
Листя (серія 3)	7,57±0,02
Нестиглі плоди (серія 2)	4,34±0,01

В нестиглих плодах вміст суми поліфенолів дорівнює 4,34±0,01 % в перерахунку на пірогалол.

Одержані результати є фрагментом системного фармакогностичного дослідження сировини лавра благородного вітчизняної заготівлі та стануть у нагоді при розробці проєктів МКЯ на сировину.

4.3 Дослідження компонентного складу органічних кислот сировини лавру благородного та встановлення їх кількісного вмісту

Дослідження компонентного складу органічних кислот сировини лавра благородного проводили за методом ГХ/МС (методику – див. розд.2, п 2.5) [42].

Хроматограму вивчення компонентного складу органічних кислот пагонів лавра благородного наведено на рисунку 4.9, А. Результати вивчення якісного складу та кількісного вмісту ряду органічних кислот в листі лавра благородного

наведено на хроматограмі наведено (рис. 4.9, Б.). Результати вивчення якісного складу та кількісного вмісту цих компонентів в пагонах лавра благородного наведено в таблиці 4.12.

Аналіз результатів таблиці 4.12 свідчив про те, що в пагонах лавра благородного містилося 14 органічних кислот, а в листі – 13, в тому числі моно-, дикарбонових аліфатичних та ароматичних. З них 10 сполук містяться в обох видах сировини, що вивчали [59].

Кількісний вміст суми органічних кислот в пагонах сягав $12055,20 \pm 2,57$ мг/кг, в листі вшестеро нижчий – $2219,07 \pm 1,66$ мг/кг.

Лише в пагонах, на відміну від листя містяться нонанова ($7,60 \pm 0,13$ мг/кг), фенілоцтова ($19,26 \pm 0,19$ мг/кг), яблучна ($141,44 \pm 0,49$ мг/кг) та ванілінова ($12,24 \pm 0,21$ мг/кг) кислоти. Тільки в листі винайдено 3-гексенову ($32,48 \pm 0,32$ мг/кг), 2-гексенову ($24,44 \pm 0,39$ мг/кг) та сиренєву ($11,50 \pm 0,09$ мг/кг) кислоти.

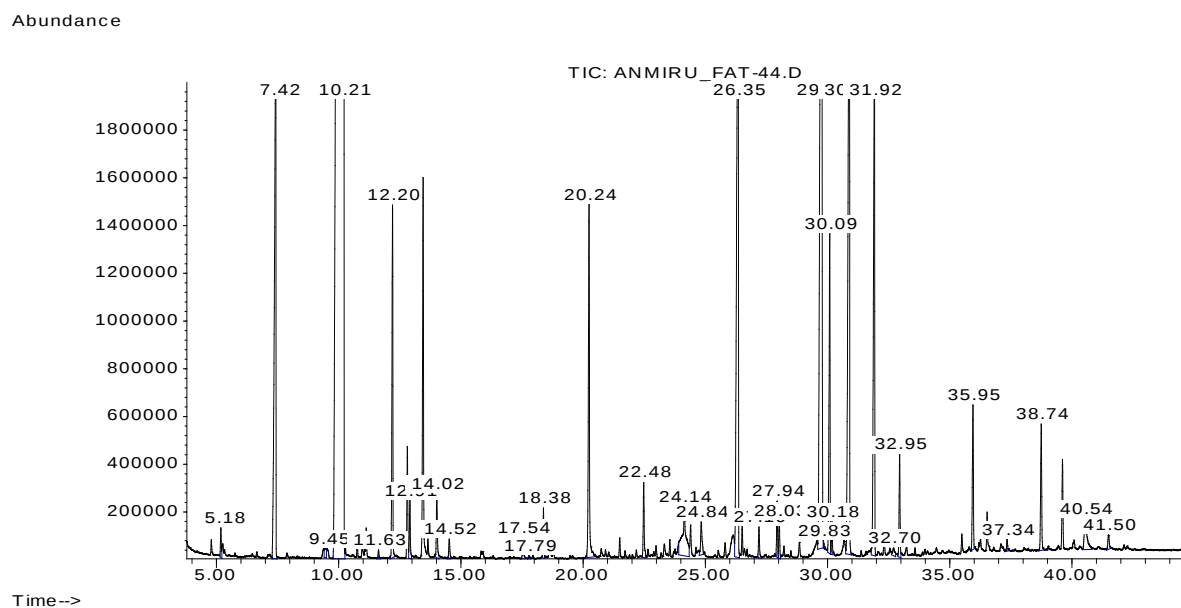
Ймовірно, ці сполуки можуть виступити у ролі маркерів та мати значення fingerprint для кожного виду сировини.

Найвищий вміст в сировині встановлено для оксалатної кислоти (в пагонах – $9834,08 \pm 6,51$ мг/кг, в листі в 9 разів нижчий – $1106,52 \pm 5,13$ мг/кг).

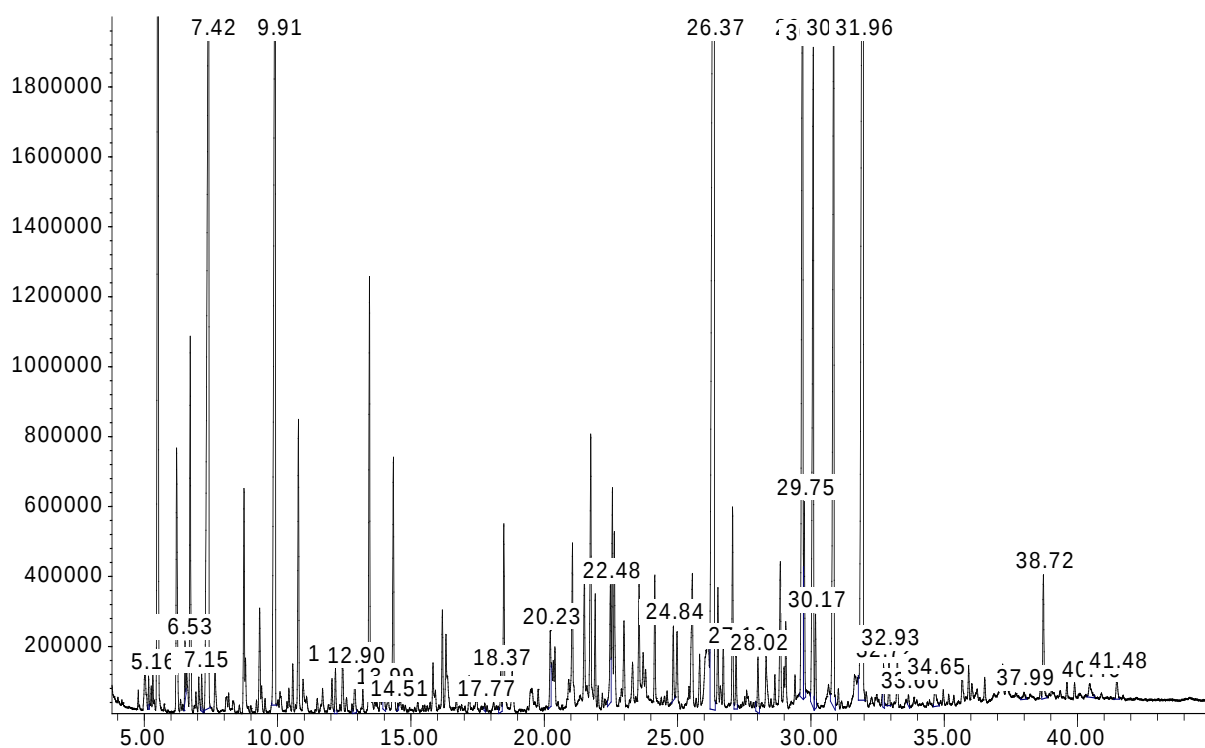
Кількісний вміст оксалатної кислоти в пагонах становив більш ніж в шість разів вище, ніж лимонної ($1554,82 \pm 0,59$ мг/кг); в листі – вміст оксалатної кислоти в 1,3 рази вище, ніж лимонної кислоти ($846,18 \pm 1,01$ мг/кг).

Вміст решти органічних кислот в пагонах і листі становив не більше 10 % від загального вмісту.

Малонова (метандикарбонова) кислота ($245,9$ мг/кг) пагонів лавра благородного, ймовірно, знаходиться у вигляді малонатів - солей та складних естерів, біохімічним аспектом цього є той факт, що ці сполуки виступають у ролі конкурентних інгібіторів, тому що поєднуються з сукцинатдегідрогеназою []



А



Б

Рис. 4.10 Хроматограма ГХ/МС органічних кислот пагонів (А) та листя (Б) лавра благородного (серія 1)

Одержані результати є фрагментом системного фармакогностичного

дослідження сировини лавра благородного вітчизняної заготівлі та стануть у нагоді при розробці проєктів МКЯ на сировину.

Таблиця 4.12

**Результати вивчення компонентного складу органічних кислот
складу сировини лавра благородного (m=5, мг/кг)**

№ з/п	Час утрим., хв	Назва органічної кислоти	Вміст, мг/кг	
			пагонах	листі
1	5,16	капронова	$20,20 \pm 0,01$	$15,24 \pm 0,14$
2	6,53	3-гексенова	—	$32,48 \pm 0,32$
3	7,15	2-гексенова	—	$24,44 \pm 0,39$
4	9,9	оксалатна	$9834,08 \pm 6,51$	$1106,52 \pm 5,13$
5	11,63	нонанова	$7,60 \pm 0,13$	—
6	12,17	малонова	$245,02 \pm 0,73$	$34,42 \pm 0,49$
7	12,89	фумарова	$43,58 \pm 0,35$	$39,42 \pm 0,35$
8	13,99	бурштинова	$52,36 \pm 0,19$	$21,60 \pm 0,35$
9	14,5	бензойна	$18,20 \pm 0,27$	$5,32 \pm 0,16$
10	17,54	фенілоцтова	$19,26 \pm 0,19$	—
11	17,76	саліцилова	$3,28 \pm 0,16$	$5,21 \pm 0,25$
12	24,14	яблучна	$141,44 \pm 0,49$	—
13	24,84	азелаїнова	—	$52,30 \pm 0,46$
14	29,69	лимонна	$1554,82 \pm 0,59$	$846,18 \pm 1,01$
15	32,69	ванілинова	$12,24 \pm 0,21$	—
16	37,98	сиренєва	—	$11,50 \pm 0,09$
17	40,45	ферулова	$68,38 \pm 0,30$	$27,66 \pm 0,94$
		Разом	$12055,20 \pm 2,57$	$2219,07 \pm 1,66$

Примітка «—» – сполуку не знайдено.

Визначення кількісного вмісту суми органічних кислот в сировині лавра благородного

Методом кислотно-основної титриметрії за методикою монографії ДФУ 2.0 «Шипшини плоди» було визначено кількісний вміст суми органічних кислот у перерахунку на кислоту яблучну у 3 серіях пагонів, 3 серіях листя лавра благородного та 1 серії нестиглих плодів цієї рослини (серія 2), результати наведено у таблиці 4.13. Набільший кількісний вміст цієї групи сполук характерно для листя лавру благородного – не менше 4,3 %, майже вдвічі нижчий вміст в серіях пагонів [51,59].

Таблиця 4.13

Результати визначення кількісного вмісту суми органічних кислот в сировині лавра благородного ($m=5$ %, у перерахунку на яблучну кислоту та абсолютно суху сировину)

Серія сировини	Кількісний вміст сполук
Пагони (серія 1)	$2,42 \pm 0,13$
Пагони (серія 2)	$2,85 \pm 0,03$
Пагони (серія 3)	$3,05 \pm 0,06$
Листя (серія 1)	$4,36 \pm 0,21$
Листя (серія 2)	$4,75 \pm 0,06$
Листя (серія 3)	$4,86 \pm 0,07$
Нестиглі плоди (серія 2)	$2,27 \pm 0,06$

В пагонах кількісний вміст суми органічних кислот дорівнює не менше 2,4 % в перерахунку на яблучну кислоту.

В нестиглих плодах кількісний вміст суми органічних кислот дорівнює не менше 2,2 % у перерахунку на яблучну кислоту.

Одержані результати є часткою системного фармакогностичного дослідження сировини лавра благородного вітчизняної заготівлі та будуть використані при розробці проєктів МКЯ на сировину.

4.4 Дослідження жирнокислотного складу сировини лавру благородного

Дослідження проводили за допомогою ГРХ. Результати наведено на рисунках 4.11-4.13 та таблиці 4.14.

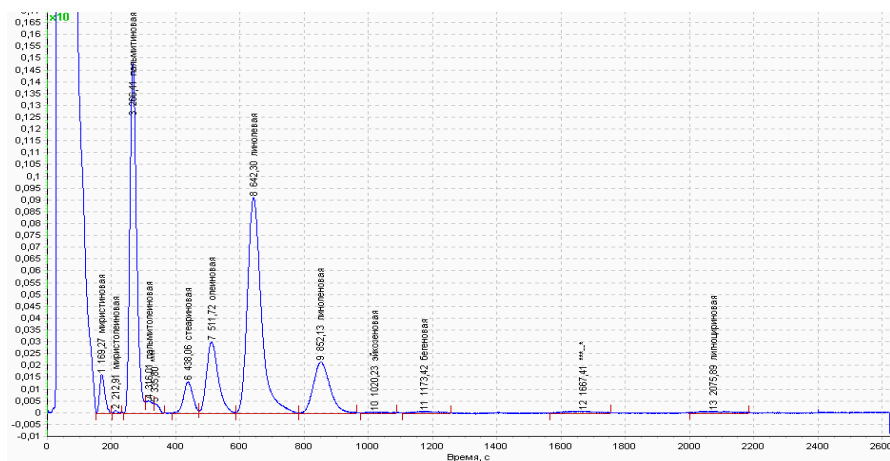


Рис. 4.11 ГРХ-хроматограма жирних кислот пагонів лавру благородного

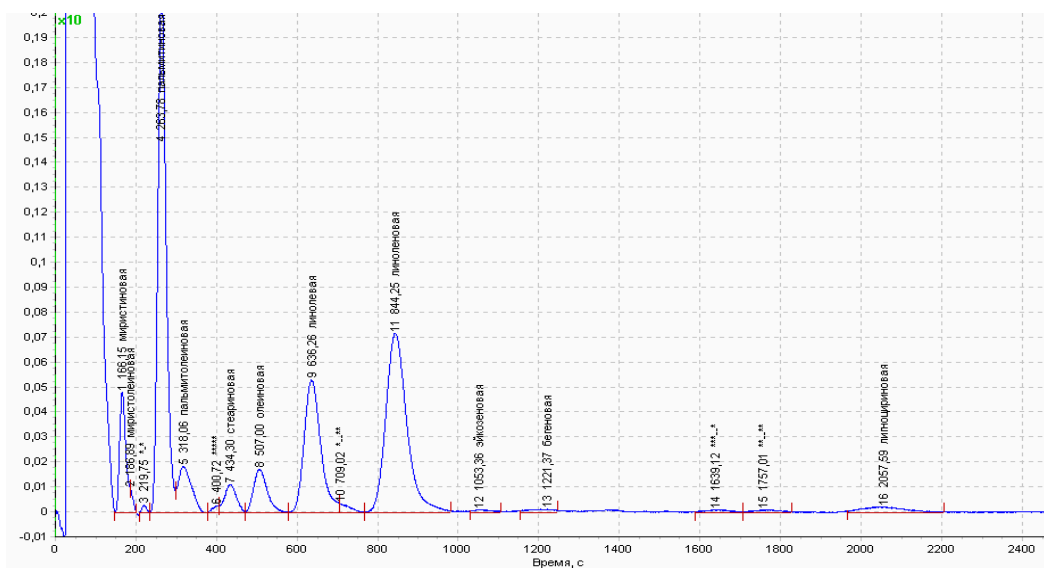


Рис. 4.12 ГРХ хроматограма жирних кислот листя лавру благородного

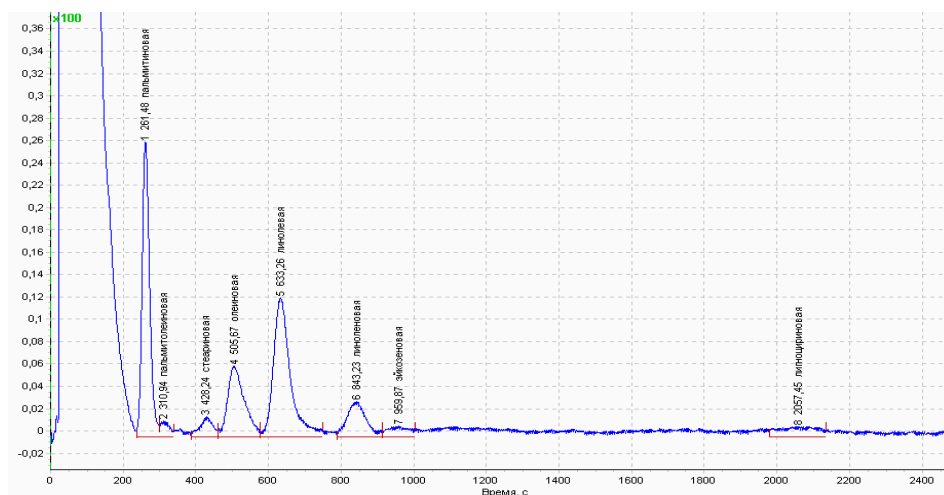


Рис. 4.13 ГРХ-хроматограма жирних кислот нестиглих плодів лавру благородного

Пагони та листя мають однаковий компонентний склад ідентифікованих ЖК (по 11 сполук, з яких 5 насичених та 6 ненасичених). В нестиглих плодах знайдено 8 ЖК, з яких 3 насичених [59].

Таблиця 4.14

Результати вивчення жирнокислотного складу сировини лавру благородного (вміст метилових естерів ЖК, m=5, % від суми)

Індекс ЖК	Метилові естери ЖК	пагони	листя	нестигли плоди
1	2	3	4	5
С 14:0	міристинова (тетрадеканова)	2,69±0,02	5,70±0,03	-
С 16:0	пальмітинова (гексадеканова)	32,00±1,30	33,15±0,04	36,69±0,09
С 18:0	стеаринова (октадеканова)	3,83±0,02	2,53±0,05	2,03±0,04
С 20:0	арахінова (ейкозанова)	-	-	-
С 22:0	бегенова (докозанова)	0,07±0,01	0,54±0,03	-

Продовж. табл.4.15

1	2	3	4	5
C 24:0	лігноцеринова (тетракозанова)	0,02±0,01	1,63±0,03	0,11±0,02
	Сума насичених ЖК	38,19	42,92	38,83
C 14:1	міристолеїнова	0,08±0,01	0,52±0,03	-
C 16:1	пальмітинолеїнова (гексадеценова)	1,36±0,02	5,25±0,04	1,38±0,02
C 18:1	олеїнова (октадеценова)	10,94±0,04	4,37±0,03	17,44±0,05
C 18:2	лінолева (октадекадиєнова)	38,14±0,05	16,51±0,03	33,83±0,05
C 18:3	ліноленова (октадекатриєнова)	11,15±0,04	28,01±0,06	8,26±0,02
C 20:1	гондоїнова (ейкозенова)	0,25±0,03	0,02±0,01	0,28±0,02
C 22:1	ерукова (докозенова)	-	-	-
	Сума ненасичених ЖК	61,92	54,68	61,09
	неідентифіковані сполуки	0,78±0,10	1,49±0,04	-

Ймовірно, відсутність в нестиглих плодах міристинової, арахінової, бегенової, міристолеїнової кислот може виступати у ролі fingerprint для цієї сировини та цієї групи сполук.

Не знайдено в сировині арахінову та ерукову кислоти.

Вміст суми ненасичених ЖК в усіх досліджуваних видах сировини вищий, ніж вміст суми насичених: в 1,27 рази в листі, в 1,57 рази в нестиглих плодах, в 1,62 рази в пагонах.

В пагонах домінували за вмістом ненасичена лінолева кислота (38,14±0,05 % від суми –це найвищий вміст в досліджуваній сировині) та насичена пальмітинова (32,00±1,30 % від суми), в листі – насичена пальмітинова (33,15±0,04 % від суми) та ненасичена ліноленова (28,01±0,06 % від суми), в нестиглих плодах – насичена пальмітинова (36,69±0,09% від суми), до речі, це

найвищий вміст в цих видах сировини, та ненасичена лінолева ($33,83 \pm 0,05$ % від суми).

В пагонах знайдено 2 неідентифікованих сполуки (загальним вмістом $0,78 \pm 0,10$ % від суми), в листі – 5 (загальним вмістом $1,49 \pm 0,04$ % від суми), в нестиглих плодах – ні однієї.

Одержані результати є фрагментом системного фармакогностичного дослідження сировини лавра благородного вітчизняної заготівлі та будуть використані при розробці проєктів МКЯ на сировину.

4.5 Вивчення елементного складу пагонів, листя та плодів лавра благородного в порівнянні з ґрунтом

Дослідження елементного складу сировини лавра благородного проводили за методом емісійної спектрографії (методику – див. розд.2, п 2.2) [20].

Результати вивчення якісного складу та кількісного вмісту макро- та мікроелементів в сировині лавра благородного в порівнянні з ґрунтом з-під продукуючої рослини наведено в таблиці 4.15.

Таким чином, в пагонах та листі лавра благородного знайдено не менш 19 речовин мінеральної природи [48].

Таблиця 4.15

Результати визначення елементного складу пагонів та листя лавра благородного порівнянно з ґрунтом (m=5, мг/кг)

Символ елементу	Вміст елементу в об'єкті, що вивчали (мг/кг)		
	ґрунті	пагонах	листі
1	2	3	4
Na	$1356,00 \pm 14,18$	$254,00 \pm 5,20$	$280,00 \pm 3,40$
Mg	$866,00 \pm 6,81$	$534,00 \pm 5,20$	$582,00 \pm 3,41$

Al	6948,00 ± 10,40	153,00 ± 3,41	113,00 ± 3,40
----	-----------------	---------------	---------------

Продовж. табл. 4.16

1	2	3	4
Si	33650,00 ± 62,16	1422,00 ± 3,41	1113,00 ± 3,40
P	386,00 ± 5,20	255,00 ± 6,22	113,00 ± 3,40
K	1638,00 ± 26,95	5345,00 ± 6,22	6544,00 ± 5,20
Ca	1850,00 ± 62,16	1552,00 ± 5,56	1753,00 ± 5,56
Sr	15,80 ± 1,36	2,20 ± 0,56	3,80 ± 1,04
Mn	1356,00 ± 11,12	13,40 ± 2,86	21,80 ± 5,55
Fe	3530,00 ± 55,60	32,40 ± 3,12	35,80 ± 1,36
Ni	3,40 ± 0,68	<0,30	<0,30
Cu	4,60 ± 0,68	<0,40	<0,40
Zn	1,40 ± 0,68	21,20 ± 2,22	25,8 ± 1,36
Mo	1,40 ± 0,68	<0,09	<0,10
Pb	3,40 ± 0,68	<0,40	<0,10
Co	<0,03	<0,03	<0,03
Cd	<0,01	<0,01	<0,01
As	<0,01	<0,01	<0,01
Hg	<0,01	<0,01	<0,01

В пагонах та листі спостерігається наступна закономірність накопичення речовин цієї групи: K > Ca > Si > Mg > Na > Al, P > Fe > Zn > Mn > Sr. Домінуючими сполуками у пагонах були калій (5345,00 ± 6,22 мг/кг), кальцій (1552,00 ± 5,56 мг/кг) та силіцій (1922,00 ± 3,41 мг/кг). Домінуючими елементами у листі були калій (6544,00 ± 5,20 мг/кг), кальцій (1753,00 ± 5,56 мг/кг) та силіцій (1753,00 ± 5,56 мг/кг). Вміст токсичних елементів знаходився в межах норми. Порівнянно з ґрунтом сировина накопичувала калій та цинк. Скоріш за все, це пов'язано з роллю цинка у рослинах: приймає участь у

метаболізмі вуглеводів, фосфатів, протеїнів, утворенні ряду гормонів, а також ДНК та рибосом. Калій інтенсифікує процес фотосинтезу, окиснювані процеси та утворення органічних кислот, приймає участь у вуглеводному та нітрогенному обміні.

4.6 Визначення кількісного вмісту суми хлорофілів в пагонах, листі та нестиглих плодах лавра благородного

Кількісне визначення хлорофілів проводили у перерахунку на абсолютно суху сировину [21, 22]. Результати наведено у таблиці 4.16.

Таблиця 4.16

Результати визначення кількісного суми хлорофілів в сировині лавра благородного ($m = 5$, мкг/г, у перерахунку на абсолютно суху сировину)

Серія сировини	Кількісний вміст хлорофілів
Пагони (серія 1)	$341,00 \pm 6,81$
Пагони (серія 2)	$382,00 \pm 3,41$
Пагони (серія 3)	$316,60 \pm 4,70 \pm$
Листя (серія 1)	$457,87 \pm 6,16$
Листя (серія 2)	$513,37 \pm 5,37$
Листя (серія 3)	$586,24 \pm 3,51$
Нестиглі плоди (серія 2)	$309,79 \pm 3,51$

Вміст суми хлорофілів в пагонах становив не менше 316 мкг/г, в листі – не менше 456 мкг/г, в нестиглих плодах – не менше 309 мкг/кг.

Одержані результати є фрагментом системного фармакогностичного дослідження сировини лавра благородного вітчизняної заготівлі та можуть стати у нагоді при розробці проектів МКЯ на сировину. [59]

4.7 Визначення кількісного вмісту суми каротиноїдів в пагонах, листі та нестиглих нестиглих плодах лавра благородного

Кількісне визначення суми каротиноїдів проводили у перерахунку на абсолютно суху сировину [21, 22]. Результати наведено у таблиці 4.17.

Таблиця 4.17

Результати визначення кількісного вмісту суми каротиноїдів в сировині лавра благородного ($m= 5$, мкг/г, у перерахунку на абсолютно суху сировину)

Серія сировини	Кількісний вміст суми каротиноїдів
Пагони (серія 1)	$263,95 \pm 11,14$
Пагони (серія 2)	$236,36 \pm 4,80$
Пагони (серія 3)	$209,76 \pm 3,09$
Листя (серія 1)	$265,00 \pm 10,35$
Листя (серія 2)	$312,13 \pm 3,74$
Листя (серія 3)	$336,30 \pm 11,63$
Нестиглі плоди (серія 2)	$197,74 \pm 1,90$

Вміст суми каротиноідів в пагонах становив не менше 209 мкг/г, в листі – не менше 312 мкг/г, в нестиглих плодах – не менше 197 мкг/кг.

Одержані результати є фрагментом системного фармакогностичного дослідження сировини лавра благородного вітчизняної заготівлі та можуть стати у нагоді при розробці проєктів МКЯ на сировину.

4.8 Визначення кількісного вмісту полісахаридів в пагонах, листі та нестиглих нестиглих плодах лавра благородного

Кількісне визначення полісахаридів проводили у перерахунку на абсолютно суху сировину [22, 24]. Результати наведено у таблиці 4.18.

Таблиця 4.18

Результати визначення кількісного вмісту полісахаридів в сировині лавра благородного ($m=5$, %, у перерахунку на абсолютно суху сировину)

Серія сировини	Кількісний вміст полісахаридів
Пагони (серія 1)	$3,22 \pm 0,05$
Пагони (серія 2)	$3,63 \pm 0,11$
Пагони (серія 3)	$3,55 \pm 0,05$
Листя (серія 1)	$4,59 \pm 0,11$
Листя (серія 2)	$4,36 \pm 0,07$
Листя (серія 3)	$4,82 \pm 0,11$
Нестиглі плоди (серія 2)	$3,16 \pm 0,11$

В пагонах міститься не менше 3,2 %, в листі – не менше 4,3 %, в нестиглих плодах – не менше 3,1 % полісахаридів [59].

Усі одержані нами результати дослідження сировини з дикорослих та культивованих екземплярів співставні [12,48,50,51,60], а також, в свою чергу, співставні з відомими вже даними про хімічний склад сировини лавру [33-40], що свідчить про константність цих характеристик та є фрагментом системного фармакогностичного дослідження сировини лавра благородного вітчизняної заготівлі та можуть стати у нагоді при розробці проєктів МКЯ на сировину.

Висновки до розділу 4

1. Проведено системне дослідження компонентного складу серій пагонів, листя та серії нестиглих плодів лавру благородного.
2. За допомогою ГХ/МС визначено та проаналізовано компонентний склад сполук, що переганяються з водяною парою, 2 серії пагонів, 2 серій листя та 1 серії нестиглих плодів лавру благородного. В нестиглих плодах лавра благородного винайдено 33 сполуки, що переганялися з водяною парою, з яких ідентифіковано 30 речовин. Високий вміст характерний для

спатуленола (1947,10 мг/кг) и γ -бетуленола (925,3 мг/кг). В обох серіях цієї листя винайдено лише 3 сполуки, що є загальними – ароматичні сполуки метилевгенол (251,3 мг/кг в листі серії 1 та 243,0 мг/кг в листі серії 2), транс-метилізоєвгенол (вміст становив 200,6 мг/кг в листі серії 1, що вдесятеро вище ніж в листі серії 2 – 21,0 мг/кг) та сесквітерпеноїд каріофіленоксид (різниця в 4 рази: листя серії 1 – 460,6 мг/кг проти 113,5 мг/кг в листі серії 2). Визначено кількісний вміст ефірної олії (метод ДФУ 2.0) у 3 серіях пагонів (не менше 0,58 %), 3 серіях листя (не менше 3,31 %) та 1 серії нестиглих плодів (не менше 0,98 %) лавру благородного.

3. Визначено компонентний склад гідроксикоричних кислот в пагонах та листі лавру благородного за методом ВЕРХ. Визначено кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот в перерахунку на хлорогенову кислоту (монографія «Ясена листя» ДФУ 2.0) у 3 серіях пагонів (не менше 1,1 %), 3 серіях листя (не менше 1,9 %) та 1 серії нестиглих плодів (не менше 0,9 %) лавру благородного.
4. Встановлено компонентний склад похідних флавону в пагонах та листі лавру благородного за методом ВЕРХ. В листі винайдено не менш 4 сполук, з яких – 3 похідних флавону – аглікони апігенін, лютеолін та неідентифікований глікозид апігеніну та один флавоноловий глікозид ізокверцитрин ($0,035 \pm 0,005$ %); в нестиглих плодах винайдено не менше 4 сполук, з яких 1 сполука – це флавоновий аглікон апігенін, решта – це глікозиди кверцетину: рутин ($0,017 \pm 0,003$ %), ізокверцитрин ($0,042 \pm 0,003$ %) та гіперозид ($0,014 \pm 0,002$ %).
5. Визначено кількісний вміст суми флавоноїдів в перерахунку на гіперозид (монографія «Софори бутони» ДФУ 2.0) у 3 серіях пагонів (не менше 1,2 %), 3 серіях листя (не менше 2,0 %) та 1 серії нестиглих плодів (не менше 2,6 %) лавру благородного.
6. Досліджено компонентний склад фенолкарбонових кислот та похідних флавану листі та нестиглих плодах лавру благородного за методом ВЕРХ.

- В листі винайдено не менше 3, в нестиглих плодах – не менше 4 сполук фенольної природи цієї групи БАР, загальними для обох видів сировини є епікатехін та епігалокатехін (домінуючий компонент епікатехін – відповідно, в листі $1,32 \pm 0,01\%$ та в нестиглих плодах $0,66 \pm 0,02\%$).
7. Визначено кількісний вміст суми поліфенолів в перерахунку на пірогалол (монографія «Деревію трава»^N ДФУ 2.0) у сировині лавру благородного. Наібільший кількісний вміст цієї групи сполук характерно для листя лавру благородного – не менше 6,2 %, майже вдвічі нижчий вміст в серіях пагонів – не менше 3,2 %, в нестиглих плодах – не менше 4,3 %.
 8. Визначено компонентний склад органічних кислот в пагонах та листі лавру благородного за методом ГХ/МС. Кількісний вміст оксалатної кислоти в пагонах становив більш ніж в шість разів вище, ніж лимонної ($1554,82 \pm 0,59$ мг/кг); в листі – вміст оксалатної кислоти в 1,3 рази вище, ніж лимонної кислоти ($846,18 \pm 1,01$ мг/кг). Вміст решти органічних кислот в пагонах і листі становив не більше 10 % від загального вмісту.
 9. Визначено кількісний вміст суми органічних кислот в перерахунку на кислоту яблучну (монографія «Шипшини плоди» ДФУ 2.0) у 3 серіях пагонів (не менше 2,4 %), 3 серіях листя (не менше 4,3 %) та 1 серії нестиглих плодів (не менше 2,2 %) лавру благородного.
 10. Визначено компонентний склад жирних кислот в пагонах, листі та нестиглих плодах лавру благородного за методом ГРХ. Пагони та листя мають однаковий компонентний склад ідентифікованих жирних кислот (по 11 сполук, з яких 5 насичених та 6 ненасичених). В нестиглих плодах знайдено 8 ЖК, з яких 3 насичених. Домінували за вмістом в усіх видах сировини ненасичені жирні кислоти (в пагонах – 61,92 % від суми, в листі – 54,68 % від суми, в нестиглих плодах – 61,09 % від суми).
 11. Визначено елементний склад пагонів та листя лавру благородного в порівнянні з ґрунтом з- під рослини. Домінуючими сполуками у пагонах були калій ($5345,00 \pm 6,22$ мг/кг), кальцій ($1552,00 \pm 5,56$ мг/кг) та силіцій

(1429,00 $\pm$ 3,41 мг/кг). Домінуючими сполуками у листі були калій (6544,00 $\pm$ 5,20 мг/кг), кальцій (1753,00 $\pm$ 5,56 мг/кг) та силіцій (1113,00 $\pm$ 3,40 мг/кг).

12. Визначено кількісний вміст суми хлорофілів та суми каротиноїдів в у 3 серіях пагонів (не менше, відповідно, 316 мг/г та 209 мг/г), 3 серіях листя (не менше, відповідно, 456 мг/г та 312 мг/г) та 1 серії нестиглих плодів (не менше, відповідно, 309 мг/кг та 197 мг/кг) лавру благородного.
13. Гравіметричним методом визначено кількісний вміст полісахаридів в сировині лавра благородного. В пагонах міститься не менше 3,2 %, в листі – не менше 4,3 %, в нестиглих плодах – не менше 3,1 % полісахаридів.
14. Одержані результати системного фармакогностичного дослідження сировини лавра благородного вітчизняної заготівлі стануть у нагоді при розробці відповідних розділів проєктів МКЯ на сировину.

Результати експериментальних досліджень розділу наведено у таких публікаціях:

1. Дослідження компонентного складу ефірної олії нестиглих плодів *Laurus nobilis* L. української заготівлі. І. Ю. Посохова І., О. П. Хворост, К. С. Скребцова, Ю. А. Федченкова. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2021. Т. 19, № 3(75). С. 47-52. <https://doi.org/10.24959/ophcj.21.240777> (Особистий внесок здобувача – заготовлено сировину, проведено інформаційний пошук, узагальнені результати, приймала участь в аналізі даних, формулюванні висновків, оформленні статті).
2. Component composition of essential oil shoots and leaves of *Laurus nobilis* L. Ukrainian origin. O. Khvorost, I. Posohova, Y. Fedchenkova, & K. Skrebtsova. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2021. Vol. 4(32). P. 50–58. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2021.239335> (Особистий внесок

здобувача – проведено пробопідготовку, проведено узагальнення та аналіз результатів, оформлена робота).

3. Посохова І. Ю., Хворост О. П. Кількісне визначення суми фенольних сполук у сировині представників родини Lauraceae. /«Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин»: зб. IV міжнар. наук.-практ. internet-конф. (26-27 листопада 2020 р. НФаУ, м. Харків, Україна), Харків: НФаУ 2020. С. 210.
4. Посохова І. Ю., Хворост О. П. Дослідження комплексів БАР різної полярності, що одержано з сировини рослин родини Lauraceae / «Стратегічні пріоритети розвитку науки, освіти та технологій»: зб. праць міжнар. наук.-практич. конф. (25 листопада 2021 р. м. Полтава, Україна) Полтава, 2021. С. 25.
5. Хворост О. П., Посохова І. Ю. Кількісний вміст суми фенольних сполук в серіях сировини лавру благородного. Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: мат. V Міжнар. наук.-практич. інтернет-конф. (м. Харків, 14 квітня 2023 р.). – Електрон. дані. – Х. : НФаУ, 2023. – С. 171. – Назва з тит. екрана.
6. Хворост О. П., Посохова І. Ю. Дослідження хімічного складу сировини *Laurus nobilis*. «Modern chemistry of medicines»: мат. Міжнар. Internet-конф. (18 травня 2023 р., м. Харків). С. 274. Електрон. дані. – Х. : НФаУ, 2023.

РОЗДІЛ 5

ВИЗНАЧЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ЛИСТЯ РОСЛИН РОДИНИ ЛАВРОВІ, ПАРАМЕТРІВ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ОТРИМАННЯ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ЛАВРУ БЛАГОРОДНОГО ТА ПАРАМЕТРІВ СТАНДАРТИЗАЦІЇ СИРОВИНИ ТА ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Розробка технологій отримання препаратів з рослинної сировини полягає у тому числі і в дослідженні динаміки вилучення та визначенні виходу діючих речовин в процесі екстрагування сировини, залежить від технологічних властивостей сировини, а також від методики проведення процесу та застосованої апаратури [14]. Це обумовлює необхідність знання фізико-хімічних та технологічних характеристик сировини у процесі розробки оптимальної технології отримання препаратів рослинного походження [16,24,50]]. Для розробки технології отримання субстанцій з нових, раніш не досліджених, видів рослинної сировини необхідно проведення ряду показників. До них належать технологічні параметри сировини, оптимальний рівень факторів, що впливають на процес екстракції (вид екстрагенту, співвідношення сировина-екстрагент, часовий термін, тощо).

5.1 Визначення технологічних параметрів листя рослин родини лаврові

Для розробки технології одержання субстанцій необхідно провести ряд досліджень [48]. Частина з них стосуються параметрів сировини, решта – власне технологічного процесу. Технологічні параметри сировини мають вирішальний вплив на технологічний процес та якість субстанцій [2]. Для правильного вибору об'єму екстрактора необхідно знання питомої, об'ємної та насипної маси, що дозволяло визначити об'єм, який займала суха та набухла сировина. А виявлення необхідного співвідношення сировини та екстрагенту

дозволяє визначення значення пористості сировини, порозності шару та вільного об'єму шару.

Для визначення норм витрат сировини лавру благородного та урахування їх в технологічному процесі, визначали наступні технологічні параметри листя: втрату в масі при висушуванні, середній розмір часток, питому масу, об'ємну та насипну маси, плинність, пористість, порізність, вільний об'єм шару сировини, питому поверхню часток, коефіцієнт водопоглинання та коефіцієнт поглинання екстрагенту – 70 % етанолу.

Визначення втрати в масі при висушуванні. Визначення цього показника проводилося в 3 серіях лавру благородного та 3 серіях листя персеї американської за методикою ДФУ 2.0 [8]. Результати наведено в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

Визначення втрати в масі при висушуванні листя лавру благородного та листя персеї американської в перерахунку на абсолютно суху речовину (m=3)

Маса наважки листя лавру благородного до сушки, г	Маса наважки листя лавру благородного після сушки, г	$X_{\text{сер}} \pm \Delta X$, г	Маса наважки листя персеї американської до сушки, г	Маса наважки листя персеї американської після сушки, г	$X_{\text{сер}} \pm \Delta X$, г
1,0147	0,9716	6,16±0,95	1,1152	1,0035	10,32±1,21
1,0315	0,9710		1,0643	0,9685	
1,0221	0,9588		1,0739	0,9719	

Аналіз результатів дослідження свідчив, що втрата в масі при висушуванні листя лавру благородного не перебільшувала 7 %, а листя персеї американської 12 %.

Визначення середнього розміру часток. Подрібненість сировини характеризується розміром, поверхнею та ступенем руйнування тканин. Цей

показник необхідний у разі оцінки якості підготовки сировини до екстракції та при розрахунку констант масо передачі.

Для визначення середнього розміру часток проводили ситовий аналіз сировини, за результатами якого визначали середньозважений діаметр (розмір) часток за формулою Козені [2]. Визначення проводили за методикою, наведеною в літературі [2]. Фракційний склад сировини від ступеня подрібненості сировини, вираженням середнього розміру часток в мм, приведений в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

Фракційний склад подрібненості листя лавру благородного та листя персеї американської (m=5)

Розмір часток листя лавру благородного, мм	Результати статистичної обробки	Розмір часток листя персеї американської, мм	Результати статистичної обробки
2,860	2.89±0,12	2,020	2,11±0,10
2,790		2,230	
3,050		2,060	
2,860		2,150	
2,880		2,090	

Середній розмір часток листя лавру благородного становив $2,89 \pm 0,12$ мм, а листя персеї американської – $2,11 \pm 0,10$ мм.

Визначення питомої маси листя лавру благородного. Визначення питомої маси (d_n) листя лавру благородного та листя персеї американської проводили за методикою [2], як співвідношення маси абсолютно сухої подрібненої сировини до об'єму рослинної сировини.

Результати визначення питомої маси наведені у таблиці 5.3.

Таблиця 5.3

Результати визначення питомої маси листя лавру благородного та листя персеї американської (m=5)

Питома маса листя лавру благородного, г/см ³	Результати статистичної обробки	Питома маса листя персеї американської, г/см ³	Результати статистичної обробки
1,270	1,32±0,07	1,090	1,09±0,09
1,300		0,970	
1,350		1,130	
1,410		1,100	
1,290		1,140	

Таким чином, з даних таблиці 5.3 видно, що питома маса листя лавру благородного становить 1,32 г/см³, що питома маса листя персеї американської становить 1,09 г/см³, що буде враховано при завантаженні рослинної сировини у екстрактор.

Визначення об'ємної маси листя рослин родини лаврові. Об'ємну масу (d_0) визначали як співвідношення ваги неподрібненої сировини при даній вологості до її повного об'єму, який включав пори, тріщини і капіляри, заповнені повітрям проводили за методикою [2].

Результати визначення об'ємної маси наведені у таблиці 5.4.

Таким чином, можна зробити висновок, що значення об'ємної маси листя лавру благородного ($0,43 \pm 0,04$ г/см³), листя персеї американської ($0,71 \pm 0,04$ г/см³) не перевищує допустимих норм.

Таблиця 5.4

**Результати визначення об'ємної маси листа лавру благородного та
листа персеї американської**

Об'ємна маса листа лавру благородного, г/см ³	Результати статистичної обробки	Об'ємна маса листа персеї американської, г/см ³	Результати статистичної обробки
0,450	0,43±0,04	0,720	0,71±0,04
0,410		0,670	
0,460		0,750	
0,390		0,690	
0,440		0,730	

Визначення насипної маси листа лавру благородного та листа персеї американської.

Насипну масу (густину, d_n) листа лавру благородного та листа персеї американської визначали як співвідношення маси подрібненої сировини при природній вологості до зайнятого сировиною повного об'єму, який включав пори часток і пустоти між ними за методикою ДФУ 2.0 [9].

Результати визначення насипної маси наведені у таблиці 5.5.

Як витікає з даних таблиці 5.5, насипна маса листа лавру благородного дорівнювала $0,40 \pm 0,03$ г/см³, листа персеї американської – $0,49 \pm 0,04$ г/см³.

Отже, листя буде займати невеликий об'єм у ємності у екстрагування, що повинно бути враховано при екстрагуванні сировини.

Таблиця 5.5

**Результати визначення насипної маси листя лавру благородного та
листя персеї американської**

Насипна маса листя лавру благородного, г/см ³	Результати статистичної обробки	Насипна маса листя персеї американської, г/см ³	Результати статистичної обробки
0,410	0,40±0,03	0,530	0,49±0,04
0,420		0,480	
0,440		0,470	
0,380		0,500	
0,390		0,460	

Визначення плинності листя лавру благородного та листя персеї американської. Плинність та кут природного ухилу визначали на приладі ВП-12А за методикою ДФУ 2.0 [8]. Плинність сировини пов'язана з рухомістю сировини. Цей показник необхідний для передбачення та вибору пристроїв завантаження та вивантаження в апаратах для екстракції, а також при розрахунку транспортуючих пристроїв. Визначення цих показників для нашого виду сировини є неможливим. Плинність для подрібненої сировини листя лавру благородного та листя персеї американської становить ∞.

Визначення пористості листя лавру благородного та листя персеї американської. Параметр пористість (P_c), який характеризує величину пустот всередині частинок сировини, визначали як відношення різниці між питомою вагою та об'ємною масою до питомої ваги за відомою методикою [2].

Розрахований показник приведено у таблиці 5.6 і складав для листя лавру благородного – $0,67 \pm 0,02$ та листя персеї американської – $0,35 \pm 0,02$.

Визначення порізності листя лавру благородного та листя персеї американської. Порізність шару ($\Pi_{\text{ш}}$), що характеризує величину пустот між частинками рослинного матеріалу, визначали як відношення різниці між об'ємною і насипною масами до об'ємної маси за методикою, наведеною у літературному джерелі [2].

Цей визначений показник наведений у таблиці 5.6 і становив для листя лавру благородного – $0,27 \pm 0,01$ та листя персеї американської – $0,31 \pm 0,01$.

Визначення вільного об'єму шару листя лавру благородного та листя персеї американської. Вільний об'єм шару характеризує відносний об'єм пустот в одиниці шару сировини (пустоти всередині частинок і між ними). Даний параметр визначали як відношення різниці між питомою вагою і насипною масою до питомої ваги. Визначення цього параметру проводили за відомою методикою [2]. Результати визначення вільного об'єму шару, приведені в таблиці 5.6, становлять для листя лавру благородного $0,70 \pm 0,02$, листя персеї американської – $0,55 \pm 0,02$.

Розрахунок питомої поверхні часток листя лавру благородного та листя персеї американської. Розрахунок проводили за методикою, що викладена в роботі [2]. В результаті визначення питомої поверхні часток листя лавру благородного та листя персеї американської приведені в таблиці 5.6. Цей показник характеризував поверхню одиниці маси матеріалу і складає для листя лавру благородного $13,55 \pm 0,22 \text{ г/см}^3$, для листя персеї американської – $14,52 \pm 0,19 \text{ г/см}^3$.

Визначення коефіцієнту поглинання екстрагенту для листя лавру благородного та листя персеї американської. Коефіцієнт поглинання показує кількість розчинника, що заповнює пори, вакуолі та міжклітинні повітряні порожнини в сировині та не вилучається зі шроту. Коефіцієнт поглинання розраховували за різницею об'єму, яким заливали відому наважку сировини, та об'ємом, що отримали після зливу, віджавши шрот [2].

В якості розчинника використовували воду очищену та обраний екстрагент для вилучення БАР листя – 70% етанол. Результати визначення коефіцієнтів поглинання приведені в таблиці 5.6.

Основні технологічні параметри листя лавру благородного та листя персеї американської також узагальнені в таблиці 5.6.

Таблиця 5.6

Основні технологічні параметри листя лавру благородного та листя персеї американської

№ з/п	Найменування технологічних параметрів	Од. виміру	Результати визначення	
			листя лавру благородного	листя персеї американської
1	втрата в масі при висушуванні	%	$6,16 \pm 0,06$	$10,32 \pm 1,21$
2	середній розмір часток	мм	$2,89 \pm 0,12$	$2,11 \pm 0,10$
3	питома маса	г/см ³	$1,32 \pm 0,07$	$1,09 \pm 0,09$
4	об'ємна маса	г/см ³	$0,43 \pm 0,04$	$0,71 \pm 0,04$
5	насипна маса	г/см ³	$0,40 \pm 0,03$	$0,49 \pm 0,04$
6	пористість сировини	-	$0,67 \pm 0,02$	$0,35 \pm 0,02$
7	порізність шару	-	$0,27 \pm 0,01$	$0,31 \pm 0,01$
8	вільний об'єм шару	-	$0,70 \pm 0,02$	$0,55 \pm 0,02$
9	питома поверхня часток	см ² /г	$13,55 \pm 0,22$	$14,52 \pm 0,19$
10	плинність	г/сек	∞	∞
11	коефіцієнт водопоглинання	мл/г	$3,78 \pm 0,10$	$4,12 \pm 0,10$
12	коефіцієнт поглинання 70% етанолу	мл/г	$2,75 \pm 0,10$	$3,05 \pm 0,10$

Таким чином, вперше для листя лавру благородного визначено основні технологічні параметри сировини, що будуть використані при розробці технології отримання субстанції.

5.2 Розробка технології одержання густого екстракту з листя лавру благородного

На підставі отриманих даних нами була розроблена технологія переробки сировини [52, 62], що складалася з послідовного отримання з листя методом мацерації екстракту та його концентрування до густого стану (волога не більше 25 %) [3,44,52].

5.2.1 Визначення ряду технологічних параметрів екстракції сировини

Позитивно впливають на вихід сполук фактори, що забезпечують вилучення максимальної кількості біологічно активних речовин з сировини. Тому їх необхідно враховувати при виборі оптимальних умов екстрагування. Це, в першу чергу, метод екстрагування (мацерація, дрібна мацерація, перколяція тощо), вид екстрагенту, загальне співвідношення сировина-розчинник та кратність зливів, умови екстракції (температурний режим, динамічні чи статичні умови тощо).

5.2.1.1 Вибір оптимального розчинника для екстрагування БАР

Для визначення оптимального екстрагенту для розробки технології одержання густого екстракту з досліджуваної сировини ми використовували розчинники, що найповніше відповідають вимогам до екстрагентів, найдоступніші та широко використані у фітохімічній галузі: вода очищена та водний етанол різної концентрації. Критеріями оцінки виступали вихід екстрактивних речовин (за методикою ДФУ 2.0) [7] та вихід суми поліфенолів,

суми гідроксикоричних кислот та суми флавоноїдів [13]. Нами була досліджена закономірність вилучення екстрактивних речовин та різних груп фенольних сполук (суми поліфенолів, суми гідроксикоричних кислот та суми флавоноїдів) з листя лавру благородного в залежності від використаного екстрагенту та номеру зливу витяжки. Отримані для листя дані узагальнені у таблицях 5.7-5.8.

Таблиця 5.7

Динаміка екстрагування екстрактивних речовин, суми поліфенолів, суми гідроксикоричних кислот та суми флавоноїдів з листя лавру благородного в залежності від використаного екстрагенту та номеру зливу ($m=5$, %, у розрахунку на абсолютно суху сировину)

Екстрагент	Вихід екстрактивних речовин	Кількісний вміст суми поліфенолів в перерахунку на пірогалол у	
		I зливі	II зливі
Вода	32,10±0,16	3,64 ± 0,06	2,98±0,13
10 % етанол	31,01±0,31	4,52 ± 0,08	2,06 ± 0,05
20 % етанол	27,90±0,32	5,39 ± 0,07	2,61 ± 0,04
30 % етанол	29,42±0,30	6,80 ± 0,17	2,67 ± 0,06
40 % етанол	24,03±0,22	14,68 ± 0,16	2,67 ± 0,07
50 % етанол	29,69±0,16	14,56 ± 0,16	5,18 ± 0,11
60 % етанол	30,22±0,11	11,94 ± 0,16	1,66 ± 0,06
70 % етанол	31,49±0,22	16,53 ± 0,19	4,65 ± 0,09
80 % етанол	28,49±0,16	10,88 ± 0,17	3,56 ± 0,07
90 % етанол	19,90±0,22	15,21 ± 0,17	3,92 ± 0,07
96 % етанол	18,75±0,19	12,97 ± 0,13	5,01 ± 0,07

Таблиця 5.8

Вихід суми гідроксикоричних кислот та суми флавоноїдів з листя лавру благородного в залежності від використаного екстрагенту та номеру зливу (m=5, %, у розрахунку на абсолютно суху сировину)

Використаний екстрагент	Вихід			
	суми гідроксикоричних кислот		суми флавоноїдів	
	I зливі	II зливі	I зливі	II зливі
Вода	0,98 ± 0,03	0,49 ± 0,03	1,35 ± 0,04	0,48 ± 0,02
10 % етанол	1,20 ± 0,04	1,01 ± 0,05	1,76 ± 0,05	0,93 ± 0,04
20 % етанол	1,36 ± 0,05	0,51 ± 0,04	1,88 ± 0,05	1,21 ± 0,06
30 % етанол	1,42 ± 0,04	0,69 ± 0,04	2,38 ± 0,05	1,24 ± 0,06
40 % етанол	1,38 ± 0,03	0,72 ± 0,03	2,01 ± 0,07	1,27 ± 0,07
50 % етанол	1,91 ± 0,09	0,79 ± 0,04	2,57 ± 0,09	1,45 ± 0,07
60 % етанол	1,75 ± 0,07	0,55 ± 0,04	3,12 ± 0,07	1,65 ± 0,06
70 % етанол	2,39 ± 0,08	1,03 ± 0,06	3,41 ± 0,07	1,72 ± 0,05
80 % етанол	1,67 ± 0,07	0,65 ± 0,04	3,28 ± 0,07	1,34 ± 0,05
90 % етанол	2,10 ± 0,07	0,89 ± 0,05	3,34 ± 0,08	1,10 ± 0,04
96 % етанол	1,92 ± 0,07	0,65 ± 0,05	1,92 ± 0,04	1,15 ± 0,05

5.2.1.2 Визначення оптимального співвідношення сировина – екстрагент

Співвідношення сировина-екстрагент було обрано експериментальним шляхом. Брали наважки сировини (100,0 г) з точністю до 0,01 г, подрібненої до 1 мм. Використовували метод дрібної мацерації (2 зливи, екстрагування при кімнатній температурі, кожна екстракція протягом 12 год). В якості екстрагенту для листя використовували 70% етанол.

Одержані екстракти об'єднували, відстоювали протягом 12 год, відфільтровували від осаду баластних речовин. Вміст екстрактивних речовин та

суми поліфенолів у екстрактах, одержаних при різному співвідношенні сировини до екстрагенту, наведено у таблиці 5.9.

Дані таблиці 5.9 свідчать, що спостерігається прямо пропорційна залежність: в процесі збільшення співвідношення сировина-екстрагент збільшується вихід екстрактивних речовин та суми поліфенолів.

Не зважаючи на цю закономірність, співвідношення 1:5 приводило до досить низького виходу як екстрактивних речовин, так і суми поліфенолів в екстрактах, можливе збільшення ж співвідношення до 1:20 та 1:25 економічно недоцільне внаслідок незначного збільшення виходу екстрагованих речовин.

Таблиця 5.9

Вибір оптимального співвідношення сировина-готовий продукт для листя лавру благородного ($m=5$, в %, у перерахунку на абсолютно суху сировину)

№ з/п	Співвідношення сировина-готовий продукт	Вміст	
		екстрактивних речовин	суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол
1	1:5	24,44±0,15	9,87±0,03
2	1:10	27,32±0,03	14,44±0,05
3	1:15	29,17±0,03	15,35±0,04

Таким чином, для листя лавру благородного оптимальним є співвідношення сировини до готового продукту як 1:10.

При цьому співвідношенні вихід суми поліфенолів становив половину від екстрактивних сполук сировини.

5.2.1.3 Визначення оптимального часового терміну екстрагування

Оптимальний часовий термін настоювання визначали шляхом мацерації листя лавру благородного при кімнатній температурі протягом 6 год, 12 год, 18 год, 24 год та 30 год. Результати визначення виходу екстрактивних речовин та суми поліфенолів наведено у таблиці 5.10.

Таблиця 5.10

Динаміка виходу екстрактивних речовин та суми поліфенолів з листя лавру благородного в залежності від часового терміну екстракції ($m=5$, в %, у перерахунку на абсолютно суху сировину)

Часовий термін екстракції, год	Вихід	
	екстрактивних речовин	суми поліфенолів в перерахунку на пірогалол
6	$10,66 \pm 0,76$	$4,21 \pm 0,18$
12	$19,48 \pm 0,92$	$6,70 \pm 0,28$
18	$22,42 \pm 1,06$	$10,85 \pm 0,29$
24	$25,56 \pm 1,23$	$14,95 \pm 0,27$
30	$27,45 \pm 1,28$	$15,96 \pm 0,29$

Таким чином, для одержання витяжок з листя лавру благородного оптимальним є час настоювання сировини протягом 24 год.

5.2.2 Відпрацювання технологічних параметрів одержання густого екстракту з листя лавра благородного

Найстарішими та найпоширенішими лікарськими формами, що застосовані офіційною медициною є настойки і екстракти.

В багатьох державах вони мають фармакопейний статус, і тому у наш час ці лікарські форми не втратили актуальності, постійно осучаснюються, мають високий комплаєнс та низьку себе вартість.

Стаття «Екстракти», яка об'єднала у собі дві статті «Настойки» і «Екстракти», введена у 2005 року до Доповнення 1 Державної фармакопеї України I видання [14], при цьому вона також була гармонізована з Європейською фармакопеею і має національні вимоги [23].

Таким чином, процес одержання препарату, а саме густого екстракту із перспективного виду ЛРС – листя лавру благородного, є попередньо валідованим.

Зважаючи на вище наведене, наступним кроком нашої роботи явилася розробка, відповідно до сучасних вимог, технологічних параметрів отримання густого екстракту із ЛРС, призначеного для лікування і профілактики таких захворювань як гнійні рани, виразки, запалення тощо (див. розділ 5, п. 5.4).

Концентрацію екстрагенту нами визначено як 70% етанол, тому що даний розчинник вилучає оптимальну кількість екстрактивних речовин та суми поліфенолів (див. розд. 5.2.1-5.2.3), а також зважаючи на спрямованість дії лікарського засобу (густой екстракт), що розробляється, спосіб і тривалість застосування.

Для одержання препарату нами пропонується використати співвідношення сировина-екстрагент (1:10).

Додатково необхідно було визначити ступінь вилучення екстрактивних речовин та діючих речовин 65% і 75% етанолом (як критичні при отриманні екстрагенту) та провести напрацювання 3 серій густого екстракту у відповідності до ДФУ 2.0 [14].

У зв'язку з поставленою задачею нами була вивчена ступінь вилучення БАР із сировини в залежності від концентрації спирто-водної суміші, часу настоювання і ступеня подрібнення сировини (таблиця 5.11).

Таблиця 5.11

**Ступінь вилучення БАР із сировини в залежності від концентрації
спирто-водної суміші і часу настоювання**

Екстрагент	Термін екстракції, год,	Вихід екстрактивних речовин у витяжці, %, в розрахунку на 100 мл екстракту		
		Ступінь подрібнення сировини		
		3 мм	5 мм	7 мм
65 % етанол	12	4,88±0,18	4,77±0,17	4,53±0,16
	24	5,15±0,20	4,95±0,19	4,75±0,15
	36	5,19±0,20	5,03±0,17	4,87±0,16
	48	5,15±0,20	5,04±0,18	4,91±0,19
70 % етанол	12	4,72±0,16	4,54±0,14	4,19±0,13
	24	4,95±0,18	4,72±0,18	4,53±0,17
	36	5,02±0,16	4,90±0,16	4,68±0,16
	48	5,09±0,17	4,77±0,17	4,70±0,15
75 % етанол	12	4,47±0,15	4,32±0,15	4,19±0,15
	24	4,64±0,15	4,48±0,14	4,38±0,17
	36	4,67±0,14	4,71±0,15	4,40±0,16
	48	4,76±0,18	4,58±0,15	4,49±0,15

Насипна маса: 400 г/л

Екстрагент готували відповідно до ДФУ 2.0

Співвідношення сировина-готовий продукт – 1:10

Температура: 20-25°C

Спосіб екстракції: мацерація (12-48 год)

Фільтрація самопливом через фільтрувальний папір.

Аналізуючи отримані дані можна зробити висновок, що оптимальним часом екстракції є 24 години, ступінь подрібнення сировини 3-5 мм. Зміна концентрації спирту етилового в межах 65-75 % істотного впливу на вихід

екстрактивних речовин не має.

Таким чином, обрано найкращі параметри отримання густого екстракту листя лавру благородного. Оптимальний екстрагент – 70 % етанол, співвідношення сировина-екстрагент 1:10, кратність зливів – 2, загальний час екстрагування – 24 год, температура процесу – 25 °С, критеріями оцінки обрано – вихід екстрактивних речовин, вихід суми поліфенолів, суми гідроксикоричних кислот та суми флавоноїдів. На основі проведеної роботи розроблено технологію одержання густого екстракту з листя лавра благородного, вихід субстанції у перерахунку на повітряно-суху сировину становив 20,5 %. Узагальнену технологічну схему зображено на рис. 5.1. Також нами одержано настійку пагонів лавру благородного (мацерацією протягом доби при співвідношенні сировина- продукт 1:5, екстрагент 70 % спирт етиловий).

5.3 Визначення основних показників листя лавра благородного та густого екстракту з досліджуваної сировини

5.3.1 Розробка розділів проекту Методів контролю якості на листя лавра благородного

Для стандартизації було визначено ряд числових показників 5 серій листя лавра благородного, що заготовлені в природних та штучних умовах протягом 2019-2021 років.

Ідентифікація А.

Листя просте короткочерешкове. з цільною листковою пластинкою. Листкова пластинка шкіряста, шорстка, гола, вузько- або широколанцетна, край цільний, трохи потовщений та напівпрозорий, основа вузько- або ширококлиноподібна, верхівка гостра або гострокінцева, згори темно-зеленого кольору блискуча, з ледь опуклими жилками, що утворюють перисто-сітчасту інервацію. Жилки за кольором набагато світліші, жовтувато-салатного кольору, матові.

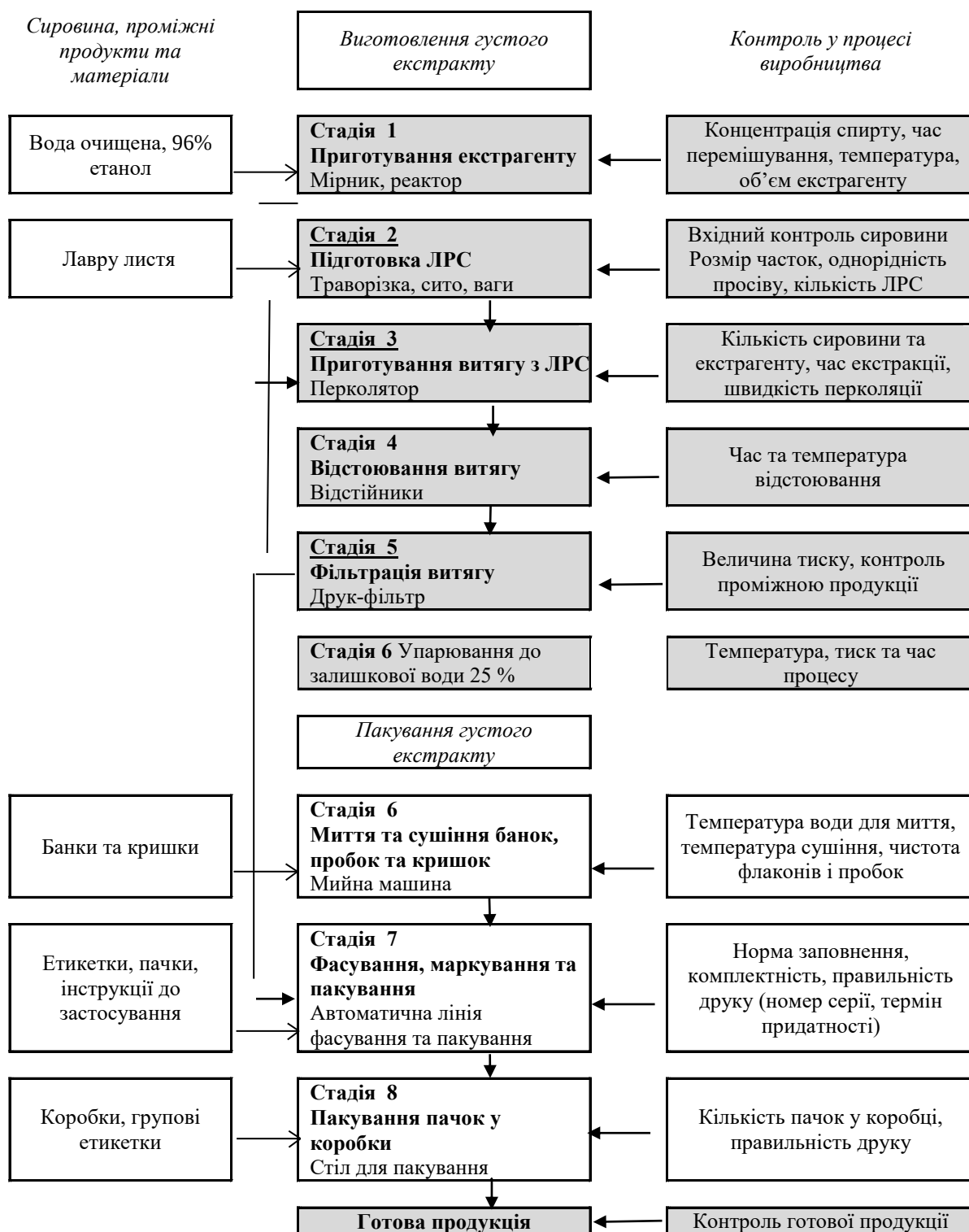


Рис. 5.1 Технологічна схема одержання лавра благородного листя густого екстракту

Зісподу листкова пластинка матова та за кольором набагато світліша за верхній бік – сіро-світлозелена. Жилки опукліше з нижнього боку ніж з верхнього.

Листкова пластинка 4-15 см завдовжки та 3-6 см завширшки. Черешок до 1,5 см завдовжки, більш-менш звивистий.

Ідентифікація В.

За ДФУ 2.0 т. 3 п. 2.2.13. Листя дорзівентрального типу будови, гіпостоматичне. Верхня епідерма утворена паренхімними, багатокутними (переважно чотирикутними) прямокутними клітинами. Оболонки злегка потовщені. Присутня розвинена кутикула.

Нижня епідерма відрізняється від верхньої більш звивистими оболонками клітин. Тип продихів аномоцитний, продихи дуже часті. Епідерма над жилкою представлена прозенхімними клітинами, продихи відсутні. На поперечному зрізі центральна жилка куляста, опукла з обох боків, це більш виражено з верхнього боку. Клітини епідерми з розвиненою кутикулою. В центральній жилці майже відсутній фотосинтезуючий мезофіл. Безпосередньо під епідермою розміщено коленхіматозну дрібноклітинну тканину з рівномірно потовщеними оболонками. Центральна жилка однопучкова, пучок за формою злегка подовжений в горизонтальному напрямку. Провідні та механічні тканини пучка досить розвинені. Ксилема пучка центральної жилки віялоподібна, провідні тканини розміщені одно-, дворядно та чергуються з ланцюгами механічної тканини. Черешок, як й центральна жилка, однопучковий. Епідерма черешка без продихів, клітини за будовою схожі з клітинами епідерми центральної жилки. У ребрах черешка розташована коленхіма, субепідермально розміщено коленхіматозну паренхіму, більш розвинену з нижнього боку.

Опушення одноклітинними простими волосками присутнє на верхніх епідермах центральної жилки та черешка.

Ідентифікація С.

Метод ТШХ. ДФУ 2.0 т.3 п. 2.8.23.

Випробовуваний розчин. До 1.0 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 10 мл суміші рівних об'ємів *води Р* і *метанолу Р*, нагрівають на водяній бані при температурі 65 °С протягом 30 хв і фільтрують. Розчин порівняння. 5 мг *катехіну Р* розчиняють у 5 мл *метанолу Р*.

Пластика: ТШХ пластика із шаром силікагелю Р ((2-10) мкм). Рухома фаза: вода Р - мурашина кислота безводна Р - етилацетат Р (5:10:85).

Об'єм проб: 2 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 7 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: обробляють *анісового альдегіду розчином Р*, нагрівають при температурі 100-105 °С протягом 5 хв і переглядають при денному світлі.

Результати: На хроматограмах розчину порівняння та випробовуваного розчину повинна бути зона коричневого кольору, що відповідає катехіну. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші слабкі зони.

2. Випробування.

2.1. Сторонні домішки(ДФУ 2.0, т.3, 2.8.2). Не більше 3 % почорнілих і побурілих листків, не більше 5 % стебел і не більше 2 % інших сторонніх домішок. Сировина не має містити дрібних (менше 4 см у довжину) листків молодих пагонів. Визначення проводять із 30 г сировини.

2.2. Втрата в масі при висушуванні (ДФУ 2.0, т.3, 2.2.32). 1.000 г здрібненої на порошок сировини сушать при температурі 105 °С протягом 2 год. Не більше 12,0 %.

2.3. Загальна зола (ДФУ 2.0, т.3, 2.4.16). Не більше 5,0 %.

3. Кількісне визначення

3.1. Сума поліфенолів згідно монографії ДФУ 2.0 «Деревію трава»^N.

Випробовуваний розчин. 1000.0 мг здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) поміщають у круглодонну колбу місткістю 250 мл, додають 150 мл *води Р*, нагрівають протягом 30 хв на водяній бані, охолоджують під проточною водою та кількісно переносять у мірну колбу місткістю 250 мл. Круглодонну колбу обполіскують *водою Р*, промивні води переносять у мірну колбу та доводять об'єм розчину *водою Р* до 250.0 мл. Дають осадити та рідину фільтрують крізь фільтрувальний папір діаметром 125 мм, відкидаючи перші 50 мл фільтрату. 5.0 мл одержаного фільтрату доводять *водою Р* до об'єму 25.0 мл.

До 2.0 мл одержаного розчину додають 1.0 мл *фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р*, 10.0 мл *води Р*, перемішуючи після кожного додавання, та доводять *натрію карбонату розчином Р* до об'єму 25.0 мл. Через 30 хв вимірюють оптичну густину (2.2.25) розчину за довжини хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційну рідину воду Р.

Розчин порівняння. Безпосередньо перед випробуванням 50.0 мг ФСЗ ДФУ пірогалолу розчиняють у *воді Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100.0 мл. 5.0 мл одержаного розчину доводять *водою Р* до об'єму 100.0 мл. До 2.0 мл одержаного розчину додають 1.0 мл *фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р*, 10.0 мл *води Р*, перемішуючи після кожного додавання, та доводять *натрію карбонату розчином Р* до об'єму 25.0 мл. Через 30 хв вимірюють оптичну густину (2.2.25) розчину за довжини хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційну рідину *воду Р*.

Вміст суми поліфенолів, у перерахунку на пірогалол, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{62,5 \times A_i \times m_2 \times P}{A_0 \times m_1 \times 100}$$

A_i — оптична густина випробовуваного розчину,

A_0 — оптична густина розчину порівняння,

m_1 — маса наважки випробовуваної сировини, у міліграмах,

m_2 — маса наважки ФСЗ ДФУ пірогалолу, у міліграмах,

P — вміст пірогалолу у ФСЗ ДФУ пірогалолу, у відсотках

Вміст суми поліфенолів має бути не менше 6 %.

3.2. Визначення вмісту ефірної олії (ДФУ 2.0, т.3, 2.8.12). Визначення проводять як зазначено у статті (2.8.12). Використовують 10.0 г свіжорізанної сировини, круглодонну колбу місткістю 500 мл, 200 мл *води Р* і 100 мл *гліцерину Р* як дистиляційну рідину та 0.5 мл *ксилолу Р* у градуйованій трубці. Перегонку проводять зі швидкістю (2-3) мл/хв протягом 2 год.

Вміст ефірної олії має бути не менше 3,2 %.

Упаковка. Здрібнену сировину упаковують у мішки з тканини за ГОСТ 30090-93 або у мішки лляно-джуто-кенафні за ГОСТ 30090-93 не більше 20 кг нетто.

Маркування. На етикетці мішка українською мовою вказують «Україна», «Розробка НФаУ, Харків», його товарний знак та адресу, назву сировини українською та латинською мовами, масу сировини нетто при вологості 10 %, умови зберігання, номер партії, термін придатності.

Транспортування у відповідності до ГОСТ 14192-96.

Зберігання. Зберігати в оригінальній упаковці при температурі не вище 25 С в сухому захищеному від світла місці окремо від інших видів сировини.

Термін придатності. 2 роки.

Антимікробний, антиоксидантний засіб.

5.3.2 Розробка проєкту Методів контролю якості лавра благородного листя густого екстракту

Для стандартизації було визначено ряд числових показників 5 серій густого екстракту з листя лавра благородного, напрацьованих у лабораторних умовах із сировини 2019-2021 рр. заготівлі.

1. Виробництво. Екстракт виробляють з лікарської рослинної сировини підходящим методом, використовуючи *етанол 70 % (об/об) Р*.

2. Опис. Зелено-коричнева густа в'язка маса з вираженим ароматним запахом.

3. Ідентифікація С.

Метод ТШХ. Випробовуваний розчин. До 1.0 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 10 мл суміші рівних об'ємів *води Р* і *метанолу Р*, нагрівають на водяній бані при температурі 65 °С протягом 30 хв і фільтрують. Розчин порівняння. 5 мг *катехіну Р* розчиняють у 5 мл *метанолу Р*.

Пластика: ТШХ пластика із шаром *силікагелю Р ((2-10) мкм)*. *Рухома фаза:* *вода Р - мурашина кислота безводна Р - етилацетат Р (5:10:85)*.

Об'єм проб: 2 мкл, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 7 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: обробляють *анісового альдегіду розчином Р*, нагрівають при температурі (100-105) °С протягом 5 хв і переглядають при денному світлі.

Результати: На хроматограмах розчину порівняння та випробовуваного розчину повинна бути зона коричневого кольору, що відповідає катехіну.

На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші слабкі зони.

4. Випробування.

5. Втрата в масі при висушуванні (ДФУ 2.0, т.3, 2.8.17). 1.000 г густого екстракту сушать при температурі 105 °С протягом 2 год. Втрата в масі при висушуванні має бути не більше 25,0 %.

Важкі метали. Визначали за методикою ДФУ 2.0 [55]. 0,5 г лавра листя екстракту густого нагрівали до сухого залишку. До залишку додавали 1 мл *кислоти сірчаної Р*, обережно спалювали у тиглі і прожарювали на піщаному нагрівнику. До одержаного залишку додавали при нагріванні 5 мл розчину 615 г/л *амонію ацетату Р*, фільтрували крізь беззольний фільтр, промивали 5 мл води очищеної і доводили об'єм фільтрату *водою Р* до 100 мл.

До 12 мл одержаного розчину додавали 2 мл буферного розчину рН 3,5 і перемішували. До 1,2 мл реактиву тіоацетаміду додавали отриману суміш і негайно перемішували.

Паралельно за тих самих умов готували еталон, використовуючи замість 12 мл випробовуваного розчину суміш 10 мл еталонного розчину плюмбуму (*1 ppm або 2 ppm Pb*) і 2 мл випробовуваного розчину.

Готували контрольний розчин, використовуючи суміш 10 мл води очищеної і 2 мл випробовуваного розчину. Порівняно з контрольним розчином еталон мав світло-коричневе забарвлення, Через 2 хв коричневе забарвлення розчину, що випробувався, не було інтенсивнішим за забарвлення еталону.

Вміст важких металів – не більше 0,001 %.

Об'єм вмісту пакування. Випробування проводили з 10 банок за допомогою шпателя та ваг.

Маса вмісту пакування має бути від 47 г до 53 г.

Мікробіологічна чистота. Методика випробування відповідає вимогам ДФУ 2.1. (2.6.12, 2.6.13, N).

Дослідження проводилися під керівництвом професора кафедри клінічної імунології та мікробіології ХМАПО, д.мед.н., проф. Савінової Олени Михайлівни.

Перевірку придатності методики проведено відповідно до вимог ДФУ 2.0 (2.6.12, 2.6.13).

Для перевірки придатності методики використовували наступні штами тест-мікроорганізмів: *Bacillus cereus* ATCC 10702; *Escherichia coli* ATCC 25922; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *Salmonella typhimurium* ATCC 55; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027; *Candida albicans* ATCC 885-653 та *Aspergillus niger* ATCC 16404.

Густий екстракт в умовах випробування на мікробіологічну чистоту, зазначених в ДФУ 2.0 (висівання на живильні середовища із розведення препарату 1:10 в фосфатному буферному розчині з натрію хлоридом і пептоном рН 7,0) виявляла антимікробну дію по відношенню до тест-штамів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (на густому живильному середовищі № 1 та на рідкому живильному середовищі № 8), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (на рідкому живильному середовищі № 8), та не проявляла антимікробну дію по відношенню до тест-мікроорганізмів *Bacillus cereus* ATCC 10702 (на густому живильному середовищі № 1), *Escherichia coli* ATCC 25922 (на густому живильному середовищі № 1 та рідкому живильному середовищі № 3), *Salmonella typhimurium* 55 (на рідкому живильному середовищі № 3), *Candida albicans* ATCC 885-653 (на густому живильному середовищі № 2) та *Aspergillus niger* ATCC 16404 (на густому живильному середовищі № 2).

Готували зразок препарату для перевірки придатності методики визначення загального числа життєздатних аеробних мікроорганізмів (як

зазначено в методиці), але для підготовки зразка використовували фосфатний буферний розчин з натрію хлоридом і пептоном рН 7,0, що містив 30 г/л полісорбату-80, та від 10 до 100 КУО/мл монокультур кожного з тест-мікроорганізмів відповідно до вимог ДФУ 2.0 (2.6.12., N).

На живильні середовища висівали підготовлені зразки як зазначено в методиці. Підраховували число колоній тест-мікроорганізмів на чашках Петрі, в присутності та відсутності випробуваного зразка, після проведення інкубації посівів.

5. Кількісне визначення

Сума поліфенолів згідно монографії ДФУ 2.0 «Деревію трава»^N[9].

Вихідний розчин. 0,5 г густого екстракту розчиняють у *етанолі 70 % (об/об) Р* та доводять об'єм до 100 мл *етанолом 70 % (об/об) Р*.

Випробовуваний розчин. До 1,0 мл випробуваного розчину додають 1,0 мл *фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р*, 10,0 мл *води Р*, перемішуючи після кожного додавання, та доводять *натрію карбонату розчином Р* до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірюють оптичну густину (2.2.25) розчину за довжини хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційну рідину воду *Р*.

Розчин порівняння. Безпосередньо перед випробуванням 50,0 мг ФСЗ ДФУ пірогалолу розчиняють у *воді Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл. 5,0 мл одержаного розчину доводять *водою Р* до об'єму 100,0 мл. До 2,0 мл одержаного розчину додають 1,0 мл *фосфорномолібденово-вольфрамового реактиву Р*, 10,0 мл *води Р*, перемішуючи після кожного додавання, та доводять *натрію карбонату розчином Р* до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірюють оптичну густину (2.2.25) розчину за довжини хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційну рідину *воду Р*.

Вміст суми поліфенолів, у перерахунку на пірогалол, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A_1}{A_0} \cdot \frac{V_1}{m_1} \cdot \frac{25}{5} \cdot \frac{10}{2} \cdot \frac{m_0}{100} \cdot \frac{5}{100} \cdot \frac{2}{10} \cdot \frac{P}{100} \cdot 100\%$$

де,

A_1 – оптична густина випробовуваного розчину

A_0 – оптична густина пірогалолу розчину

m_1 – маса випробовуваного зразка, у грамах (сировина, екстракт, якщо настояйка то V);

m_2 – маса пірогалолу, у грамах.

V_1 – об'єм витягу

P - вміст пірогалолу у ФСЗ ДФУ пірогалолу, у відсотках (у нас 99,9%).

Вміст суми поліфенолів має бути не менше 1,2 %.

Упаковка. По 100 мл у банки скляні типу БВ 100-ВГС за ТУ У00333888,003-98, закупорені кришками закупорювально-нагвинчуваними з контролем першого розкриття типу 1.4В-27 за ТУ У1904660-01-97 або кришками алюмінієвими з перфорацією типу К-4-28 за ТУ У14257180.001-96. На банки наклеюють етикетки з клеючим шаром за ТУ У13399860.002-99. Кожну банку разом з інструкцією з медичного застосування або листком-вкладишем вкладають в пачку з картону для споживчої тари підгрупи хром-ерзац за ГОСТ 7933-89 або картону хром-ерзац за ТУ 13-0281020-97-90. Допускається текст інструкції з медичного застосування або листка-вкладиша наносити на пачку. Групова і транспортна упаковка у відповідності з ГОСТ 17768-90.

Маркування. На етикетці та пачці українською мовою або іншою доступною мовою зазначають: «Україна», установу, її товарний знак та адресу, «Розробка ...», назву препарату латинською і українською мовами або латинською та іншою доступною мовами, назву рослини, що використовують для виготовлення препарату, її кількість за прописом виготовлення препарату. «Засіб, що застосовується при ...», вагу препарату у грамах, умови зберігання, реєстраційний номер, номер серії, термін придатності, штриховий код. На пачці додатково вказують спосіб застосування та дози. На етикетці банки допускається не вказувати адресу підприємства, назва рослини, що використовують для виготовлення препарату, та штриховий код. На пачці має бути товарний знак із написом «Гарантія якості» та стікер, які є елементами захисту. На етикетці групової тари українською мовою або іншою доступною

мовою зазначають: «Україна», «м. ...», установу, її товарний знак та адресу, назву препарату українською мовою або іншою доступною мовою, прізвище або номер пакувальника, номер серії, кількість упаковок. Транспортне маркування відповідно до ГОСТ 14192-77.

Транспортування, Відповідно до ГОСТ 17768-90.

Зберігання, Зберігати у захищеному від світла та недоступному для дітей місці, при температурі не вище 25°C.

Термін придатності. 2 роки.

Антимікробний, антиоксидантний засіб.

5.4 Дослідження біологічної активності субстанцій з сировини лавра благородного

5.4.1 Дослідження спектру антимікробної активності густого екстракту з листя лавра благородного та настойки пагонів лавра благородного

Зважаючи на значний відсоток у сировині та у засобі таких сполук як фенольні, що можуть зумовити такі види дії як антиоксидантна, протимікробна, протизапальна тощо, ми вирішили визначити деякі аспекти біологічної дії густого екстракту з листя лавра благородного [46,48,62]. Вивчали антимікробну активність густого екстракту методом дифузії в агар по відношенню до наступних мікроорганізмів: *S.aureus* ATCC 25923 та *S.aureus* ATCC 6538, *E.coli* ATCC 25922, *P.vulgaris* 4636, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *P.aeruginosa* ATCC 9027, *B.subtillis* ATCC 6633, *C.albicans* ATCC 885/653, *S. pyogenes* Dick-1 x42i. Дослідження антимікробної активності настойки проводилися під керівництвом професора кафедри клінічної імунології та мікробіології ХМАПО, д.мед.н., проф. Савінової Олени Михайлівни. При оцінюванні антибактеріальної активності застосовували наступні критерії: – мікроорганізм нечутливий до засобу; – зони затримки росту відсутні або діаметр не більше 10 мм – мала чутливість, діаметр

затримки росту 10-15 мм; – мікроорганізм чутливий до засобу, діаметр зон затримки росту 15-25 мм; – висока чутливість, діаметр зон затримки росту більше 25 мм.

При проведенні дослідження протимікробної активності було встановлено, що густий екстракт листя виявив активність в дозі 0,5 мл по відношенню до *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538, *S. pyogenes* Dick-1, а густий екстракт пагонів в дозі 0,5 мл - по відношенню до *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538 (таблиця 5.12).

Таблиця 5.12

Спектр антимікробної активності густого екстракту листя та настійки пагонів лавру благородного

№ з/п	Об'єкти дослідження	Діаметри зон затримки росту тест-штамів мікроорганізмів, мм								
		<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Candida albicans</i> ATCC 855/653	<i>S. pyogenes</i> Dick-1
1	Густий екстракт листя лавра благородного (1 % розчин)	11,8±0,6	11,6±0,7	-	-	12,0±0,9	-	-	12,0±0,9	
2	Густий екстракт листя лавра благородного (5 % розчин)	22,4±1,4	20,8±1,0	11,8±0,6	-	17,8±1,0	12,8±0,8	11,8±0,6	15,0±0,9	18,2±0,6
3	Густий екстракт листя лавра благородного (10% розчин)	25,0±0,9	22,4±0,6	21,8±1,0	-	21,8±1,0	18,8±0,7	15,6±0,4	17,5±0,6	21,4±1,4
4	настійка пагонів лавра звичайного (0,2 мл)	10,5±0,6	10,2±0,7	-	-	-	-	-	-	-

Примітка: - - відсутня зона затримки росту мікроорганізмів

Методом дифузії в агар досліджено протимікробну активність листя лавру благородного екстракту густого у концентрації 1 %, 5 % та 10 % (розчинник 70 % етанол). Як референс-препарат використовували обраний для отримання субстанції екстрагент – 70 % етанол. Густий екстракт листя лавру благородного у розчинах концентрації 10 % та 5 % пригнічував ріст практично усіх досліджуваних штамів мікроорганізмів (окрім *Proteus vilgaris*). Густий екстракт був ефективним у концентрації розчину 1 % лише по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* та *Candida albicans*. Найзначнішу затримку зон росту усіх штамів було зафіксовано при використанні 10 % розчину листя лавру благородного екстракту густого. Найвразливішими до дії листя лавру благородного екстракту густого у цій концентрації були штами *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pyogenes* та *Pseudomonas aeruginosa*, зона затримки росту яких становила більше 22,0 мм. Загалом спостерігається наступна закономірність прямо пропорційна кореляція – концентрація розчину густого екстракту листя лавру благородного – розмір зони затримки росту штаму мікроорганізму.

5.4.2 Дослідження антиоксидантної дії густого екстракту з листя лавру благородного

Антиоксидантну активність отриманого густого екстракту з листя лавру вивчали *in vitro* за допомогою стабільного радикалу 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl – DPPH $\cdot$). Тест-системи з використанням DPPH $\cdot$ гарно відпрацьовані, більш продуктивні та прості у здійсненні досліджень.

На жаль, незважаючи на широку застосованість та експресність, цей метод має ряд обмежень методу. По-перше, він дає лише загальну картину про вплив природних, в тому числі рослинних, зразків на нейтралізацію стабільного вільного радикалу – тому дає можливість оцінити антиоксидантну активність

тільки в першому наближенні, тобто це досить низька інформативність результатів. Питання про співвідношення отриманих даних до дійсної можливості рослинних субстанцій інгібувати окиснювані процеси не є кінцево вирішеним [46,62].

По-друге, неповна розчинність барвника в 80% розчині етанолу (осад у вигляді часток, які бажано розтирати у ступці) і необхідність фільтрування отриманого розчину, призводить до практичної неможливості одержати дійсно тотожні розчини DPPH $\cdot$ з однаковою оптичною густиною, тобто це знижує відтворюваність та чутливість дослідів. Крім того, взаємодія DPPH $\cdot$ з деякими фенолами є частково зворотною, що може призвести до того, що одержані результати визначення нейтралізації DPPH $\cdot$ будуть не відповідати дійсності та можуть бути заниженими.

Метанольний розчин радикалу готували шляхом розчинення 4 мг DPPH у 100 мл метанолу і використовували впродовж робочої доби. Визначення антиоксидантної активності отриманої субстанції проводили у дозі 0,02 мл 50 % розчину, що у перерахунку на сухий залишок становило 400 мкг/мл, а препарату порівняння аскорбінової кислоти – 2,8 мкг/мл. Оптичну гуштину визначали при довжині хвилі 517 нм [7].

Антиоксидантна активність густого екстракту складала $78,50 \pm 1,54\%$.

Висновки до розділу 5

1. Встановлено технологічні параметри (втрата в масі при висушуванні, середній розмір часток, питота, об'ємна, насипна маси, пористистість сировини, порізність шару, вільний об'єм, питома поверхня часток, плинність, коефіцієнти поглинання води та 70% етанолу) листя лавру благородного та листя персеї американської.

2. Визначено оптимальні параметри технологічного процесу та розроблено технологію отримання густого екстракту з листя лавру благородного, яка полягає в наступному: оптимальний екстрагент – 70 % етанол, співвідношення сировина-екстрагент 1:10, кратність зливів – 2, час екстрагування 12 год, температура процесу – 25 °С. Критеріями оцінки обрано – вихід екстрактивних речовин не менше 20,5 %, вихід суми поліфенолів – не менше 1,2 %.
3. Доведено антимікробну та антиоксидантну дію густого екстракту з листя лавру благородного, що увійшло до патенту на корисну модель 151438 «Спосіб одержання лікарського засобу з антимікробною та антиоксидантною дією».
4. На підставі проведених досліджень обрано ряд додаткових критеріїв стандартизації, результати використано для розробки проєктів МКЯ «Лавру благородного листя» «*Lauri nobili Folia*» та «Лавру благородного листя екстракт густий» «*Lauri nobili Foliorum Extractum spissum*».

Результати експериментальних досліджень розділу наведено у таких публікаціях:

1. Вибір оптимального екстрагенту для вилучення фенольних сполук з листя *Laurus nobilis* L. І. Ю. Посохова, К. С. Скребцова, О. П. Хворост, Ю. А. Федченкова. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2021. № 19. С. 60-64. <https://doi.org/10.24959/ophcj.21.244366> (Особистий внесок здобувача – проведено пробопідготовку та експериментальні дослідження, узагальнено результати, оформлена стаття).
2. Посохова, І. В., Хворост О. П., Федченкова Ю. А. Встановлення закономірностей екстрагування різних груп БАР екстрагентами різної полярності з сировини лавра благородного та персеї американської. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : мат. II Міжнар. наук.-практ.

інтернет-конф., м. Харків, 11 берез. 2020 р. – Харків : НФаУ, 2020. – С. 143.

3. Определение оптимальных параметров технологии получения субстанций из перспективных видов растительного сырья / О. П. Хворост, И. Ю. Посохова, Б. С. Леонтьев, Е. Ю. Зудова. *Актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли*: мат. I ой Республиканской научно-практической конференции с международным участием (г. Ташкент, 25-26 апреля 2023 г. – Электрон. данные. – Ташкент: 2023. – С. 172. – название с тит. экрана.
4. Хворост О. П., Посохова І. Ю., Скребцова К. С. Спосіб одержання лікарського засобу з антимікробною та антиоксидантною дією: пат. на кор. мод. А 61 36/57 151438, Україна. № заявки а202106475; заявл. 17.11.2021; опубл. 27.07.2022, Бюл. № 30. (Особистий внесок – брала участь у патентному пошуку, одержанні лікарського рослинного засобу та оформленні патенту).

ВИСНОВКИ

У дисертації узагальнено експериментальні дослідження з вирішення наукового завдання, що полягало в системному фармакогностичному вивченні пагонів, листя, нестиглих плодів лавра благородного та листя персеї американської, розробці технології отримання густого екстракту з листя лавру благородного та встановленні його білогічної активності, стандартизації сировини та одержаного засобу.

1. Встановлено діагностичні ознаки морфологічної будови пагонів, листя, нестиглих плодів лавра благородного та листя персеї американської, також анатомічної будови пагонів, листя лавра благородного та листя персеї американської. Це лягло в основу розділів нормативної документації на найперспективніший вид рослинної сировини – проєкту МКЯ «*Lauri nobili Folia*» «Лавру благородного листя» та в перспективі - проєкту МКЯ «*Lauri nobili Cormus*» «Лавру благородного пагони» та проєкту МКЯ «*Perseae americanae Folia*» «Персеї американської листя».
1. Встановлено компонентний склад сполук, що переганялися з водяною парою, серій пагонів, серій листя та серії нестиглих плодів лавру благородного. Домінуючими речовинами серій пагонів були 1,8-цинеол (221,3 мг/кг та 199,5 мг/кг, відповідно), α -терпинілацетат (182,9 мг/кг та 247,3 мг/кг, відповідно).
2. Проведено дослідження компонентного складу та кількісного вмісту органічних кислот пагонів та листя, в тому числі жирних кислот пагонів, листя та нестиглих плодів, лавру благородного. Домінуючим компонентом органічних кислот була оксалатна (у пагонах $9834 \pm 6,51$ мг/кг та у листі $1106,52 \pm 5,13$ мг/кг, відповідно), з жирних кислот за вмістом переважала в пагонах ненасичена лінолева кислота ($38,14 \pm 0,05$ % від загальної суми), в

листі та нестиглих плодах – насичена пальмітинова кислота ($33,15 \pm 0,04$ % від суми, $36,89 \pm 0,09$ % від суми, відповідно).

3. Методом ВЕРХ визначено наявність хлорогенової кислоти в пагонах та листі лавру благородного. В листі винайдено не менш 4 сполук флавонового ряду, в нестиглих плодах винайдено також не менше 4 сполук, загальними для обох видів сировини є апігенін та ізокверцитрин ($0,035 \pm 0,005$ % та $0,014 \pm 0,002$ %, відповідно). В листі виявлено не менше 3 похідних флавану, в нестиглих плодах – не менше 4 сполук цієї групи БАР, загальними для обох видів сировини є епікатехін та епігалокатехін (домінуючий компонент епікатехін – в листі $1,32 \pm 0,01$ % та в нестиглих плодах $0,66 \pm 0,02$ %, відповідно).
4. В 3 серіях пагонів, 3 серіях листя та 1 серії нестиглих плодів визначений кількісний вміст поліфенолів у перерахунку на пірогалол становив не менше, відповідно, 3,2 %, 6,2 % та 4,3 %, суми кислот гідроксикоричних в перерахунку на хлорогенову кислоту – не менше 1,1 %, 1,9 % та 0,9 %, відповідно, суми флавоноїдів у перерахунку на гіперозид – не менше 1,2 %, 2,0 % та 2,6 %, відповідно, хлорофілів – не менше 316 мг/кг, 456 мг/кг та 309 мг/кг, відповідно, каротиноїдів – не менше 209 мг/кг, 312 мг/кг та 197 мг/кг, відповідно, та полісахаридів – не менше, 3,2 %, 4,3 % та 2,2 %, відповідно.
5. Встановлено наявність 19 елементів методом АЕС в пагонах, листі та нестиглих плодах лавра благородного, в яких за вмістом переважали калій, кальцій та силіцій.
6. Вперше визначено технологічні параметри листя лавру благородного, листя персеї американської та процесу одержання густого екстракту листя лавру благородного, обрано параметри стандартизації сировини та субстанції, доведено її антиоксидантну та антимікробну активність. Комплексом проведених досліджень створені передумови впровадження розробленого лікувального засобу в промислове виробництво. Розроблено проєкти методів контролю якості «Лавру благородного листя» «*Lauri nobili Folia*» та методів

контролю якості «Лавру благородного листя екстракт густий» «*Lauri nobili Foliorum Extractum spissum*».

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Атлас з анатомії рослин (рослинна клітина, тканини, органи): навч. посіб. для студентів вищ. навч. закладів / А. Г. Сербін та ін. Х. : Колорит. 2006. 86 с.
2. Бондаренко А. С., Дем'яненко Д. В., Гладух Є. В. Дослідження технологічних параметрів лікарської рослинної сировини при створенні сиропу для лікування застудних захворювань. *Вісник фармації*. 2011. № 3. С. 17–19.
3. Вибір оптимального екстрагенту для вилучення фенольних сполук з листя *Laurus nobilis* L./ І. Ю. Посохова, К. С. Скребцова, О. П. Хворост, Ю. А. Федченкова. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2021. № 19. С. 60-64.
4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Х.: РИРЕГ. 2001. 556 с.
5. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид., 1 допов. Х.: РИРЕГ. 2004. 494 с.
6. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид., 2 допов. Х.: Держ. п-во «Науковоекспертний фармакопейний центр». 2008. 620 с.
7. Державна Фармакопея України. В 3 т. / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 2-е вид. Т. 1. Х.: Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 2015. 1130 с.
8. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 2-е вид. Т. 3. Х.: Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 2014. 732 с.
9. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., 1 допов. Х.: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2016. 360 с.

- 10.Державний реєстр лікарських засобів України [Електронний ресурс].
Режим доступу: <http://www.drlz.com.ua/> (дата звернення 20.05.2022). Назва з екрана.
- 11.Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні на 2019 рік (Електронний ресурс). Режим доступу: <http://vobu.ua/ukr/agriculture/item/derzhavnyi-reiestr-sortiv-roslyn-prydatnykhdlia-poshyrennia-v-ukraini-na-2019-rik> (дата звернення 17.06.2022). Назва з екрана.
- 12.Дослідження компонентного складу ефірної олії нестиглих плодів *Laurus nobilis* L. української заготівлі. І. Ю. Посохова, О. П. Хворост, К. С. Скребцова, Ю. А. Федченкова. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2021. Т. 19. № 3(75). С. 47-52.
- 13.Дудченко Л. Г., Гарник Т. П., Шураєва Т. К. Збирання фітосировини . *Фітотерапія в Україні*. 1999. № 3-4. С. 58-65.
- 14.Екстракція рослинної сировини / Ю. І. Сидоров, І. І. Губицька, Р. Т. Конечна, В. П. Новіков. Львів : вид. Нац. універ-ту. 2008. 338 с.
- 15.Іосипенко О. О., Кисличенко В. С., Омельченко З. І. Визначення морфометричних показників листя кабачків. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: матеріали III міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26-28 листопада 2018 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2018. С. 85-87.
- 16.Іосипенко О. О., Кисличенко В. С., Омельченко З. І. Динаміка вилучення екстрактивних речовин з листя кабачків. *Фармакоєкономіка в Україні: стан та перспективи розвитку*: матеріали XI наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 24 травня 2019 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 44-46. 42.
- 17.Іосипенко О. О., Кисличенко В. С., Омельченко З. І. Динаміка накопичення гідроксикоричних кислот у листях кабачків. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 23-24 вересня 2020 р. Тернопіль: ТНМУ, 2020. С. 27-28.

- 18.Іосипенко О. О., Кисличенко В. С., Омельченко З. І. Динаміка накопичення флавоноїдів у листях кабачків. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали V Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 26 листопада 2020 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2020. С. 211-212.
- 19.Іосипенко О. О., Кисличенко В. С., Омельченко З. І. Дослідження фенольних сполук густого екстракту з листя кабачків. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: 163 матеріали IX наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 22-23 вересня 2022 р. Тернопіль : ТНМУ, 2022. С. 32-33.
- 20.Іосипенко О. О., Кисличенко В. С., Омельченко З. І. Мінеральний склад листя кабачків. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019, № 2. С. 148-152.
- 21.Кисличенко О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження фотосинтезувальних пігментів трави канни садової деяких сортів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. № 2. С. 141-147. 23.
- 22.Кисличенко О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Ідентифікація та визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів у листі, квітках та траві канни садової сортів «Америка», «Президент» та «Маестро». *Зб. наук. прац. співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2018. Вип. 30. С. 16-25.
- 23.Котов А. Г., Котова Э. Э. Разработка и аттестация растительных экстрактов в качестве фармакопейных стандартных образцов Государственной Фармакопеи Украины. В сб. Мат. республ. научн.-практич. конф. (с междунар. уч.) *«Интеграция образования, науки и производства в фармации»* (14 ноября 2014 г., Ташкент). Ташкент, 2014. С. 26-29.
- 24.Котова Е. Е., Котов А. Г. Систематизація фармакопейних вимог до методів контролю якості лікарської рослинної сировини. Уніфіковані ТШХ-методики. *Фармаком*. 2015. № 1. С. 41–47.

- 25.Кохно М. А. Каталог дендрофлори України. *Фітосоціоцентр*. 2001. 72 с.
- 26.Лавр благородный [Електронний ресурс]. Режим доступу <http://health.wild-mistress.ru>. (дата звернення 23.06.2022). Назва з екрану.
- 27.Лавр благородный [Електронний ресурс]. Режим доступу <http://vmiretrav.ru> (дата звернення 23.06.2022). Назва з екрану.
- 28.Макро- та мікроскопічні ознаки листя кабачка (*Cucurbita pepo* spp. *pepo* L.) родини гарбузові (*Cucurbitaceae*): Інформаційний лист про нововведення у сфері охорони здоров'я № 39-2021, протокол № 1 від 27.01.2021 р. / О. О. Іосипенко, В. С. Кисличенко, І. О. Журавель, та ін. К.: Укрмедпатентінформ, 2021. 4 с.
29. Марчишин С. М. Калушка О. Б. Вивчення амінокислотного та елементного складу пирію повзучого. *Фармац. журн.* 2006. № 1. С. 83-85.
- 30.Мирзоєва Т. В. Особливості вітчизняного ринку лікарських рослин в умовах сьогодення. *Інноваційна економіка*. 2013. № 6. С. 209–212.
- 31.Мінарченко В. М., Серeda П. І. Ресурсознавство. Лікарські рослини : навч.-метод. посіб. К.: 2004. 183 с.
- 32.Мінарченко В. М., Тимченко І. А. Атлас лікарських рослин України (хорологія. ресурси та охорона). К.: Фітосоціоцентр. 2002. 172 с.
- 33.Мусієнко С. Г., Кисличенко В. С. Лавр благородний — перспективна лікарська сировина для отримання дієтичних добавок. Збірник «*Функціональні харчові продукти – дієтичні добавки – як дієвий засіб різнопланової профілактики захворювань*», мат. І Міжнародної науково-практичної конференції, 11-12 квітня 2013. Х.: Вид-во НФаУ. С. 171.
- 34.Мусієнко С. Г., Кисличенко В. С. Стандартизація сировини лавра благородного. Збірник «*Сучасні досягнення фармацевтичної технології*». Матеріали IV науково-практичної конференції з міжнародною участю (16-17 жовтня 2014 р.). Х.: Вид-во НФаУ. 2014. С. 205.
- 35.Мусієнко С. Г., Кисличенко В. С. Дослідження елементного складу листя лавра благородного. В мат. IV Всеукраїнської науково-практич. конф. з міжнар. уч. «*Аспекти розвитку фармацевтичних та медичних*

- досліджень на сучасному етапі» 27-28 березня 2014 р., м. Луганськ. Укр. медичн. альманах. 2014. Т.17. № 1. С. 72-75.
36. Мусієнко С. Г., Кисличенко В. С. Дослідження фенольних сполук сировини лавра благородного. *Збірник науков. праць співробітн. НМАПО ім. П.Л. Шупика*. 2014. Вип.23, кн. 4. К. С. 341-344.
 37. Мусієнко С. Г., Кисличенко В. С. Кількісний вміст основних груп БАР в сировині лавра благородного. *Вісник фармації*. 2014. № 4. С. 23-26.
 38. Мусієнко С. Г., Кисличенко В. С. Мікроскопічні ознаки сировини лавра благородного. В зб. *«Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики»*. 2014. № 3. С. 46-48.
 39. Мусієнко С. Г., Кисличенко В. С. Попереднє фітохімічне вивчення листя та пагонів лавра благородного (*Laurus nobilis* L.) Збірник *«Сучасні досягнення фармацевтичної технології»*, мат. III науково-практичної конференції з міжнародною участю, 21-23 листопада 2012. Х.: Вид-во НФаУ. С. 114-115.
 40. Мусієнко С. Г., Кисличенко В.С. Жирнокислотний склад сировини лавру благородного. *Український медичний альманах*. 2012. Т.15, № 6. С. 119-120.
 41. Ніколайчук Л. В. Цілющі рослинні напої. К.: Навчальна книга Богдан. 2022. 184 с.
 42. Опрошанська Т. В. Вивчення антимікробної активності настоянок кореня та листя лопуха великого. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*. 2013. Вип. 3. С. 258-262.
 43. Опрошанська Т. В., Хворост О. П. Аналіз асортименту фармацевтичної продукції з вмістом трави череди трироздільної на ринку України. *Хімія природних сполук: матеріали VI Всеукраїнської науковопрактичної конференції з міжнародною участю (м. Тернопіль, 27-28 жовтня 2022 р.)*. Тернопіль. 2022. С. 177-178.
 44. Определение оптимальных параметров технологии получения субстанций из перспективных видов растительного сырья / О. П. Хворост, И. Ю.

- Посохова, Б. С. Леонтьев, Е. Ю. Зудова. *Актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли*: мат. I ой Республ. науч.-практ. конф. с междунар. уч. (г. Ташкент, 25-26 апреля 2023 г. Электрон.данные. Ташкент: 2023. С. 172. Название с тит. экрана.
- 45.Опрошанська Т. В., Хворост О. П., Кудря В. В. Кількісний вміст суми органічних кислот в серіях сировини деяких представників родин *Polygonaceae*, *Rosaceae* та *Asteraceae* / / *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 3. С. 81-86.
- 46.Перспективи застосування природних антиоксидантів в відновленні пацієнтів після ряду захворювань / О. П. Хворост, Т. В. Опрошанська, І. Ю. Посохова, Є. Ю. Зудова, Б. С. Леонтьєв. *Мультидисциплінарний підхід у фізичній реабілітаційній медицині*: мат. Всеукр. конф. (26 травня 2023 року, м. Харків). Х.: НфаУ, 2023. С.37.
- 47.Поздняков В. В., Василенко А. А. Использование тест-систем для оценки общей антиоксидантной активности семян. *Селекция і насінництво*. 2017. № 112. С. 153-163.
- 48.Посохова І. Ю., Хворост О. П. Порівняльний фармакогностичний аналіз листя лавра звичайного та листя персеї американської. *Topical issues of new medicines development*: мат. XXVIII Міжнар. наук.-практ.конф., присвяч. 150-річчю з дня народж. М.О.Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків). Х.: НФаУ, 2021. С. 115.
- 49.Посохова І. Ю., Хворост О. П. Встановлення морфометричних показників серій листя лавра звичайного та персеї американської. *«Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи»*: зб. праць міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 100-річчю НФаУ (10 вересня 2021 р. НФаУ, м. Харків, Україна), Харків: НФаУ 2021. С. 242.
- 50.Посохова І. Ю., Хворост О. П. Дослідження комплексів БАР різної полярності, що одержано з сировини рослин родини Lauraceae. *«Стратегічні пріоритети розвитку науки, освіти та технологій»*: зб.

- праць міжнар. наук.-практ. конф (25 листопада 2021 р. м. Полтава, Україна). Полтава: 2021. Ч 2. С. 25.
- 51.Посохова І. Ю., Хворост О. П. Кількісне визначення суми фенольних сполук у сировині представників родини Lauraceae. *«Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин»*: зб. IV міжнар. наук.-практ. internet-конф. (26-27 листопада 2020 р. НФаУ, м. Харків, Україна), Харків: НФаУ 2020. С. 210.
- 52.Посохова І. Ю., Хворост О. П., Федченкова Ю. А. Встановлення закономірностей екстрагування різних груп БАР екстрагентами різної полярності з сировини лавра благородного та персеї американської./ *«Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження»* : матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 11 берез. 2020 р. Харків : НФаУ. 2020. С. 143.
- 53.Посохова І. Ю., Хворост О. П., Федченкова Ю. А. Порівняльний аналіз морфолого-анатомічних особливостей будови листя поширених представників родини Lauraceae. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 2. С. 46-50.
- 54.Правові основи використання та охорони природних рослинних ресурсів України / В. М. Мінарченко. Л. Г. Дудченко. Т. П. Гарникта ін. *Фітотерапія в Україні*. 2000. № 1. С. 45-47.
- 55.Приймак Г. К. 250 лікарських рослин в народній медицині. *Фітотерапія*, Альтерпрес. 2011. 524 с.
- 56.Рослинництво України. Статистичний збірник. 2021. Київ: Державна служба статистики України, 2022. 183 с.
- 57.Товстуха Є. Лікувальна магія українців. К., Літера ЛТД. 2022. 338 с.
- 58.Фармакогнозія з основами біохімії рослин. В. М. Ковальов, О. І. Павлій, Т. І. Ісакова. Харків: Прапор. Вид. НФаУ. 2000. С. 296-305.

- 59.Хворост О. П., Посохова І. Ю. Дослідження хімічного складу сировини *Laurus nobilis*. «Modern chemistry of medicines»: мат. міжнар. Internet-конф. (18 травня 2023 р., м. Харків). Електрон. дані. Х. : НФаУ, 2023. С. 274.
- 60.Хворост О. П., Посохова І. Ю. Кількісний вміст суми фенольних сполук в серіях сировини лавру благородного. «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження»; зб. праць V міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (14 квітня 2023 р., НФаУ, м. Харків, Україна), Харків: НФаУ 2023. С. 171.
- 61.Хворост О. П. Поліщук Т. П. Товарознавчий аналіз сировини родіоли чотирироздільної. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали V Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції (м. Харків, 14 квітня 2023 р.). – Електрон. дані. – Х. : НФаУ, 2023. – С. 170. – Назва з тит. екрана.
- 62.Хворост О. П., Посохова І. Ю., Скребцова К. С. Спосіб одержання лікарського засобу з антимікробною та антиоксидантною дією: пат. на кор. мод. А 61 36/57 151438, Україна. № заявки а202106475; заявл. 17.11.2021; опубл. 27.07.2022. Бюл. № 30.
- 63.Хворост О. П., Вепрук О. М. Товарознавчий аналіз сировини ортілії одnobічної. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали V Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції (м. Харків, 14 квітня 2023 р.).
- 64.Чекман І. С. Клініко-фармакологічні властивості дубильних речовин рослинного походження . *Фітотерапія в Україні*. 2001. №1-2. С. 3-5.
- 65.A comprehensive study on the phenolic profile of widely used culinary herbs and spices: rosemary, thyme, oregano, cinnamon, cumin and bay/ A. Vallverdú-Queralt, J. Regueiro, M. Martínez-Huélamo et al. *Food Chem*. 2014. Vol. 154. P. 299-307.

66. A Review of the Botany, Volatile Composition, Biochemical and Molecular Aspects, and Traditional Uses of *Laurus nobilis*. / A. Paparella, B. Nawade, L. Shaltiel-Harpaz, M. Ibdah. *Plants* (Basel). 2022. Vol. 11(9). P. 1209- 1213.
67. A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis* L. essential oil / K. K. Chahal, M. Kaur, U. Bhardwaj, N. Singla et al. *J. of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2017. Vol. 6, Issue 4. P. 1153-1161.
68. Abu-Dahab R., Kasabri V., Afifi F. U. Evaluation of volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis* (Lauraceae) on breast cancer cell line models. *Rivers. National. Production*. 2014. № 8. P.136–147.
69. Al-Mariri A., Safi M. In Vitro Antibacterial Activity of Several Plant Extracts and Oils against Some Gram-Negative Bacteria. *Iran J. Med. Sci*. 2014. Vol. 39. P. 36-43.
70. Amelioration of oxygen and glucose deprivation-induced neuronal death by chloroform fraction of bay leaves (*Laurus nobilis*) / E. Y. Cho, S. J. Lee, K. W. Nam et al. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 2010. N 74. P. 2029–2035.
71. Anita B. S, Okokon J. E, Okon P. A. Hypoglycemic activity of aqueous *Persea americana* Mill. *Indan. J. Pharmacol*. 2005. Vol. 37. P. 325–326.
72. Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. / A. Merghni, H. Marzouki, H. Hentati et al. *Pathol. Biol.* (Paris). 2015. Vol. 4. P. 369–373.
73. Antibacterial and antibiofilm activities of polysaccharides, essential oil, and fatty oil extracted from *Laurus nobilis* growing in Lebanon. / M. Chmit, H. Kanaan, J. Habib et al. *Asian Pac. J. Trop. Med*. 2014. Vol. 7. P. 546-552.
74. Antibacterial Potential by Rupture Membrane and Antioxidant Capacity of Purified Phenolic Fractions of *Persea americana* Leaf Extract / L. M. Sierra-Rivera, C. A. Solís-Salas, L. E. Cobos-Puc et al. *Antibiotics* (Basel). 2021. Vol. 10 (5). P. 508–512.
75. Antidiarrheal activity of *Laurus nobilis* L. leaf extract in rats. / E. Y. Qnais, F. A. Abdulla, E. G. Kaddumi, S. S. Abdalla. *J. Med. Food*. 2012. Vol. 15 (1). P. 51–55.

76. Antifungal activity, mechanism of action and antibiofilm effects of *Laurus nobilis* Linnaeus essential oil against *Candida* spp./ L. R. Peixoto, P. L. Rosalen, G. L. Ferreira et al. *Arch. Oral. Biol.* 2017. P. 179-185.
77. Antimicrobial sesquiterpenoids from *Laurus nobilis* L./ N. Fukuyama, C. Ino, Y. Suzuki et al. *Nat. Prod. Res.* 2011. Vol. 25 (14). P. 1295-1299.
78. Antioxidant and Anti-Atherogenic Activities of Essential Oils from *Myrtus communis* L. and *Laurus nobilis* L. in Rat./ D. Odeh, N. Oršolić, M. Berendika et al. *Nutrients*. 2022. Vol. 14 (7). P. 1465-1470.
79. Apolar *Laurus nobilis* leaf extracts induce cytotoxicity and apoptosis towards three nervous system cell lines./ S. Pacifico, M. Gallicchio, P. Lorenz et al. *Food Chem. Toxicol.* 2013. Vol. 62. P. 628-637.
80. Basak S. S., Cardan F. Effect of *Laurus nobilis* L. Essential Oil and its Main Components on α -glucosidase and Reactive Oxygen Species Scavenging Activity. *Iran Pharm. Res.* 2013. N 12 (2). P. 367-379.
81. Bay Laurel (*Laurus nobilis* L.) Essential Oil as a Food Preservative Source: Chemistry, Quality Control, Activity Assessment, and Applications to Olive Industry Products./ S. A. Ordoudi, M. Papapostolou, N. Nenadis et al. *Foods*. 2022. Vol. 11(5). P. 752-758.
82. Bay Leaf (*Laurus nobilis* L.) Incense Improved Scopolamine-Induced Amnesic Rats by Restoring Cholinergic Dysfunction and Brain Antioxidant Status./ I. Brinza, R. S. Boianiu, M. Hancianu et al. *Antioxidants*. 2021. Vol. 10 (2). P. 259-263.
83. Beneficial Effects of Laurel (*Laurus nobilis* L.) and Myrtle (*Myrtus communis* L.) Extract on Rat Health./ M. Berendika, S. Domjanić Drozdek, D. Odeh et al. *Molecules*. 2022. Vol. 27 (2). P. 581-587.
84. Bioactive compounds from bay leaves (*Laurus nobilis*) extracted by microwave technology./ D. B. Muñiz-Márquez, J. E. Wong-Paz, J. C. Contreras-Esquivel et al. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2018. Vol. 73 (9–10). P. 401–407.

85. Bouadid I., Amssayef A., Eddouks M. Study of the Antihypertensive Effect of *Laurus nobilis* in Rats. *Cardiovasc. Hematol. Agents Med. Chem.* 2023. Vol. 21(1). P. 42-54.
86. Brai B. I., Odetola A. A., Agomo P. U. Effects of *Persea americana* leaf extracts on body weight and liver lipids in rats fed hyperlipidaemic diet / *Afr. J. Biotech.* 2007. Vol. 6. P. 1007–1011.
87. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Laurus nobilis* leaves/ B. Nabila, A. Piras, B. Fouzia et al. *Natural Product Research.* 2020. P. 1–5.
88. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Laurus nobilis* L. Essential Oils from Bulgaria./ H. Fidan, G. Stefanova, I. Kostova, S. Stankov et al. *Molecules.* 2019. Vol. 24(4). P. 804-812.
89. Chemical composition and antioxidant properties of *Laurus nobilis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils from Morocco and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes for food preservation./ L. Cherrat, L. Espina, M. Bakkali et al. *J. Sci. Food Agric.* 2014. Vol 94, Issue 6. P. 1197-1204.
90. Chemical Composition, Antioxidant, Anti-Diabetic, Anti-Acetylcholinesterase, Anti-Inflammatory, and Antimicrobial Properties of *Arbutus unedo* L. and *Laurus nobilis* L. Essential Oils./ S. H. Al-Mijalli, N. H. Mrabti, H. Ouassou, et al. *Life (Basel).* 2022. Vol. 14. P. 1876– 1880.
91. Chemical constituents of leaves of *Persea americana* (avocado) and their protective effects against neomycin-induced hair cell damage. SeonJu Park, Youn Hee Nam, Isabel Rodriguez. *Revista Brasileira de Farmacognosia.* 2019. Vol. 29, Issue 6. P. 739-743.
92. Chemical polymorphism of essential oils from populations of *Laurus nobilis* grown on Tunisia, Algeria and France / H. Marzonki, A. Khaldi, B. Maronginet et al. *Nat. Prod. Commun.* 2011. N 6 (10). P.1483-1486.

93. Chemometric approaches for the characterization of the fatty acid composition of seventeen mushroom species./ F. Çayan, E. Deveci, G. Tel-Çayan, M. E. Duru. *Analytical Letters*. 2020. Vol. 53. P. 2784–2798.
94. Comparative Antidiabetic Activity of Aqueous, Ethanol, and Methanol Leaf Extracts of *Persea americana* and Their Effectiveness in Type 2 Diabetic Rats. / N. M. Kouamé, C. Koffi, K. S. N'zoué et al. *Evid. Based Complement. Med.* 2019. Vol. 1. P. 1–15.
95. Comparative investigation of *Umbellularia californica* and *Laurus nobilis* leaf essential oils and identification of constituents active against *Aedes aegypti* / N. Tabanca, C. Avonto, M. Wanget et. al. *J. Agric. Food. Chem.* 2013. Vol. 61, Issue 50. P. 1283-1291.
96. Comparative Study of the in Vitro Antimicrobial and Synergistic Effect of Essential Oils from *Laurus nobilis* L. and *Prunus armeniaca* L. from Morocco with Antimicrobial Drugs: New Approach for Health Promoting Products./ A. Nafis, A. Kasrati, C. A. Jamali et al. *Antibiotics* (Basel). 2020. Vol. 9 (4). P. 140-148.
97. Comparative study on the chemical composition of laurel (*Laurus nobilis* L.) leaves from Greece and Georgia and the antibacterial activity of their essential oil. G. Stefanova, T. Girova, V. Gochev et al. *Heliyon*. 2020. Vol. 6 (12). P. 491-498.
98. Comparison of Chemical Composition and Biological Properties of Essential Oils Obtained by Hydrodistillation and Steam Distillation of *Laurus nobilis* L. K. Řebíčková, T. Bajer, D. Šilha et al. *Plant Foods Hum Nutr.* 2020. Vol. 75 (4). P. 495-504.
99. Comparison of *Laurus nobilis* extracts composition obtained by microwave extraction, supercritical fluid extraction and steam distillation./ O. I. Pokrovskiy, D. I. Prokopchuk, S. A. Bagatelia et al. *Himiya rastitel'nogo syr'ya*. 2019. Vol. 4. P. 373–385.

100. Component composition of essential oil shoots and leaves of *Laurus nobilis* L. Ukrainian origin./ O. Khvorost, I. Posohova, Y. Fedchenkova, & K. Skrebtsova. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2021. Vol. 4(32). P. 50–58.
101. Composition of essential oils of *Laurus nobilis*, *Laurus nobilis* var. *angustifolia* and *Laurus azorica* / H. Hokwerda, R. Bos, D. H. Tattje, T. M. Malindre. *Planta Med*. 1982. Vol. 44 (2). P.116-119.
102. Coping with drought-induced xylem cavitation: coordination of embolism repair and ionic effects in three Mediterranean evergreens. / P. Trifilò, P. M. Barbera, F. Raimondo et al. *Tree Physiol*. 2014. Vol 34, Issue 2. P. 109-122.
103. Cytoprotective and pro-apoptotic activities of native Australian herbs polyphenolic-rich extracts/ K. Sakulnarmrat, M. Fenech, P. Thomas, I. Konczak. *Food Chem*. 2013. Vol. 136, Issue 1. P. 9-17.
104. Cytotoxic and insecticidal constituents of the unripe fruit of *Persea americana* / N. H. Oberlies, L. L. Rogers, J. M. Martin., J. L. McLaughlin. *J. Nat. Prod*. 1998. Vol. 61. P.781–785.
105. Does short-term potassium fertilization improve recovery from drought stress in laurel?/ E. Oddo, S. Inzerillo, F. Grisafiet al. *Tree Physiol*. 2014. Vol. 34, Issue 8. P. 906-913.
106. Effect of *Laurus nobilis* L. Essential Oil and its Main Components on α -glucosidase and Reactive Oxygen Species Scavenging Activity./ S. Sahin Basak, F. Candan. *Iran J. Pharm. Res*. 2013. Vol 12, Issue 2. P. 367-379.
107. Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil./ B. Ozcan, M. Esen, M. K. Sangun, A. Coleri et al. *J. Environ Biol*. 2010. Vol. 31(5). P. 637-641.
108. Effects of essential oils from medicinal plants acclimated to Benin on in vitro ruminal fermentation of *Andropogon gayanus* grass/ J. B.Kouazounde, L. Jin, F. M. Assogba et al. *J. Sci. Food.Agric*. 2014. Vol. 94, Issue 10. P.1682-1684.

109. Effects of herbal essential oil mixture as a dietary supplement on egg production in quail/ M. Çabuk, S. Eratak, A. Alçicek, M. Bozkurt. *Scientific World J.* 2014. Vol. 23. P. 573-578.
110. Effects of magnolialide isolated from the leaves of *Laurus nobilis* L. (*Lauraceae*) on immunoglobulin E-mediated type I hypersensitivity *in vitro*. /T. Lee, S. Lee, K. Ho Kim et al. *J. Ethnopharmacol.* 2013. Vol. 149, Issue 2. P. 550-556.
111. Evaluation of antifungal and anti-ochratoxigenic activities of *Salvia officinalis*, *Lavandula dentata* and *Laurus nobilis* essential oils and a major monoterpene constituent 1,8-cineole against *Aspergillus carbonarius*./ L. Dammak, Z. Hamdi, E. L. Kammoun et al. *Industrial Crops and Products*. 2019. Vol. 128. P. 85–93.
112. Evaluation of the effect of bay leaf alcohol extract on blood biochemical parameters and histological changes in liver and kidney in female.Wistar rats treated with depaken (sodium valproate). Z. Schnever Mahdi Al-Turfi, S. M. J. Al-Hadrawi, J. Abadi Mohammed et al. *Electronic collection*. 2022. Vol. 77 (3). C. 981-989.
113. Evaluation of wound healing activity of *Allamanda cathartica* L. and *Laurus nobilis* L. extracts on rats./ S. Nayak, P. Nalabothu, S. Sandiford et al. *BMC Complement Altern Med*. 2006. Vol. 6. P. 12-18.
114. Excising stem samples underwater at native tension does not induce xylem cavitation. / M. D. Venturas, E. D. Mackinnon, A. L. Jacobsen, R. B. Pratt. *Plant Cell Environ*. 2014. Vol. 10. P. 111-118.
115. Exploitation of essential oil extracted from Tunisian *Laurus nobilis* for the development of PET antibacterial sutures./ N. Bhourri, F. Debbabi, I. Ben Salem, S. Ben Abdessalem. *The J. of The Textile Institute*. 2018. Vol. 109 (10). P. 1282–1292.
116. Gas chromatographymass spectrometry analysis, phytochemical screening and antiprotozoal effects of the methanolic *Viola tricolor* and acetonc *Laurus nobilis* extracts./ G. E.-S. Batiha, A. M. Beshbishy, L. Alkazmi

- et al. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2020. Vol. 20 (1). P. 87-93.
117. Gastroprotective effect and antioxidant properties of different *Laurus nobilis* L. leaf extracts E. Speroni, R. Cervellati, S. Dall'Acqua et al. *J. Med. Food*. 2011. Vol. 14. P. 499–504.
 118. Gazwi, H. S. S., Yassien, E. E., Hassan, H. M. Mitigation of lead neurotoxicity by the ethanolic extract of *Laurus* leaf in rats. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2020. P. 192-199.
 119. Gender differences in composition, antioxidant and antimicrobial activity of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. Essential oils of leaves and flowers from the Aegean region of Turkey / I. Demirbolat, Y. Karik, E. Erçin E et al. 2020. Vol. 23. P.1084–1094.
 120. Giovannini P., Howes M. J., Edwards S. E. Medicinal plants used in the traditional management of diabetes and its sequelae in Central America: A review /. *J. Ethnopharmacol*. 2016. Vol.184. –P. 58-71.
 121. *In vitro* and *in vivo* control of *Alternaria alternata* in cherry tomato by essential oil from *Laurus nobilis* of Chinese origin / S. Xu, F. Yan, Z. Ni et al. *J. Sci. Food Agric*. 2014. Vol. 94, Issue 7. P. 1403-1408.
 122. Isolation and characterization of putative endophytic bacteria antagonistic to *Phoma tracheiphila* and *Verticillium albo-atrum* / L. Kalai-Grami, S. Saidi, S. Bachkouel et al. *Appl. Biochem. Biotechnol*. 2014. Vol. 174, Issue 1. P. 365-375.
 123. Isolation of *Laurus nobilis* Leaf Polyphenols: A Review on Current Techniques and Future Perspectives./ E. Dobroslavić, M. Repajić, V. Dragović-Uzelac, I. Elez Garofulić. *Foods*. 2022. Vol. 11 (2). P. 235-241.
 124. Kashkouli S., Jamzad M., Nouri A. Total Phenolic and Flavonoids Contents, Radical Scavenging Activity and Green Synthesis of Silver Nanoparticles by *Laurus nobilis* L. Leaves Aqueous Extract. *J. of Medicinal Plants and By-products*. 2018. Vol. 7 (1). P. 25–32.

125. Konovalov D. A., Alieva, N. M. Phenolic compounds of *Laurus nobilis* (review). *Pharmacy & Pharmacology*. 2019. Vol.7 (5). P. 244–259.
126. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Laurus nobilis* leaves obtained at different seasons./ C. M. M. Fernandez, M. F. da Rosa, A. C. Fernandez et. al. *J. of Essential Oil Research*. 2018. Vol. 30 (5). P. 379–387.
127. Laurel leaf extracts for honeybee pest and disease management: antimicrobial, microsporidicidal, and acaricidal activity. / N. Damiani, N. J. Fernández, M. P. Porrini et al. *Parasitol. Res*. 2014. Vol. 113, Issue 2. P. 701-709.
128. *Laurus nobilis* (laurel) aqueous leaf extract's toxicological and anti-tumor activities in HPV16-transgenic mice. B. Medeiros-Fonseca, V. F. Mestre, B. Colaço et al. *Food & Function*. 2018. Vol. 9 (8). P. 4419–4428.
129. *Laurus nobilis* ethanolic extract attenuates hyperglycemia and hyperinsulinemia-induced insulin resistance in HepG2 cell line through the reduction of oxidative stress and improvement of mitochondrial biogenesis - Possible implication in pharmacotherapy./ N. Bourebaba, K. Kornicka-Garbowska, K. Marycz et al. *Mitochondrion*. 2021. Vol. 59. P. 190-213.
130. *Laurus nobilis* L. Seed Extract Reveals Collateral Sensitivity in Multidrug-Resistant P-Glycoprotein-Expressing Tumor Cells. A.M. Saab., A. Guerrini, M. Zeino et al. *Nutr. Cancer*. 2015. Vol. 67(4). P. 664-669.
131. *Laurus nobilis* leaf extract controls inflammation by suppressing NLRP3 inflammasome activation./ E. H. Lee, J. H. Shin, S. S. Kim et al. *J. Cell Physiol*. 2019. Vol. 234 (5). P. 6854-6864.
132. *Laurus nobilis* Leaves and Fruits: A Review of Metabolite Composition and Interest in Human Health/ F. Awada, K. Hamade, M. Kassir. *Applied Sciences*. 2023. Vol.13, Issue 7. P. 4606-4624.
133. Longo L., Vasapollo G. Anthocyanins from bay (*Laurus nobilis* L.) berries. *J Agric Food Chem*. 2005. Vol. 53 (20). P. 8063-8067.

134. Mattila P., Hellström J. Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *J. of Food Composition and Analysis*. 2007. Vol. 20. P. 152–160.
135. Molecular size fractions of bay leaf (*Laurus nobilis*) exhibit differentiated regulation of colorectal cancer cell growth *in vitro*./ L. Bennett, M. Abeywardena, S. Burnard et al. *Nutr. Cancer*. 2013. Vol. 65, Issue5. P. 746-764.
136. Nadarajan J., Pritchard H. W. Biophysical characteristics of successful oilseed embryo cryoprotection and cryopreservation using vacuum infiltration vitrification: an innovation in plant cell preservation. *PLoS One*. 2014. Vol 9, Issue 5. P. 961-969.
137. Nematicidal activity of bay leaf (*Laurus nobilis* L.) essential oil and its components against *Meloidogyne incognita*./ M. Kaur, K. Chahal, A. Kumar, R. Kaur. *J. of Entomology and Zoology Studies*. 2018. Vol. 6 (2). P. 1057–1064.
138. Nenadis N., Papapostolou M., Tsimidou M. Z. Suggestions on the Contribution of Methyl Eugenol and Eugenol to Bay Laurel (*Laurus nobilis* L.) Essential Oil Preservative Activity through Radical Scavenging. *Molecules*. 2021. Vol. 26(8). P. 2342-2349.
139. Neuroprotective potential of *Laurus nobilis* antioxidant polyphenol-enriched leaf extracts./ S. Pacifico, M. Gallicchio , P. Lorenz et al. *Chem. Res. Toxicol.* 2014. Vol 27, Issue 4. P. 611-626.
140. Nucleotide diversity and linkage disequilibrium in wild avocado (*Persea americana* Mill.)/ H. Chen, P. L. Morrell , M. de la Cruz , M.T. Clegg. *J. Hered.* 2008. Vol. 99. P. 382-389.
141. Nutraceutical properties of dietary plants extracts: Prevention of diabetic nephropathy through inhibition of glycation and toxicity to erythrocytes and HEK293 cells. R. S. Tupe, N. M. Sankhe, S. A. Shaikh et al. *Pharm. Biol.* 2015. Vol. 53, Issue 1. P.40-50.

142. Nutritional and antioxidant contributions of *Laurus nobilis* L. leaves: would be more suitable a wild or a cultivated sample?/ M. I. Dia, L. Barros, M. Dueñas et al. *Food Chem.* 2014. Vol 156, Issue 1. P. 339-346.
143. Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables / Ed. A. K. Jaiswal. London : Academic Press, 2020. 766 p.
144. Observation of polyphenols in the leaves of noble laurel: a look at current methods and prospects for the future./ E. Dobroslavich, M. Repach, V. Dragovich-Uzelak et al. *Food.* 2022. №11 (2). C. 235 - 239.
145. Patrakal R., Mansuriya M., Patil P. Phytochemical and pharmacological review of *Laurus nobilis*. *Int. J. of pharmaceutical and chemical sciences.* 2012. Vol. 1 (2). P. 595–602.
146. Pharmacognostic Characterization of *Laurus nobilis* L. Leaves./ W. Barroso, R. Duarte Gondim, V. Marques et. al. *J. of Chemical and Pharmaceutical Research.* 2018. Vol. 10 (1). P. 30–37.
147. Phytochemical composition and antioxidant activity of *Laurus nobilis* L. leaf infusion. / S. Dall'Acqua, R. Cervellati, E. Speroni et al. *J. of Medicinal Food.* 2009. Vol. 12. P. 869-876.
148. Phytochemical profile and anthelmintic effects of *Laurus nobilis* essential oil against the ovine nematode *Haemonchus contortus* and the murine helminth model *Heligmosomoides polygyrus*. E. Sebai, A. Abidi, H. Benyedem et al. *Vet. Parasitol.* 2022. Vol. 6. P. 312-317.
149. Plant-Based Antioxidants for Prevention and Treatment of Neurodegenerative Diseases: Phytotherapeutic Potential of *Laurus nobilis*, *Aronia melanocarpa*, and *Celastrus*./ K. Pilipović, R. Jurišić Grubešić, P. Dolenc et al. *Antioxidants* (Basel). 2023. Vol. 12(3). P. 746-751.
150. Predicting of the current and future geographical distribution of *Laurus nobilis* L. under the effects of climate change./ A. Akyol, O. K. Özü, E. S. Arslan, A. G. Sarıkaya. *Environ Monit Assess.* 2023. Vol. 195 (4). P. 459-465.

151. Preliminary examination of herbal extracts on the inhibition of *Helicobacter pylori*/ G. Guzeldag, L. Kadioglu, A. Mercimek et al. *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 2013. Vol 11, Issue 1. P. 93-96.
152. Pressurized Liquid Extraction as a Novel Technique for the Isolation of *Laurus nobilis* L. Leaf Polyphenols./ E. Dobroslavić, I. Elez Garofulić, J. Šeparović et al. *Molecules*. 2022. Vol. 27 (16). P. 5099-5109.
153. Review of the Botany, Volatile Composition, Biochemical and Molecular Aspects, and Traditional Uses of *Laurus nobilis*./ A. Paparella, B. Nawade, L. Shaltiel-Harpaz, M. A. Ibdah. *Plants* (Basel). 2022. Vol. 11 (9). P. 1209-1216.
154. Review Study on the Physiological Properties and Chemical Composition of the *Laurus nobilis*./ O. Mansour, M. Darwish, G. Ismail et al. *The Pharmaceutical and Chemical J.* 2018. Vol.5 (1). P. 225–231.
155. Saguem S., Ben Fredj M. Evaluation of Daily *Laurus nobilis* Tea Consumption on Lipid Profile Biomarkers in Healthy Volunteers. *J. Am. Coll. Nutr.* 2020. Vol. 39 (8). P. 733-738.
156. Screening of 20 commonly used Iranian traditional medicinal plants against urease. /M. Biglar, H. Sufi, K. Bagherzadeh et al. *Iran J. Pharm. Res.* 2014. Vol 13, Issue 1. P. 195-198.
157. Sesquiterpenes from the leaves of *Laurus nobilis* L./ E. Julianti, K. H. Jang, S. Lee et al. *Phytochemistry*. 2012. Vol. 80. P. 70-76.
158. Sesquiterpenes inhibiting the microglial activation from *Laurus nobilis*./ H. Chen, C. Xie et al. *J. Agric. Food. Chem.* 2014. Vol 62, Issue 20. P. 4784-4788.
159. Siriken B., Yavuz C., Guler A. Antibacterial Activity of *Laurus nobilis*: A review of literature. *Medical Science and Discovery*. 2018. Vol. 5 (11). P. 374–379.
160. Ślusarczyk J., Adamska E., Czerwik-Marcinkowska J. Fungi and algae as sources of medicinal and other biologically active compounds: A review. *Nutrients*. 2021. Vol. 13. P. 3178-3185.

161. Storelli M. M. Evaluation of toxic metal (Hg, Cd, Pb), polychlorinated biphenyl (PCBs), and pesticide (DDTs) levels in aromatic herbs collected in selected areas of Southern Italy. *Environ Sci. Pollut. Res Int.* 2014. Vol. 21, Issue 2. P. 946-953.
162. Study of membrane-stabilizing and anti-inflammatory activity of tincture from herba *Bidens tripartita* L. / Tetiana Oproshanska, Oksana Mishchenko, Olga Shapoval et al. *Pharmacology OnLine.* 2021. Vol. 3. P. 1863-1869.
163. Suppression of *Propionibacterium acnes*-Induced Skin Inflammation by *Laurus nobilis* Extract and Its Major Constituent Eucalyptol / Eun Hye Lee, Jin Hak Shin, Seon Sook Kim et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. Vol. 20 (14). P. 3510-3517.
164. Tawfek M. A. E, Ali A. R. M. Effectiveness of cardamom (*Elettaria cardamomum*) or bay leaf (*Laurus nobilis* L.) powder in improving the quality of Labneh. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 2022. Vol. 21 (1). P. 39-52.
165. The biological effect of an aqueous extract of leaves of *Laurus nobilis* L. on some histological and immunological parameters of the liver of male rats affected by aluminium chloride./ N. Marza Hamza, S. Malik Yasser, M. Abdulsajjad, K. Hussain. *Arch Razi Inst.* 2021. Vol. 76 (6). P. 1745-1753.
166. The botanical study, phytochemical composition, and biological activities of *Laurus nobilis* L. leaves: A review./ Y. Khaled Khodja, M. Bachir Bey, M. Belmouhoub et al. *International J. of Secondary Metabolite.* 2023. Vol. 10(2). P. 269-297.
167. The profile of selected antioxidants in two courgette varieties from organic and conventional production / K. Kopczyńska, R. Kazimierczak, D. Srednicka-Tober et al. *Antioxidants.* 2020, Vol. 9, P. 404-419.
168. Trypanocidal terpenoids from *Laurus nobilis* L./ N. Uchiyama, K. Matsunaga, F. Kiuchi et al. *Chem. Pharm. Bull (Tokyo).* 2002. Vol. 50 (11). P.1514-1520.

169. Türkez H., Toğar B. Aluminium phosphide-induced genetic and oxidative damages *in vitro*: attenuation by *Laurus nobilis* L. leaf extract./ *Indian J. Pharmacol.* 2013. Vol. 45 (1). P. 71-75.
170. Two glucosylated abscisic acid derivatives from avocado seeds (*Persea americana* Mill. *Lauraceae* cv. Hass) / M. del Refugio Ramos , G. Jerz , S. Villanueva et al. *Phytochemistry*. 2004. Vol. 65. P. 955-962.
171. Two-dimensional PCA highlights the differentiated antitumor and antimicrobial activity of methanolic and aqueous extracts of *Laurus nobilis* L. from different origins./ M. I. Dias, J. C. Barreira, R. C. Calhelha et al. *Biomed. Res. Int.* 2014. Vol 149, Issue 2. P. 550-556.
172. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis* L. and their antioxidant activity./ D. B. Muñiz-Márquez, G. C. Martínez-Ávila, J. E. Wong-Paz et al. *Ultrason Sonochem.* 2013. Vol.20, Issue 5. P.1149-1154.
173. Vasorelaxant action of aqueous extract of the leaves of *Persea americana* on isolated thoracic rat aorta / M. A. Owolabi, S. I. Jaja, H. A. Coker. *Fitoterapia*. 2005. Vol. 76. P. 567–573.
174. Verdian-rizi M., Hadjiakhoondi A. Essential oil composition of *Laurus nobilis* L. of different growth stages growing in Iran. *Z. Naturforsch C. J. Biosci.* 2008. Vol. 63 (11-12). P. 785-791.
175. Viciolle E., Castilho P., Rosado C. *In vitro* and *in vivo* assessment of the effect of *Laurus novocanariensis* oil and essential oil in human skin. *Int. J. Cosmet. Sci.* 2012. Vol. 34, Issue 6. P. 546-550.
176. Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis*, *Origanum syriacum*, *Origanum vulgare*, and *Salvia triloba* against human breast adenocarcinoma cells. / J. Z. Al-Kalaldeh, R. Abu-Dahab, F. U. Afifi. *Nutr. Res.* 2010. Vol. 30. P. 271–278.
177. Yasir M., Sattwik Das S., Kharya M. D. The phytochemical and pharmacological profile of *Persea americana* Mill. *Pharmacogn. Rev.* 2010. Vol 4. P. 77–84.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Посохова І. Ю., Хворост О. П., Федченкова Ю. А. Порівняльний аналіз морфолого-анатомічних особливостей будови листя поширених представників родини *Lauraceae* // *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 2. С. 46-50. <https://doi.org/10.33617/2522-9680-2019-4-46> (Особистий внесок здобувача – проведено пробопідготовку та аналіз літературних даниї, проведено морфометричні виміри, приймала участь у виконанні мікроскопічних досліджень, в аналізі даних, формулюванні висновків, оформленні статті).
2. Дослідження компонентного складу ефірної олії нестиглих плодів *Laurus nobilis* L. української заготівлі. І. Ю. Посохова І., О. П. Хворост, К. С. Скребцова, Ю. А. Федченкова. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2021. Т. 19, № 3(75). С. 47-52. <https://doi.org/10.24959/ophcj.21.240777> (Особистий внесок здобувача – заготовлено сировину, проведено інформаційний пошук, узагальнені результати, приймала участь в аналізі даних, формулюванні висновків, оформленні статті).
3. Component composition of essential oil shoots and leaves of *Laurus nobilis* L. Ukrainian origian. O. Khvorost, I. Posohova, Y. Fedchenkova, & K. Skrebtsova. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2021. Vol. 4(32). P. 50–58. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2021.239335> (Особистий внесок здобувача – проведено пробопідготовку, проведено узагальнення та аналіз результатів, оформлена робота).
4. Вибір оптимального екстрагенту для вилучення фенольних сполук з листя *Laurus nobilis* L. І. Ю. Посохова, К. С. Скребцова, О. П. Хворост, Ю. А. Федченкова. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2021. № 19. С. 60-64. <https://doi.org/10.24959/ophcj.21.244366> (Особистий внесок здобувача – проведено пробопідготовку, проведено узагальнення та аналіз результатів, оформлена робота).

здобувача – проведено пробопідготовку та експериментальні дослідження, узагальнено результати, оформлена стаття).

5. Хворост О. П., Посохова І. Ю., Скребцова К. С. Спосіб одержання лікарського засобу з антимікробною та антиоксидантною дією: пат. на кор. мод. А 61 36/57 151438, Україна. № заявки а202106475; заявл. 17.11.2021; опубл. 27.07.2022, Бюл. № 30. (Особистий внесок – брала участь у патентному пошуку, одержанні лікарського рослинного засобу та оформленні патенту).
6. Посохова, І. В., Хворост О. П., Федченкова Ю. А. Встановлення закономірностей екстрагування різних груп БАР екстрагентами різної полярності з сировини лавра благородного та персеї американської. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 11 берез. 2020 р. Х. : НФаУ, 2020. С. 143.
7. Посохова І. Ю., Хворост О. П. Кількісне визначення суми фенольних сполук у сировині представників родини *Lauraceae* /«Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин»: зб. IV міжнар. наук.-практ. internet-конф. (26-27 листопада 2020 р. НФаУ, м. Харків, Україна), Х.: НФаУ 2020. С. 210.
8. Посохова І. Ю., Хворост О. П. Порівняльний фармакогностичний аналіз листя лавра звичайного та листя персеї американської. *Topical issues of new medicines development*: мат. XXVIII Міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 150-річчю з дня народж. М.О.Валяшка (18-19 березня 2021 р., м. Харків). Х.: НФаУ, 2021. С. 115.
9. Посохова І. Ю., Хворост О. П. Дослідження комплексів БАР різної полярності, що одержано з сировини рослин родини *Lauraceae* / «Стратегічні пріоритети розвитку науки, освіти та технологій»: зб. праць міжнар. наук.-практич. конф. (25 листопада 2021 р. м. Полтава, Україна), Полтава, 2021. С. 25.

- 10.Посохова І. Ю., Хворост О. П. Встановлення морфометричних показників серій листя лавра звичайного та персеї американської. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи*: зб. праць міжнар. наук.-практич. конф., присвяч. 100-річчю НФаУ (10 вересня 2021 р. . НФаУ, м. Харків, Україна). Х.: НФаУ 2021. С. 242.
- 11.Хворост О. П., Посохова І. Ю. Кількісний вміст суми фенольних сполук в серіях сировини лавру благородного. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : мат. V Міжнар. наук.-практич. інтернет-конф. (14 квітня 2023 р. м. Харків). Електрон. дані. Х. : НФаУ, 2023. С. 171. – Назва з тит. екрана.
- 12.Определение оптимальных параметров технологии получения субстанций из перспективных видов растительного сырья /О. П. Хворост, И. Ю. Посохова, Б. С. Леонтьев, Е. Ю. Зудова. *Актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли*: мат. I-ой Республиканской науч.-практич. конф. с междунар. уч. (г. Ташкент, 25-26 апреля 2023 г. – Электрон.данные. – Ташкент: 2023. – С. 172. – название с тит. экрана.
- 13.Хворост О. П., Посохова І. Ю. Дослідження хімічного складу сировини *Laurus nobilis*. *Modern chemistry of medicines*: мат. Міжнар. Internet-конф. (18 травня 2023 р., м. Харків). С. 274. Електрон. дані. – Х.: НФаУ, 2023. С. 274.
- 14.Перспективи застосування природних антиоксидантів в відновленні пацієнтів після ряду захворювань / О. П. Хворост, Т. В. Опрощанська, І. Ю. Посохова та ін. *Мультидисциплінарний підхід у фізичній реабілітаційній медицині*: мат. Всеукр. конф. (26 травня 2023 року, м. Харків). Х.: НфаУ, 2023. С.37.

Апробація результатів досліджень

1. II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (11 березня 2020 р., м. Харків, форма участі – публікація тез).
2. IV міжнародна науково-практична internet-конференція «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (26-27 листопада 2020 р. НФаУ, м. Харків, форма участі – публікація тез та доповідь).
3. XXVIII Міжнародна науково-практична конференція, присвячена 150-річчю з дня народження М.О.Валяшка «*Topical issues of new medicines development*» (18-19 березня 2021 р., м. Харків, форма участі – доповідь та публікація тез).
4. Міжнародна наукової-практична конференція «Стратегічні пріоритети розвитку науки, освіти та технологій» (25 листопада 2021 р. м. Полтава, форма участі – публікація тез).
5. Міжнародна наукової-практична конференція, присвячена 100-річчю НФаУ «Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи» (10 вересня 2021 р. . НФаУ, м. Харків, форма участі – публікація тез).
6. V Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (14 квітня 2023 р., м. Харків, форма участі – публікація тез).
7. I-ая Республиканская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли» (25-26 апреля 2023 г. Ташкент, форма участі – публікація тез).
8. Міжнародна Internet-конференція «*Modern chemistry of medicines*» (18 травня 2023 р., м. Харків, форма участі – публікація тез).

9. . Всеукраїнська конференція «*Мультидисциплінарний підхід у фізичній реабілітаційній медицині*» (26 травня 2023 року, м. Харків, форма участі – доповідь та публікація тез).

Додаток Б



Продовж. дод. Б



УКРАЇНА

(19) UA (11) 151438 (13) U

(51) МПК

A61K 36/57 (2006.01)

A61P 17/18 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: а 2021 06475	(72) Винахідник(и): Хворост Ольга Павлівна (UA), Посохова Ірина Юріївна (UA), Скребцова Катерина Сергіївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 17.11.2021	
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 28.07.2022	(73) Володілець (володільці): Хворост Ольга Павлівна, вул. Руслана Плоходька, 8, кв. 54, м. Харків, 61112 (UA)
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 27.07.2022, Бюл. № 30	

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ З АНТИМІКРОБНОЮ ТА АНТИОКСИДАНТНОЮ ДІЄЮ

(57) Реферат:

Спосіб одержання лікарського засобу з антимікробною та антиоксидантною дією включає екстракцію рослинної сировини спиртом етиловим з подальшою фільтрацією. Як рослинну сировину використовують листя та/або плоди лавра. Екстракцію здійснюють 70% водним спиртом етиловим при загальному співвідношенні сировини до екстракту 1:1 методом мацерації протягом 24 годин.

UA 151438 U

Додаток В



ПРОЄКТ
ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор з науково-педагогічної
справи Національного
фармацевтичного університету
Інна ВЛАДИМИРОВА

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Lauri nobili Folia

Лапру благородного листя

Продовж. дод. В

Зберігати в оригінальній упаковці при температурі не вище 25 С в сухому захищеному від світла місці окремо від інших видів сировини.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Антимікробний, антиоксидантний засіб.

Професор закладу вищої освіти
кафедри хімії природних сполук
і нутриціології, професорка



О. П. Хворост
«16» серпня 2023 р.

Аспірантка кафедри хімії
природних сполук і нутриціології



І. Ю. Посохова
«16» серпня 2023 р.

Продовж. дод. В

ПРОЄКТ

ЗАТВЕРДЖУЮ



Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного
фармацевтичного університету
Інна ВЛАДИМИРОВА

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Lauri nobili Foliorum extractum spissum

Лавру благородного листя екстракт густий

Продовж. дод. В

додають 1.0 мл фосформолібденово-вольфрамового реактиву Р, 10.0 мл води Р, перемішуючи після кожного додавання, та доводять натрію карбонату розчином Р до об'єму 25.0 мл. Через 30 хв вимірюють оптичну густина (2.2.25) розчину за довжини хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційну рідину воду Р.

Вміст суми поліфенолів, у перерахунку на пірогалол, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{62.5 \times A_1 \times m_2 \times P}{A_0 \times m_1 \times 100}$$

A_1 — оптична густина випробовуваного розчину,

A_0 — оптична густина розчину порівняння,

m_1 — маса навідки випробовуваної сировини, у міліграмах,

m_2 — маса навідки ФСЗ ДФУ пірогалолу, у міліграмах,

Р — вміст пірогалолу у ФСЗ ДФУ пірогалолу, у відсотках

Вміст суми поліфенолів має бути не менше 6 %.

УПАКОВКА

Екстракт густий упаковують у банки скляні темного скла масою по 50 г нетто.

МАРКУВАННЯ

На етикетці ємності українською мовою вказують «Україна», «Розробка ІФФУ, Харків», його товарний знак та адресу, назву субстанції українською та латинською мовами, масу субстанції нетто, умови зберігання, номер партії, термін придатності.

Транспортування у відповідності до ГОСТ 14192-96.

ЗБЕРІГАННЯ

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

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Антимікробний, антиоксидантний засіб.

Професор ЗВО кафедри хімії

природних сполук і нутриціології

професорка

Аспірантка кафедри хімії

природних сполук і нутриціології

О. П. Хворост

«*ф*» *середа* 2023 р.

І. Ю. Посохова

«*ф*» *середа* 2023 р.

Додаток Г



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Результати висновок компонентного складу ефірних олій листя, пагонів та плодів дубру благородного.
2. Установа, автори: Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант Посохова І. Ю.
3. Джерела інформації: Component composition of essential oil shoots and leaves of noble laurel I. Ukrainian origin, Khvorost O., Posokhova I., Fedchenkova Yu. and Skrebitsova K. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 2021, Vol. 4(32), P. 56-58
4. Впроваджено: кафедра фармакології з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України.
5. Форма впровадження: в навчальний процес при викладі теми «Ефірні олії» та в науково-дослідницьку роботу.
6. Ефект від впровадження: розширення знань стосовно аналізу лікарської рослинної сировини.
7. Термін впровадження: 2022-2023 навчальний рік.

Затверджено на засіданні кафедри, протокол № 5 від 18 квітня 2023 р.

Відповідальний за впровадженням:

Завідувачка кафедри Фармакології
з медичною ботанікою Тернопільського
національного медичного університету
ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України
д. фарм. наук, проф.

С.М. Мурзин

Продовж дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор закладу вищої освіти
 з наукової роботи та інновацій
 Національного медичного
 університету
 імені О.О. Богомольця

проф. С.В. Земсков
 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Найменування пропозиції для впровадження:** Результати вивчення компонентного складу ефірної олії нестиглих плодів лавру благородного.
- Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант Посохова І. Ю.
- Джерела інформації:** Дослідження компонентного складу ефірної олії нестиглих плодів *Laurus nobilis* L. української заготівлі. /І. Ю. Посохова, О. П. Хворост, К. С. Скребинова, & Ю. А. Федченкова. //ЖОФХ. 2021. Т.19, № 3. С.47-52.
- Впроваджено:** кафедра фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.
- Форма впровадження:** в науково-дослідницьку роботу.
- Ефект від впровадження:** поглиблення знань стосовно аналізу лікарської рослинної сировини.
- Терміни впровадження:** 2022-2023 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри, протокол № 19 від 3.05.2023 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач закладу вищої освіти
 кафедри фармакогнозії та ботаніки
 Національного медичного університету
 імені О.О. Богомольця
 д.біол.н., професор

В.М. Мінарченко

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Ректор Ніжинського державного
університету
ім. Миколи Гоголя
Олександр САМОЙЛЕНКО
«31» _____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати вивчення компонентного складу ефірної олії нестиглих плодів лавру благородного.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант Посохова І. Ю.
3. **Джерела інформації:** Вибір оптимального екстрагенту для вилучення фенольних сполук з листя *Laurus nobilis* L. І. Ю. Посохова, К. С. Скребцова, О. П. Хворост, Ю. А. Федченкова. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2021. № 19. С. 60-64.
4. **Впроваджено:** кафедра хімії та фармації Ніжинського державного університету ім. Миколи Гоголя.
5. **Форма впровадження:** з науково-дослідницьку роботу.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань стосовно аналізу лікарської рослинної сировини.
7. **Терміни впровадження:** 2022-2023 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри, протокол № 13 від 31 березня 2023 р.

Відповідальний за впровадження:

Професор кафедри хімії та фармації
Ніжинського державного університету
ім. Миколи Гоголя
д.фарм.н., професор

 Ю. А. Федченкова

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного
фармацевтичного університету
проф. Інна ВЛАДИМИРОВА
«30» вересня 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати вивчення особливостей анатомічної будови сировини лавра благородного та персеї американської.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант Посохова І. Ю.
3. **Джерела інформації:** Посохова І. Ю., Хворост О. П., Федченкова Ю. А. Порівняльний аналіз морфолого-анатомічних особливостей будови листя поширених представників родини Lauraceae. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 4. С. 46-50.
4. **Впроваджено:** кафедра фармакогнозії Національного фармацевтичного університету
5. **Форма впровадження:** в навчальний процес в лекційному курсі теми «Ефірні олії» та в науково-дослідницьку роботу.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань стосовно аналізу лікарської рослинної сировини.
7. **Терміни впровадження:** 2022-2023 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 2 від 28.09.2022 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри фармакогнозії
Національного фармацевтичного
університету, кандидат фармацевтичних
наук, доцент

Ольга МАЛА