

Національний фармацевтичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Леонтієв Богдан Станіславович**

УДК 615.322:615.07:582.734.4:581.47

## **ДИСЕРТАЦІЯ**

**Фармакогностичне вивчення плодів калини  
звичайної як перспективного джерела 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 інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ Б. С. Леонтієв

Науковий керівник Хворост Ольга Павлівна, доктор фармацевтичних наук,  
професор

Харків – 2023

## АНОТАЦІЯ

*Леонтієв Б. С.* Фармакогностичне вивчення плодів калини звичайної як перспективного джерела 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 серій плодів калини звичайної вітчизняної заготовки, одержанню та стандартизації лікарського засобу на їх основі.

Першим етапом роботи було вивчення морфолого-анатомічної будови серій плодів калини звичайної вітчизняної заготовки. Встановлено морфометричні показники серій грон плодів калини звичайної та окремих плодів, їх складових, зокрема кісточки. Вивчено морфологічну будову серій плодів калини звичайної, результати увійшли до монографії ДФУ 2.0 «Калини плоди» «Ідентифікація А». Досліджено анатомічну будову плодів калини звичайної. Діагностичними рисами анатомічної будови є форма клітин епідерми, товщина їх оболонки, наявність червоно-помаранчевого вмісту в порожнинах, наявність друз оксалату кальцію у паренхімі м'якоті плоду, провідні пучки біля плодоніжки. Отримані дані увійшли до монографії ДФУ 2.0 «Калини плоди» – «Ідентифікація В».

Проведено товарознавчий аналіз серій плодів калини звичайної: домішки, втрата в масі при висушуванні.

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 серіях плодів калини звичайної, що заготовлено в Україні – первинних метаболітів: вільних та зв'язаних амінокислот, вільних та загальних углеводів, органічних, в тому числі

жирних, та аскорбінової кислот, та вторинних метоболітів: сполук, що переганяються з водяною парою, фенольних сполук (поліфенолів, гідроксикоричних кислот, антоціанів, процианидинів, флавоноїдів), макро- та мікроелементів. У досліджуваній сировині ідентифіковано не менше 113 БАР, з яких 16 амінокислот, 9 вуглеводів, 26 сполук, що переганяються з водяною парою, 15 жирних кислот, 8 сполук фенольної природи, 19 мінеральних речовин.

Методом ГХ/МС встановлено компонентний амінокислотний склад оплодня та кісточки плодів калини звичайної. В якісному плані компонентний склад як вільних і зв'язаних, так і замінних і незамінних АК індивідуальний для кожного об'єкта, що досліджували. Загалом ідентифіковано 16 АК. Найбільший вміст встановлено для АК проліну – понад 20 мкг/кг. Майже однаковий вміст фенілаланіну і лейцину в обох об'єктах - як у вільному, так і зв'язаному стані (відповідно,  $15,30 \pm 0,30$  мкг/кг- $15,38 \pm 0,32$  мкг/кг та  $15,96 \pm 0,31$  мкг/кг- $16,04 \pm 0,61$  мкг/кг). Вміст гліцину та треоніну є нижчим. Найбільший сумарний вміст вільних АК визначено у кісточці - 173,12 мкг/кг, а найменший – також в кісточці у зв'язаному стані – 131,95 мкг/кг, тобто в 1,3 рази нижчий. Вміст загальної кількості АК (вільних і зв'язаних) у оплодні становить 290,29 мкг/кг, у кісточці, відповідно, 304,07 мкг/кг. Функцію «fingerprint», ймовірно, можуть виконувати лізин та гістидин (для оплодня відсутні і у вільному, і у зв'язаному стані), а для кісточки як раз лізин наявний у вільному стані.

Методом ВЕРХ встановлено комопнентний склад вільних та загальних вуглеводів оплодня та кісточки. Найрізноманітніший склад характерний для загальних вуглеводів кісточки – не менше 9 сполук. Найбідніший – для вільних вуглеводів кісточки плоду (не менше 4 сполук). Лише D- глюкозу знайдено у вільному і зв'язаному стані у кісточці та оплодні, вміст цієї сполуки знаходиться у межах  $12,44 \pm 0,30$  мг/г- $12,74 \pm 0,38$  мг/г. Тільки кісточка містить значну кількість сахарози лише у вільному стані –  $32,83 \pm 0,64$  мг/г. D-Галактоза, D-ксилоза, D-маноза та L-рамноза у кісточці містяться лише у зв'язаному стані, в той час у оплодні у зв'язаному стані міститься лише L-рамноза.

Визначений кількісний вміст полісахаридів в 6 серіях плодів калини звичайної показав, що ця група БАР міститься не менше ніж 4,5 %.

Визначення компонентного складу ЖК у складових плоду калини звичайної проводили методом ГХ. У кісточці плоду калини звичайної знайдено 11 ЖК, з яких ідентифіковано 8. У оплодні із 15 знайдених ЖК ідентифіковано 14. Загальними для обох складових плодів є 8 ЖК (2 насичених та 6 ненасичених). У кісточці вміст суми ненасичених ЖК складає більше 97 % від загальної суми ЖК. У оплодні вміст ненасичених ЖК в 1,5 рази нижче у порівнянні з цим показником кісточки та складає більш 67 % від загальної суми ЖК. Домінуючою ЖК і в кісточці, і в оплодні плодів калини звичайної є мононенасичена олеїнова кислота.

Проведено визначення кількісного вмісту суми органічних кислот в перерахунку на яблучну кислоту в серіях плодів калини звичайної (монографія «Шипшини плоди» ДФУ 2.0) з валідацією методики. Кількісний вміст цієї групи БАР становив не нижче 6,8 %.

Визначений кількісний вміст аскорбінової кислоти (монографія «Шипшини плоди» ДФУ 2.0) в серіях плодів калини звичайної. Встановлено нижній рівень вмісту – не нижче 26 мг%.

За допомогою ГХ/МС визначено та проаналізовано компонентний склад сполук, що переганяються з водяною парою, плодів калини звичайної. Загалом ідентифіковано 26 сполук.

Ідентифіковано терпени каріофілен (відсоток співпадання – 98), (+)епі-біциклосесквифіландрен (відсоток співпадання – 93), а також алкан ейкозан (відсоток співпадання – 96).

Ідентифіковано високомолекулярні аліфатичні карбонові кислоти: тетрадеканову (мірістинову) кислоту (відсоток співпадання – 98), гексадеканову (пальмітинову) кислоту (відсоток співпадання – 98), лінолеву кислоту (відсоток співпадання – 96), 9,12-октадиєнову кислоту (Z,Z)- (відсоток співпадання – 99).

Вивчення компонентного складу гідроксикоричних кислот плодів калини звичайної проводили методом ВЕРХ. Загалом знайдено не менше 5 сполук цієї

групи. За вмістом лідирує хлорогенова кислота ( $902,3 \pm 1,7$  мкг/г), вміст решти компонентів нижчий в 10-20 разів.

Встановлено кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот в перерахунку на розмаринову кислоту (монографія ДФУ 2.0) в серіях плодів калини звичайної, що становив не нижче 3,9 %.

Встановлено компонентний склад флавоноїдів в плодах калини звичайної методом ВЕРХ. Нами знайдено не менш 3 сполук флавоноїдної природи, з яких один глікозид халкону та 2 глікозиди флавонолу кверцетину. Високий вміст визначено для біозиду рутину -  $2569,54 \pm 2,00$  мкг/г, значно нижчий (майже у 20 разів) вміст визначено для кверцетин-3-О- $\beta$ -глюкозиду (ізокверцитрину)  $135,99 \pm 0,03$  мкг/г. Вміст неогесперидину в порівнянні з рутином нижче майже удвічі та дорівнює  $1369,02 \pm 0,76$  мкг/г. До речі, неогесперидін є модифікатором смаку (підсолоджувачем). Джерелом його отримання традиційно є цитрусові (екзокарпій грейпфруту), це харчова добавка Е 959, що додають до складу зубних паст, ополіскувачів ротової порожнини, десертів, морозива, йогуртів, кетчупів, майонезів, а також використовують як допоміжну речовину у лікарських засобах. Раніше відомостей про наявність неогесперидину у плодах калини звичайної ми у доступних джерелах літератури не знайшли.

Проведено визначення кількісного вмісту антоціанів в серіях плодів калини звичайної (монографія «Чорниці плоди свіжі» ДФУ 2.0) з встановленням нижньої межі, що дорівнює 0,17 %.

Проведено визначення кількісного вмісту процінідинів в серіях плодів калини звичайної (монографія «Глоду плоди» ДФУ 2.0) з встановленням нижньої межі, що дорівнює 0,23 %.

Проведено визначення кількісного вмісту флавоноїдів в серіях плодів калини звичайної (монографія «Сафлору квітки» ДФУ 2.0) з встановленням нижньої межі, що дорівнює 1,9 %.

Визначили кількісний вміст суми поліфенолів та танінів у перерахунку на пірогалол (ДФУ 2.0) у 6 серіях плодів калини звичайної. Нижні межі вмісту кожної з цих груп БАР дорівнюють, відповідно, 1,7 % та 0,7 %.

Визначено елементний склад 6 серій плодів калини звичайної. Для накопичення макроелементів у сировині спостерігається наступна закономірність: для всіх досліджуваних серій сировини за вмістом домінували калій та кальцій ( $K > Ca$ ). Для решти макроелементів спостерігається значна варіабельність даних. Так, для плодів серій 1 та 5 визначено наступний варіант –  $P > Mg > Na > Si$ , серії 2 –  $Mg > Na > P, Si$ , серії 3 –  $Mg > Na, P > Si$ , серії 4 –  $Mg > P > Si > Na$ , серії 6 –  $Na > Mg > P > Si$ . Вміст важких металів знаходився в межах гранично допустимих норм для ЛРС згідно з вимогами ДФУ 2.0.

Встановлено технологічні параметри плодів калини звичайної: 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 90 % етанолу.

Для розробки технології одержання густого екстракту із плодів калини звичайної визначено динаміку вилучення екстрактивних речовин, суми органічних кислот в перерахунку на яблучну кислоту, суми поліфенолів в перерахунку на пірогалол, суми проціанідинів 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 сировини забезпечує 90 % етанол. Визначено оптимальні параметри технологічного процесу отримання густого екстракту з плодів калини звичайної. Оптимальний екстрагент – 90 % етанол, співвідношення сировина-екстрагент 1:10, кратність зливів – 1, загальний час екстрагування – 24 год, температура процесу – 25 °С, критеріями оцінки обрано – суми органічних кислот. На основі проведеної роботи розроблено технологію одержання густого екстракту з плодів калини звичайної, вихід субстанції у перерахунку на повітряно-суху сировину становив 17,5 %.

Для густого екстракту з плодів калини звичайної обрано параметри стандартизації: опис, розчинність, ідентифікація органічних кислот за методом ТШХ, втрата в масі при висушуванні, важкі метали (відповідає зазначеним

нормам), мікробіологічна чистота, кількісний вміст суми органічних кислот у перерахунку на яблучну кислоту (становив не менше 10,0 %).

Для отриманого густого екстракту з плодів калини звичайної дослідями *in vitro* методом дифузії в агар проведено скринінг антимікробної активності. Встановлено, що субстанція з плодів калини звичайної проявляє антимікробну активність відносно практично усіх тест-штамів у концетрації 10 %. Дослідами *in vitro* по відношенню до іону DPPH встановлено антиоксидантну дію субстанції.

Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель 150940 «Спосіб одержання засобу з антимікробною та антиоксидантною активністю з плодів калини».

Проведені системні фармакогностичні дослідження стали підґрунтям для розробки монографії ДФУ 2.0 «Калини плоди» та проєкту МКЯ «Плодів калини звичайної екстракт густий». Результати дослідження хімічного складу та анатомічної будови серій плодів калини звичайної впроваджено в науково-дослідну роботу споріднених кафедр закладів вищої освіти України.

*Ключові слова:* калина звичайна, плоди, фармакогностичне вивчення, густий екстракт, антимікробна активність, антиоксидантна активність.

### Список публікацій здобувача

1. Study of Amino Acid Composition and Basic Technological Parameters of Viburnum Fruits Harvested in Ukraine. / O. Khvorost, B. Leontiev, A. Yaroshenko, O. Shpychak. *J. of Global Pharma Technology*. 2020. Vol. 12, Issue 1. P. (Особистий внесок здобувача – проведено пробопідготовку та аналіз літературних даних, приймав участь у виконанні аналітичних досліджень, в аналізі даних, формулюванні висновків, оформленні статті).
2. The quantitative content determination of main groups of biologically active substances in batches of *Viburnum opulus* fruits / O. P. Khvorost,

- B. S. Leontiev, Yu. A. Fedchenkova, K. S. Skrebtsova. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2022. Vol. 20, Issue 1. P. 57-62. (Особистий внесок здобувача – проведено заготівлю сировини, пробопідготовку та аналіз літературних даних, приймав участь у проведенні кількісного визначення, в аналізі отриманих даних, формулюванні висновків, оформленні статті).
3. Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Дослідження елементного складу серій плодів калини звичайної (*Viburnum opulus* L.). *Фармац. журн.* 2023. Т. 78, № 5. С. 62-70. (Особистий внесок здобувача – проведено заготівлю сировини, пробопідготовку та аналіз літературних даних, приймав участь у проведенні кількісного визначення, в аналізі отриманих даних, формулюванні висновків, оформленні статті). DOI: 10.32352/0367-3057.5.23.07
  4. Хворост О. П., Леонтієв Б.С. Компонентний склад ряду сполук фенольної природи у плодах *Viburnum opulus* L. *Аннали Мечніковського інституту*. 2023. № 4. (Особистий внесок здобувача – проведено заготівлю сировини, пробопідготовку та аналіз літературних даних, приймав участь у проведенні кількісного визначення, в аналізі отриманих даних, формулюванні висновків, оформленні статті). [www.imiamn.org.ua/journal.htm](http://www.imiamn.org.ua/journal.htm) DOI: 10.5281/zenodo.10256992
  5. Леонтієв Б. С., Шпичак О. С., Хворост О. П., Скребцова К. С. Спосіб одержання засобу з антимікробною та антиоксидантною активністю з плодів калини: пат. на кор. мод. А 61К 36/35, А 61К 131/00, А 61Р 31/04, А 61Р 17/18, 150940, Україна. № заявки а202106952; заявл. 06.12.2021; опубл. 11.05.2022, Бюл. № 19.. (Особистий внесок – брав участь у патентному пошуку, одержанні лікарського рослинного засобу та оформленні патенту).



6. Leontiiev B., Fedchenkova J., Khvorost O. Fatty acids in the components of *Viburnum opulus* fruit. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2019. Vol. 29 (2). P.59-61.
7. Леонтиев Б. С., Хворост О. П. Определение количественного содержания аскорбиновой кислоты в плодах калины обыкновенной. *Актуальные вопросы современной медицины и фармации*: Сб. Мат. 69-й итоговой научно-практ. конф. студ. и молодых ученых, г. Витебск, 19-20 апрель 2017. В.: ВГМУ. 2017. С. 644.
8. Leontiev B. S. Quntative finding organic acides in series of fruits *Viburni opulus*. *Topical issues of new drugs development: abstracts of XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 20, 2017. Kh., 2017. Vol. 1. P. 89.
9. Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Динаміка вилучення екстрактивних речовин з плодів калини звичайної. *Промислова фармація: етапи становлення та майбутнє* : зб. наук. пр. Міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 25-річчю з дня відкриття спец. "Промислова фармація" в Україні, м. Харків, 29-30 верес. 2017 р. - Х., 2017. С. 87.
10. Леонтієв Б. С., Скребцова К. С. Дослідження перспективного виду рослинної сировини калини звичайної / *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : мат. I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. м. Харків, 5 квіт. 2018 р. Х. : НФаУ. 2018. С. 81.
11. Леонтієв Б. С., Скребцова К. С. Визначення числових показників рослинної сировини калини звичайної. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня

- народження д-ра фармац. наук, професора О. М. Гайдукевича, м. Харків, 12-13 квіт. 2018 р. Х.: НФаУ. 2018. С. 279.
12. Leontiev B. S., Khvorost O. P. Finding morphological and anatomical differences of sorts of *viburnum opulus*. *Topical issues of new drugs development: abstracts of XXV international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 18-20, 2018. Kh., 2018. P. 54.
  13. Леонтьєв Б.С. Перспективні групи БАР, що містяться у плодах калини звичайної. *Scientific Research Priorities – 2018 : theoretical and practical value: Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference*, Nowy Sącz, Poland, June 26-29, 2018. Nowy Sącz., 2018. P. 176.
  14. Leontiiev B., Khvorost O. Morphometric marks research of fruits of the *Viburnum opulus* in different sorts. *Science and practice : Mat. 9<sup>TH</sup> International conference of pharmacy*, 2018 9th of Novemver, 2018 Lithuanian University of Health Sciences, Sukilėjų 13, Kaunas Lithuania. P. 72.
  15. Леонтиев Б.С., Хворост О.П. Фармакогностическое изучение семян различных сортов калины обыкновенной. *Роль и место инновационных технологий в современной медицине: мат. 66-ой годичной научно-практической конференции ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием*, г. Душанбе 23 ноября 2018. Душанбе, 2018. ТОМ II. С. 374-375.
  16. Леонтьєв Б.С., Хворост О.П. Перспективи застосування плодів калини звичайної в медицині. *Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф.* 14-15 березня 2019 року. у2-х т. Х. : НФаУ, 2019. Т. 2. С. 163.
  17. Леонтьєв Б. С., Зудова Є. Ю., Хворост О. П. Перспективи використання лікарської рослинної сировини в Україні. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку:*

- матеріали XI наук.-практ. інтернет - конф., м. Харків, 24 травня 2019 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 125-126.
- 18.Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Використання екстракту з плодів калини звичайної у м'яких лікарських формах для лікування дерматологічних захворювань. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : мат. IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 14-15 листоп. 2019 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2019. С. 119-120.
- 19.Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Оцінка сировинної бази плодів калини звичайної у деяких регіонах України. *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. 87.
- 20.Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Створення нових фітозасобів з маловивчених рослинних джерел. *Застосування методів лікування і аніпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці*: мат. міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, м. Харків, 25 берез. 2020 р. Харків: Вид-во НФаУ, 2020. С. 151-152.
- 21.Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Можливості комплексної переробки вітчизняної сировини - плодів калини звичайної. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 2 квіт. 2021 р. Харків, 2021. С. 125.
- 22.Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Використання сировини плодів калини звичайної як джерела отримання флавоноїдів. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи*: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 100-річчю Національного

фармацевтичного університету, м. Харків, 10 верес. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 214.

- 23.Определение оптимальных параметров технологии получения субстанций из перспективных видов растительного сырья./ О.П. Хворост, И.Ю. Посохова, Б.С. Леонтиев, Е.Ю. Зудова. *Актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли* : мат. I-ой Республ. науч.-практич. конф. с междунар. уч. г. Ташкент, 25-26 апреля 2023 г. Электрон. данные. Ташкент: 2023. С. 172.
- 24.Перспективи застосування природних антиоксидантів в відновленні пацієнтів після ряду захворювань./ О. П. Хворост, Т. В. Опрошанська, І. Ю. Посохова, Є. Ю. Зудова та ін. *Мультидисциплінарний підхід у фізичній реабілітаційній медицині*: мат. Всеукр. конф. 26 травня 2023 року, м. Харків. Х.: Вид-во НфаУ, 2023. С.37.
- 25.Леонтиєв Б. С., Хворост О. П., Вельма С. В. Фармакогностичне вивчення плодів калини звичайної. *Фундаментальні та прикладні дослідження в сучасній хімії та фармації*: мат. IX Міжнародної заочної науково-практичної конференції молодих учених : Ніжин, 23 травня 2023 р. / заг. ред. В. В. Суховєєва. м. Ніжин : НДУ ім. Миколи Гоголя, 2023. С 29.

## ANNOTATION

*Leontiev B. S.* Pharmacognostic study of *Viburnum* fruits as a promising source of medicinal plant raw materials. - Qualification 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 is devoted to the systematic pharmacognostic study of a series of ordinary domestic *Viburnum* fruits, the preparation and standardization of a medicinal product based on them.

The first stage of the work was the study of the morphological and anatomical structure of series of *Viburnum* fruits of ordinary domestic production. The morphometric indicators of series of clusters of viburnum fruits and individual fruits, their components, in particular the stone, were established. The morphological structure of the series of *Viburnum* fruits was studied in comparison and included in the monograph DFU 2.0 "*Viburnum* fruits" "Identification A". The anatomical structure of *Viburnum* fruits was studied. Diagnostic features of the anatomical structure are the shape of the epidermal cells, the thickness of their shell, the presence of red-orange contents in the cavities, the presence of calcium oxalate drusen in the parenchyma of the fruit pulp, conducting bundles near the peduncle. This results included in the monograph DFU 2.0 "*Viburnum* fruits" – "Identification B".

Commodity analysis of series of *Viburnum* fruits: impurities, weight loss during drying was carried out.

With the help of thin-layer (TLC), gas chromatography (GC), chromatomass 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 the series of fruits was determined common *Viburnum* harvested in Ukraine – primary metabolites: free and bound amino acids, free and total carbohydrates, organic, including fatty and ascorbic acids, and secondary metabolites: compounds that distil with water vapor, phenolic compounds (polyphenols, hydroxycinnamic acids, anthocyanins, procyanidins, flavonoids), macro- and microelements. At least 113 BAS were identified in the studied raw materials, of which 16 amino acids, 9 carbohydrates, 26 compounds that distil with water vapor, 15 fatty acids, 8 phenolic compounds, and 19 mineral substances.

The component amino acid composition of the pericarp and stone of *Viburnum* fruits was determined by the GC/MS method. In terms of quality, the component composition of both free and bound as well as replaceable and irreplaceable AA is individual for each investigated object. A total of 16 AA were identified. The highest content is established for AA proline – more than 20 µg/kg. Almost the same content of phenylalanine and leucine in both objects – both in free and bound state (respectively, 15,30±0,30 µg/kg-15,38±0,32 µg/kg and 15,96 ±0,31 µg/kg-16,04±0,61 µg/kg). The content of glycine and threonine is lower. The highest total content of free AA was determined in the bone – 173,12 µg/kg, and the lowest – also in the bone in the bound state – 131,95 µg/kg, i.e. 1,3 times lower. The content of the total amount of AA (free and bound) in the amnion is 290,29 µg/kg, in the drupe, respectively, 304,07 µg/kg. The "fingerprint" function can probably be performed by lysine and histidine (they are absent both in the free and bound state for the pericarp), and for the stone it is precisely lysine that is present in the free state.

The component composition of free and total carbohydrates of the pericarp and pit was determined by the HPLC method. The most diverse composition is characteristic of the total carbohydrates of the bone – at least 9 compounds. The poorest – for free carbohydrates of the fruit stone (at least 4 compounds). Only D-Glucose was found in the free and bound state in the stone and amnion, the content of this compound is in the range of 12,44±0,30 mg/g-12,74±0,38 mg/g. Only the stone contains a significant amount of sucrose only in the free state – 32,83±0,64 mg/g. D-Galactose, D-Xylose, D-Mannose, and L-Rhamnose are only present in the bound state in the drupe, while only L-Rhamnose is present in the bound state in the pericarp. The determined quantitative content of polysaccharides in 6 series of viburnum fruits showed that this group of BAS contains no less than 4,5 %.

Determination of the component composition of FA in the components of the *Viburnum* fruit was carried out by the GC method. In the pit of the

viburnum fruit, 11 FA were found, of which 8 were identified. In the pericarp, of the 15 FA found, 14 were identified. There are 8 FA common to both components of the fruit (2 saturated and 6 unsaturated). In the bone, the amount of unsaturated fatty acids is more than 97 % of the total amount of fatty acids. In amniotic fluid, the content of unsaturated fatty acids is 1.5 times lower compared to this indicator of the bone and is more than 67 % of the total amount of fatty acids. Monounsaturated oleic acid is the dominant FA both in the stone and in the pericarp of *Viburnum* fruits.

The determination of the quantitative content of the sum of organic acids in terms of malic acid in series of viburnum fruits (monograph "Rosehip fruits" StPh 2.0) with validation of the methodology was carried out. The quantitative total of this group of BARs was at least 6,8 %.

Quantitative content of ascorbic acid was determined (monograph "Rosehip fruits" StPh 2.0) in series of viburnum fruits. The lower level of content is established – not lower than 26 mg%.

With the help of GC/MS, the component composition of the compounds distilled with water vapor of the fruits of *Viburnum* was determined and analyzed. A total of 26 compounds were identified.

The terpenes caryophyllene (percentage of coincidence – 98%), (+)epi-bicyclosesquiphyllandrene (percentage of coincidence – 93%), as well as alkane eicosane (percentage of coincidence – 96%) were identified.

High molecular weight aliphatic carboxylic acids were identified: tetradecanoic (myristic) acid (percentage of coincidence – 98%), hexadecanoic (palmitic) acid (percentage of coincidence – 98%), linoleic acid (percentage of coincidence – 96%), 9,12-octadienoic acid (Z,Z) – (the percentage of coincidence is 99%).

The study of the component composition of hydroxycinnamic acids of viburnum fruits was carried out by the HPLC method. In total, at least 5 compounds of this group were found. Chlorogenic acid ( $902,3 \pm 1,7 \mu\text{g/g}$ ) leads

the way in terms of content, while the content of the remaining components is 10-20 times lower.

The quantitative content of the sum of hydroxycinnamic acids in terms of rosmarinic acid (monograph StPh 2.0) in series of viburnum fruits was established, which was not less than 3,9 %.

The component composition of flavonoids in the fruits of *Viburnum* was determined by HPLC. We have found at least 3 compounds of flavonoid nature, of which one chalcone glycoside and 2 flavonol quercetin glycosides. A high content was determined for the bioside rutin –  $2569,54 \pm 2,00$   $\mu\text{g/g}$ , a significantly lower (almost 20 times) content was determined for quercetin-3-O- $\beta$ -glucoside (isoquercitrin)  $135,99 \pm 0,03$   $\mu\text{g/g}$ . The content of neohesperidin compared to rutin is almost twice as low and equal to  $1369,02 \pm 0,76$   $\mu\text{g/g}$ . By the way, neohesperidin is a taste modifier (sweetener). The source of its production is traditionally citrus fruits (grapefruit exocarp), it is a food additive E 959, which is added to the composition of toothpastes, mouth rinses, desserts, ice cream, yogurts, ketchups, mayonnaise, and is also used as an auxiliary substance in medicines. Previously, we did not find information about the presence of neohesperidin in viburnum fruits in the available sources of literature.

The determination of the quantitative content of anthocyanins in series of *Viburnum* fruits (monograph "Blueberry fruits" StPh 2.0) was carried out with the establishment of a lower limit equal to 0,17 %.

Quantitative content of procynidins in series of *Viburnum* fruits was determined (monograph "Hawthorn fruits" StPh 2.0) with the establishment of a lower limit equal to 0,23 %.

Quantitative content of flavonoids in series of *Viburnum* fruits was determined (monograph "Safflower flower" StPh 2.0) with the establishment of a lower limit equal to 1,9 %.

We determined the quantitative content of the sum of polyphenols and tannins in terms of pyrogallol (SPhU 2.0) in 6 series of *Viburnum* fruits. The



lower limits of the content of each of these BAR groups are, respectively, 1,7 % and 0,7 %.

The elemental composition of 6 series of viburnum fruits was determined. The following regularity is observed for the accumulation of macroelements in raw materials: for all studied series of raw materials, potassium and calcium dominated in terms of content ( $K > Ca$ ). Significant data variability is observed for the remaining macronutrients. So, for the fruits of series 1 and 5, the following variant is defined -  $P > Mg > Na > Si$ , series 2 -  $Mg > Na > P, Si$ , series 3 -  $Mg > Na, P > Si$ , series 4 -  $Mg > P > Si > Na$ , series 6 -  $Na > Mg > P > Si$ . The content of heavy metals was within the maximum allowable norms for LRS according to the requirements of SPhU 2.0.

The technological parameters of *Viburnum* fruits were established: loss in mass during drying, average particle size, specific, volumetric, bulk mass, porosity of raw materials, layer porosity, free volume of the layer, specific particle surface, fluidity, water absorption coefficients and 90% ethanol.

To develop a technology for obtaining a thick extract from *Viburnum* fruits, the dynamics of extraction of extractive substances, the amount of organic acids in terms of malic acid, the amount of polyphenols in terms of pyrogallol, the amount of procyanidins when using a number of extractants (purified water, 10% ethanol, 20% ethanol, 30% ethanol, 40% ethanol, 50% ethanol, 60% ethanol, 70% ethanol, 80% ethanol, 90% ethanol and 96% ethanol). It was established that the optimal extraction of the main groups of BAS from raw materials is provided by 90% ethyl alcohol. The optimal parameters of the technological process of obtaining a thick extract from the fruits of viburnum were determined. The optimal extractant is 90% ethanol, the raw material-extractant ratio is 1:10, the number of pours is 1, the total extraction time is 24 hours, the process temperature is 25 °C, the evaluation criteria are the amount of organic acids. On the basis of the work carried out, a technology for obtaining a thick extract from *Viburnum* fruits was

developed, the yield of the substance in terms of air-dry raw materials was 17,5 %.

Standardization parameters were chosen for the thick extract from viburnum fruits: description, solubility, identification of organic acids by the TLC method, loss in mass during drying, heavy metals (corresponds to the specified standards), microbiological purity, quantitative content of the amount of polypheno organic acids in terms of malic acid (was not less than 10,0 %).

Antimicrobial activity was screened for the obtained thick extract from *Viburnum* fruits by *in vitro* experiments using the diffusion method in agar. It was established that the substance from the fruits of *Viburnum* shows antimicrobial activity against almost all test strains by concentration 10 %. *in vitro* experiments in relation to the DPPH ion shows antioxydant activity.

The novelty of the research is confirmed by the Ukrainian utility model patent 150940 "Method of obtaining a product with antimicrobial and antioxidant activity from *Viburnum* fruits".

The conducted systematic pharmacognostic studies became the basis for the development of the monography SPhU 2.0 "Viburnim Fruits" and the project of the MCQ "Fruits of *Viburnum* thick extract". The results of the study of the chemical composition and anatomical structure of series *Viburnum* Fruits have been implemented in the research work of related departments of higher education institutions of Ukraine.

Key words: *Viburnum opulus*, fruits, pharmacognostic study, thick extract, antimicrobial activity, antioxidant activity.

## ЗМІСТ

|                                                                                                                                     |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| АНОТАЦІЯ.....                                                                                                                       | 2   |
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ .....                                                                                                     | 20  |
| ВСТУП .....                                                                                                                         | 21  |
| РОЗДІЛ 1 ПРЕДСТАВНИКИ РОДУ КАЛИНА – ПЕРСПЕКТИВНІ<br>ДЖЕРЕЛА БАР(огляд літератури).....                                              | 27  |
| 1.1 Коротка ботанічна характеристика роду, найпоширенішого<br>виду та його сортів.....                                              | 27  |
| 1.2 Хімічний склад плодів калини звичайної.....                                                                                     | 39  |
| 1.3 Аспекти застосування плодів калини звичайної.....                                                                               | 40  |
| РОЗДІЛ 2 ОБ’ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....                                                                              | 53  |
| РОЗДІЛ 3 МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СЕРІЙ<br>ПЛОДІВ КАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ ВІТЧИЗНЯНОЇ<br>ЗАГОТІВЛІ ТА ЇХ ТОВАРОЗНАВЧИЙ АНАЛІЗ..... | 73  |
| 3.1 Встановлення морфологічних та морфометричних<br>параметрів плодів калини звичайної.....                                         | 73  |
| 3.2 Встановлення анатомічних параметрів плодів калини<br>звичайної.....                                                             | 76  |
| 3.3 Товарознавчий аналіз серій плодів калини звичайної<br>вітчизняної заготівлі.....                                                | 79  |
| Висновки до розділу 3.....                                                                                                          | 80  |
| РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ<br>ОСНОВНИХ ГРУП БАР ПЛОДІВ КАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ<br>ТА ЇХ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ.....             | 86  |
| 4.1 Компонентний склад первинних метаболітів у плодах<br>калини звичайної вітчизняної заготівлі                                     | 86  |
| 4.2 Компонентний склад вторинних метаболітів у плодах<br>калини звичайної вітчизняної заготівлі                                     | 103 |

|                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.3                                                                                                                                                                                                     | Компонентний склад мінеральних сполук у серіях плодів<br>калини звичайної вітчизняної заготівлі | 121 |
| Висновки до розділу 4.....                                                                                                                                                                              |                                                                                                 | 123 |
| РОЗДІЛ 5 ВИЗНАЧЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ<br>ПЛОДІВ КАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ, ПАРАМЕТРІВ<br>ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ОТРИМАННЯ ГУСТОГО<br>ЕКСТРАКТУ З ЦЬОГО ВИДУ СИРОВИНИ ТА<br>ПАРАМЕТРІВ ЙОГО СТАНДАРТИЗАЦІЇ |                                                                                                 | 127 |
| 5.1                                                                                                                                                                                                     | Визначення технологічних параметрів плодів калини<br>звичайної.....                             | 127 |
| 5.2                                                                                                                                                                                                     | Розробка технології одержання густого екстракту з плодів<br>калини звичайної .....              | 135 |
| 5.3                                                                                                                                                                                                     | Дослідження біологічної активності густого екстракту<br>плодів калини звичайної.....            | 142 |
| Висновки до розділу 5.....                                                                                                                                                                              |                                                                                                 | 150 |
| ВИСНОВКИ .....                                                                                                                                                                                          |                                                                                                 | 154 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....                                                                                                                                                                        |                                                                                                 | 155 |
| ДОДАТКИ.....                                                                                                                                                                                            |                                                                                                 | 181 |

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЕС – атомно-емісійна спектрометрія

АК – амінокислоти

БАР – біологічно активні речовини

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

ГХ/МС – газова хроматографія (мас-детектування)

ДФУ 2.0 – Державна Фармакопея України 2 видання

ЖК – жирні кислоти

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

Зважаючи на всі тенденції сьогодення (епідемія ковіду, умови військового стану) кардинально змінилися підходи до забезпечення населення лікарськими препаратами. Активно розвивається напрямок екстемпоральних засобів [3,10,41], дерматологічних [4,49,54,60,62,90], протигрибкових засобів [46,51,52,55-57,61]. На перший план виходять проблеми створення вітчизняних (для усунення можливих логістичних проблем) доступних лікарських засобів економ-категорій [11,15]. В реалізації цього напрямку фітотерапія, що ніколи не втрачала своїх позицій [2,13,45,92], набуває ще більшої популярності.

Особливу увагу привертають рослини вітчизняної флори, що чудово ростуть в нативних умовах природних біоценозів та при цьому легко культивуються [14,44,102,111].

Саме такою рослиною є калина звичайна *Viburnum opulus* L. (род. Адоксові *Adoxaceae*) [91].

З плодів, окрім дієтичних добавок, не створено лікарського препарату [95,106,160]. А цей вид сировини поєднує дуже актуальні види фармакологічної дії 73-74,125, 126,135,136].

Так, багатий та різноманітний хімічний склад зумовлює і вкрай різновекторні види дії [72-74,113,105,125,147,166]. Плоди калини містять вітаміни, макро- та мікроелементи, цекри, пектини, органічні кислоти, амінокислоти, фенольні сполуки [67,79,98,116,162,178] та застосовуються в першу чергу при застудних захворюваннях як протизапальне [117-119] та відхаркувальне, при захворюваннях шлуково-кишкового тракту, серцево-судинної [96], нервової, дихальної, репродуктивної систем, як протиалергійне, протинабрякове, гіпотензивне [70,86,100,103], капілязмцнююче, сечожогінне, зовнішньо – як тонізує та відбілює шкіру.

Таким чином, поглиблене фармакогностичне вивчення серій плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі з розробкою субстанції на їх основі є

перспективним.

### **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 серій плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі.

Завдання дослідження такі:

- провести аналіз морфолого-анатомічної будови плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі;
- здійснити дослідження хімічного складу плодів;
- 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 розділи монографіїДФУ 2.0 на сировину та проєкт МКЯ на густий екстракт.

*Об'єкт дослідження:* системне фармакогностичне вивчення серій плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі.

*Предмет дослідження:* ідентифікація, визначення кількісного вмісту БАР у серіях плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі, 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 поверхні, поперечних 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 серій плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі. За допомогою хроматографічних методів аналізу в сировині встановлено компонентний склад сполук, що переганялися з водяною парою, вільних та зв'язаних АА, вільних та загальних вуглеводів, ЖК, ряду груп фенольних сполук: гідроксикоричних кислот, флавоноїдів.

Визначено кількісний вміст суми поліфенолів, суми гідроксикоричних кислот, суми флавоноїдів в серіях плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі.

Встановлено параметри технологічного процесу (оптимальний екстрагент, часовий термін, співвідношення сировина-екстрагент) отримання густого екстракту з плодів калини звичайної.

Розроблено технологію отримання густого екстракту з плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі та визначено основні параметри контролю його якості.

Визначено антиоксидантну та антимікробну активність густого екстракту з плодів калини звичайної.

Новизну досліджень підтверджено патентом 150940 «Спосіб одержання засобу з антимікробною та антиоксидантною активністю з плодів калини: пат. на кор. мод. А 61К 36/35, А 61К 131/00, А 61Р 31/04, А 61Р 17/18, Україна. № заявки а202106952; заявл. 06.12.2021; опубл. 11.05.2022, Бюл. № 19. [53].

### **Практичне значення отриманих результатів**

Розроблено ряд розділів монографії ДФУ 2.0 «Калини плоди».



Розроблено проєкт МКЯ «Калини плодів екстракт густий».

Розроблено технологію отримання густого екстракту з плодів калини звичайної.

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

### **Особистий внесок здобувача**

Безпосередньо автором здійснено:

- інформаційний пошук та аналіз літературних даних за темою дисертації, аналіз стану фармакогностичного вивчення сировини калини звичайної;
- встановлено морфолого-анатомічну будову серій плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі;
- встановлено комопнентний склад та визначено кількісний вміст основних груп БАР у сировині: вільних та зв'язаних амінокислот, вільних та загальних вуглеводів, сполук, що переганяються з водяною парою, органічних, в тому числі жирних, кислот, мінеральних сполук, основних груп фенольних сполук, полісахаридів;
- проведено стандартизацію густого екстракту;
- розроблено технологію одержання густого екстракту з плодів калини, обрано основні параметри контролю його якості;
- розроблено розділи монографії ДФУ 2.0 «Калини плоди»;
- розроблено проєкт МКЯ «Калини плодів екстракт густий».

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з Вельмою С. В., Зудовою Є. Ю., Опрошанською Т. В., Скребцовою К. С. Федченковою Ю. А., Хворост О. П., Шпичаком О. С., Ярошенко А. В.

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: 69-й итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых «*Актуальные вопросы современной медицины и фармации*» (г. Витебск, 19-20 апреля. 2017 г.); XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student «*Topical issues of new drugs development*» (Kharkiv, April 20 2017); Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 25-річчю з дня відкриття спеціальності "Промислова фармація" в Україні «*Промислова фармація : етапи становлення та майбутнє*» (м. Харків, 29-30 вересня 2017 р.); I Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «*Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*» (м. Харків, 5 квітня 2018р.); Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича «*Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*» (м. Харків, 12-13 квітня 2018 р.); XXV international scientific and practical conference of young scientists and student «*Topical issues of new drugs development*» (Kharkiv, April 12-20 2018); Theoretical and practical value : Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference «*Scientific Research Priorities – 2018*» (Nowy Sącz, June 26-29 2018); 9<sup>TH</sup> International conference of pharmacy «*Science and practice*» (Kaunas November 9 2018); 66-ой годичной научно-практической конференции ТГМУ имени Абуали ибни Сино с международным участием «*Роль и место инновационных технологий в современной медицине*» (г. Душанбе 23 ноября 2018); III Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «*Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*» (м. Харків, 14-15 березня 2019 р); XI науково-практичної інтернет-конференції. «*Фармакоекономіка в Україні: стан та*

*перспективи розвитку»* (м. Харків, 24 травня 2019 р.); IV Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції *«Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії»* (м. Харків, 14-15 листопада 2019 р.); II Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції *«Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження»* (м. Харків, 11 березня 2020 р.); Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова *«Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці»* (м. Харків, 25 березня 2020 р.); III Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції *«Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження»* (м. Харків, 2 квітня 2021 р.); науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету *«Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи»* (м. Харків, 10 верес. 2021 р.); I-ой Республиканской научно-практической конференции с международным участием *«Актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли»* (г. Ташкент, 25-26 апреля 2023 г.); Всеукраїнської конференції *«Мультидисциплінарний підхід у фізичній реабілітаційній медицині»* (м. Харків, 26 травня 2023 р.); IX Міжнародної заочної науково-практичної конференції молодих учених *«Фундаментальні та прикладні дослідження в сучасній хімії та фармації»* (м. Ніжин, 23 травня 2023 р.).

### **Обсяг та структура дисертації**

Дисертаційна робота викладена на 194 сторінках машинописного тексту, складається із анотації, вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел та 5 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 150 машинописних сторінок. Робота проілюстрована 31 таблицею та 59 рисунками. Список використаних джерел налічує 194 найменувань, із них 64 кирилицею та 130 латиницею.

## РОЗДІЛ 1

### ПРЕДСТАВНИКИ РОДУ КАЛИНА – ПЕРСПЕКТИВНІ ДЖЕРЕЛА БАР (огляд літератури)

#### 1.1 Коротка ботанічна характеристика роду, найпоширенішого виду та його сортів

Рід Калина (*Viburnum*) – об'єднує близько 170 видів чагарників або невеликих дерев. Місце зростання – країни помірною пояса в північній півкулі, також зустрічається в Андах, на Антильських островах, на Мадагаскарі. Походження назви «калина» пов'язано з праслов'янською, або з давньоіндійською мовою. У першому варіанті – походження від слова *kal'* (мокра земля, бруд, болото), через вологолюбність рослини, або від *kaliti* (розжарювати, загартовувати), через колір плодів [43].

Найпоширенішим видом роду є калина звичайна *Viburnum opulus* L. (рис. 1.1).

Це чагарник, рідше дерево, до 4 м у висоту, має бурувато-сіру кору. Крона не правильної форми, рідкісна.

Листки на черешках супротивні, прості, зрізані, 5-лопатеві, згори темно-зеленого кольору, зісподу сизо-зеленого кольору, тьмяні.

Квітки рожево-білого або чисто білого кольору, зібрані в щиткоподібні суцвіття, які розташовані на верхівках молодих пагонів. Крайові квітки неплодучі, плоди утворюють центральні квітки суцвіття.

Плід – блискуча, соковита, яскраво-червона кістянка кулястої форми, з плоскою, серцеподібної форми, кісточкою яка займає більшу частину плоду. М'якоть плоду соковита, велика, смак терпкий, гіркувато-кислий.

Цвіте в травні-липні, плодоносить у серпні-вересні.



Рис.1.1 Калина звичайна *Viburnum opulus* L.

Зважаючи на значну кількість сортів калини звичайної, що виведено та культивовано в ряді країн, в тому числі і в Україні, доцільно привести характеристику найрозповсюдженіших [41].

Сорт «Захід» – великоплідний сорт середнього терміну дозрівання. Кущ середньо-рослий, з товстими пагонами, у висоту досягає до 3 м. Плоди великі, світло-червоного забарвлення округлої форми. Маса плоду 0,6 г. Смак солодкувато-кислий, з легкою терпкістю. Врожайність більше 5 кг з куща. Досить стійкий до хвороб, з високою морозостійкістю.

Сорт «Гранатовий браслет» – великоплідний сорт пізнього терміну дозрівання. Кущ середньо-рослий, з товстими пагонами, у висоту досягає до 3 м. Одне гроно містить до 30-35 плодів. Плід масою до 1,5 г. Смак солодкий із незначною гіркуватістю дозволяє віднести сорт до солодкоплідних сортів калини. Врожайність більше 5 кг з куща. Досить стійкий до хвороб, з високою морозостійкістю.

Сорт "Свобода" (Freedom) – це великоплідний сорт раннього терміну дозрівання. Кущ середньої сили зростання, у висоту досягає 4 м, крона компактна, зібрана. Плоди великі до 1 гр. насичено-червоного забарвлення, кулястої форми. Шкірка тонка, після перших заморозків стає майже прозорою. Плоди зібрані у великі грона. Смак гіркувато-солодкий. Врожайність висока та

регулярна, в середньому 7-15 кг з куща. Сорт стійкий до основних захворювань, з високою морозостійкістю.

Сорт "Райдужна" – це великоплідний сорт середнього терміну дозрівання. Кущ середньої сили зростання, у висоту досягає 4 м, крона компактна, зібрана. Плоди правильної округлої форми, мають яскраво-червоний з невеликим рожевим відтінком забарвлення, середньою вагою в 0.5-1.8 г. Смак приємний, кислуватий з невеликою гіркотою присмаку. Врожайність вище середнього, десь 10-14 кг з дорослого дерева або куща.

Сорт «Коралова» – це великоплідний сорт середнього терміну дозрівання. Дерево або кущ до 3-4 м заввишки, до 2-2,5 м шириною. Плоди яскраво-червоні, кулясті, до 1 см в діаметрі, вагою до 1,2-1,5 г. Врожайність до 10-17 кг із куща. Смак кисло-солодкий, із невеликою гіркуватістю. Починає плодоносити на 3 рік, із серпня, потрібне перехресне запилення, тобто потрібні 2-3 інших сорти поблизу. Морозостійкість висока, до -35 °С.

Сорт «Лікерна» – це великоплідний сорт пізнього терміну дозрівання. Кущ до 3-4 м заввишки, до 2 м шириною, розлогий. Плоди яскраво-червоні, кулясті, до 1 см в діаметрі, масою до 1,5 г, врожайність до 6-10 кг із куща. Смак плодів кисло-солодкий, освіжаючий, з гірчинкою. Плодоносить на 2-3 рік, з середини вересня. Потребує перехресне запилення, тобто потрібні 2-3 інших сорти поблизу. Морозостійкість висока, до -35 °С.

Сорт «Синичка» – це середньоплідний сорт пізнього терміну дозрівання. Висота куща до 3 м, ширина до 2 м. Плоди ягоди червоні, кулясті, до 1 см в діаметрі, масою до 1 г. Врожайність до 7-16 кг з куща. Смак кисло-солодкий, з гірчинкою. Плодоносить на 2-3 рік, з вересня. Як і попередні сорти, запилюється перехресно, потрібні 2-3 інших сорти поблизу. Морозостійкість висока, до -35 °С.

Сорт «Україночка» – це середньоплідний сорт раннього терміну дозрівання. Кущ до 4 м заввишки, до 4 м завширшки. Плоди червоні, кулясті, до 1 см в діаметрі, масою до 1,3 г. Врожайність до 7-12 кг з куща. Смак плодів кисло-

солодкий, із гірчинкою. Плодоносить на 2 рік, із серпня. Також потребує перехресного запилення. Морозостійкість висока, до -35 °С.

Сорт «Еліксир» – це дрібноплідний сорт пізнього терміну дозрівання. Кущ до 2,5 м заввишки, до 2 м шириною. Плоди темно-червоні, 1 см в діаметрі, масою до 0,7 г, зібрані в грона, масою до 50-70 г. Врожайність до 10-14 кг з куща. Смак плодів кислувато-солодкий, освіжаючий. Плодоносить на 4 рік, у вересні. Самозапилюваний, але рекомендується 2-3 інших дерева в радіусі 10-20 м. Не пошкоджується попелицями, морозостійкість висока, до -35 °С.

Сорт «Солодкоплідна» – це великоплідний сорт раннього терміну дозрівання. Кущ середньої висоти, яка може досягати трьох метрів. Яскраво-червоні плоди вагою від 0,5 до 1,5 г дозрівають наприкінці серпня – на початку вересня. Урожайність з одного куща становить від 6 до 10 кг. Стійка до захворювань та шкідників, але рекомендується проводити профілактичні обробки.

Сорт «Садова» – великоплідний сорт раннього терміну дозрівання, Кущ середньої сили, заввишки до 3 метрів, також має компактну і зібрану крону. Плоди великі, вагою 0,9-1,5 г, мають насичено-червоне забарвлення і кислувато-приємний смак. Характерна висока та стабільна врожайність, в середньому – 7-15 кг з куща. Характерна також стійкість до захворювань та високу морозостійкість.

Сорт «Зірниця» – дрібноплідний сорт раннього терміну дозрівання Кущ висотою до 3 м, пагони прямі.. Плоди світло-червоні, овальні, масою до 0,6-0.7 г. Смак гірко-кислий, в продуктах переробки слабогорького. Врожайність до 10 кг з куща.

Сорт «Марія» – великоплідний сорт раннього терміну дозрівання. Кущ Кущ густоветвистий, висотою понад 3 м, з товстими пагонами. Плоди зібрані компактно, масою до 0,6 г. Смак солодкувато-кислий, з легкою терпкістю. Врожайність до 13 кг з куща.

Сорт «Горобина» – великоплідний сорт раннього терміну дозрівання. Кущ висотою до 4 м, пагони прямі. Плоди червоні, овальні, масою до 0,7 г. Смак кисло-гіркий, з освіжаючим ефектом. Урожайність близько 12 кг з куща.

Сорт «Союзга» – великоплідний сорт раннього терміну дозрівання. Кущ компактний, висотою до 3 м, з гладкими пагонами і великим листям. Плоди яскраво-червоні-червоні, округлі, масою до 0,6 г. Смак слабогіркий. Врожайність до 10 кг з куща.

Сорт «Тайгові рубіни» – великоплідний сорт раннього терміну дозрівання. Кущ сильнорослий, висотою до 4 м, з гладкими світло-сірими пагонами і яскраво-зеленим листям. Плоди темно-червоні, округлі, масою до 0,6 г. Смак солодко-кислий, з гірчинкою. Врожайність до 10 кг з куща.

Сорт «Ульгень» – великоплідний сорт раннього терміну дозрівання. Кущ висотою до 4 м. Грона великі, до 50 плодів. Плоди яскраво-червоні, округлі, масою до 0,8 г. Смак слабогорького, солодкуватий. Врожайність до 10-11 кг з куща. Вологолюбна, стійка до захворювань та попелиці. Вміст вітаміну С до 130 мг.

Сорт «Жовта» – великоплідний сорт раннього терміну дозрівання. Кущ добре розгалуженого стебла потужні, прямостоячі, у висоту досягає 2-3 метрів. Кущ добре піддається формуванню і обрізці. Листя красиві, великі, насиченого зеленого кольору, ребристі. плід не великий, до 1 см в діаметрі. Колір жовтий. Шкірка тонка. Смак солодко-гіркий. Плодоносить починає на другий-третій рік після посадки.

Сорт "Сонце золоте» – це ексклюзивний середньоплідний сорт середнього терміну дозрівання. Сорт «Сонце золоте» формується у вигляді розлогого куща висотою до 2-3м. Калина «Сонце золоте» випускає сильні прямостоячі пагони, оповиті красивими темно-зеленими ребристими по краю листям. Весняне цвітіння виглядає дуже декоративно і нарядно. Великі білі квіти зібрані в парасольки і розкидані на кущі. Цвітіння і подальшу освіту плодів відбувається на гілках минулого року. Жовті ягідки представлені кістянкою з кісточкою. Кущ добре піддається формуванню і обрізці, але потрібно враховувати, що



плодоносить калина на торішніх пагонах. Цвіте навесні. Квіти великі, білі, зібрані в великі парасольки. Мають дуже декоративний вигляд. Плодоносити починає на другий-третій рік після посадки. Плід - кістянка з круглою кісточкою. Сам плід не великий, до 1 см в діаметрі. Плоди зібрані в грона. Колір стиглої калини жовтий. Шкірка тонка. На смак ягода солодко-гірка.

Сорт «Бульденеж» (рис.1.2) – декоративний сорт, назва якого походить від фр. *Boule de neige* - сніговий ком. Запашні зеленкувато-білі, або кремові квітки зібрані кулясті суцвіття діаметром до 15 см. Плодів не утворює. Чагарник декоративний після цвітіння.



Рис.1.2 Калина звичайна сорту «Бульденеж»

Також існують декоративні сорти калини звичайної: «Розеум», «Компактум», «Нанум», «Ксантокарпум».

Також ми наводимо коротку характеристику інших поширених видів роду. Калина цілолиста, гордовина *V.lantana* L. (рис. 1.3) – досить широко культивується як декоративне. Листя цільне еліптичне, край дрібнозубчастий.



Рис.1.3 Калина цілолиста, гордовина *V.lantana* L.

Відрізняється компактністю крони і високорослістю, досягає 5 м у висоту. Майже чорні плоди вважаються неїстівними.

Калина зморшкуватоліста, або вічнозелена, *Viburnum rhytidophyllum* (рис. 1.4) – швидкоростучий чагарник з листям насиченого зеленого кольору у верхній частині крони і злегка сріблястими у нижній. Має кулясту крону заввишки до 3 м та завширшки теж до 3 м. Листя цільне шкірясте блискуче, зморшкувате, довгасте, з цілним краєм, завдовжки до 19 см, з ясно промальованими жилками. Верхній бік листової пластинки темно-зелений, нижній – сірого. Восени – помаранчево-червоні. Жовтувато-сірі квітки зібрані у великі щиткоподібні суцвіття.



Рис.1.4 Калина зморшкуватоліста, або вічнозелена, *Viburnum rhytidophyllum*

Плоди довгасті, до 0,8 см завдовжки, їстівні. На початку плодоношення грона крім чорних мають округлі плоди і червоного кольору, які до початку осені, досягаючи, набувають чорне забарвлення. Світлолюбна, середньозімостійка, типовий мезофіт, не вимогливий до ґрунтів.

В декоративному плані висаджується солітером в садах, парках, а також в декоративних групах чагарників і підліску дерев, особливо, на узліссях лісової частини ділянки.

Калина зубчаста *V. dentatum* L. – у культурі з 1796 р. Це високий (3,5-5 м) густий чагарник з гладкою світло-сірою корою (рис.1.5). Крона широкорозкидиста, діаметром до 5,5 м. Листя яскраво-зелене, незвичайної форми округле, з глибокими прямими жилками, що закінчуються великими зубцями по всьому краю листа, довжиною 3-8 см.



Рис.1.5 Калина зубчаста *V. dentatum* L.

Квітки білі, дрібні, зібрані в суцвіття діаметром 6 см, цвіте у червні-липні, у природі у травні-червні. Плоди темно-сині, дрібні, 6-8 см завдовжки, численні, гіркі на смак, охоче поїдаються птахами. Особливостями виду є сині ягоди і зубчасті листя з явними глибокими прорізами. Виведені сорти цього виду. Один з найдекоративніших – це сорт Блю Маффін (рис.1.6 ), що характеризується рясними блакитними плодами.



Рис. 1.6 Калина зубчаста, сорт Блю Маффін

Калина канадська, або калина гордовина канадська, *Viburnum lentago* – північноамериканський вид (рис.1.7). Дерево відрізняється досить високими для калини розмірами: до 6 м. Крона куляста, нагадує форму яйця. Листя цільні, широкі, лискучі, з загостреними верхівками яскравого зеленого відтінку, який восени сягає червоного і бордового.



Рис.1.7 Калина канадська, або калина гордовина канадська, *Viburnum lentago*

Цвіте блідо-білими невеликими квітками, зібраними в суцвіття до 12 см діаметром. Плоди – їстівні, темного блакитного, до чорного, кольору, довгасті, до 1,6 мм завдовжки. Широко культивується як декоративне.

Калина лавролиста *V.Tinus* – гіллястий вічнозелений чагарник або дерево до 3-4 м у висоту і до 3 м в ширину (рис.1.8). Батьківщина Середземномор'я.



Крона округлої форми, щільна. Листя яйцеподібної або ланцетоподібної форми, з округлою верхівкою і з клиноподібною або заокругленою основою, шкірясте, розташоване супротивно, окремий листочок сягає 3-12 см в довжину і 1-7 см завширшки. Верхній бік листя голий, забарвлений в темно-зелений колір, нижній – теж зазвичай голий, світло-зеленого кольору. Черешки світло-зеленого або бузково-бурого кольору, сягають до 2,5 см в довжину. Квітки дрібні, двостатеві, зібрані в голі парасолеподібні суцвіття, що розміщуються на кінцях гілок, досягають до 9 см діаметром. Плоди досягають в діаметрі близько 5 мм, забарвлені в темно-синій колір з металевим відливом, пізніше стають чорними. Дозрівають в серпні-листопаді. Плоди отруйні. Виведено сорти «Єва Прайс», «Давид».



Рис.1.8 Калина лавролиста *V.Tinus*

Особливості агротехніки. Якщо в природі калина найчастіше росте в місцях вологих, то в культурі віддає перевагу більш сухим ґрунтам, з низьким рівнем ґрунтових вод. Висаджувати калину можна як восени, так і навесні, краще в освітлених місцях з нейтральною або слабнокислою реакцією ґрунту, від родючості якої залежить пишність цвітіння і плодоношення. За місяць до посадки ґрунт удобрюють фосфорно-калійними добривами і торфом. Групу кущів розташовують з дистанцією близько 3 метрів. Висаджувати калину можна як восени, так і навесні, краще в освітлених місцях з нейтральною або слабнокислою реакцією ґрунту.

Розмноження насінням. Насіння відбирають у врожайних дерев, з найбільших і солодких плодів. Висадити їх можна восени того ж року, проте зійде таке насіння тільки в кінці наступного літа, а активно рости почне тільки навесні другого року. Для більш швидкого пророщування необхідна стратифікація, при якій тривалий час штучно витримують насіння при певній низькій температурі, тим самим підвищуючи схожість.

Розмноження живцями. Вегетативно калину розмножують відводками або черенками. Вертикальні відводки. Восени у молодого рослини вкорочують нижні гілки, залишивши 2-4 бруньки. Стовбур підгортають, закриваючи ці бруньки ґрунтом. До весни вони дадуть пагони, які знову закривають землею, поки вони не досягнуть 30 см заввишки. Після цього їх розкопують, підрізають і знову закривають ґрунтом. Восени пагони відділяють від рослини і висаджують самостійно. Вертикальні відводки – найпростіший спосіб, що не вимагає особливих зусиль.

Горизонтальні відводки. Дворічну гілку обрізають, залишивши відросток з 2-3 бруньками. Коли навесні він дасть пагін, його знову вкорочують на 1/5 частину, пригинають до землі і опускають в підготовлену ямку. Так залишають, поки не з'являться пагони. До осені материнську гілку видаляють, пагони відділяють і висаджуються окремо.

Для однорічних пагонів навесні готують канавки, укладають в них пагони, присипають землею і закріплюють дротом, залишаючи верхівку не закопаною. Надземну частину відводка перетягують і надрізають, і вже до осені у них проростають коріння і з'являються пагони. Терміни заготівлі черенків – червень або початок липня, довжина – не менш трьох вузлів. Укореняти черенки можна не тільки в теплиці, а й вдома, в квіткових горщиках. В даному випадку готується ґрунт з перегною, піску і дернової землі в пропорції 1: 1: 3, а зверху насипається шар річкового піску. Для домашнього варіанту також влаштовують подобу теплички: горщик прикривається плівкою або скляною банкою. При пересадці кущ розділяють на декілька частин, на кожній з яких потрібно зберегти три-чотири нирки відновлення. Роботи по пересадці виконують навесні і восени.

Отримані вегетативним розмноженням саджанці починають плодоносити вже через рік.

Полив. У посушливий період калина потребує поливу. Молоді саджанці поливають ввечері, просочуючи ґрунт водою на глибину 40 см. Поливу дорослих кущів приділяють особливу увагу під час вегетації і дозрівання ягід.

Добрива. Перед розпусканням листя калину удобрюють сечовиною. Перед цвітінням – сірчистим калієм або деревною золою. В середині літа вносять комплексні добрива, кожні 2 роки при перекопуванні ґрунту навколо куща вносяться фосфорно-калійні добрива і перепрілий гній.

Формування крони. Проводити обрізку рекомендують навесні, омолоджуючу – через 6 років після висадки, залишаючи до 15 основних гілок. У разі слабкого або майже не квітучого куща рятує обрізка на висоту приблизно 20 см від землі. Для пишного, красивого цвітіння пагони довше 40 см прищипують руками. За рік пагони калини можуть вирости до 40 см. Крону формувати потрібно обов'язково, видаляючи непотрібні і хворі пагони.

Форму крони з легкістю можна змінити, так як ці чагарники добре переносять обрізку. Сорти рослини часто використовують у зеленому будівництві: садять при дорогах для створення снегосборних ділянок; для зміцнення ґрунту на гірських площах; для залучення птахів в ліси, насаджуючи різні породи калини в посадках; а також садять в громадських місцях (найчастіше це калина сортів Саржента Онондага).

До Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні станом на 21 жовтня 2021 року включено 9 сортів калини звичайної (Рубінова, Україночка, Берегиня, Насолода, Багряна, Уляна, Аня, Коралова, Великоплідна).

Калина звичайна широко розповсюджена на території України [43]. Так, лише на Івано-Франківщині щорічно збирають до 7 т плодів для виготовлення калинових порошоків та чаїв, а за умов збільшення площ, зайнятих калиною, можлива щорічна заготівля до 100 т плодів, тому труднощів із сировинною базою не передбачається [175].

## 1.2 Хімічний склад плодів калини звичайної

Якість плодів калини вже на сьогодні регламентовано монографією ДФУ 2.0 «Калини плоди» [10].

Цей вид сировини містить різні групи БАП [108,109,124,150,181], ряд органічних кислот, в тому числі ізовалеріанову, що зумовлює специфічний запах плодів (рис. 1.9) [191].

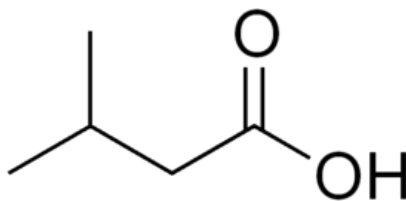


Рис.1.9 Ізовалеріанова (3-метилбутанова) кислота

Плоди містять циклічний спирт вибурнітол (циклогексан- 1,2,3,4,5-пентол, д-кверцитол, (+) – кверцитол, протокверцитол) (формула – рис. 1.10).

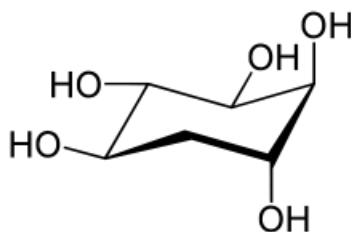


Рис.1.10 Вибурнітол

Сік калини містить  $\beta$ -каротин (0,9 мг/100 г), рибофлавін (0,022 мг/100 г), ретинолу ацетат (0,051 мг/100 г), пантотенову кислоту (0,9 мг/100 г), пірідоксин (0,010 мг/100 г), тіамін (0,012 мг/100 г), фолієву кислоту (0,9 мг/100 г), токоферол (2,0 мг/100 г), нікотинову кислоту (0,9 мг/100 г), аскорбінову кислоту (150,0 мг/100 г); мінеральні сполуки: калій (909 мг/100 г), хлор (21 мг/100 г), кальцій (171 мг/100 г), манган (0,520 мг/100 г), сіліцій (50 мг/100 г), молібден (0,248 мг/100 г), сірку (12 мг/100 г), кобальт (0,029 мг/100 г), купрум (0,062 мг/100 г), натрій (60 мг/100 г), фосфор (98,5 мг/100 г), йод (0,09 мг/100 г) [187].



Але відомостей щодо хімічного складу плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі в доступній літературі зустрічається небагато [17].

### 1.3 Аспекти застосування плодів калини звичайної

#### 1.3.1 Застосування плодів калини звичайної та засобів на їх основі у медичній практиці

Плоди калини традиційний засіб народної та наукової медицини для лікування застуд. Зокрема, у народній медицині сік плодів калини застосовували як протипухлинний, противиразковий та косметичний засіб [17], а відвар із кісточок використовували як в'яжучий засіб при диспепсії [17]. Перспективні для застосування в таких актуальних напрямках як артеріальна гіпертензія [96,115,138,139,144,161,179], діабет [93,134,143], рак [141,151,154,155], імунодепресивні процеси [136,140,156].

У більш сучасних експериментальних дослідженнях встановлено, що плоди калини виявляють бактерицидну та фітонцидну дію [126,135,153], а також мають виражену інгібуючу активність по відношенню до трихомонад та лямблій [70, 72-74]. Також відомо, що екстракт з цього виду ЛРС має кардіотонічну дію, подібну до препаратів наперстянки, та є підтвердження про перспективність використання цієї сировини у якості засобу для профілактики та лікування розладів, пов'язаних з ожирінням [97]. Вивчали ліпофільні фракції плодів [94,159]. Дослідження даного об'єкту також проводилось у країнах Європи та Азії, а також у Америці та Туреччині [81,84,99,108,109,112,152].

Згідно закордонних інформаційних джерел, плоди калини можуть бути застосовані у медицині одразу на декількох напрямках [64,65,110,127,142,158,169]. Екстракти плодів проявляли позитивні результати при дослідженнях *in vivo* шляхів лікування захворювань ендокринної, серцево-судинної та сечостатевої систем [66,68]. Зокрема, було виявлено такі ефекти як нормалізація засвоєння глюкози та жирних кислот [178], вазорелаксанта

активність [10], зниження активності ендомітриозу [82,101,176,182] та зменшення уражень репродуктивних органів хімічними речовинами [12]. Також екстракти плодів калини виявляють значну антиоксидантну активність [76,77,120,121,128,145,188,190], що є важливим для підтримання загального стану організму [123,167,168,180].

На сьогодні, окрім власне ЛРС «Плоди калини» (рис. 1.11), вітчизняна фармацевтична галузь випускає ряд дієтичних добавок.



Рис.1.11 Плоди калини сушені (виробництво «Карпатський колорит», 80 г, 66 ₴)

На ринку є функціональний продукт харчування, імуномодулятор з підсиленою формулою імунітету для профілактики і подолання гострих та хронічних вірусних і бактеріальних інфекцій фітоконцентрат «Джерело Пі» виробництва «Екомед» (рис.1.12). До складу входять водно-спиртові екстракти з листя алое, листя берези, листя кропиви, листя суниці лісової, трави деревію, трави ехінацеї, трави материнки, полину гіркого, трави сухоцвіту багнового, трави чистотілу, квіток нагідок, плодів калини, плодів обліпихи, плодів фенхелю, плодів шипшини, плодів ялівцю, коренів елеутерококу, коренів кульбаби, коренів родіоли, грибу чаги. Контроль якості вхідної сировини та готової продукції здійснюється атестованою для видачі сертифікатів якості згідно

Закону «Про метрологію та метрологічну діяльність» контрольно-аналітичною лабораторією», Свідоцтво ПТ-259/11. Використовується для профілактики та лікування гострих та хронічних вірусно-мікробних процесів – грипу, ГРЗ, гепатитів, туберкульозу, кишкових інфекцій, нейроінфекцій, герпесу, кандидозу, хламідіозу, бронхопневмоній, пієлонефриту, аднекситу, простатиту.



Рис.1.12 Фітоконцентрат «Екомед» «Джерело Пи» (виробництво Екомед», Україна, Київ, 30 мл, 67 ₴)

Дієтична добавка фіточай «Калина, липа, малина» (рис. 1.13) пропонується як загальнозміцнююче, м'яке сечогінне, джерело мінеральних сполук та вітамінів та застосовується для дітей старших за 2 роки та для дорослих. Рекомендований курс – 3 тижні з можливим повтором через 2 тижні.

Аналогічно застосовують фіточай «Калина, липа, малина» дитячий (виробництво «Ключи Здоров'я Соня» (рис.1.14).



1.13 Фіточай «Калина, липа, малина» (виробництво Цілюща сила Табула віта, Україна, фільтр-пакети 1,5 г, № 20, 20-59 ₴)



Рис.1.14 Фіточай «Калина, липа, малина» дитячий (виробництво «Ключи Здоров'я Соня»), фільтр-пакети 1,5 г, № 20, 50-80 ₴)

Також відома дієтична добавка фіточай натуральний зігріваючий (виробництво «Грин Сет», «Даніка Фарм») (рис. 1.15).

До складу входять листя смородини, малини, лавра, трава чебрецю, плоди калини, плоди шипшини, плоди обліпихи, плоди анісу, кардамон, імбир, кориця, цедра лимону/апельсину, чорний перець, пуп'янки гвоздики.

Сприяє підвищенню життєвого тону, зміцнює імунітет, активізує процеси травлення, насичує організм мінералами та вітамінами.



Рис.1.15 Фіточай натуральний зігрівуючий (виробництво «Грин Сет», «Даніка Фарм», Україна, фільтр-пакети, 1,5 г, № 20, 36 ₴)

Фітосироп «Калина» (виробництво Фармаком, Україна, 200 мл) (рис. 1.16) застосовується при кашлі та застудах як антимікробне, потогінне, знеболювальне.



Рис. 1.16 Фітосироп «Калина» (виробництво Фармаком, Україна, 200 мл, 55 ₴)

Дієтична добавка «Червона калина», сік з фруктозою (виробництво Fitodar, Україна, 200 мл) (рис. 1.17) застосовується при кашлі та застудах як антимікробне, потогінне, знеболювальне, а також як компонент здорового харчування для хворих на гіпертонічну хворобу та цукровий діабет.



Рис. 1.17 Дієтична добавка «Червона калина», сік з фруктозою (виробництво Fitodar, Україна, 200 мл, 95)

Дієтична добавка Кардіофітам (виробництво ТМ Примафлора, Україна) (рис.1.18) містить у складі бульби топінамбуру, плоди глоду, плоди аронії чорноплідної, плоди калини, плоди помідору, екстракт пасифлори, екстракт кропиви, коензим Q 10, аргінін, лізин та таурин. Рекомендується як кардіотонічне (регулююче роботу серця), антиаритмічне, заспокійливе, знижує тиск, насичує організм вітамінами. Застосовують для профілактики та оптимізації лікування захворювань серцево-судинної системи.



Рис. 1.18 Дієтична добавка Кардіофітам (виробництво ТМ Примафлора, Україна, 90 табл/220 ₴)

Дієтична добавка «Венумфітам» (виробництво ТМ Примафлора, Україна) (рис. 1.19). До складу входять бульби топінамбуру, плоди калини, плоди перцю болгарського, плоди шипшини, екстракт хвоща, екстракт каштана, екстракт кори верби білої, аргінін, глютамінова кислота, метіонін. Рекомендується як вітамінний і загальнозміцнювальний засіб для профілактики й оптимізації лікування захворювань серцево-судинної системи: атеросклерозу судин, для профілактики та лікування гіпертонічної хвороби, серцевої недостатності, ішемічної хвороби серця, порушення мікроциркуляції, хронічної венозної

недостатності. Живить і зміцнює судинну стінку, перешкоджає тромбоутворенню.



Рис. 1.19 Дієтична добавка Венумфітам (виробництво ТМ Примафлора, Україна, 30 табл/300 ₴)

Еліксир Здоров'я Здорові легені (виробництво ТМ Примафлора, Україна) (рис. 1.20) містить рідкі екстракти: плодів редьки чорної, квіток бузини чорної, листя плюща, кореня солодки, кореня оману, листя подорожника, плодів калини, трави меліси, листя кропиви; суцвіть айстри ромашкової, кореня алтеї лікарської, трави гринделії розчепіреної, трави істода, трави чебрецю повзучого.

Пропонують як протизапальний, відхаркувальний засіб, спазмолітичний, антибактеріальний, протигрибковий засіб для покращення роботи дихальної системи.





Рис.1.20 Препарат Еліксир Здоров'я - Здорові легені (виробництво ТМ Примафлора, Україна, 50 мл/180 ₴)

Водний екстракт калини (рис. 1.21) та біологічно активна рідина (рис. 1.22).



Рис. 1.21 Рослинний водний екстракт калини (виробництво ТОВ Медагропром, Україна, 30 мл/125 ₴)

Рекомендуються як загальнозміцнюючий засіб для профілактики простудних захворювань, а також як складова раціону харчування при наступних станах та захворюваннях.





Рис.1.22 БАР Калина червона (виробництво Даніка-фарм, Україна, 100мл/81 ₴)

Екстракт плодів калини виробництва США (рис. 1.23) пропонують до застосування аналогічно попереднім дієтичним добавкам.



Рис.1.23 Екстракт Калина садова (виробництво «Herb Pharm», США, 1 рідка унція (30 мл), 792 ₴)

1.3.2 Застосування плодів калини звичайної та засобів на їх основі у харчовій, лікоро-горілчаній, парфумерно-косметичній промисловості

Практично плоди всіх сортів калини їстівні, на смак терпкі, в більшості гіркі, але бувають і солодкі. Той факт, що плоди багаті на фосфор, калій, магній, ферум, купрум, манган, йод, вітаміни групи В, С зумовлює їх широке використання. Застосувань у харчових аспектах у плодів маса: роблять варення, печуть пироги, використовують для заварки чаю, тощо.

Застосування плодів калини у харчовій промисловості досить перспективне для виробництва низки харчових продуктів. Плоди калини є

високоєфективною сировиною харчової промисловості у виробництві сиропів, морсів, цукатів, напоїв тощо.

В Україні випускають заморожені плоди калини, заморожене пюре плодів калини з цукром, пастеризоване пюре з тростинним цукром.

Дуже популярні заготовки з цукром промислового виробництва ( приклади - рис.1.24 – 1.28) – перетерті плоди з цукром, або варення.



Рис. 1.24 Джем «Калина перетерта з цукром» (виробництво Дідусеві рецепти, 360 г, 78 ₴)



Рис. 1.25 Варення «Карпатська калина» (виробництво «Карпатські варення та джеми», Україна, 300 г 78 ₴)



Рис. 1.26 Заморожене пюре «Калина» (виробництво «Ya Gurman», Україна, 250 г, 90 ₴)



Рис. 1.27 Концентрат чаю калина з естрагоном («Meal Time», 60 г, 22,65 ₴)



Рис. 1.28 Сироп калини («Дари природи», Україна, Трускавець, 60 г, 150 ₴)

Окремий напрямок – це застосування плодів калини у лікєро-горілчаній галузі. Чисельні вітчизняні виробники виробляють горілки, настоянки, медові настоянки, медівки, вина, тощо. Але ми не будемо близько торкатися цієї теми.

Застосування плодів калини у косметології. Сік плодів калини входить до складу мила ручної роботи як потужне антиоксидантне та тонізує.

В Україні випускається лосьон «Калина волошкова» (виробництво Лечець, Україна, 100 мл, 65 ₴) – ефективний засіб для жирної, пористої, вугревої шкіри, використовується за наявності прищів, веснянок, пігментних плям. Добре розгладжує та тонізує шкіру. Поживний комплекс містить вітаміни К, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, Е, F, Р, аскорбінову кислоту, кальцій, магній, ферум, цинк, манган, селен, калій.

Екстракт-концентрат калини (виробництво Simona Life) використовують у косметології у лікуванні шкірних захворювань, усуває набряклість, подразнення, сприяє загоєнню ран, у косметичці для дітей та у догляді за чутливою шкірою. Виявляє антисептичні властивості, тонізує, очищує шкіру, має омолоджуючий, відбілювальний, зволожуючий ефект. Входить до складу антивікової косметики, косметики для засмаги, косметичних засобів для догляду за проблемною шкірою, для догляду за шкірою обличчя у вигляді тоніків та лосьйонів, відбілюючих маски для обличчя, кремів для шкіри обличчя, тіла, рук та ніг. Завдяки своїм протизапальним та антибактеріальним властивостям використовується в зубних пастах, які є профілактикою захворювання порожнини рота. Гідролат з калини – це вода з сухих і свіжих плодів калини, отримана шляхом парової дистиляції (рис. 1.29). Гідрозоль калини ефективний і для відбілювання шкірних покривів, повернення їм сяючого свіжого кольору, усунення веснянок і пігментних плям.

Це ефективний омолоджуючий засіб, що зупиняє процеси старіння шкіри.



Рис.1.29 Гідролат калини (100мм, 70 ₴)

Завдяки наявності вітамінів С, Е, А і К, органічних кислот, елементів хрому, цинку та феруму, гідрозоль калини позитивно впливає на епідерміс обличчя і тіла. Ця косметична вода застосовується для оптимізації роботи сальних залоз жирної та комбінованої шкіри, ліквідації прищів, лишаїв та інших шкірних дефектів, для звуження пор і формуванню однорідності шкіри. Ефективний гідролат калини і як відбілюючий продукт від пігментації і веснянок. Якщо є ран, лущення і мікротріщини гідролат калини можна застосовувати як антисептичний засіб із кровоспинним, ранозагоювальним впливом. Натуральний гідролат калини може бути використаний як доглядовий засіб для обличчя, тіла і волосся, як у чистому, так і розбавленому вигляді. Натуральний гідрозоль калини - це кращий тонік для шкіри обличчя, вода для вмивання, косметичний лід для обличчя та зони декольте, спрей для зміцнення волосся (додає свіжість шкіри голови, нормалізує виділення себуму і додає йому свіжості), а також засіб для ополіскування волосся (невелику кількість гідролату розбавляють у воді).

Таким чином, зважаючи на те, що калина звичайна є найрозповсюдженішим видом роду як у дикорослому, так і культивованому вигляді, аспекти використання плодів в науковій і народній медицині, більш поглиблене вивчення цього виду сировини для розробки лікарського засобу є перспективним.

## РОЗДІЛ 2

### ОБ'ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1 Рослинні об'єкти дослідження

Для досліджень використовували 6 серій плодів калини звичайної (місця та термін заготівлі наведено у табл. 2.1), що заготовлені з поодиноких екземплярів дикорослих рослин [12].

*Таблиця 2.1*

#### Місця та термін заготівлі серій плодів калини звичайної

| Номер<br>серії<br>сировини | Місце заготівлі           | Географічні<br>координати<br>місць заготівлі | Термін<br>заготівлі |
|----------------------------|---------------------------|----------------------------------------------|---------------------|
| 1                          | Кіровоградська<br>обл.    | 48°59'31.2"N<br>33°16'31.1"E                 | 26.09.2020          |
| 2                          | Львівська обл.            | 49°46'06.3"N<br>24°10'53.3"E                 | 1.10.2020           |
| 3                          | Луганська обл.            | 49°33'28.1"N<br>38°26'56.4"E                 | 26.09.2020          |
| 4                          | Харківська обл.           | 49°58'54.0"N<br>36°44'46.0"E                 | 3.10.2020           |
| 5                          | Івано-Франківська<br>обл. | 48°50'04.2"N<br>24°41'52.2"E                 | 27.10.2020          |
| 6                          | Запорізька обл.           | 47°55'16.5"N<br>34°53'30.6"E                 | 20.09.2020          |

Для дослідження використовували повітряно сухі, подрібнені до розміру часток 1-2 мм плоди калини звичайної (доведення до сипкого стану проводили шляхом сушіння у сушарці для фруктів та овочів Gorenje FDK24DW при температурі 40-50° С протягом 120 хв, подрібнювали за допомогою подрібнювача (млина) GoogFoodPG1000).

2.2 Методика визначення компонентного складу сполук, що переганяються з водяною парою

*1) Обладнання та умови хроматографічного розділення:*

Компонентний склад летких сполук досліджували хроматографічним методом [108, 133] на хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973 inert (Agilent Technologies, USA). Колонка капілярна HP-5MS, довжина 30 м, внутрішній діаметр 0,25 мм, товщина фази 0,25 мкм. Розділення проводили в градієнтному режимі.

Початкова температура 50 °С витримувалась впродовж 5 хв з наступним градієнтом 4 °С/хв до 220 °С, градієнт 10 °С до 300 °С – витримували впродовж 10 хв, газ-носії – гелій, швидкість потоку крізь колонку 1,0 мл/хв. Температура випаровувача 300 °С, режим вводу проби з поділом потоку (split) з коефіцієнтом 1:50, об'єм інжекції 2 мкл. Ідентифікацію компонентів досліджуваних проб проводили з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02.

*2) Пробопідготовка рослинної сировини:*

До 5,00 г (точна наважка) сировини, що перетерта до порошкоподібного стану, додавали 300 мл води та переганяли зі зворотним холодильником при температурі 100 °С впродовж 3 год.

Відігнані води екстрагували гептаном. Екстракт упарювали до 100-200 мкл у потоці нітрогену.

*3) Ідентифікацію* компонентів досліджуваних проб проводили з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02.

Відсоток співпаданя виявлених сполук із тими, що є в бібліотеці мас-спектрів NIST 02 становив 80-99 %.

### 2.3 Методика визначення елементного складу

Дослідження елементного складу проводили методом атомно-абсорбційної спектрографії із фотографічною реєстрацією. Дослідження проводили на базі НДУ НТК «Інститут монокристалів» НАН України (м. Харків)[71].

#### 1) *Пробопідготовка рослинної сировини:*

Наважки сировини, попередньо оброблені кислотою сірчаною, обвуглювали при нагріванні у муфельній печі (температура не більш 500 °С).

#### 2) *Обладнання та умови:*

Випарювання зразків проводили із кратерів графітових електродів у розряді дуги змінного струму (джерело збудження спектрів типу ІВС–28) при силі струму 16А і експозиції 60 с. Для одержання спектрів та їхньої реєстрації на фотопластинках використовували спектрограф ДЕС-8 із дифракційними ґратами 600 штр/мм. Вимірювання інтенсивності емісійних ліній у спектрах аналізованих і градуювальних зразків (ГЗ) проводили за допомогою мікрофотометра МФ–1.

Фотографування спектрів проводили за таких умов: сила струму дуги змінного струму – 16А, фаза підпалювання – 60 °С, частота підпалювальних імпульсів – 100 розрядів за секунду; аналітичний проміжок – 2 мм; ширина щілини спектрографа – 0,015 мм; експозиція – 60 с. Спектри фотографували в області довжин хвиль 230–330 нм.

Фотопластинки проявляли, сушили, потім фотометрували емісійні лінії (нм) у спектрах випробуваних зразків і ГЗ, а також фон біля них.

#### 3) *Ідентифікація:*

Для кожного елементу за результатами фотометрування розраховували різниці почорніння емісійної лінії та фону ( $S = S_{\text{л}} + \phi - S_{\text{ф}}$ ) для спектрів випробуваних зразків ( $S_{\text{ін}}$ ) і ГЗ ( $S_{\text{ГЗ}}$ ). Потім будували градуювальний графік у координатах: середнє значення різниці почорніння емісійної лінії та фону ( $S_{\text{ГЗ}}$ )



– логарифм вмісту елемента (C) в ГЗ ( $\lg C$ ), де C виражено у відсотках. За цим графіком знаходили вміст елемента в золі (a), у відсотках.

Вміст елементу у рослинному матеріалі, у відсотках (X), обчислювали за формулою:

$$X = \frac{a \cdot m}{M}, \quad (2.1)$$

де: m – маса золи, г;

M - маса сировини, взята для аналізу, г;

a – вміст елемента в золі, %.

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 [26].

## 2.4 Методика визначення компонентного складу ЖК у рослинній сировині

### 1) *Принцип методу* [80,89]:

Метод заснований на отриманні метилових ефірів ЖК з подальшим аналізом методом газової хроматографії. Ліпофільні фракції отримували вичерпною екстракцією гексаном. У процесі гідролізу утворюються метилові естери ЖК. Застосовували метод газової хроматографії. Хроматограф «Селміхром-1» з полум'яно-іонізаційним детектором. Колонка газохроматографічна з нержавіючої сталі довжиною 2,5 м та внутрішнім діаметром 4 мм, нерухома фаза – інертон, оброблений 10% діетиленглікольсукцинатом (DEGS). Параметри роботи: температура термостата колонок – 180 °С, температура випарника – 230 °С, температура детектора – 220 °С, швидкість потоку газа носія (нітроген) – 30 см<sup>3</sup> /хв, об'єм проби 2 мм 3 розчину метилових естерів кислот у гексані. Ідентифікацію метилових естерів ЖК проводили за часом утримання сполук у порівнянні з часом утримання

стандартної суміші (референт-стандарти насичених та ненасичених метилових естерів жирних кислот фірми «Sigma»). Розрахунок складу метилових естерів проводили методом внутрішньої нормалізації. Метиліві естери ЖК отримували за модифікованою методикою Пейскера [16], яка забезпечувала повне метилювання ЖК. Для метилювання використовували 1. В скляні ампули відміряли 30-50 мкл ліпофільної фракції, приливали 2,5 мл метилюючої суміші (суміш хлороформу з метанолом та кислотою сульфатною у співвідношенні 100:100:1). Ампули запаювали та вміщували до термостату з температурою 105°C на 3 год. Після закінчення метилювання ампули розкривали, вміст переносили в пробірку, додавали 0,2 г порошкоподібного цинку сульфату, приливали 2 мл води очищеної та 2 м гексану для екстракції метилових естерів. Після ретельного збовтування і відстоювання гексанову витяжку фільтрували і використовували для хроматографічного аналізу.

*1) Обладнання та умови хроматографічного розділення:*

Хроматографічне розділення проводили на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA). Колонка капілярна HP-5ms (30m×0,25mm×0,25mkm, Agilent technologies, USA). Температура випаровувача 250 °C, температура інтерфейсу 280 °C. Розділення проводили в режимі програмування температури - початкову температуру 60 °C витримували впродовж 4 хв., піднімали з градієнтом 4 °C/хв до 250 °C, витримували 6 хв., з градієнтом 20 °C піднімали до 300 °C, витримували 5 хв. Пробу об'ємом 1 мкл, вводили в режимі поділу потоку 1:20. Детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z). Швидкість потоку газу носія через колонку 1,0 мл/хв.. Ідентифікацію проводили за часом утримання стандартів моносахаридів та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби.

*2) Пробопідготовка та аналіз рослинної сировини:*

Рослинну сировину перетирали до порошкоподібного стану в скляній ступці. Наважку препарату 500 мг поміщали в скляну віалу та додавали

реакційну суміш із метанолу:толуолу:сірчаної кислоти (44:20:2 v/v) 3,3 мл на пробу та розчин внутрішнього стандарту в гептані 1,7 мл. Досліджувану пробу витримували при температурі 80 °С впродовж 2 годин, охолоджували до кімнатної температури, центрифугували 10 хв при 5000 об/хв.. Відбирали 0,5 мл верхньої гексанової фази, яка містить метилові ефіри ЖК.

3) *Ідентифікацію* метилових ефірів ЖК досліджуваної суміші проводили шляхом порівняння часів утримування стандартної суміші метилових ефірів ЖК бактерій (Supelco, USA) та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. В якості внутрішнього стандарту використовували розчин ундеканової кислоти.

Маса жирної кислоти на 1 кг сировини в мг розраховували за формулою:

$$X = \frac{S_x \times M_{\text{вст}}}{S_{\text{вст}} \times m} \quad (2.2)$$

де:

$S_x$  – площа піку шуканої ЖК,

$M_{\text{вст}}$  – маса внутрішнього стандарту на пробу,

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

$m$  – наважка препарату.

## 2.5 Методика визначення вільних моносахаридів в рослинній сировині методом ГХ/МС

### 1) *Принцип методу:*

Метод заснований на екстракції вільних моносахаридів та отриманні ацетатів їх альдонітрильних похідних з подальшим аналізом методом газорідинної хромато-мас-спектрометрії.

### 2) *Обладнання та умови хроматографічного розділення:*

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

Колонка капілярна HP-5ms (30m×0,25mm×0,25μm, Agilent technologies, USA). Температура випаровувача 250 °C, температура інтерфейсу 280 °C. Розділення проводили в режимі програмування температури - початкову температуру 160 °C витримували впродовж 8 хв., піднімали з градієнтом 5 °C/хв до 240 °C. Кінцеву температуру витримували впродовж 6 хв. Пробу об'ємом 1 мкл, вводили в режимі поділу потоку 1:50. Детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z). Швидкість потоку газу носія через колонку 1,2 мл/хв.. Ідентифікацію проводили за часом утримання стандартів моносахаридів та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби.

### *3) Пробопідготовка та аналіз рослинної сировини:*

Рослинну сировину перетирали до порошкоподібного стану в скляній ступці. Наважку препарату 500 мг поміщали в круглодонну колбу, додавали розчин 80% етилового спирту з внутрішнім стандартом із розрахунку 500 мкг на пробу. Екстракцію вільних моносахаридів проводили на водяній бані при 100 °C з використанням оберненого холодильника впродовж 2 годин..

Для отримання альдонітрильних похідних моносахаридів відбирали 2 мл екстракту, упарювали досуха на роторному випаровувачі та додавали 0,3 мл дериватизуючого реактиву (32мг/мл гідроксиламіну солянокислого в суміші піридин/метанол (4:1 v/v) ). Розчинений екстракт витримували впродовж 25 хв. при 75 °C. Для ацетилювання альдонітрильних похідних моносахаридів додавали 1 мл оцтового ангідриду та витримували впродовж 15 хв при 75 °C. До реакційної суміші додавали 2 мл дихлоретану, надлишок дериватизаційних реагентів видаляли подвійною екстракцією 1N розчином соляної кислоти та води. Дихлоретановий шар висушували досуха та розчиняли в 300 мкл суміші гептан/етилацетат (1:1 v/v).

4) Ідентифікацію моносахаридів досліджуваної суміші проводили шляхом порівняння часів утримання стандартних моносахаридів та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом

додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. В якості внутрішнього стандарту використовували розчин сорбітолу.

Маса моносахариду на 1 кг сировини в мг розраховували за формулою:

$$X = \frac{S_x \times M_{\text{вст}} \times 1000}{S_{\text{вст}} \times m}, \quad (2.3)$$

де:

$S_x$  – площа піку шуканого моносахариду,

$M_{\text{вст}}$  – маса внутрішнього стандарту на пробу,

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

$m$  – наважка препарату.

## 2.6 Методика визначення вільних та зв'язаних АК в рослинній сировині методом ВЕРХ

### 1) Принцип методу [69,78,107]:

Метод заснований на екстракції вільних АК із рослинної сировини та кислотному гідролізі рослинних препаратів з наступним аналізом гідролізатів методом високоефективної рідинної хроматографії з передколоночною дериватизацією 9-флуоренілметоксикарбоніл хлоридом (FМОС) та о-фталевим альдегідом (ОРА) з наступною детекцією флуоресцентним детектором.

### 2) Обладнання та умови хроматографічного розділення:

Хроматографічне розділення проводили на рідинному хроматографі Agilent 1200 (Agilent technologies, USA). Колонка Zorbax AAA довжиною 150 мм, внутрішнім діаметром 4,6 мм, діаметр зерна сорбента 3 мкм. Мобільна фаза А - 40 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  pH 7.8; В - ACN:MeOH: water (45:45:10, v/v/v). Режим розділення градієнтний із постійною швидкістю потоку 1,5 мл/хв.. Температура термостату колонки 40 °C.

Передколонкову дериватизацію проводили в автоматичному програмованому режимі з використанням FМОС реагенту (Agilent 5061-3337) та ОРА реагенту (Agilent 5061-3335).

Детекція дериватизованих АК реалізовувалася за допомогою флуоресцентного детектора [1].

*3) Пробопідготовка та аналіз рослинної сировини:*

Вільні АК.

Наважку перетертого до порошкоподібного стану препарату поміщали у віалу, додавали 2 мл водного розчину 1N хлористоводневої кислоти та витримували на ультразвуковій бані при 50 °C впродовж 3 год.

Загальні АК.

Наважку препарату поміщали у віалу, додавали 2 мл водного розчину 6N хлористоводневої кислоти та поміщали в термостат при 110 °C. Гідроліз проводили впродовж 24 годин.

0,5 мл відцентрифугованого екстракту/гідролізату упарюють на роторному випаровувачі, тричі промиваючи дистильованою водою для видалення хлористоводневої кислоти.

Ресуспендують в 0,5 мл дистильованої води та фільтрують крізь мембранні фільтри із регенованої целюлози з порами 0,2 мкм.

Отримання флуоресцентних похідних проводили в автоматичному програмованому режимі перед введенням проби в хроматографічну колонку.

Ідентифікацію АК проводили шляхом порівняння часів утримання з сумішшю стандартів АК (Agilent 5061-3334).

Вміст зв'язаних АК визначали шляхом віднімання вмісту вільних АК від їх загального вмісту.

2.7 Методика компонентного складу та кількісного вмісту гідроксикоричних кислот

*1) Пробопідготовка рослинної сировини:*

Наважка сировини кожної проби 0,4-0,6 г, екстрагувалася в 5 мл 60% розчину метанолу на ультразвуковій бані при 80 °C впродовж 4 годин в скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою [114].

Отриманий екстракт центрифугували при 3 тис об/хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

*2) Обладнання та умови хроматографічного розділення:*

Рідинну хроматографію проведено на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200. В якості рухомої фази використовували метанол (А) та 0,1% розчин мурашиної кислоти в воді (В).

Елюювання проводили в градієнтному режимі: 0 хв – А (25 %) : В (75 %); 25 хв – А (75 %) : В (25 %); 27 хв – А (100 %) : В (0 %); 35 хв – А (100 %) : В (0 %).

Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-Aq (4,6 мм±150 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку 0,5 мл/хв., температура термостату 30 °C, об'єм інжекції 4 мкл.

Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 250 та 275 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [20].

*3) Ідентифікацію та кількісний аналіз* проводили з використанням стандартних розчинів фенольних сполук (галлової кислоти, гідроксифеніл оцтової кислоти, хлорогенової кислоти, кофейної кислоти, сирінгової кислоти, *p*-кумарової кислоти, *trans*-ферулової кислоти, синапової кислоти, *trans*-цинамової кислоти, хінної кислоти).

Вміст сполук (X) (мкг/г) визначали за формулою:

$$X = c \cdot V / m, \quad (2.4)$$

де *c* – концентрація сполуки, визначена хроматографічно, мкг/мл,

*V* – об'єм екстракту, мл,

*m* – маса сировини з якої проводили екстракцію, г.

2.8 Методика визначення компонентного складу сполук флавоноїдної природи методом ВЕРХ.

*1) Пробопідготовка рослинної сировини:*

Наважка сировини кожної проби 0,3-0,6 г, екстрагувалася в 5 мл 70% розчину етанолу на ультразвуковій бані при 80 С впродовж 5 год в скляних герметичних віалах із тефлоновою кришкою. Отриманий екстракт центрифугували при 3000 об/хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм [114].

*2) Обладнання та умови хроматографічного розділення:*

Рідинну хроматографію проведено на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200. В якості рухомої фази використовували ацетонітрил (А) та 0,1% розчин мурашиної кислоти в воді (В).

Елюювання проводили в градієнтному режимі: 0 хв – А (30 %) : В (70 %); 20 хв – А (70 %) : В (30 %); 22 хв – А (100 %) : В (0 %); 30 хв – А (100 %) : В (0 %). Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (3,5 мкм, 150 x 4,6 мм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку 0,25 мл/хв., температура термостату 30 °С, об'єм інжекції 4 мкл.

Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 280 та 365 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [21].

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

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

$$X = c \cdot V / m, \quad (2.5)$$

де c – концентрація сполуки, визначена хроматографічно, мкг/мл,

V – об'єм екстракту, мл,

m – маса сировини з якої проводили екстракцію, г.



## 2.9 Методика кількісного визначення суми гідроксикоричних кислот

Кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот проводили за методикою монографії ДФУ 2.2. «Ортосифону тичинкового (нирковий чай) листя<sup>N</sup>» [7] спектрофотометричним методом при довжині хвилі 505 нм та в перерахунку на розмаринову кислоту.

*Вихідний розчин.* До 0.500 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 80 мл *етанолу* (50 %, об/об) Р, нагрівають у водяній бані зі зворотним холодильником протягом 30 хв, охолоджують і фільтрують. Фільтр обполіскують 10 мл *етанолу* (50 %, об/об) Р, фільтрат і промивні води об'єднують у мірній колбі і доводять об'єм розчину *етанолом* (50%, об/об) Р до 100.0 мл.

*Випробовуваний розчин.* 1.0 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додають, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0.5 М розчину хлористоводневої кислоти, 2 мл розчину, приготованого розчиненням 10 г натрію нітриту Р і Ю г натрію молібдату Р у 100 мл води Р, 2 мл натрію гідроксиду розчину розведеного Р, доводять об'єм розчину водою Р до 10.0 мл і перемішують.

*Компенсаційний розчин.* 1 мл вихідного розчину доводять водою Р до 10 мл.

Оптичну густина (2.2.25) випробовуваного розчину вимірюють відразу за довжини хвилі 505 нм.

Вміст суми похідних гідроксикоричних кислот, у перерахунку на розмаринову кислоту, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{A \times 2.5}{m}, \quad (2.6)$$

де:

*A* — оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 505 нм,

*m* — маса наважки випробовуваної сировини, у г.

Використовують питомий показник поглинання розмаринової кислоти, що дорівнює 400.

## 2.10 Методика кількісного визначення суми проціанідинів

Кількісне визначення суми проціанідинів проводили за методикою монографії ДФУ 2.2. «Глоду плоди» [8] спектрофотометричним методом при довжині хвилі 545 нм та в перерахунку на ціанідин хлорид.

До 2,50 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 30 мл етанолу (70%, об/об) *P*, нагрівають зі зворотним холодильником протягом 30 хв і фільтрують. Залишок промивають 10,0 мл етанолу (70 %, об/об) *P*, до фільтрату додають 15,0 мл хлористоводневої кислоти *P*<sub>1</sub> і 10,0 мл води *P*, нагрівають зі зворотним холодильником протягом 80 хв, охолоджують і фільтрують. Одержаний залишок промивають етанолом (70 %, об/об) *P* до знебарвлення фільтрату та доводять об'єм фільтрату етанолом (70 %, об/об) *P* до 250,0 мл. 50,0 мл одержаного розчину поміщають у круглодонну колбу, випарюють до об'єму близько 3 мл і переносять у ділильну лійку. Круглодонну колбу обполіскують послідовно 10 мл і 5 мл води *P*, яку потім переносять у ділильну лійку. Об'єднаний розчин струшують із трьома порціями, по 15 мл кожна, бутанолу *P*, органічні шари об'єднують і доводять бутанолом *P* до об'єму 100,0 мл.

Оптичну густину (2.2.25) одержаного розчину вимірюють за довжини хвилі 545 нм.

Вміст проціанідинів, у перерахунку на ціанідину хлорид, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{A \times 500}{1200 \times m}, \quad (2.7)$$

де:

*A* — оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 545 нм,

*m* — маса наважки випробовуваної сировини, у г.

Використовують питомий показник поглинання ціанідину хлориду, що дорівнює 1200.

## 2.11 Методика кількісного визначення суми флавоноїдів

Кількісне визначення суми флавоноїдів проводили за методикою монографії ДФУ 2.2. «Сафлору квітки» [9] спектрофотометричним методом при довжині хвилі 505 нм та в перерахунку на гіперозид.

*Вихідний розчин.* 4,00 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) поміщають у круглодонну колбу місткістю 100 мл, додають 1 мл розчину 5 г/л гекса- метилентетраміну *P*, 20 мл ацетону *P* і 2 мл хлористоводневої кислоти *P1*. Одержану суміш кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 30 хв і фільтрують крізь тампон із вати у колбу місткістю 100 мл. Додають тампон із вати до залишку у круглодонну колбу й екстрагують трьома порціями, по 20 мл кожна, ацетону *P*, кожний раз проводячи кип'ятіння зі зворотним холодильником протягом 10 хв і охолоджують до кімнатної температури. Кожний витяг фільтрують крізь тампон із вати у колбу. Після охолодження об'єднані ацетонові витяги фільтрують крізь паперовий фільтр у мірну колбу та доводять об'єм розчину ацетоном *P* до 100 мл, обполіскуючи колбу та паперовий фільтр. 20,0 мл одержаного розчину поміщають у ділильну лійку, додають 20 мл води *P* і струшують суміш із 15 мл етилацетату *P*, а потім із трьома порціями, по 10 мл кожна, етилацетату *P*. Одержані етилацетатні витяги об'єднують у ділильній лійці, промивають двома порціями, по 50 мл кожна, води *P*, фільтрують над 10 г натрію сульфату безводного *P* у мірну колбу та доводять об'єм розчину етилацетатом *P* до 50.0 мл.

*Випробовуваний розчин.* До 10,0 мл вихідного розчину додають 1 мл алюмінію хлориду реактиву *P* і доводять розчином 5 % (об/об) оцтової кислоти льодяної *P* у метанолі *P* по об'єму 25,0 мл.

*Компенсаційний розчин.* 10,0 мл вихідного розчину доводять розчином 5 % (об/об) оцтової кислоти льодяної *P* у метанолі *P* до об'єму 25,0 мл.

Оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину вимірюють через 30 хв після приготування за довжини хвилі 425 нм відносно компенсаційного розчину'.

Вміст флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{A \times 1.25}{m}, \quad (2.8)$$

де:

$A$  — оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 425 нм,

$m$  — маса наважки випробовуваної сировини, у г.

Використовують питомий показник поглинання гіперозиду, що дорівнює 500.

## 2.12 Методика кількісного визначення поліфенолів

Кількісне визначення поліфенолів та танінів проводили за допомогою спектрофотометричного методу при довжині хвилі 760 нм відповідно до вимог Доповнення ДФУ 1.2 (2.8.14) [8]. Обчислення кількісного вмісту кожної групи сполук проводили у перерахунку на пірогалол і суху речовину.

*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 осаду осісти 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 густина (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  $P$ , 10,0 мл води  $P$ , перемішуючи після кожного додавання, та доводять натрію карбонату розчином  $P$  до об'єму 25 мл. Через 30 хв вимірюють оптичну густину (2.2.25) розчину за довжини хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційну рідину воду  $P$ .

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

$$\frac{62.5 \times A_1 \times m_2 \times P}{A_0 \times m_1 \times 100}, \quad (2.9)$$

де:

$A_1$  — оптична густина випробовуваного розчину,

$A_0$  — оптична густина розчину порівняння,

$m_1$  — маса наважки випробовуваної сировини, у мг,

$m_2$  — маса наважки  $\Phi C3$  ДФУ пірогалолу, у мг,

$P$  — вміст пірогалолу у  $\Phi C3$  ДФУ пірогалолу, у %.

### 2.13 Методика кількісного визначення суми органічних кислот

Кількісне визначення суми органічних кислот проводили титриметричним методом за методикою монографії «Шипшини плоди<sup>N</sup>» ДФУ 2.1 [9] з використанням 0.1 М розчину натрію гідроксиду та фенолфталеїну в перерахунку на яблучну кислоту.

25,0 г здрібненої на порошок сировини (1000) (2.9.12) поміщають у колбу місткістю 250 мл, заливають 200 мл води  $P$  й витримують протягом 2 год на кип'ячій водяній бані, потім охолоджують і кількісно переносять в мірну колбу місткістю 250 мл, доводять об'єм витягу водою  $P$  до позначки і перемішують. Відбирають 10 мл витягу, поміщають в колбу місткістю 500 мл, додають 200-300 мл води  $P$ , 1 мл фенолфталеїну розчину  $P1$ , 2 мл розчину 1 г/л метиленового

синього  $P$  й титрують  $0,1\text{ M}$  розчином натрію гідроксиду до появи в піні світло-фіолетово-червоного забарвлення.

Вміст органічних кислот, в перерахунку на яблучну кислоту, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$x = \frac{V \cdot 0,0067 \cdot 2500}{m}, \quad (2.9)$$

де  $0,0067$  – кількість яблучної кислоти, що відповідає  $1\text{ мл } 0,1\text{ M}$  розчину натрію гідроксиду, у грамах;

$V$  – об'єм  $0,1\text{ M}$  розчину натрію гідроксиду, витраченого на титрування, у мл;

$m$  – маса наважки випробовуваної сировини, у г.

#### 2.14 Методика кількісного визначення аскорбінової кислоти

Проводили за методикою монографії ДФУ 2.5 «Шипшина»[9].

*Випробовуваний розчин.*  $0,500\text{ г}$  свіжоздрібненої на порошок сировини (710) (2.9.12) поміщають у круглодонну колбу, додають розчин  $1,0\text{ г}$  щавлевої кислоти  $P$  у  $50,0\text{ мл}$  метанолу  $P$ , кип'ятять зі зворотним холодильником протягом  $10\text{ хв}$ , охолоджують у льодяній бані до температури  $(15-20)^\circ\text{C}$  і фільтрують.  $2,0\text{ мл}$  фільтрату переносять у конічну колбу місткістю  $50\text{ мл}$ , послідовно додають, обережно струшуючи після кожного додавання,  $2,0\text{ мл}$  дихлорфеноліндофенолу стандартного розчину  $P$ , потім, точно через  $60\text{ с}$ ,  $0,5\text{ мл}$  розчину  $100\text{ г/л}$  тіосечовини  $P$  в етанолі ( $50\%$ , об/об)  $P$  та  $0,7\text{ мл}$  динітрофенілгідразину-сірчаної кислоти розчину  $P$ , нагрівають зі зворотним холодильником при температурі  $50^\circ\text{C}$  протягом  $75\text{ хв}$  і відразу поміщають у льодяну баню протягом  $5\text{ хв}$ . Додають краплями  $5,0\text{ мл}$  суміші  $12\text{ мл}$  води  $P$  і  $50\text{ мл}$  сірчаної кислоти  $P$ , проводячи додавання за період не менше  $90\text{ с}$  і не більше  $120\text{ с}$ , енергійно струшуючи колбу у льодяній бані. Витримують протягом  $30\text{ хв}$  при кімнатній температурі та вимірюють оптичну густину (2.2.25) за довжини хвилі  $520\text{ нм}$ , використовуючи розчин  $A$  як компенсаційну рідину.

*Розчин А.* 2,0 мл фільтрату, одержаного при приготуванні випробовуваного розчину, обробляють як описано вище, додаючи динітрофенілгідразину-сірчаної кислоти розчин *Р* безпосередньо перед вимірюванням оптичної густини.

*Розчин порівняння.* 40,0 мг аскорбінової кислоти *Р* розчиняють у свіжоприготованому розчині 20 г/л щавлевої кислоти *Р* у метанолі *Р*, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл. 5,0 мл одержаного розчину доводять свіжоприготованим розчином 20 г/л щавлевої кислоти *Р* у метанолі *Р*, до 100,0 мл. 2,0 мл одержаного розчину обробляють, як описано вище для фільтрату, отриманого при приготуванні випробовуваного розчину.

Оптичну густину (2.2.25) вимірюють за довжини хвилі 520 нм, використовуючи розчин В як компенсаційну рідину.

*Розчин В.* 2,0 мл розчину порівняння обробляють, як описано вище для розчину А.

Вміст аскорбінової кислоти, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\frac{2.5 \times A_1 \times m_2}{A_2 \times m_1}, \quad (2.10)$$

де:

$A_1$  — оптична густина випробовуваного розчину;

$A_2$  — оптична густина розчину порівняння;

$m_1$ , — маса наважки випробовуваної сировини, у г;

$m_2$  — маса наважки аскорбінової кислоти, у г.

#### 2.14 Методика мікроскопії для вивчення анатомічної будови сировини

*Мікропрепарати* для вивчення анатомічної будови плодів готували зі свіжозібраної сировини, фіксованої в суміші спирт-гліцерин-вода (1:1:1) і висушеної, а потім розмоченої сировини [1].

Анатомічну будову вивчали на препаратах з поверхні, поперечних, поздовжніх 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].

### 2.15 Методика визначення АА *in vitro*

Сировину (наважкою 0,5 г), поміщають у віали (з кришками, що герметично загвинчуються), заливають 4,5 мл 80 % розчином спирту етилового 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 [93].

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 екстинція перевищує 1,4 один., то розчин додатково розводять 80% розчином спирту етилового, щоб його екстинція 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• АА визначається як:

$$AA = (A - B)/A \times 100, \% \quad (2.11)$$

де А –світлопоглинання контрольного зразка,

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

Як стандарт АА використовують аскорбінової кислоту та кверцетин, або дегідрокверцетин і АА виражають в мг цих сполук на 1 г зразка. У разі проведення аналізу АА 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.

## 2.16 Матеріали для проведення ТШХ-аналізу

Для хроматографування застосовували ТШХ пластинки Силикагель F<sub>254</sub> Merck, розміри 15\*10 см на скляній підложці, 20\*20 см на скляній підложці.

Використовували метод висхідної і низхідної, одомірної, двомірної і багаторазової хроматографії в тонкому шарі (ТШХ) [12, 30, 64, 68]. 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 [6,7].

## 2.2.17 Статистичну обробку результатів досліджень проводили за ДФУ 2.0 [6].

### РОЗДІЛ 3

## МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СЕРІЙ ПЛОДІВ КАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ ВІТЧИЗНЯНОЇ ЗАГОТІВЛІ ТА ЇХ ТОВАРОЗНАВЧИЙ АНАЛІЗ

### 3.1 Встановлення морфологічних та морфометричних параметрів плодів калини звичайної

Результати вивчення морфологічних ознак грона та плодів калини звичайної наведено на рис. 3.1-3.5.

Так, округлі, сплюснуті з двох сторін, зморщені, блискучі плоди-кістянки діаметром 8-12 мм, з малопомітним залишком стовпчика і чашолистків і поглибленням на місці відриву плодоніжки. У м'якоті знаходиться одна важко віддільна плоска серцеподібної форми кісточка. Колір плодів темно-червоний або оранжево-червоний, кісточок - світло-бурий Запах слабкий. Смак гіркувато-кислий [134].



Рис.3.1 Зовнішній вигляд свіжезібраних грон калини звичайної



Рис.3.2 Зовнішній вигляд повітряно-сухих грон калини звичайної



Рис.3.3 Зовнішній вигляд повітряно-сухих плодоніжок калини звичайної

Повітряно-сухі плоди мають зморшувату блискучу поверхню, колір темно-червоний або навіть брунатно-, чорно-червоний, форма дещо змінюється, тому що при сушінні кулястість зникає.



Рис.3.4 Зовнішній вигляд свіжезібраних плодів калини звичайної



Рис.3.5 Зовнішній вигляд кісточки оплодня калини звичайної

Морфологічний опис плодів калини звичайної стався у нагоді при розробці розділу монографії «Калини плоди» «Ідентифікація А» хї.

Проведено морфометричні заміри повітряно-сухих плодів калини звичайної різних серій [130,132]. Результати наведено у таблиці 3.1.

Плоди дещо зплющені, 5-10 мм завширшки, 8-9 мм заввишки та 3-4 мм завтовшки. На поперечному розрізі помітно 2 шари: зовнішній, темно-червоного кольору власне оплодня та більш щільний плаский світло-бежевого або рожевого кольору кісточки плоду.

Таблиця 3.1

**Морфометричні параметри плодів калини звичайної різних серій (n=5)**

| Параметри                  | Серія плодів                                                                        |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                       |
|----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|                            | 1                                                                                   | 2                                                                                   | 3                                                                                    | 4                                                                                     | 5                                                                                     |
| Ширина зразка(мм)          | 5                                                                                   | 7                                                                                   | 8                                                                                    | 8                                                                                     | 10                                                                                    |
| Фото заміру ширини зразка  |    |    |    |    |    |
| Висота зразка (мм)         | 8                                                                                   | 9                                                                                   | 9                                                                                    | 9                                                                                     | 8                                                                                     |
| Фото заміру висоти зразка  |  |  |  |  |  |
| Товщина зразка (мм)        | 3                                                                                   | 3.5                                                                                 | 4                                                                                    | 3                                                                                     | 4                                                                                     |
| Фото заміру товщини зразка |  |  |  |  |  |

**3.2 Встановлення анатомічних параметрів плодів калини звичайної**

При розгляді епідермісу плода з поверхні видно його клітини, в контурі багатокутні з четкоподібно потовщеними, здерев'янілими оболонками і рясним

червоно-помаранчевим вмістом (рис. 3.6). М'якоть плода складається з дуже великих тонкостінних клітин майже округлої форми з великими межклітинниками (рис. 3.7), зустрічаються друзи оксалату кальцію (рис. 3.8), тонкостінні клітини паренхіми містять сполуки антоціанової природи (рис. 3.9), а в товстостінних паренхімних клітинах епідермісу червоно-помаранчевий вміст утворює глибоки (рис. 3.10). Зрідка зустрічаються продихи, оточені кільцем декількох навколопродихових клітин, які значно менше за інших клітин епідермісу [130]. У нижній частині плоду, у місця прикріплення до плодоніжки, навколо провідних пучків - численні округлі кам'яністі клітини. і провідні пучки (рис. 3.11).

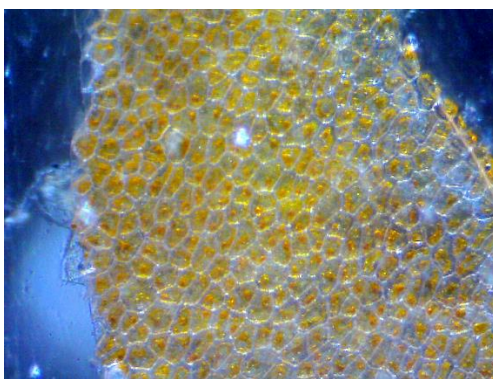


Рис.3.6 Епідерма плоду калини звичайної

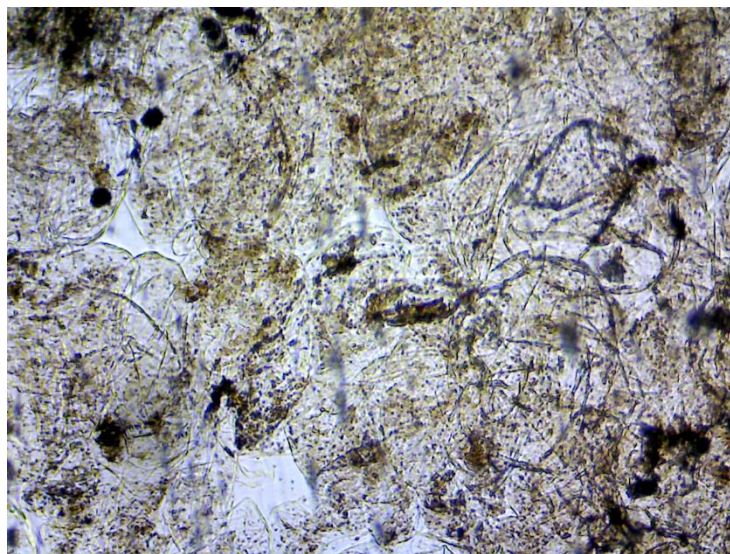


Рис.3.7 Клітини м'якоті плоду калини звичайної



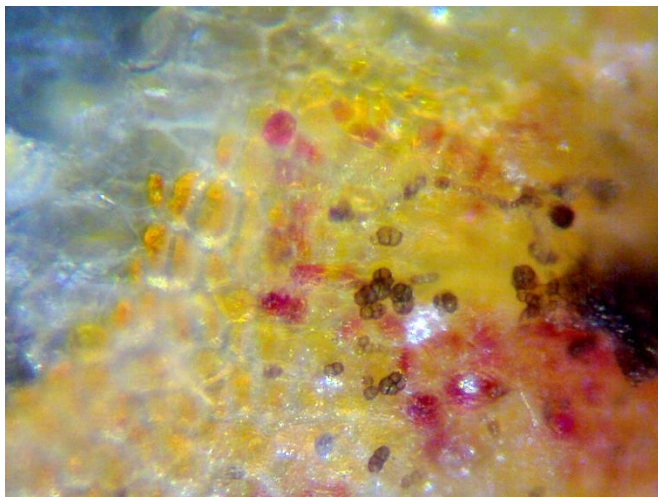


Рис. 3.8 Друзи мякоти плоду калини звичайної

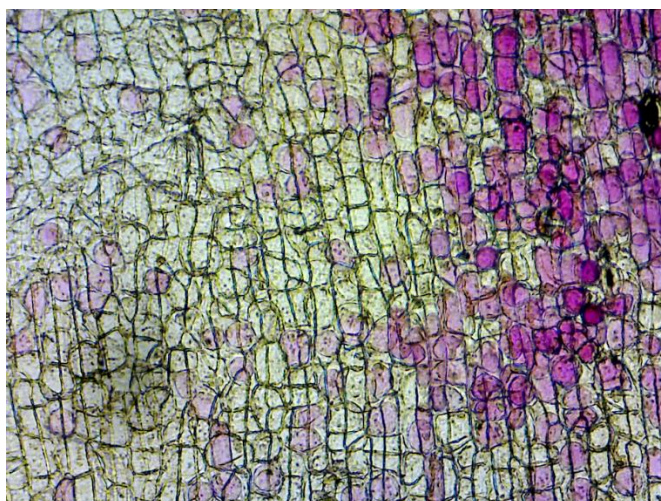


Рис. 3.9 Наявність антоціанів у клітинах плоду калини звичайної

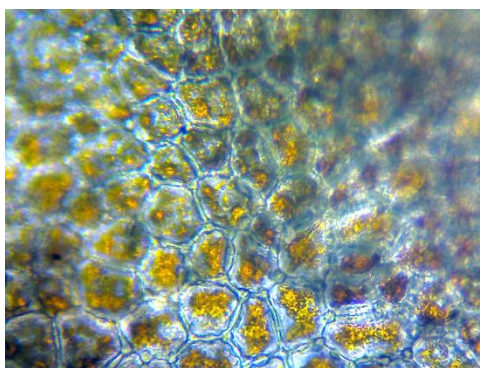
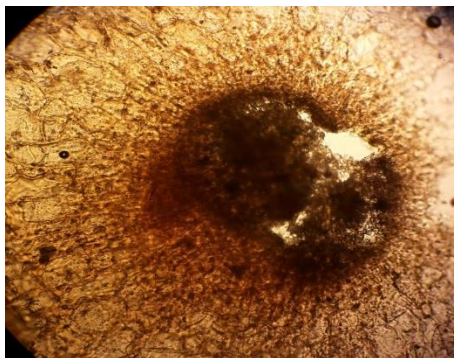


Рис.3.10 Наявність вмісту помаранчевого кольору у клітинах епідермісу



..... Рис.3.11 Провідний пучок біля плодоніжки

Опис анатомічних особливостей плодів калини звичайної положено в основу розділу монографії «Калини плоди» «Ідентифікація В» [10].

### 3.3 Товарознавчий аналіз серій плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі

Товарознавчий аналіз серій плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі показав повну відповідність визначених показників вимогам (табл.3.2) [21,32].

*Таблиця 3.2*

| Назва складової плоду | Маса,г | Маса, % |
|-----------------------|--------|---------|
| Плід цілий            | 0,37   | 96,20   |
| Шкірка                | 0,05   | 13,00   |
| М'якоть               | 0,27   | 70,20   |
| Кісточка              | 0,05   | 13,00   |
| Плодоніжка            | 0,01   | 3,72    |

Так, недозрілі плоди взагалі були відсутні (за вимогами не більше 4 %), плоди почорнілі, підгорілі містилися в кількості 0,6-0,73 % (за вимогами не більше 1,5 %), інших частин рослини 0,01 % (за вимогами не більше 2,5 %), органічних домішок не знайдено (за вимогами не більше 1 %), мінеральних домішок не знайдено (за вимогами не більше 0,5 %).



### Висновки до розділу 3

1. Досліджено морфологічні ознаки серій сировини калини звичайної (грон, плодів, складових плодів) вітчизняної заготівлі та встановлено морфометричні показники.
2. Досліджено анатомічну будову плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі з виділенням рис, що мають діагностичне значення.
3. Діагностичними рисами анатомічної будови є форма клітин епідерми, товщина їх оболонки, наявність червоно-помаранчевого вмісту в порожнинах, наявність друз оксалату кальцію у паренхімі м'якоті плоду, провідні пучки біля плодоніжки.
4. Встановлено морфометричні показники повітряно-сухих плодів калини звичайної.
5. Отримані результати використано в розробці розділів «Ідентифікація А» та «Ідентифікація В» монографії ДФУ 2.0 «Калини плоди».

*Результати експериментальних досліджень розділу наведено у таких публікаціях:*

1. Леонтієв Б. С., Скребцова К. С. Дослідження перспективного виду рослинної сировини калини звичайної / *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : мат. І Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. м. Харків, 5 квіт. 2018 р. Х. : НФаУ. 2018. С. 81.
2. Леонтієв Б. С., Скребцова К. С. Визначення числових показників рослинної сировини калини звичайної. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження

- д-ра фармац. наук, професора О. М. Гайдукевича, м. Харків, 12-13 квіт. 2018 р. Х.: НФаУ. 2018. С. 279.
3. Leontiev B. S., Khvorost O. P. Finding morphological and anatomical differences of sorts of *Viburnum opulus*. *Topical issues of new drugs development: abstracts of XXV international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 18-20, 2018. Kh., 2018. P. 54.
  4. Leontiiev B., Khvorost O. Morphometric marks research of fruits of the *Viburnum opulus* in different sorts. *Science and practice : Mat. 9<sup>TH</sup> International conference of pharmacy, 2018 9th of Novemver, 2018 Lithuanian University of Health Sciences, Sukilėlų 13, Kaunas Lithuania*. P. 72.
  5. Леонтиев Б.С., Хворост О.П. Фармакогностическое изучение семян различных сортов калины обыкновенной. *Роль и место инновационных технологий в современной медицине: мат. 66-ой годичной научно-практической конференции ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием, г. Душанбе 23 ноября 2018. Душанбе, 2018. ТОМ II*. С. 374-375.
  6. Леонтиєв Б. С., Хворост О. П. Оцінка сировинної бази плодів калини звичайної у деяких регіонах України. *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. 87.*
  7. Леонтиєв Б. С., Хворост О. П. Створення нових фітозасобів з маловивчених рослинних джерел. *Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці: мат. міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, м. Харків, 25 берез. 2020 р. Харків: Вид-во НФаУ, 2020. С. 151-152.*

8. Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Можливості комплексної переробки вітчизняної сировини - плодів калини звичайної. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 2 квіт. 2021 р. Харків, 2021. С. 125.
9. Леонтієв Б. С., Хворост О. П., Вельма С. В. Фармакогностичне вивчення плодів калини звичайної. *Фундаментальні та прикладні дослідження в сучасній хімії та фармації*: мат. IX Міжнародної заочної науково-практичної конференції молодих учених : Ніжин, 23 травня 2023 р. / заг. ред. В. В. Суховєєва. м. Ніжин : НДУ ім. Миколи Гоголя, 2023. С 29.

## РОЗДІЛ 4

### ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПОНЕНТНОГО СКЛАДУ ОСНОВНИХ ГРУП БАР ПЛОДІВ КАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ ТА ЇХ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ

Досліджували серії плодів калини звичайної, що, з точки зору системності підходів, заготовлені у різних регіонах України (див. розділ 2, п. 2.1) [20,22,24,28,30.33]: компонентний склад первинних метаболітів – вільних та зв'язаних АК, вільних та загальних вуглеводів, жирних кислот та аскорбінової кислоти; вторинних метаболітів: сполук, що переганяються з водяною парою, різних груп фенольних сполук, зокрема, гідроксикоричних кислот, антоціанів, проціанідинів, флавоноїдів, загальних фенолів, танінів, а також сполук мінеральної природи [18,19,20,23,25,26,28,29,129,131,157,171].

#### 4.1 Компонентний склад первинних метаболітів у плодах калини звичайної вітчизняної заготівлі

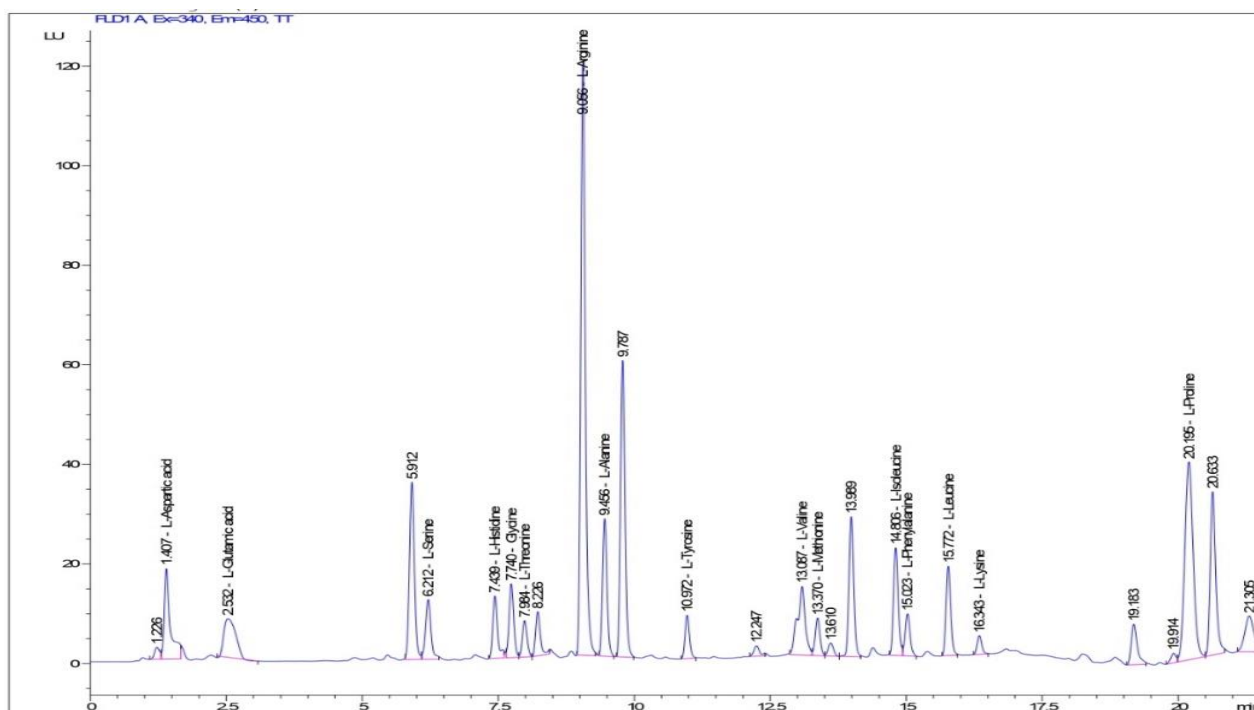
##### 4.1.1 Компонентний склад вільних та зв'язаних амінокислот у складових плоду калини звичайної вітчизняної заготівлі

Визначення компонентного складу вільних та зв'язаних АК у складових (кісточці та оплодні) плоду калини звичайної визначали методом газо-рідинної хромато-маспектрометрії (ГХ/МС) (методика – див. розд. 2, п. 2.2) [157].

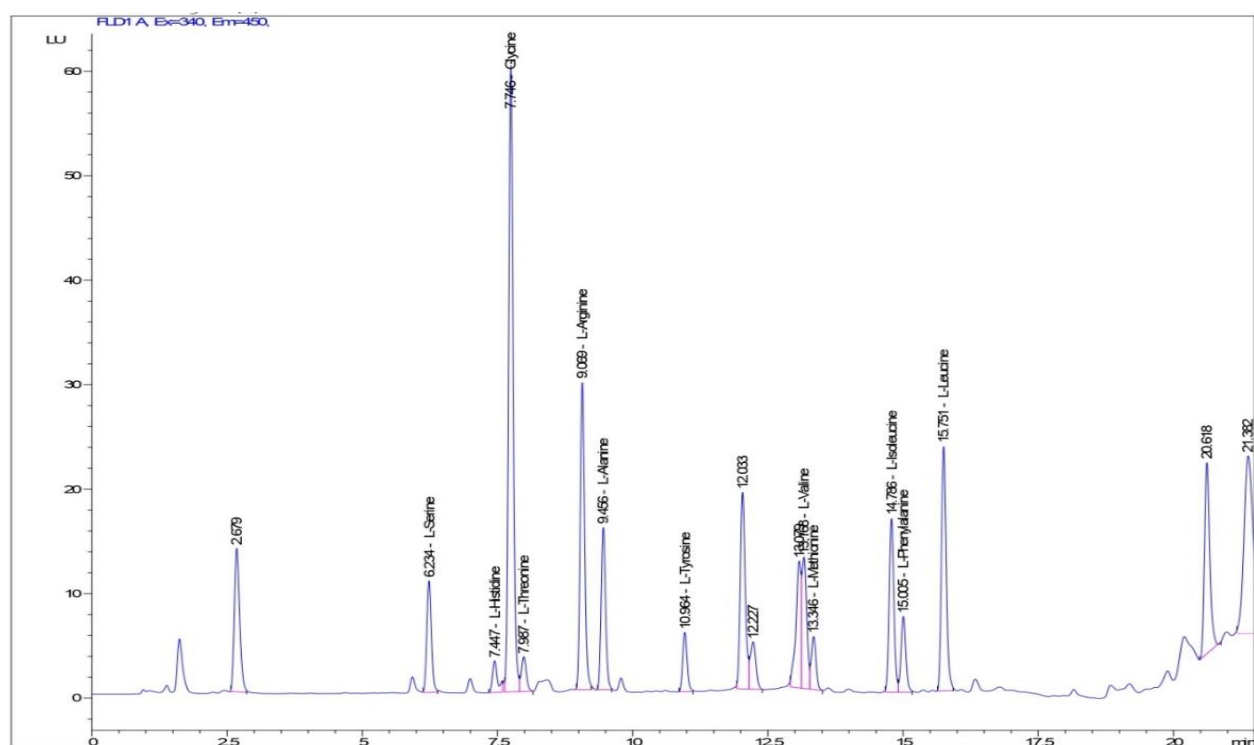
Зразки ГХ/МС-хроматограм компонентного складу вільних та загальних АК кісточки та оплодня плодів калини звичайної наведено на рис. 4.1-4.2.

Компонентний склад та кількісний вміст кожного компонента узагальнено у таблиці 4.1.

В якісному плані компонентний склад як вільних і зв'язаних, так і замінних і незамінних АК індивідуальний для кожного об'єкта, що досліджували. Загалом ідентифіковано 16 АК.



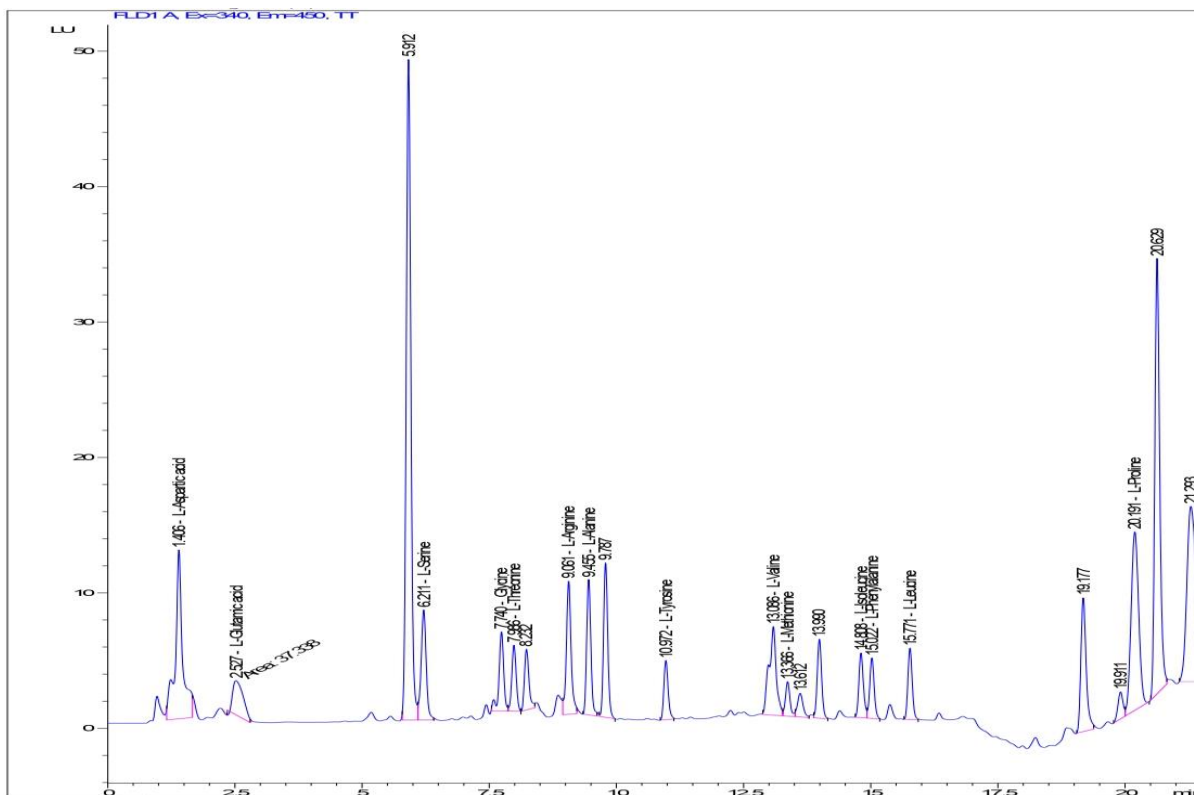
А



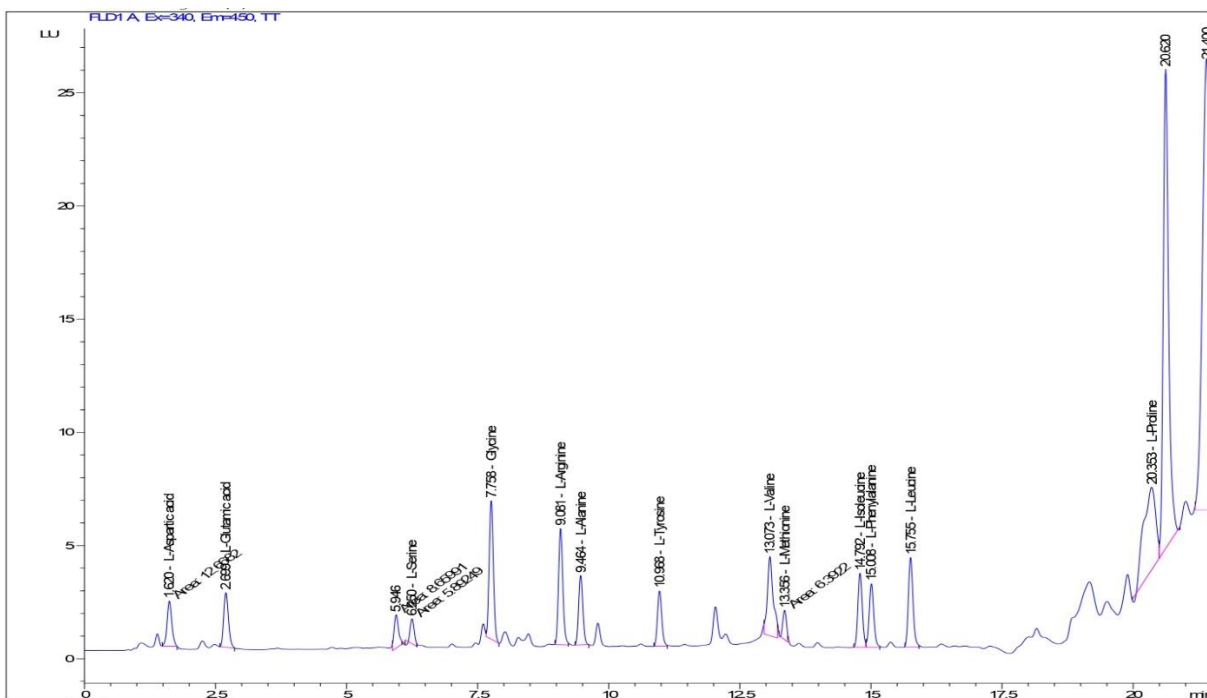
Б

Рис. 4.1 ГХ/МС -хроматограми (зразок) компонентного складу вільних (А) та загальних (Б) АК кісточки плоду калини звичайної

Вміст кожної АК є порівнянним у всіх об'єктах.



А



Б

Рис. 4.2 ГХ/МС-хроматограми (зразок) компонентного складу вільних (А) та загальних (Б) АК оплодня плоду калини звичайної

У оплодні калини звичайної у вільному стані виявлено 14 АК, не виявлено гістидин і лізин і 13 АК в зв'язаному стані (не виявлено треонін).

У кісточці калини звичайної у вільному стані містяться всі 16 АК. У зв'язаному стані ідентифіковано 12 АК, аспарагінову і глютамінову кислоти, лізин і пролін не знайдено.

Таблиця 4.1

**Компонентний склад вільних та зв'язаних АК складових плоду  
калини звичайної**

| Назва АК             | Оплодень   |             | Кісточка   |             |
|----------------------|------------|-------------|------------|-------------|
|                      | вільні АК  | зв'язані АК | вільні АК  | зв'язані АК |
| 1                    | 2          | 3           | 4          | 5           |
| Аспарагінова кислота | 1,45±0,05  | 1,65±0,05   | 1,43±0,03  | -           |
| Глютамінова кислота  | 2,53±0,04  | 2,69±0,08   | 2,55±0,04  | -           |
| Серин                | 6,29±0,17  | 6,32±0,29   | 6,35±0,12  | 6,36±0,23   |
| Гістидин             | -          | -           | 7,52±0,13  | 7,45±0,23   |
| Гліцин               | 7,74±0,20  | 7,81±0,13   | 7,72±0,22  | 7,5±0,28    |
| Треонін              | 7,73±0,19  | -           | 7,81±0,15  | 7,51±0,25   |
| Аргінін              | 9,22±0,24  | 9,23±0,31   | 9,24±0,19  | 9,28±0,23   |
| Аланін               | 9,62±0,15  | 9,59±0,29   | 9,71±0,19  | 9,62±0,32   |
| Тирозин              | 11,07±0,31 | 11,09±0,31  | 11,04±0,26 | 11,09±0,34  |
| Валін                | 13,39±0,31 | 13,43±0,33  | 13,4±0,29  | 13,43±0,33  |
| Метіонін             | 13,49±0,28 | 13,48±0,35  | 13,39±0,28 | 13,63±0,39  |
| Ізолейцин            | 14,49±0,42 | 14,49±0,42  | 14,48±0,36 | 14,52±0,46  |

Продовж. табл.4.1

| 1           | 2          | 3          | 4          | 5          |
|-------------|------------|------------|------------|------------|
| Фенілаланін | 15,30±0,30 | 15,33±0,33 | 15,38±0,32 | 15,36±0,48 |
| Лейцин      | 15,96±0,31 | 16,04±0,61 | 15,99±0,34 | 16,04±0,61 |
| Лізін       | -          | -          | 16,62±0,43 | -          |
| Пролін      | 20,43±0,41 | 20,46±0,43 | 20,49±0,43 | -          |
| Сума АК     | 148,71     | 141,58     | 173,12     | 131,95     |

Замінні АК в оплодні як у вільному, так і у зв'язаному стані представлені шістьма однаковими АК. Якісний вміст замінних АК кісточки у вільному стані ідентичний з оплоднем. У зв'язаному стані замінні АК кісточки представлені лише трьома сполуками (таблиця 4.1).

9 АК містяться і у оплодні, і у кісточці як у вільному, так і у зв'язаному стані. Серед них 3 замінні - серин, гліцин і аргінін. Аспарагінову та глютамінову кислоти не знайдено у зв'язаному стані у кісточці. В решті випадків аспарагінова і глютамінова кислоти містяться в найменших кількостях (відповідно, 1,43±0,03 мкг/кг-1,65±0,05 мкг/кг та 2,53±0,04 мкг/кг-2,55±0,04 мкг/кг).

Найбільший вміст встановлено для АК проліну - понад 20 мкг/кг. Майже однаковий вміст фенілаланіну і лейцину в обох об'єктах - як у вільному, так і зв'язаному стані (відповідно, 15,30±0,30 мкг/кг-15,38±0,32 мкг/кг та 15,96±0,31 мкг/кг-16,04±0,61 мкг/кг). Вміст ізолейцину коливається в межах 14,48±0,36 мкг/кг - 14,52±0,46 мкг/кг. Вміст метіоніну та валіну дещо перевищує 13 мкг/кг (таблиця 4.1).

Вміст аланіну майже однаковий у всіх об'єктах і становить 9,62±0,15 мкг/кг-9,71±0,19 мкг/кг. Вміст аргініну коливається в межах 9,22±0,24 мкг/кг - 9,28±0,23 мкг/кг. Вміст гліцину та треоніну є нижчим. Найбільший сумарний вміст вільних АК визначено у кісточці - 173,12 мкг/кг, а найменший - також в



кісточці у зв'язаному стані - 131,95 мкг/кг, тобто в 1,3 рази нижчий. Вміст загальної кількості АК (вільних і зв'язаних) у оплодні становить 290,29 мкг/кг, у кісточці, відповідно, 304,07 мкг/кг.

Вміст замінних АК у зв'язаному стані у кісточці вдвічі нижчий, ніж у оплодні.

А вміст незамінних АК у вільному стані у кісточці вищий, ніж в інших об'єктах.

АК пролін має багатофункціональні біологічні властивості в рослинах в умовах стресу (засолення ґрунту, нестача води, УФ-опромінення, вплив важких металів).

Підвищення його вмісту розглядається як універсальна реакція рослини на стрес [122,163].

Функцію «fingerprint», ймовірно, можуть виконувати лізин та гістидин (для оплодня відсутні і у вільному, і у зв'язаному стані), а для кісточки як раз лізин наявний у вільному стані.

Відсутність аспарагінової, глютамінової кислот, лізину та проліну і у зв'язаному стані може мати виконувати функцію ідентифікації для кісточки плоду калини звичайної.

Отримані результати враховано в подальшій роботі.

#### 4.1.2 Компонентний склад вільних та загальних вуглеводів у плодах калини звичайної вітчизняної заготівлі

Визначення компонентного складу вільних та загальних вуглеводів у складових (кісточці та оплодні) плоду калини звичайної визначали методом ВЕРХ (методика – див. розділ 2, п. 2.3).

Зразки ВЕРХ-хроматограм компонентного складу вільних та загальних вуглеводів кісточки та оплодня плодів калини звичайної наведено на рис. 4.3-4.6.

Результати досліджень наведено у таблиці 4.2.

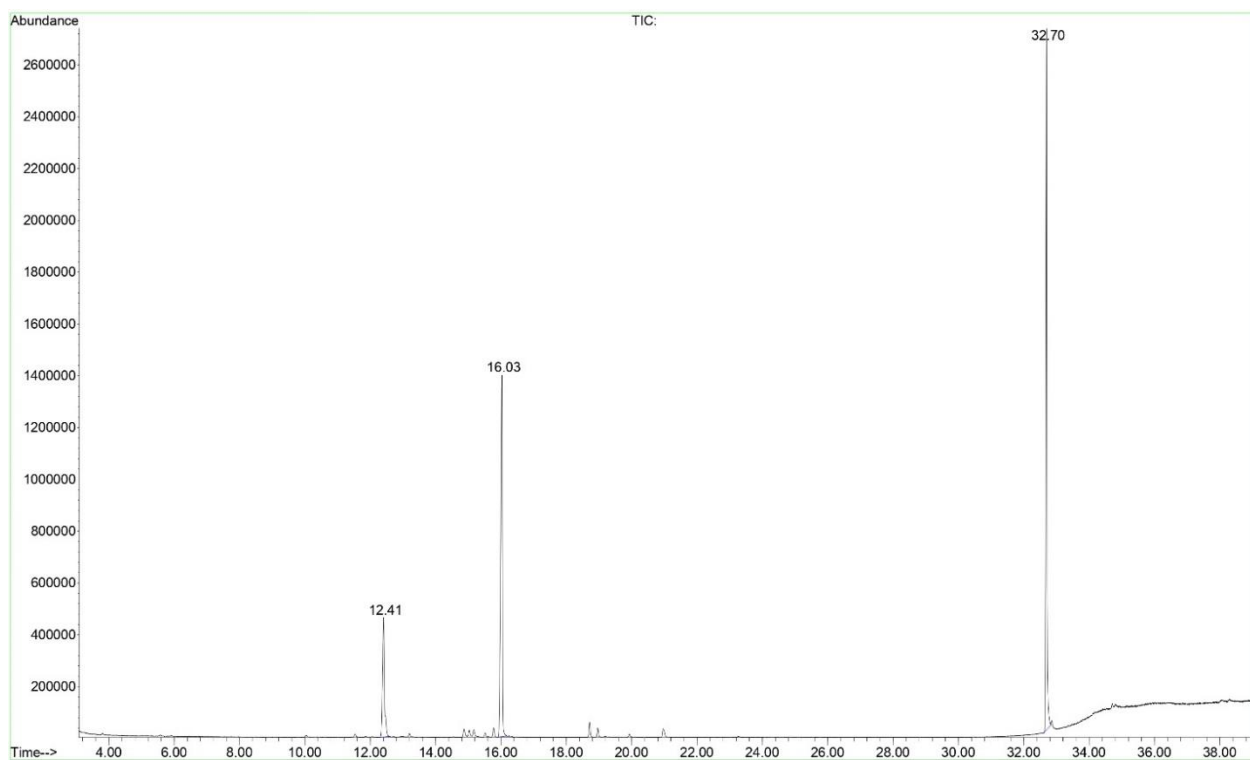


Рис. 4.3 ВЕРХ-хроматограми (зразок) компонентного складу вільних вуглеводів кісточки плоду калини звичайної

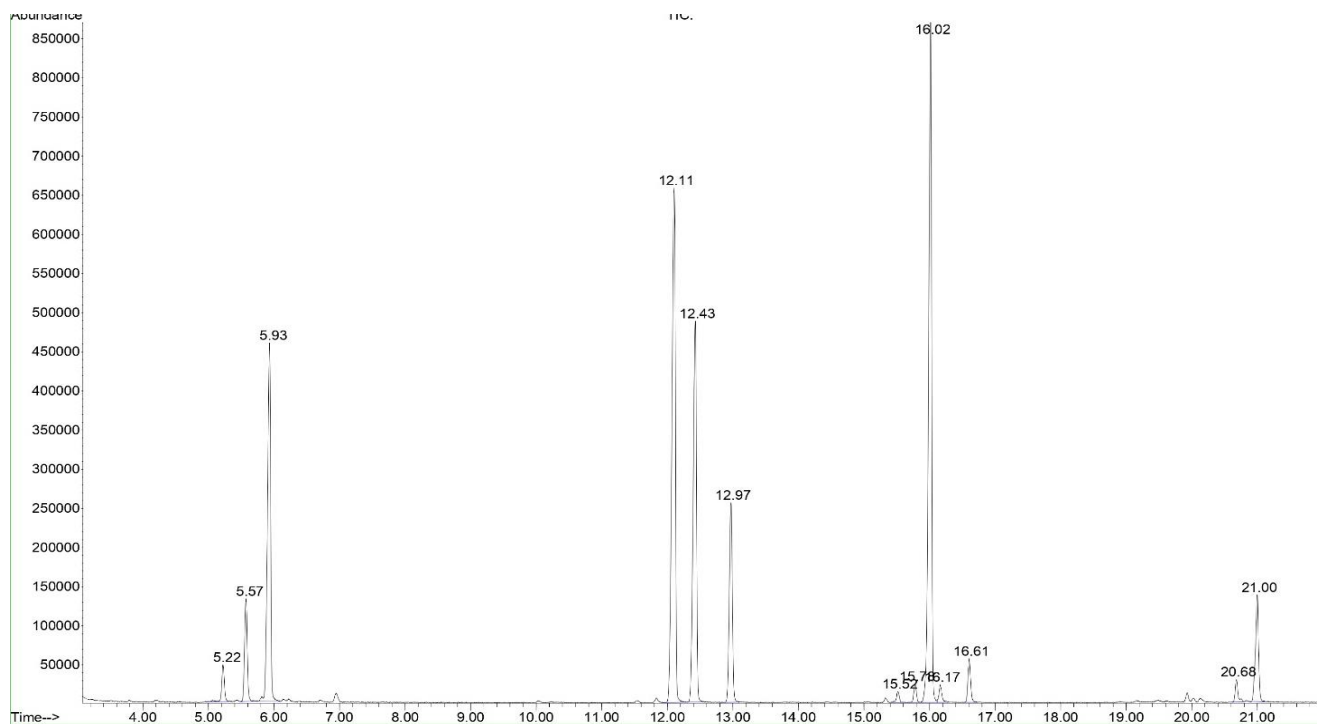


Рис. 4.4 ВЕРХ-хроматограми (зразок) компонентного складу загальних вуглеводів кісточки плоду калини звичайної

Якісний склад як вільних так і загальних вуглеводів індивідуальний для кісточки та оплодня.

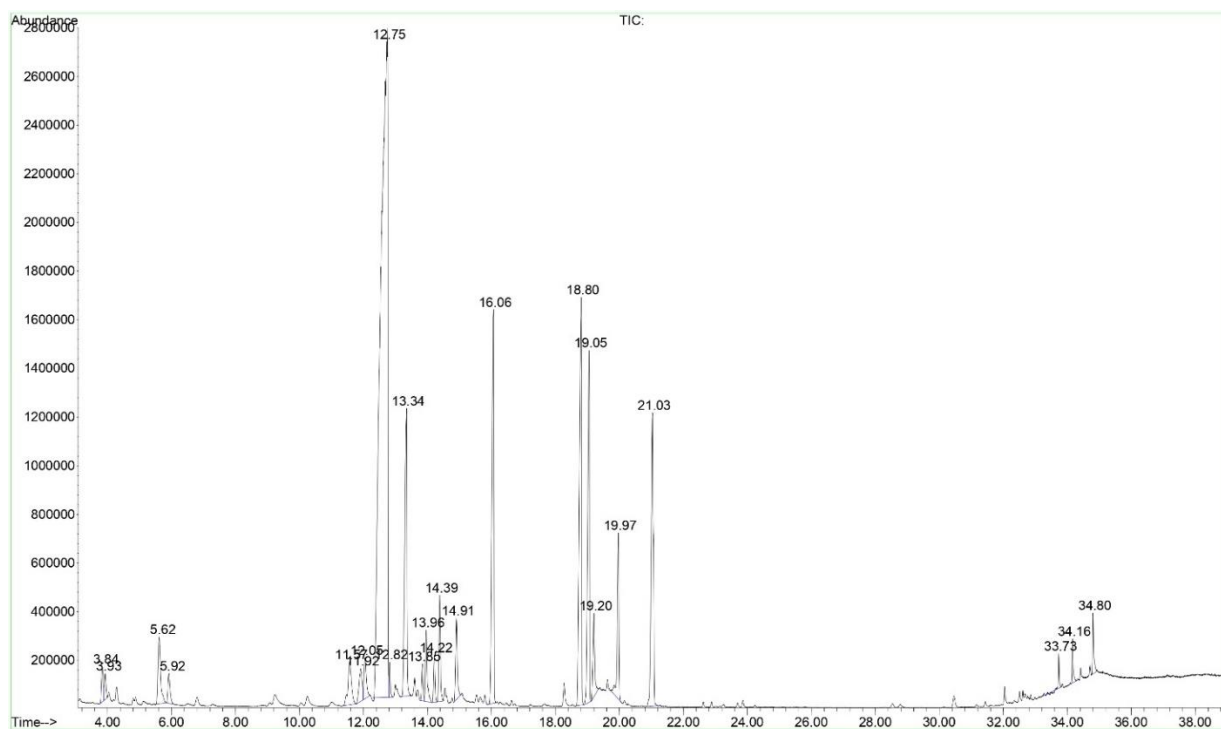


Рис. 4.5 ВЕРХ-хроматограми (зразок) компонентного складу вільних вуглеводів оплодня плоду калини звичайної

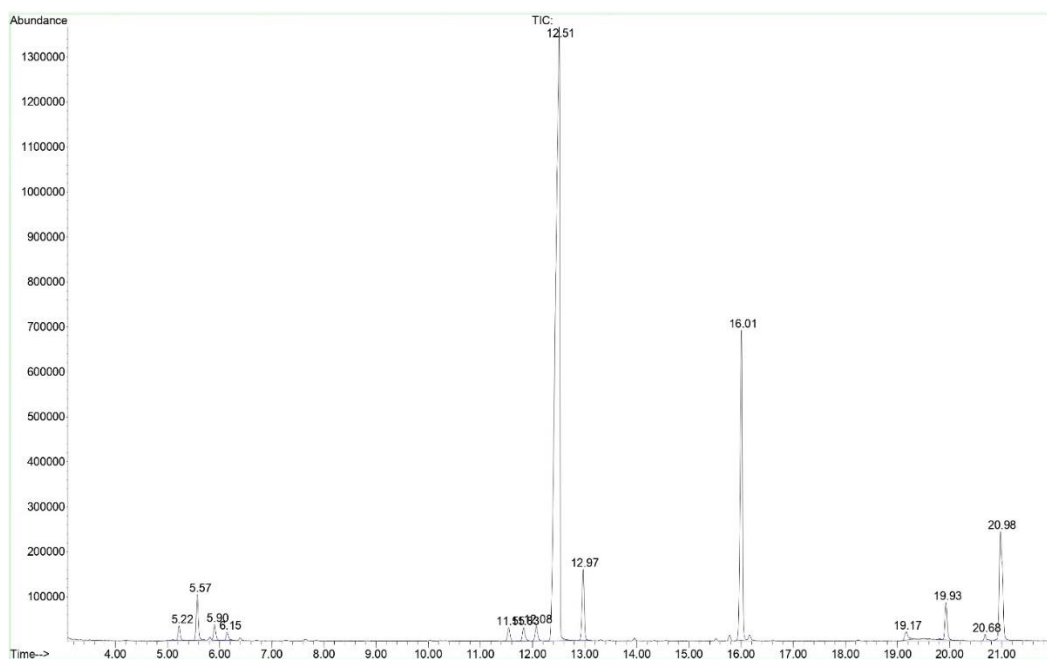


Рис. 4.6 ВЕРХ-хроматограми (зразок) компонентного складу загальних вуглеводів оплодня плоду калини звичайної

Найрізноманітніший склад характерний для загальних вуглеводів кісточки – не менше 9 сполук. Найбідніший – для вільних вуглеводів кісточки плоду (не менше 4 сполук). Кількісний вміст кожного компоненту співставний.

Лише D- глюкозу знайдено у вільному і зв'язаному стані у кісточці та оплодні, вміст цієї сполуки знаходиться у межах  $12,44 \pm 0,30$  мг/г- $12,74 \pm 0,38$  мг/г.

Привертає увагу, що тільки кісточка містить значну кількість сахарози лише у вільному стані –  $32,83 \pm 0,64$  мг/г.

D-Галактоза, D-ксилоза, D-маноза та L-рамноза у кісточці містяться лише у зв'язаному стані, в той час у оплодні у зв'язаному стані міститься лише L-рамноза.

Таблиця 4.2

**Компонентний склад вільних та загальних вуглеводів у кісточці та оплодні плоду калини звичайної (n=5, мг/г)**

| № з/п | Назва сполуки             | Вуглеводи вільні   |                  | Вуглеводи загальні |                  |
|-------|---------------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|
|       |                           | кісточка           | оплодень         | кісточка           | оплодень         |
| 1     | 2                         | 3                  | 4                | 5                  | 6                |
| 1     | L-Арабіноза               | -                  | $5,61 \pm 0,13$  | $5,52 \pm 0,15$    | $5,45 \pm 0,17$  |
| 2     | D-Галактоза               | -                  | $12,52 \pm 0,38$ | $12,87 \pm 0,31$   | $12,91 \pm 0,31$ |
| 3     | D-Глюкоза                 | $12,44 \pm 0,30$   | $12,53 \pm 0,39$ | $12,53 \pm 0,29$   | $12,74 \pm 0,38$ |
| 4     | Дульсітол<br>(галаксітол) | $16,47 \pm 0,41$   | -                | $16,47 \pm 0,41$   | -                |
| 5     | D-Ксилоза                 | -                  | $5,75 \pm 0,16$  | $5,76 \pm 0,15$    | $5,85 \pm 0,16$  |
| 6     | D-Маноза                  | -                  | $12,23 \pm 0,27$ | $12,36 \pm 0,25$   | $12,26 \pm 0,23$ |
| 7     | D-Манітол                 | $15,59 \pm 0,38$ - | -                | $15,59 \pm 0,38$   | -                |

Продовж. табл. 4.2

| 1  | 2          | 3          | 4          | 5          | 6          |
|----|------------|------------|------------|------------|------------|
| 8  | L-Рамноза  | -          | -          | 5,24±0,12  | 5,32±0,12  |
| 9  | Сорбітол   | 16,40±0,41 | 16,32±0,35 | 16,44±0,43 | 16,06±0,25 |
| 10 | D-Фруктоза | -          | 19,40±0,41 | -          | 19,40±0,41 |
| 11 | Сахароза   | 32,83±0,64 | -          | 32,83±0,64 | -          |

У оплодні у вільному стані знайдено 6 вуглеводів, у зв'язаному – 7 сполук цієї групи. Можливу роль «finger print» для кісточки плоду калини звичайної можуть грати дульцитол та D-манітол, що містяться у вільному стані у кількості, відповідно, 16,47±0,41 мг/г та 15,59±0,38 мг/г. Наступним кроком у вивченні вуглеводів плодів калини звичайної було проведення визначення кількісного вмісту полісахаридів в серіях сировини. Застосовували методику монографії ДФУ 2.0 «Алтеї корені» Результати досліджень наведено у таблиці 4.3.

Таблиця 4.3

**Кількісний вміст полісахаридів у серіях плодів калини звичайної (n=5, в % в перерахунку на абсолютно суху сировину)**

| Номер серії | Кількісний вміст<br>полісахаридів |
|-------------|-----------------------------------|
| 1           | 5,15±0,15                         |
| 2           | 5,02±0,11                         |
| 3           | 4,98±0,11                         |
| 4           | 4,75±0,10                         |
| 5           | 5,05±0,12                         |
| 6           | 4,52±0,12                         |

Отримані результати кількісного визначення полісахаридів в плодах всіх серій співставні.

Так, вміст кількісний вміст полісахаридів становив не менше 4,5 %.

Отримані результати враховано в подальшій роботі.

#### 4.1.3 Компонентний склад жирних кислот у плодах калини звичайної вітчизняної заготівлі

Відомі різнопланові дослідження насіння калини звичайної. Скоріш за все це не власне насіння, а так звана кісточка – ендокарпій з розміщеною у ньому насіниною.

Так, досліджували вплив заморозків на ліпідний склад насіння калини звичайної, зміни показників (вологості, вмісту жирної олії, перекисного та кислотного чисел, вмісту білка) у подрібненому насінні цієї рослини в процесі зберігання, зміна якісного складу ліпідів і речовин ліпофільної природи в процесі дозрівання плодів, вивчення жирнокислотного складу ліпідів насіння показало переважання ЖК 18:2 [172,178,189,192].

Однак відомостей про дослідження жирнокислотного складу вітчизняної сировини ми в доступній літературі не виявили.

Тому вивчення компонентного складу ЖК складових плодів калини звичайної (кісточки та оплодня) має безсумнівну актуальність.

Визначення компонентного складу ЖК у складових плоду калини звичайної визначали методом ГХ (методика – див. розділ 2, п. 2.4). Результати досліджень наведено у таблиці 4.4 [131].

У кісточці плоду калини звичайної знайдено 11 ЖК, з яких ідентифіковано 8. У оплодні із 15 знайдених ЖК ідентифіковано 14. Загальними для обох складових плодів є 8 ЖК (2 насичених та 6 ненасичених).

До речі, у кісточці вміст суми ненасичених ЖК складає більше 97 % від загальної суми ЖК. У оплодні вміст ненасичених ЖК в 1,5 рази нижче у порівнянні з цим показником кісточки та складає більш 67 % від загальної суми

ЖК. Домінуючою ЖК і в кісточці, і в оплодні плодів калини звичайної є мононенасичена олеїнова кислота.

Таблиця 4.4

## Компонентний склад ЖК у кісточці та оплодні плодів калини звичайної

| Індекс за IUPAC     | Назва кислоти       |                   | Складова плоду |            |
|---------------------|---------------------|-------------------|----------------|------------|
|                     | За IUPAC            | Тривіальна        | Кісточка       | Оплодень   |
| Насичені ЖК         |                     |                   |                |            |
| C 12:0              | Додеканова          | Лауринова         | -              | 1,14±0,02  |
| C 14:0              | Тетрадеканова       | Міристинова       | -              | 2,08±0,05  |
| C 16:0              | Гексадеканова       | Пальмітинова      | 1,73±0,02      | 23,48±0,45 |
| C 18:0              | Октадеканова        | Стеаринова        | 0,57±0,02      | 3,46±0,06  |
| C 20:0              | Ейкозанова          | Арахінова         | -              | 1,67±0,03  |
| C 22:0              | Докозанова          | Бегенова          | -              | 0,87±0,02  |
| C 24:0              | Тетракозанова       | Лігноцеринова     | -              | 0,97±0,02  |
| Сума насичених ЖК   |                     |                   | 2,30           | 33,67      |
| Ненасичені ЖК       |                     |                   |                |            |
| C 14:1              | Тетрадеценова       | Міристолеїнова    | 0,04±0,002     | 0,39±0,008 |
| C 16:1              | Гексадеценова       | Пальмітинолеїнова | 0,23±0,009     | 1,17±0,03  |
| C 18:1              | Октадеценова        | Олеїнова          | 52,96±0,91     | 30,12±0,56 |
| C 18:2              | Октадекадієнова     | Лінолева          | 44,96±0,74     | 27,06±0,54 |
| C 18:3              | Октадекатрієновая   | Ліноленова        | 0,54±0,01      | 7,78±0,16  |
| C 20:1              | Ейкозенова          | Гондоїнова        | 0,38±0,01      | 0,12±0,004 |
| C 22:1              | Докозенова          | Ерукова           | -              | 0,95±0,03  |
| Сума ненасичених ЖК |                     |                   | 99,11          | 67,59      |
|                     | Невизначена сполука |                   | 0,07           | 0,10       |
|                     | Невизначена сполука |                   | 0,25           | -          |
|                     | Невизначена сполука |                   | 0,03           | -          |
| Загальна сума ЖК    |                     |                   | 101,76         | 101,36     |

Її кількісний вміст у кісточці становить 52,12 % від загальної суми ЖК, в оплодні майже удвічі нижче – 29,72 % від загальної суми ЖК.

З вмістом олеїнової кислоти у оплодні співставний вміст поліненасиченої лінолевої (26,80 % від загальної суми) та насиченої пальмітинової ( 23,12 % від загальної суми) кислоти.

Таким чином, в вітчизняній сировині – плодах калини звичайної домінує 18:1 ЖК, а не 18:2 ЖК.

Отримані результати враховано в подальшій роботі.

#### 4.1.4 Визначення кількісного вмісту суми органічних кислот у серіях плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі

Кількісне визначення суми органічних кислот у серіях плодів калини звичайної проводили за методикою монографії ДФУ 2.0 «Шипшини плоди» в перерахунку на яблучну кислоту (розд.2, п.2.13). Результати наведено у табл. 4.5.

*Таблиця 4.5*

**Результати кількісного вмісту суми органічних кислот у серіях плодів калини звичайної (n=5, в %, в перерахунку на яблучну кислоту та абсолютно суху сировину)**

| Номер серії сировини | Кількісний вміст суми органічних кислот |
|----------------------|-----------------------------------------|
| 1                    | 2                                       |
| 1                    | 8,42±0,05                               |
| 2                    | 8,28±0,04                               |
| 3                    | 6,80±0,03                               |



Продовж. табл. 4.5

| 1 | 2         |
|---|-----------|
| 4 | 8,88±0,04 |
| 5 | 9,08±0,05 |
| 6 | 7,98±0,04 |

Згідно вимог ДФУ 2.0 при використанні валідованої фармакопейної методики для визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин в інших об'єктах, спочатку потрібно провести підтвердження, що вміст речовин не призводить до неприйняттого погіршення метрологічних характеристик методики (ДФУ 2.0, стаття 5.3. п. 2. Валідація аналітичних методик і випробувань).

Тому нами було проведено вивчення таких валідаційних характеристик як правильність та прецизійність методики.

Повна невизначеність результатів аналізу ( $\Delta A_s$ ), у відсотках, виражена як однобічний відносний довірчий інтервал для рівня довірчої імовірності 95 %, не має перевищувати значення 6,4 % (ДФУ 2.0, стаття 5.3.п.2.

Валідація аналітичних методик і випробувань).

Першим етапом вивчення правильності та прецизійності методики стало визначення об'єму титранту, який був затрачений на титрування сировини та сировини з додаванням 10 мл 0,064 г/100 мл розчинну лимонної кислоти (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

**Визначення об'єму титранту, який був затрачений на титрування  
сировини та сировини з додаванням 10 мл 0,064 г/100 мл розчинну  
лимонної кислоти**

| №<br>Дос<br>лід<br>у | Маса наважки, г                                | Об'єм титранту<br>затрачений на<br>сировину з<br>лимонною<br>кислотою, мл | Об'єм титранту,<br>затрачений на<br>сировину, мл |
|----------------------|------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 1                    | Сировина 2,00813                               | -                                                                         | 3,25                                             |
|                      | Сировина 2,00813                               | -                                                                         | 3,2                                              |
| 2                    | Сировина з лимонною<br>кислотою 2,00813+0,0064 | 4,30                                                                      | 3,30                                             |
|                      | Сировина з лимонною<br>кислотою 2,00813+0,0064 | 4,35                                                                      | 3,35                                             |
| 3                    | Сировина з лимонною<br>кислотою 2,00813+0,0064 | 4,25                                                                      | 3,25                                             |
|                      | Сировина з лимонною<br>кислотою 2,00813+0,0064 | 4,30                                                                      | 3,30                                             |
| 4                    | Сировина з лимонною<br>кислотою 2,00813+0,0064 | 4,25                                                                      | 3,25                                             |
|                      | Сировина з лимонною<br>кислотою 2,00813+0,0064 | 4,20                                                                      | 3,20                                             |

На основі отриманих результатів табл. 4.6 визначено нормалізовані координати, відношення «знайдено/введено» та значення відносного довірчого інтервалу, систематичної похибки та критерій практичної прийнятності (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

**Вивчення правильності та прецизійності методики**

| №<br>Дос-<br>лід<br>у                                          | Маса наважки, г                                | «знайдено» | «введено» | «знайдено»/<br>«введено» |
|----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------|-----------|--------------------------|
| 1                                                              | Сировина 2,00813                               | 0,02237    | -         | -                        |
| 2                                                              | Сировина з лимонною<br>кислотою 2,00813+0,0064 | 0,0300     | 0,0288    | 104,28                   |
| 3                                                              | Сировина з лимонною<br>кислотою 2,00813+0,0064 | 0,0297     | 0,0288    | 103,07                   |
| 4                                                              | Сировина з лимонною<br>кислотою 2,00813+0,0064 | 0,0293     | 0,0288    | 101,89                   |
| Середнє значення<br>«знайдено»/«введено»                       |                                                | 103,08     |           |                          |
| Відносне стандартне<br>відхилення, Sz%                         |                                                | 1,20       |           |                          |
| Відносний довірчий інтервал,<br>$\Delta z\% = t(95\%, 2) * Sz$ |                                                | 3,49       |           |                          |
| Систематична похибка, $\delta\%$                               |                                                | 3,08       |           |                          |
| Критерій практичної<br>прийнятності                            |                                                | 4,27       |           |                          |

Методика є правильною, оскільки критерій практичної прийнятності перевищує системну похибку, та прецизійною (відносний довірчий інтервал 3,49 % не перевищує максимально припустиму невизначеність аналізу (6,4 %)).

Отримані результати враховано в подальшій робот [129].

#### 4.1.5 Кількісне визначення аскорбінової кислоти у серіях плодів калини звичайної

Кількісне визначення аскорбінової кислоти у серіях плодів калини звичайної проводили за методикою монографії ДФУ 2.0 «Шипшини плоди» [8] в перерахунку на аскорбінову кислоту (розд.2, п.2.14). Результати наведено у табл. 4.8 [18].

*Таблиця 4.8*

**Результати кількісного вмісту аскорбінової кислоти у серіях плодів калини звичайної (n=5, в %, в перерахунку на аскорбінову кислоту та абсолютно суху сировину)**

| Номер серії сировини | Кількісний вміст аскорбінової кислоти |
|----------------------|---------------------------------------|
| 1                    | 30,4±1,4                              |
| 2                    | 38,0±1,2                              |
| 3                    | 26,2±1,0                              |
| 4                    | 28,6±1,4                              |
| 5                    | 31,2±1,0                              |
| 6                    | 31,8±1,0                              |

Проведені нами дослідження показали, що кількісний вміст аскорбінової кислоти в серіях плодів калини звичайної, що вивчаються, коливається майже в 1,5 рази. Найвищий показник вмісту аскорбінової кислоти притаманний сировині серії 2 (Львівської області заготівлі) –  $38,0 \pm 1,2$  мг%, найнижчий для

сировини серії 3 (Луганської області заготівлі) –  $26,2 \pm 1,0$  мг%. У сировині серії 4 (заготовлена у Харківській області), вміст аскорбінової кислоти становив  $28,6 \pm 1,4$  мг%, серії 1 (Кіровоградської області заготівлі) –  $30,4 \pm 1,4$  мг%. Сировина серій 5 та 6 (відповідно, Івано-Франківська та Запорізька області заготівлі) містить, відповідно,  $31,2 \pm 1,0$  мг% та  $31,8 \pm 1,0$  мг%. Тобто, проведене визначення кількісного вмісту аскорбінової кислоти в серіях плодів звичайної калини дозволили визначити нижню межу – не менше 26 мг%. Отримані результати враховано в подальшій роботі.

## 4.2 Компонентний склад вторинних метаболітів у плодах калини звичайної вітчизняної заготівлі

### 4.2.1 Компонентний склад сполук, що переганяються з водяною парою, у плодах калини звичайної вітчизняної заготівлі

Визначення компонентного складу сполук, що переганяються з водяною парою, плодів калини звичайної визначали перегонкою з водяною парою ДФУ 2.0 (методика – див. розділ 2, п. 2.5). ГХ/МС- хроматограма наведена на рисунку 4.7. Результати досліджень наведено у таблиці 4.9.

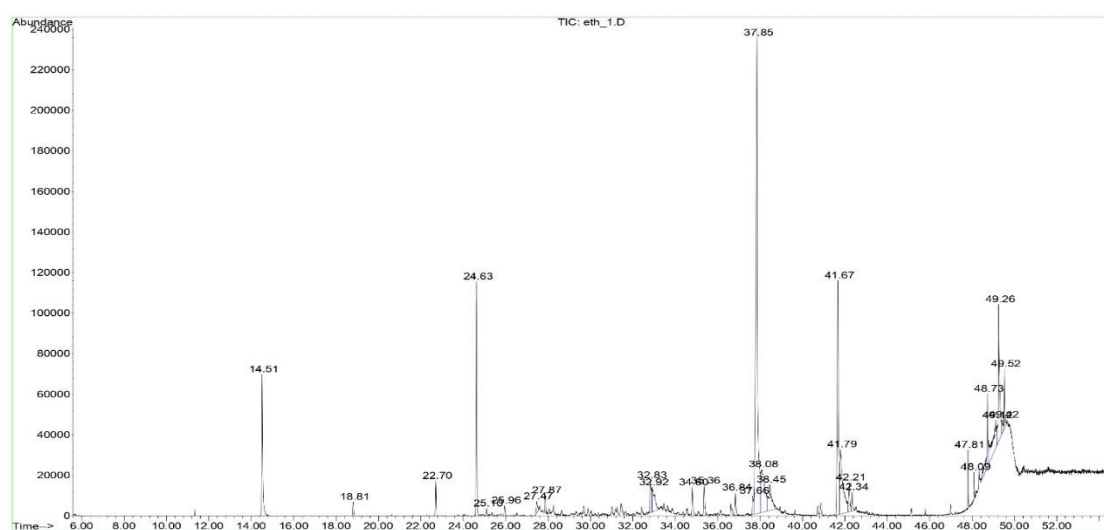


Рис. 4.7 ГХ/МС-хроматограма сполук, що переганяються з водяною парою, плодів калини звичайної

Таблиця 4.9

**Компонентний склад ідентифікованих сполук, що переганяються з  
водяною парою, плодів калини звичайної**

| №  | Час утримання | Відсоток площі % | Назва речовини                                                                                     | Ймовірність ідентифікації, % |
|----|---------------|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| 1  | 2             | 3                | 4                                                                                                  | 5                            |
| 1  | 14,59±0.29    | 5,22             | Циклогексанол, 5-метил-2-(1-метилетил)-, [1R-(1.α, 2.β, 5. α)]-                                    | 90                           |
| 2  | 18,63±0.32    | 0,46             | Біцикло [2.2.1]гептан, 1,7,7-триметил-                                                             | 78                           |
| 3  | 22,38±0.46    | 10,1             | Каріофілен                                                                                         | 98                           |
| 4  | 24,29±0.59    | 7,31             | (+)-Епі-біциклосесквифіландрен                                                                     | 93                           |
| 5  | 25,28±0.55    | 0,24             | Пропіональдегід-1-феніл-1,2-етан едіол ацеталь 1                                                   | 47                           |
| 6  | 25,74±0.51    | 0,32             | Нафталін, 1,2,3,5,6,8а-гексагідро-4,7 диметил-1-(1-метилетил)-,(1S-cis)-                           | 80                           |
| 7  | 27,72±0.61    | 0,57             | 1H-Циклопропазулен, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-октагідро-1,1,4,7-тетраметил-, [1aR-(1a.α,7. α,7a. β, 7b. α | 90                           |
| 8  | 32,94±0.69    | 1,65             | Тетрадеканова кислота                                                                              | 98                           |
| 9  | 34,91±0.77    | 1,14             | 2-Пентадеканон, 6,10,14-триметил-                                                                  | 59                           |
| 10 | 35,83±0.74    | 1,22             | Фталева кислота, діізобутиловий естер                                                              | 83                           |
| 11 | 36,67±0.76    | 0,84             | Гексадеканова кислота, метиловий естер                                                             | 91                           |
| 12 | 37,99±0.77    | 0,76             | Дибутилфталат                                                                                      | 93                           |
| 13 | 38.03±0.78    | 30.83            | n-Гексадеканова кислота                                                                            | 89                           |
| 14 | 38.42±0.57    | 6.22             | n-Гексадеканова кислота                                                                            | 98                           |
| 15 | 38.71±1.14    | 2.82             | Гексадеканова кислота, етиловий естер                                                              | 38                           |
| 16 | 41.41±1.10    | 10.86            | 9,12-октадиєнова кислота (Z,Z)-                                                                    | 99                           |
| 17 | 41.54±0.90    | 7.48             | 9,12- октадиєнова кислота (Z,Z)-                                                                   | 97                           |
| 18 | 42.49±1.03    | 1.28             | Линолева кислота, етиловий естер                                                                   | 96                           |
| 19 | 42.8±0.86     | 0.76             | 9-Октадеценева кислота (Z)-, 2,3-дигідроксипропиловий естер                                        | 72                           |
| 20 | 47.46±1.14    | 0.97             | Ейкозан                                                                                            | 97                           |

Продовж. табл. 4.9

| 1  | 2          | 3    | 4                                                             | 5  |
|----|------------|------|---------------------------------------------------------------|----|
| 21 | 48.25±1.19 | 0.38 | Фталева кислота, моно(2-етилгексиловий) естер                 | 38 |
| 22 | 49.31±1.13 | 2.62 | 1,2,4-Бензилтрикарбонова кислота, 4-додецил диметиловий естер | 43 |
| 23 | 49.78±0.91 | 4.34 | Циклотрисилоксан, гексаметил-                                 | 43 |
| 24 | 49.79±1.06 | 6.18 | Циклотрисилоксан, гексаметил-                                 | 46 |
| 25 | 49.80±0.95 | 0.50 | Тетратрисилоксан, декаметил-                                  | 43 |
| 26 | 49.88±1.04 | 1.32 | 1,2,4-Бензилтрикарбонова кислота, 4-додецил диметиловий естер | 52 |

Загалом ідентифіковано 26 сполук.

Ідентифіковано терпени каріюфілен (відсоток співпадання – 98), (+)епі-біциклосесквифіландрен (відсоток співпадання – 93), а також алкан ейкозан (відсоток співпадання – 96).

Ідентифіковано високомолекулярні аліфатичні карбонові кислоти: тетрадеканову (мірістинову) кислоту (відсоток співпадання – 98), гексадеканову (пальмітинову) кислоту (відсоток співпадання – 98), лінолеву кислоту (відсоток співпадання – 96), 9,12-октадиєнову кислоту (Z,Z)- (відсоток співпадання – 99).

1,2,4-Бензилтрикарбонова, або тримелитова, кислота є найпростішою триосновною карбоною ароматичною кислотою (рис. 4.8). Її похідні використовуються у промисловості: ангідриди як у синтезі поліімідів, полієфірімідів, та у виробництві лінолеумів, естери як пластифікатори. Гексаметилциклосилоксан (досить низька ступінь співпадання – 43 %)– це летка силіконова олія, що використовується, наприклад, у виробництві парфюмів. У плодах калини звичайної ідентифіковано 4-додецилдиметиловий естер 1,2,4-бензилтрикарбонової кислоти (відсоток співпадання 43-52). Похідні фталевої кислоти, що ідентифіковано у сировині (дибутилфталат, відсоток співпадання – 93, диізобутилфталат, відсоток співпадання – 83) є широко вживаними пластифікаторами епоксидних смол.

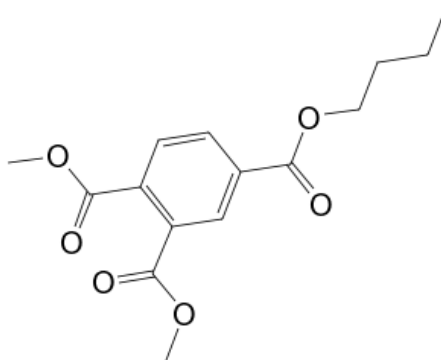


Рис.4.8 Формула 1,2,4-бензилтрикарбонової, або тримелитової, кислоти

#### 4.2.2 Компонентний склад та кількісний вміст різних груп БАР фенольної природи

##### 4.2.2.1 Дослідження гідроксикоричних кислот серій плодів калини звичайної

Першим кроком явилось дослідження наявності гідроксиокричних кислот у сировині. Дослідження проводили згідно Монографії ДФУ 2.0 (2.2.27) "Ідентифікація методом тонкошарової хроматографії" [6].

У конічну колбу вносили 0,5 г подрібненої сировини і додавали 10 мл метанолу *P*. Ставили на ультразвукову баню при  $t = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$  на 5 хв. Охолодили. Відфільтрували. Після нанесення проби 10 мкл ТШХ-пластинку сушили на повітрі протягом 5-10 хв і вміщували у камеру з системою розчинників: мурашина кислота безводна *P*: оцтова кислота *P*: вода *P*: етилацетат *P* (11: 11: 27: 100).

Коли фронт розчинників проходив майже до кінця пластинки (не менш 10 см), її виймали та сушили на повітрі до зникнення запаху розчинників. Пластинку переглядали в УФ світлі при довжині хвилі 365 нм після обприскування розчином аміноетилового естера дифенілборної кислоти *P* та розчином Макроголу *P*.



Результати наведено на рисунку 4.9.

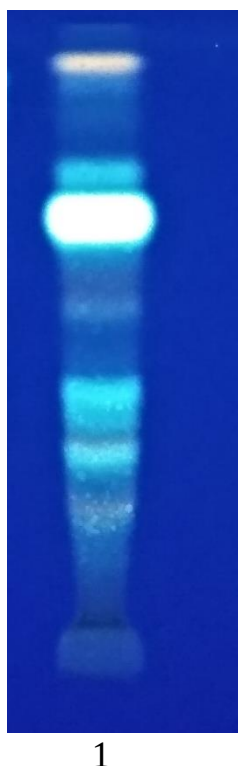


Рис.4.9 ТШХ хроматограма виявлення гідроксикоричних кислот у витягу плодів калини звичайної серії 3 в УФ-світлі

Система розчинників мурашина кислота безводна *P*: оцтова кислота *P*:вода *P*: етилацетат *P* (11: 11: 27: 100)

Проявник аміноестилового естера дифенілборної кислоти розчин та Макроголу розчин.

ТШХ пластинки Силикагель F<sub>254</sub> Merck, розмір 15\*10 см на скляній підложці

На ТШХ-хроматограмі присутно не менше 3 плям з інтенсивною яскраво-блакитною флюоресценцією. Також присутні ще зони з різними відтінками блакитної та синьої флюоресценції.

Наступний крок досліджень це аналіз усіх серій плодів калини звичайної на наявність гідроксикоричних кислот. Для цього готували витяги з 6 серій сировини (аналогічно способу, що описаний вище).

Розчин порівняння: ФСЗ кофейної кислоти (2,7 мг), хлорогенової кислоти (1,22 мг) розчиняють у 1 мл метанолу *P*.

Після нанесення проб по 10 мкл та розчину порівняння (10 мкл) ТШХ-пластинку сушили на повітрі протягом 5-10 хв і вміщували у камеру з системою розчинників: мурашина кислота безводна *P*: вода *P*: метилетилкетон *P*: етилацетат *P* (10: 10: 30: 50)

Коли фронт розчинників проходив майже до кінця пластинки (не менш 10 см), її виймали та сушили на повітрі до зникнення запаху розчинників. Пластинку переглядали в УФ світлі при довжині хвилі 365 нм після обприскування аміноетилового естера дифенілборної кислоти розчином та Макроголу розчином.

Результати наведено на рисунку 4.10.

Таким чином, в усіх серіях плодів калини звичайної присутні гідроксикоричні кислоти, зокрема, хлорогенова кислота.

Для більш докладного з'ясування якісного складу БАР цієї групи серій плодів калини звичайної застосували більшу різноманітність стандартних зразків речовин.

Готували витяги з плодів 6 серій (методику – див. вище).

Також готували розчини порівняння ФСЗ.

Розчин порівняння № 1: ФСЗ кофейної кислоти (2,7 мг), хлорогенової кислоти (1,22 мг), гіперозиду (3,0 мг) та рутину (1,5 мг) розчиняють у 10 мл метанолу *P*.

Розчин порівняння № 2: ФСЗ ферулової кислоти (2 мг) розчиняють у 1 мл метанолу *P*.

Розчин порівняння № 3: ФСЗ розмаринової кислоти (1 мг) розчиняють у 1 мл метанолу *P*.

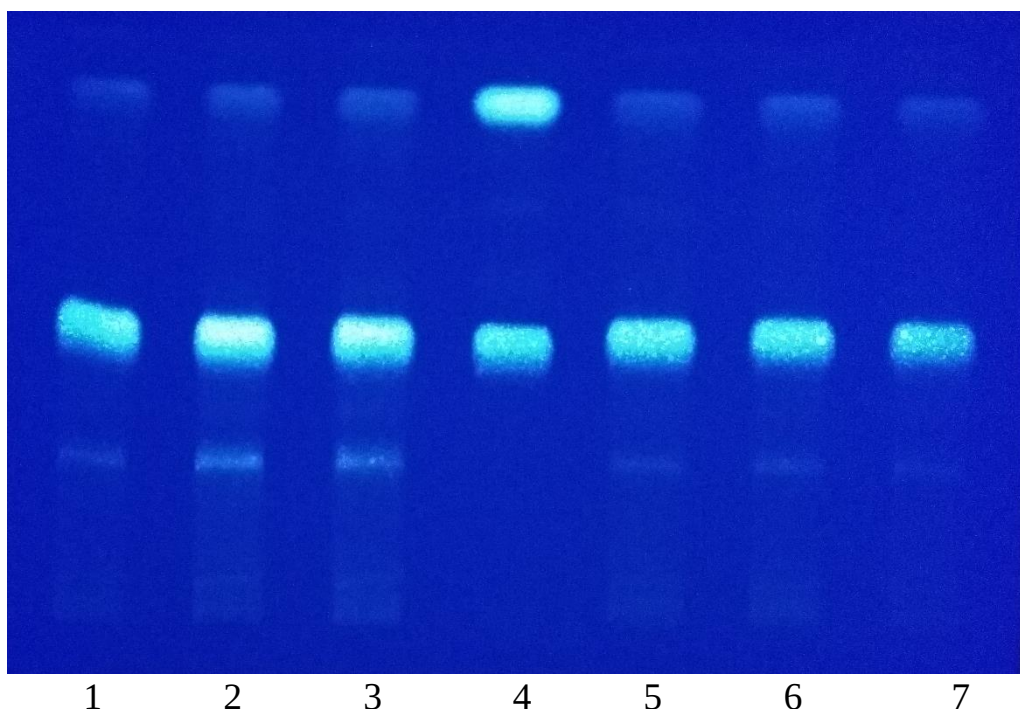


Рис.4.10 ТШХ хроматограма гідроксикоричних кислот серій плодів калини звичайної (витяги різних серій плодів калини звичайної: 1 (серії 1), 2 (серії 2), 3 (серії 3), 5 (серії 4), 6 (серії 5), 7 (серії 6); 4 – розчин порівняння в УФ-світлі

Система розчинників мурашина кислота безводна  $P$ : вода  $P$ : метилетилкетон  $P$ : етилацетат  $P$  (10: 10: 30: 50)

Проявник аміноетилового естера дифенілборної кислоти розчин та Макроголу розчин.

ТШХ пластинки Силикагель  $F_{254}$  Merck, розмір 15\*10 см на скляній підложці

На ТШХ-пластинку наносили по 10 мкл витягів серій сировини та по по 10 мкл розчинів порівняння. Сушили на повітрі протягом 5-10 хв і вміщували у камеру з системою розчинників: мурашина кислота безводна  $P$ : оцтова кислота  $P$ : вода  $P$ : етилацетат  $P$  (11: 11: 27: 100).

Коли фронт розчинників проходив майже до кінця пластинки (не менш 10 см), її виймали та сушили на повітрі до зникнення запаху розчинників. Пластинку переглядали в УФ світлі при довжині хвилі 365 нм після

обприскування розчином аміноетилового естера дифенілборної кислоти *P* та розчином Макроголу *P*.

Результати наведено на рисунку 4.11.

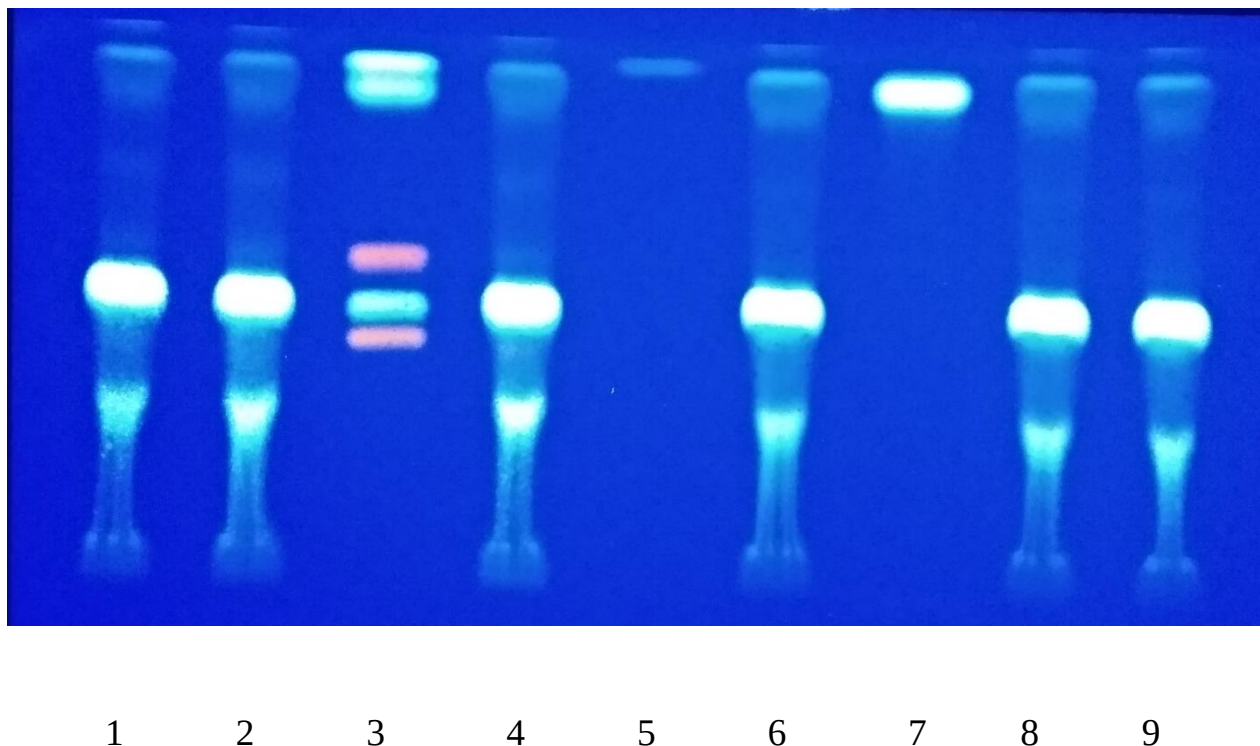


Рис.4.11 ТШХ хроматограма гідроксикоричних кислот серій плодів калини звичайної (витяги серій плодів калини звичайної – 1 (серії 1), 2 (серії 2), 4 (серії 3), 6 (серії 4), 8 (серії 5), 9 (серії 6), 3 – розчин порівняння № 1, 5 – розчин порівняння № 2, 7 – розчин порівняння № 3, в УФ-світлі

Система розчинників мурашина кислота безводна *P*: оцтова кислота *P*:вода *P*: етилацетат *P* (11: 11: 27: 100)

Проявник аміноетилового естера дифенілборної кислоти розчин та Макроголу розчин

ТШХ пластинки Силикагель F<sub>254</sub> Merck, розмір 15\*10 см на скляній підложці

Вивчення компонентного складу гідроксикоричних кислот плодів калини звичайної методом ВЕРХ [19].

Хроматограму ВЕРХ (зразок) гідроксикоричних кислот наведено на рис. 4.12, компонентний склад – у таблиці 4.10.

Загалом знайдено не менше 5 сполук цієї групи.

За вмістом лідирує хлорогенова кислота ( $902,3 \pm 1,7$  мкг/г), вміст решти компонентів нижчий в 10-20 разів.

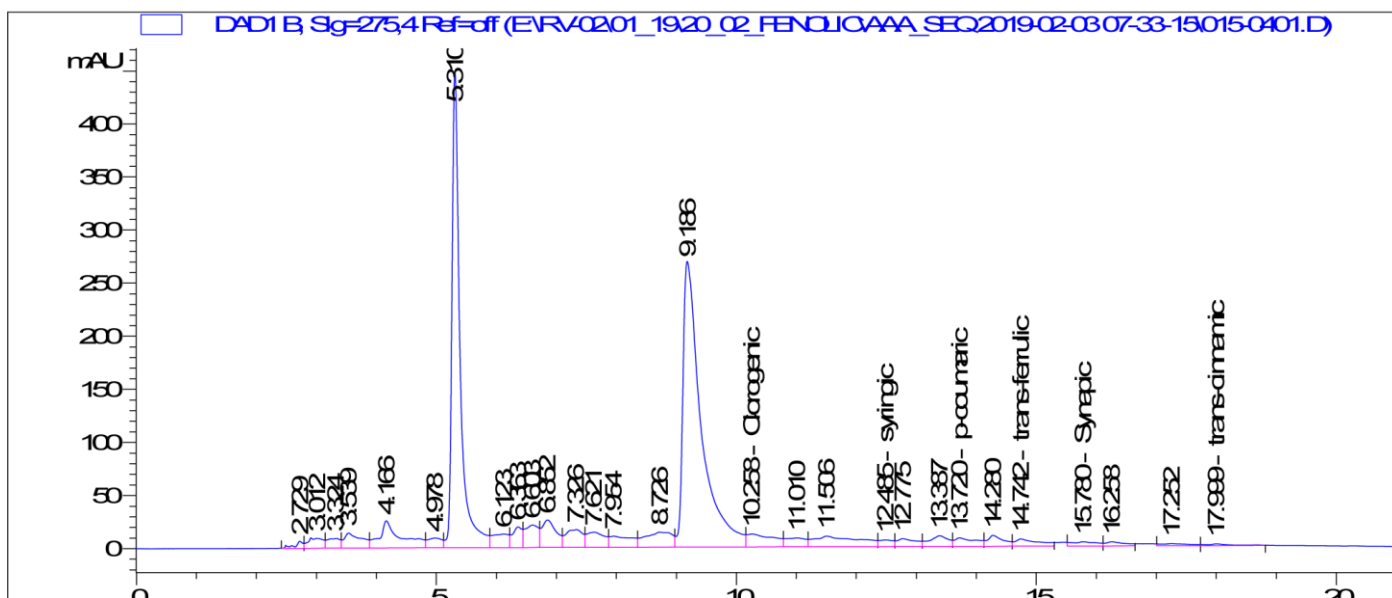


Рис. 4.12 Зразок ВЕРХ хроматограми гідроксикоричних кислот плодів *V.opulus*

Таблиця 4.10

**Компонентний склад гідроксикоричних кислот у плодах *V.opulus* (n=5)**

| № піку<br>з/п | Час утр.,<br>хв | Сполука                        | Концентрація,<br>мкг/г |
|---------------|-----------------|--------------------------------|------------------------|
| 19            | 10,25           | Хлорогенова кислота            | $902,3 \pm 1,7$        |
| 23            | 12,48           | Сирінгова кислота              | $40,5 \pm 0,9$         |
| 26            | 13,72           | <i>p</i> -Кумарова кислота     | $87,5 \pm 0,5$         |
| 28            | 14,74           | <i>trans</i> -Ферулова кислота | $82,1 \pm 0,3$         |
| 29            | 15,78           | Синапова кислота               | $42,5 \pm 0,5$         |

Визначення кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот у серіях плодів калини звичайної.

Кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот проводили за методикою монографії ДФУ 2.2. «Ортосифону тичинкового (нирковий чай) листя<sup>N</sup>» [9] спектрофотометричним методом при довжині хвилі 505 нм та в перерахунку на розмаринову кислоту (розд.2, п. 2.9).

УФ-спектри поглинання витягів деяких серій плодів калини звичайної, оброблених відповідним реагентом, за методикою кількісного визначення суми гідроксикоричних кислот, наведено на рисунку 4.13.

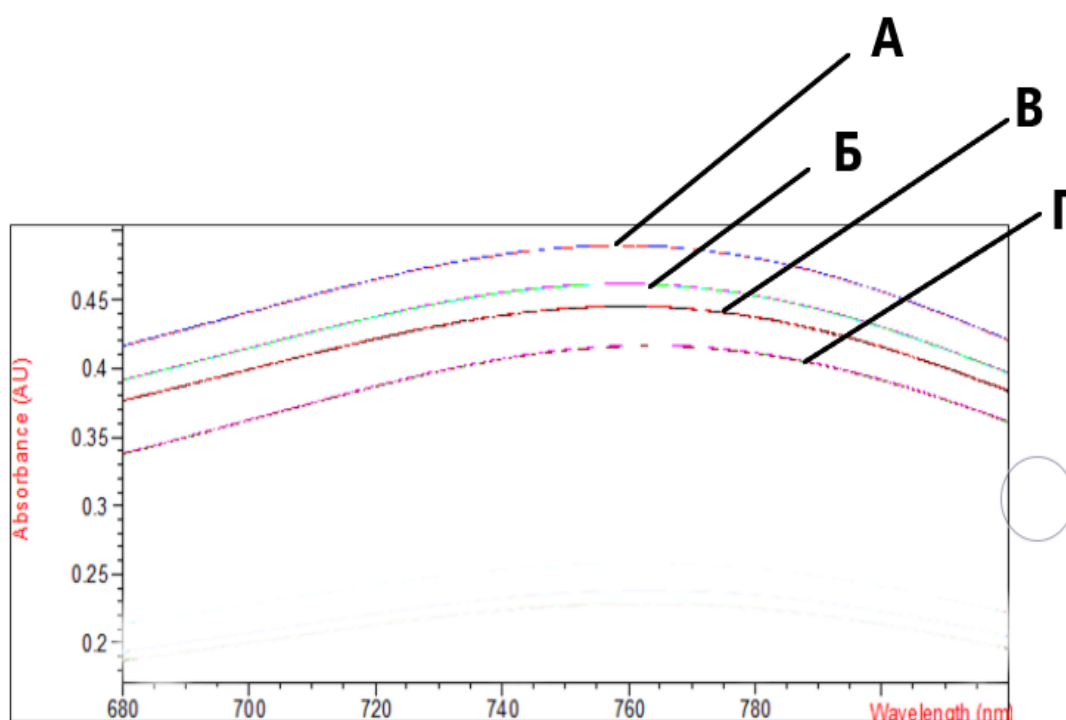


Рис. 4.13 УФ-спектри поглинання витягів плодів калини звичайної серій (1 (А), 2 (Б) та 6 (В) (кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот)

Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у серіях плодів калини звичайної наведено у таблиці 4.11.

Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у серіях плодів калини звичайної коливався в 1,2 рази (в залежності від серії сировини).

Найвищий кількісний вміст встановлено в сировині серії 2 ( $4,73 \pm 0,04$  %), найнижчий в сировині серії 3 ( $3,96 \pm 0,02$  %).

Таким чином плоди калини звичайної містять не менше 3,9 % суми гідроксикоричних кислот в перерахунку на хлорогенову кислоту.

*Таблиця 4.11*

**Результати кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот у серіях плодів калини звичайної (n=5, в %, в перерахунку на розмаринову кислоту та абсолютно суху сировину)**

| Номер серії сировини | Кількісний вміст суми<br>гідроксикоричних<br>кислот |
|----------------------|-----------------------------------------------------|
| 1                    | $4,46 \pm 0,05$                                     |
| 2                    | $4,73 \pm 0,04$                                     |
| 3                    | $3,96 \pm 0,02$                                     |
| 4                    | $4,17 \pm 0,04$                                     |
| 5                    | $4,34 \pm 0,03$                                     |
| 6                    | $4,18 \pm 0,02$                                     |

Отримані результати використано в подальших дослідженнях плодів калини звичайної в плані обрання критеріїв стандартизації.

#### 4.2.2.2 Компонентний склад та кількісний вміст сполук флавоноїдної природи у плодах калини звичайної

Хроматографічні профіли антоціанів плодів калини звичайної. У конічну колбу вміщують 1 г подрібнених плодів калини звичайної відповідної серії, додають 10 мл 1 % хлористоводневої кислоти у метанолі *P*. Витримують на ультразвуковій бані протягом 1 год при 50 °С, охолоджують та відфільтровують. На хроматограму наносять по 10 мкл витягів.

Розчин порівняння. До вмісту ампулі ФСЗ ДФУ екстракту черемхи добавляли 0,2 мл 1% (об/об) розчину хлористоводневої кислоти в етанолі *P*, струшували на ультразвуковій бані при кімнатній температурі протягом 2 хв. На хроматограму наносили 10 мкл.

ТШХ хроматограму антоціанів плодів калини звичайної в порівнянні з ФСЗ ДФУ екстракту черемхи наведено на рисунку 4.14.

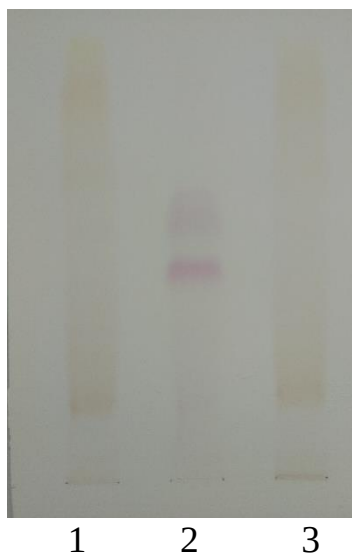


Рис.4.14 ТШХ хроматограма антоціанів серій плодів калини звичайної (1 – витяг плодів калини звичайної серії 1, 2 – розчин порівняння, 3 – витяг плодів калини звичайної серії 2) у денному світлі

Система розчинників мурашина кислота безводна *P*: вода *P*: бутанол *P* ( 8: 9,5: 32,5 )

ТШХ пластинки Силикагель F<sub>254</sub> Merck, розмір 15\*10 см на скляній підложці



Кількісне визначення суми антоціанів в серіях плодів калини звичайної. Визначення суми антоціанів проводили за методикою монографії ДФУ 2.0 «Чорниці плоди свіжі» 8[. УФ-профіль витягу з плодів калини звичайної наведено на рисунку 4.15.

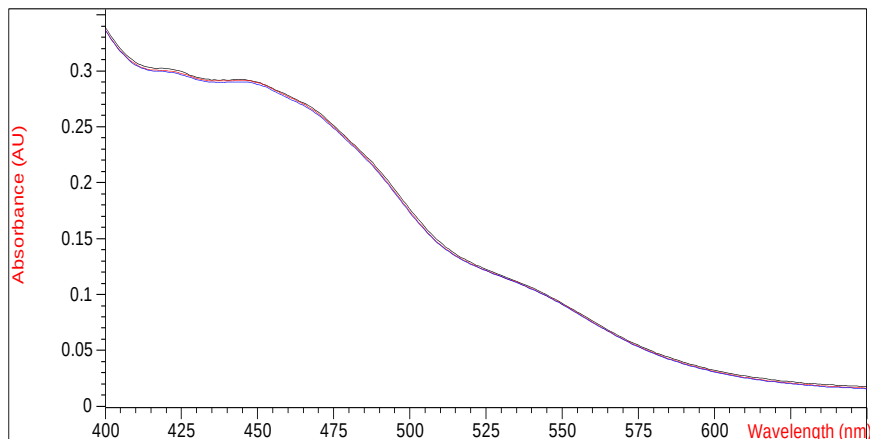


Рис. 4.15 УФ-спектр витягу з плодів калини звичайної

Результати кількісного вмісту суми антоціанів в серіях плодів калини звичайної (n=5, в %) в розрахунку на ціанідин-3-О-глюкозид та абсолютно суху сировину) наведено у таблиці 4.12.

Таблиця 4.12

**Результати визначення кількісного вмісту суми антоціанів в серіях плодів калини звичайної (n=5, в %, в розрахунку на ціанідин-3-О-глюкозид та абсолютно суху сировину)**

| Номер серії | Кількісний вміст суми антоціанів |
|-------------|----------------------------------|
| 1           | 0,29 ± 0,05                      |
| 2           | 0,17 ± 0,02                      |
| 3           | 0,23 ± 0,4                       |
| 4           | 0,31 ± 0,05                      |
| 5           | 0,24 ± 0,04                      |
| 6           | 0,24 ± 0,04                      |

Таким чином, кількісний вміст суми антоціанів в серіях плодів калини звичайної в розрахунку на ціанідин-3-О-глюкозид коливався майже в 1,8 рази становив не менше 0,17 %.

Це враховано в наших подальших дослідженнях.

Дослідження сполук флавоноїдної природи у плодах калини звичайної методом ВЕРХ.

Вивчення компонентного складу сполук флавоноїдної природи у плодах калини звичайної методом ВЕРХ проводили за методикою, що описана у розд.2, п. 2.

Зразок хроматограми ВЕРХ сполук флавоноїдної природи наведено на рис. 4.16.

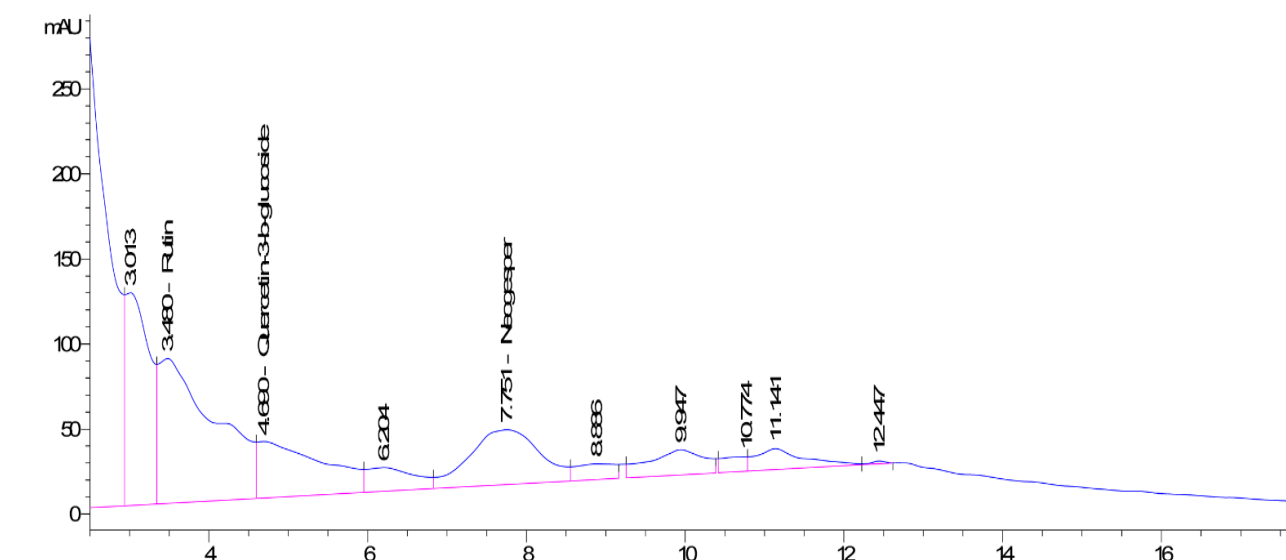


Рис. 4.16 ВЕРХ хроматограма флавоноїдів плодів калини звичайної

Нами знайдено не менш 3 сполук флавоноїдної природи, з яких один глікозид халкону да 2 глікозида флавонолу кверцетину. Високий вміст визначено для біозиду рутину -  $2569,54 \pm 2,00$  мкг/г, значно нижчий (майже у 20 разів) вміст визначено для кверцетин-3-О- $\beta$ -глюкозиду (ізокверцитрину)  $135,99 \pm 0,03$  мкг/г. Вміст неогесперидину в порівнянні з рутином нижче майже удвічі та дорівнює  $1369,02 \pm 0,76$  мкг/г. До речі, неогесперидін є модифікатором смаку (підсолоджувачем). Джерелом його отримання традиційно є цитрусові (екзкарпій грейпфруту), це харчова добавка Е 959, що додають до складу зубних

паст, ополіскувачів ротової порожнини, десертів, морозива, йогуртів, кетчупів, майонезів, а також використовують як допоміжну речовину у лікарських засобах. Раніше відомостей про наявність неогесперидину у плодах калини звичайної ми у доступних джерелах літератури не знайшли.

Наступний крок досліджень – це визначення кількісного вмісту суми проціанідинів та суми флавоноїдів у в серіях плодів калини звичайної.

Отримані УФ-спектри витягів з плодів калини звичайної (серії 1-3) відповідають спектру ДФУ 2.0 «Глоду плоди» (рис. 4.17).

Результати кількісного вмісту суми флавоноїдів в серіях плодів калини звичайної в розрахунку на ціанідин хлорид та абсолютно суху сировину (методика – див. монографія ДФУ 2.0 «Глоду плоди» та розд.2, п.2.10) наведено у таблиці 4.13.

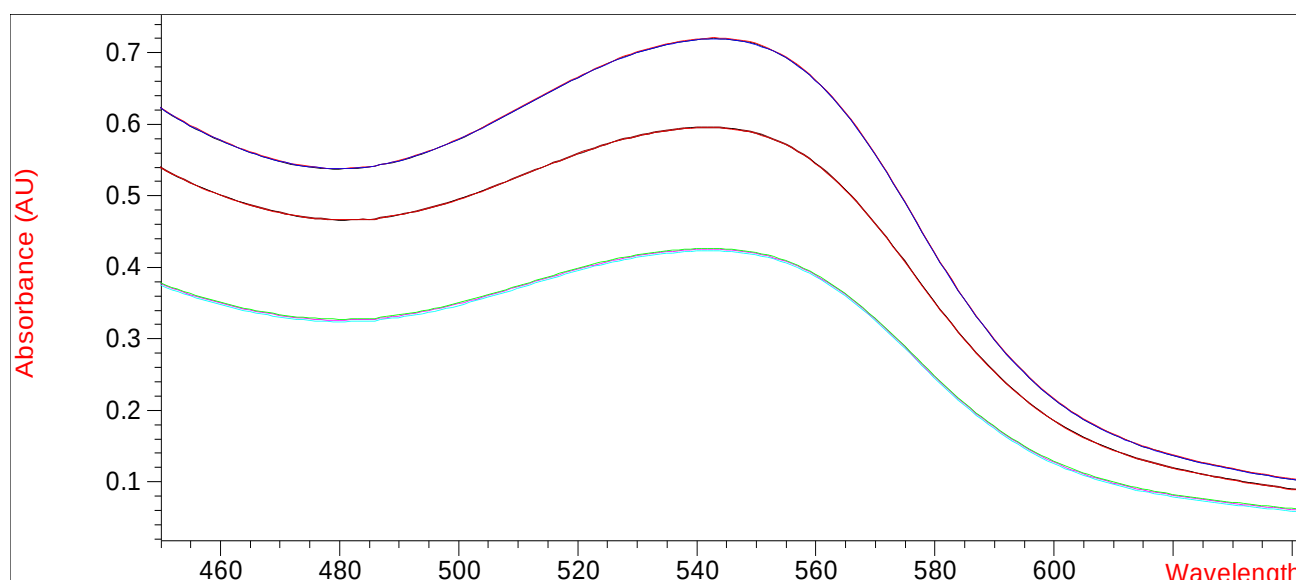


Рис. 4.17 Спектральний профіль витягів з плодів калини звичайної (серії 1-3), що відповідає УФ-профілю витягів плодів глоду

Кількісний вміст суми проціанідинів коливався від  $0,23 \pm 0,04$  % в сировині серії 3 до  $0,32 \pm 0,05$  % в плодах калини звичайної серії 4, тобто майже в 1,4 рази.

Таблиця 4.13

**Результати кількісного вмісту суми проціанідинів у серіях плодів  
калини звичайної (n=5, в %, в перерахунку на ціанідин хлорид та  
абсолютно суху сировину)**

| Номер серії сировини | Кількісний вміст суми<br>флавоноїдів |
|----------------------|--------------------------------------|
| 1                    | $0,28 \pm 0,05$                      |
| 2                    | $0,27 \pm 0,02$                      |
| 3                    | $0,23 \pm 0,04$                      |
| 4                    | $0,32 \pm 0,05$                      |
| 5                    | $0,27 \pm 0,04$                      |
| 6                    | $0,26 \pm 0,04$                      |

Кількісний вміст суми проціанідинів в серіях плодів калини звичайної становив не менше 0,23 %.

Ці результати враховано внашій подвльшій роботі.

Результати кількісного вмісту суми флавоноїдів в серіях плодів калини звичайної в розрахунку на гіперозид та абсолютно суху сировину (методика – див. монографія ДФУ 2.0 «Сафлору квітки» та розд.2, п.2.11) наведено у таблиці 4.14.

Кількісний вміст суми флавоноїдів коливався від  $1,96 \pm 0,02\%$  в сировині серії 3 до  $2,46 \pm 0,05\%$  в плодах калини звичайної серії 1, тобто майже в 1,3 рази.

Таблиця 4.14

**Результати кількісного вмісту суми флавоноїдів у серіях плодів  
калини звичайної (n=5, в %, в перерахунку на гіперозид та абсолютно суху  
сировину)**

| Номер серії сировини | Кількісний вміст суми флавоноїдів |
|----------------------|-----------------------------------|
| 1                    | 2,46±0,05                         |
| 2                    | 2,73±0,04                         |
| 3                    | 1,96±0,02                         |
| 4                    | 2,17±0,04                         |
| 5                    | 2,34±0,03                         |
| 6                    | 2,18±0,02                         |

Кількісний вміст суми флавоноїдів, що виявляють різноманіту біологічну дію [63,137,146,164,170,193] в серіях плодів калини звичайної становив не менше 1,9 % [23,171]. Результати кількісного визначення цієї групи БАР враховано у подальшій експериментальній роботі.

#### 4.2.2.3 Кількісний вміст суми поліфенолів та танінів у серіях плодів калини звичайної

Визначення кількісного вмісту суми поліфенолів та танінів у серіях плодів калини звичайної визначали спектрофотометричним методом ДФУ 2.0 (2.2.25) [ ] та розд. 2, п.2.12).

Спектрограми пірогалолу та витягів серій 1-3 плодів калини звичайної наведені на рис. 4.18. Результати визначень кількісного вмісту суми поліфенолів та танінів наведені у табл.4.15.

Так, кількісний вміст суми поліфенолів варіює в 1,3 рази: максимальний ( $2,24 \pm 0,02$  %) у сировині серії 4 та мінімальний ( $1,74 \pm 0,02$  %) у плодах калини звичайної серії 3.

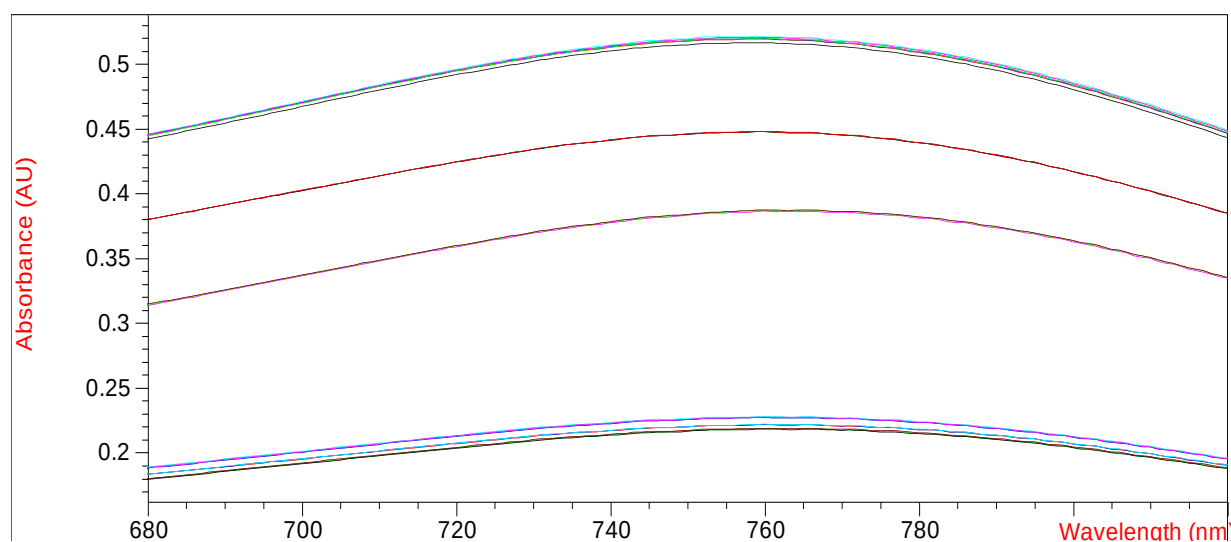


Рис 4.18 Спектрограми пірогалолу (1) та витягів 3 серій плодів калини звичайної (серії 1-3)

Кількісний вміст таніннів в серіях сировини більш варіабельний: від

Таблиця 4.15

**Кількісний вміст суми поліфенолів та танінів в серіях плодів калини звичайної в розрахунку на пірогалол та абсолютно суху сировину (n=5, в %)**

| Номер серії сировини | Кількісний вміст                             |                                       |
|----------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------|
|                      | поліфенолів<br>в перерахунку на<br>пірогалол | танінів в перерахунку<br>на пірогалол |
| <b>1</b>             | <b>2</b>                                     | <b>3</b>                              |

*Продовж. табл. 4.15*

| 1 | 2         | 3         |
|---|-----------|-----------|
| 1 | 1,88±0,02 | 0,97±0,01 |
| 2 | 1,81±0,01 | 0,92±0,01 |
| 3 | 1,74±0,02 | 0,73±0,01 |
| 4 | 2,24±0,02 | 1,26±0,02 |
| 5 | 2,36±0,02 | 1,23±0,01 |
| 6 | 1,87±0,01 | 0,94±0,01 |

1,26±0,02 % в сировині серії 4 до 0,73±0,01 % у сировині серії 3.

Таким чином, кількісний вміст суми поліфенолів, що мають різні види активності [183-186], у серіях плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі становить не менше 1,7 %, а танінів – не менше 0,7 %.

Результати визначення взято до уваги в подальших дослідженнях сировини.

4.3 Компонентний склад мінеральних сполук у серіях плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі

Макроелементи приймають участь у побудові тканин, виконуючи роль пластичного матеріалу, підтримують осмотичний тиск, рН середовища, йонну та кислотно-лужну рівновагу [71,85]. До складу ферментів, гормонів, вітамінів та інших біологічно активних речовин, що беруть участь в процесах обміну білків, жирів та вуглеводів, росту та розмноження, входять мікроелементи. Для функціонування усіх систем організму необхідно підтримувати оптимальні співвідношення концентрацій біогенних елементів, що забезпечує процес гомеостазу [88]. Якщо цей баланс порушується – може виникнути ряд захворювань, зокрема рак, серцево-судинні, цукровий діабет та ін.

Такий макроелемент як калій необхідний для серцевого м'яза, а саме для його скорочувальної діяльності, попередження аритмії, нормалізації артеріального тиску.

При нестачі калію порушуються метаболічні процеси в міокарді, виникає електрична нестабільність серцевого м'яза.

Дефіцит цього елемента призводить до ризику розвитку серцевої недостатності, інсульту, небезпечних для життя аритмій, порушення серцевого ритму [173,174].

Кальцій відіграє найважливішу роль у підтриманні здоров'я серця, адже допомагає регулювати серцебиття. Мінерал також використовується людським організмом для того, щоб допомогти м'язам рухатися правильно.

Нестача цієї сполуки призводить до погіршення роботи м'язів [194].

Як фізіологічний антагоніст кальцію, магній здатний попереджувати або усувати спазм гладких м'язів, причому магній конкурує з кальцієм на одних і тих самих каналах мембрани м'язових клітин.

Цей елемент тісно пов'язаний не тільки з обміном кальцію, але й калію. Сприяючи фіксації калію в клітинах, магній забезпечує нормальне функціонування клітинних мембран і бере участь у підтримці нормальної температури тіла. У 90% хворих, які перенесли інфаркт міокарда, виявляють дефіцит магнію [122].

Системного вивчення складу мінеральних сполук плодів калини звичайної різних місць заготівлі в Україні не проводили.

Актуально визначити елементний склад серій плодів калини звичайної як поширеної вітчизняної ЛРС.

Особливе значення це має тому, що значний вміст органічних кислот в певній мірі зумовлює наявність ряду катіонів.

Після обвуглення зразків серій ЛРС встановлено вміст золи загальної. Результати наведено у таблиці 4.16.



Таблиця 4.16

**Результати визначення золи загальної в серіях плодів калини звичайної (n=5, в %, в розрахунку абсолютно сухої сировини)**

| Номер серії | Кількісний вміст золи загальної |
|-------------|---------------------------------|
| 1           | $3,25 \pm 0,05$                 |
| 2           | $3,05 \pm 0,03$                 |
| 3           | $3,37 \pm 0,4$                  |
| 4           | $2,98 \pm 0,02$                 |
| 5           | $3,66 \pm 0,04$                 |
| 6           | $3,38 \pm 0,04$                 |

Вміст золи загальної коливався від  $2,98 \pm 0,02$  % (серія 4) до  $3,66 \pm 0,04$  % (серія 5).

Тобто вміст золи загальної в 6 серіях плодів калини звичайної склав не більше 3,6 % в розрахунку на абсолютно сухої сировини.

Загалом в сировині було виявлено не менше 19 макро-, мікро- та ультрамікроелементів. До макроелементів, знайдених у досліджуваній сировині, належать: K, Ca, Si, Mg, P, Na, Si.

Отримані результати визначення елементного складу досліджуваних видів сировини наведено у таблиці 4.17 [26].

Для накопичення макроелементів у сировині спостерігається наступна закономірність: для всіх досліджуваних серій сировини за вмістом домінували калій та кальцій ( $K > Ca$ ). Для решти макроелементів спостерігається значна варіабельність даних.

Таблиця 4.17

**Елементний склад плодів калини звичайної різних серій (n=5)**

| Символ елемента | Кількісний вміст сполуки у сировині серії (мг/100 г) |              |               |              |             |               |
|-----------------|------------------------------------------------------|--------------|---------------|--------------|-------------|---------------|
|                 | 1                                                    | 2            | 3             | 4            | 5           | 6             |
| Ca              | 433,40±3,17                                          | 302,286±3,20 | 589,87±3,99   | 661,30±3,14  | 394,15±3,93 | 613,55±3,40   |
| K               | 1451,38±15,34                                        | 999,94±17,59 | 1173,67±15,57 | 1317,03±9,74 | 986,28±9,27 | 1386,89±10,70 |
| Zn              | 12,07±0,15                                           | 3,059±0,08   | 18,08±0,21    | 17,08±0,20   | 10,09±0,19  | 19,12±0,25    |
| Si              | 38,17±0,42                                           | 15,09±0,31   | 39,25±0,61    | 55,16±0,82   | 32,25±0,62  | 74,01±0,87    |
| Mg              | 97,15±1,25                                           | 91,26±1,11   | 98,30±1,27    | 98,672±1,33  | 79,22±0,96  | 107,95±1,27   |
| P               | 125,56±1,59                                          | 15,80±0,30   | 58,79±0,81    | 76,979±0,90  | 98,46±1,11  | 92,31±1,34    |
| Na              | 87,29±1,40                                           | 30,92±0,61   | 58,88±0,92    | 38,317±0,67  | 53,54±0,92  | 144,81±1,84   |
| Fe              | 2,92±0,05                                            | 0,51±0,01    | 2,04±0,04     | 2,72±0,03    | 3,12±0,06   | 4,61±0,09     |
| Al              | 2,41±0,04                                            | 1,22±0,03    | 1,83±0,03     | 3,16±0,06    | 2,04±0,04   | 3,17±0,04     |
| Mn              | 0,53±0,02                                            | 0,36±0,01    | 0,93±0,02     | 1,12±0,03    | 0,52±0,01   | 2,14±0,05     |
| Cu              | 0,49±0,01                                            | 0,22±0,01    | 0,34±0,01     | 0,33±0,01    | 0,22±0,004  | 0,42±0,01     |
| Sr              | 1,14±0,02                                            | 1,86±0,03    | 1,56±0,03     | 2,22±0,04    | 1,32±0,02   | 2,71±0,04     |
| Ni              | 0,13±0,01                                            | <0,03        | <0,03         | <0,03        | <0,03       | 0,12±0,01     |
| Mo              | 0,054±0,002                                          | <0,034       | 0,119±0,005   | 0,114±0,004  | 0,054±0,001 | 0,083±0,002   |
| Co              | <0,03                                                | <0,03        | <0,03         | <0,03        | <0,03       | <0,03         |
| Pb              | <0,03                                                | <0,03        | <0,03         | <0,03        | <0,03       | <0,03         |
| Cd              | <0,01                                                | <0,01        | <0,01         | <0,01        | <0,01       | <0,01         |
| As              | <0,01                                                | <0,01        | <0,01         | <0,01        | <0,01       | <0,01         |
| Hg              | <0,01                                                | <0,01        | <0,01         | <0,01        | <0,01       | <0,01         |

Так, для плодів серій 1 та 5 визначено наступний варіант –  $P > Mg > Na > Si$ , серії 2 –  $Mg > Na > P, Si$ , серії 3 –  $Mg > Na, P > Si$ , серії 4 –  $Mg > P > Si > Na$ , серії 6 –  $Na > Mg > P > Si$ .

Результати дослідження свідчать, що вміст калію коливається в межах від  $986,279 \pm 9,27$  мг/100 г (серія 5) до у півтора рази вищого результату –  $1451,38 \pm 15,34$  мг/100 г (серія 5).

Крім калію, в досліджуваних серіях в великих кількостях міститься кальцій – його вміст коливається більш ніж удвічі, в межах:  $302,286 \pm 3,20$  мг/100 г (серія 2) –  $661,30 \pm 3,14$  мг/100 г (серія 4).

Крім калію та кальцію, встановлено досить високий вміст магнію – його вміст коливається від  $79,22 \pm 0,96$  мг/100 г (серія 5) до  $107,95 \pm 1,27$  мг/100 г (серія 6).

Найвищий вміст фосфору визначено у плодах калини звичайної серії 1 –  $125,56 \pm 1,59$  мг/100 г, у решті видів сировини цей показник у 1,3-8 разів нижчий, найнижчий у плодах серії 2 –  $15,80 \pm 0,30$  мг/100 г.

Найвищий вміст натрію визначено у сировині серії 6 –  $144,81 \pm 1,84$  мг/100 г. В той час плоди калини серії 2 містили майже вп'ятеро менше цього елемента ( $30,92 \pm 0,61$  мг/100 г).

Плоди серії 6 є лідером з накопичення силіцію порівняно з рештою досліджуваних серій (де вміст цього елемента може бути вп'ятеро нижчий) та містять  $74,01 \pm 0,87$  мг/100 г цієї сполуки.

Вміст молібдену коливається від  $<0,03$  мг/100 г (серія 2) до  $0,114 \pm 0,004$  мг/100 г (серія 4) та  $0,119 \pm 0,005$  мг/100 г (серія 3).

Вміст нікелю становить  $<0,03$  мг/100 г у плодах серій 2-5, плоди серії 1 містять  $0,13 \pm 0,01$  мг/100 г, а плоди серії 6 –  $0,12 \pm 0,01$  мг/100 г.

Вміст таких елементів як плумбум та кобальт знаходиться в межах  $<0,03$  мг/100 г, а таких елементів як кадмій, арсен та гідраргірум в межах  $<0,01$  мг/100 г.

## Висновки до розділу 4

1. Проведено системне дослідження компонентного складу основних груп БАР серій плодів калини звичайної.
2. Визначено компонентний склад АК (вільних та зв'язаних) та вуглеводів (вільних та загальних) оплодня та кісточки плодів калини звичайної.
3. Визначено кількісний вміст полісахаридів у серіях плодів калини звичайної (методика монографії «Алтеї корені» ДФУ 2.0). Він становив не менше 4,5 %.
4. У кісточці плоду калини звичайної методом ГХ знайдено 11 ЖК, з яких ідентифіковано 8. У оплодні із 15 знайдених ЖК ідентифіковано 14. Загальними для обох складових плодів є 8 ЖК (2 насичених та 6 ненасичених).
5. Визначено кількісний вміст суми органічних кислот в перерахунку на кислоту яблучну (монографія «Шипшини плоди» ДФУ 2.0) у серіях плодів калини звичайної, який становив не менше %.
6. Визначено кількісний вміст аскорбінової кислоти в перерахунку на кислоту аскорбінову (монографія «Шипшини плоди» ДФУ 2.0) у серіях плодів калини звичайної, що становило не менше 26 мг%.
7. З'ясовано методом ГХ/МС компонентний склад сполук (не менше 26 сполук), що переганяються з водяною парою, плодів калини звичайної.
8. Досліджено якісний склад гідроксикоричних кислот методом ТШХ та за допомогою ВЕРХ з'ясовано компонентний склад гідроксикоричних кислот та флавоноїдів. Знайдено не менше 5 гідроксикоричних кислот з домінуванням хлорогенової кислоти ( $902,3 \pm 1,7$  мкг/г) та не менше 3 флавоноїдних глікозидів з домінуванням рутину ( $2569,54 \pm 2,00$  мкг/г).
9. Визначено кількісний вміст таких груп фенольних сполук як поліфеноли, гідроксикоричні кислоти, антоціани,проціанідини, флавоноїди та таніни в 6 серіях сировини. Кількісний вміст суми поліфенолів в перерахунку на пірогалол становив не менше 1,7 %, суми гідроксикоричних кислот в

перерахунку на розмаринову кислоту – не менше 3,9 %, суми антоціанів в перерахунку на ціанідин-3-глюкозид – не менше 0,17 %, суми проціанідинів – не менше 0,23 %, суми флавоноїдів в перерахунку на гіперозид – не менше 1,9 %, таніни в перерахунку на пірогалол – не менше 0,7 %.

10. Встановлено вміст золи загальної у серіях плодів калини звичайної, що коливався від  $2,98 \pm 0,02$  % (серія 4) до  $3,66 \pm 0,04$  % (серія 5).
11. Досліджено елементний склад серій плодів калини звичайної методом АЕС та встановлено наявність в серіях ЛРС не менш 19 макро-, мікро- та ультрамікроелементів. Характерний значний вміст калію та кальцію, що підтверджує актуальність урахування елементного складу плодів калини звичайної при створенні сучасних лікарських засобів різновекторної дії.
12. Отримані результати системного фармакогностичного дослідження серій плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі стали у нагоді при розробці технології отримання субстанції та відповідних розділів монографії ДФУ 2.0 «Калини плоди» та проєкту МКЯ на субстанцію.

*Результати експериментальних досліджень розділу наведено у таких публікаціях:*

1. Study of Amino Acid Composition and Basic Technological Parameters of *Viburnum* Fruits Harvested in Ukraine. / O. Khvorost, B. Leontiev, A. Yaroshenko, O. Shpychak. *Journal of Global Pharma Technology*. 2020. Vol. 12, Issue 1. P. 618-624.
2. The quantitative content determination of main groups of biologically active substances in batches of *Viburnum opulus* fruits / O. P. Khvorost, B. S. Leontiev, Yu. A. Fedchenkova, K. S. Skrebtsova. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2022. Vol. 20, Issue 1. P. 57-62.

3. Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Дослідження елементного складу серій плодів калини звичайної (*Viburnum opulus* L.). *Фармац. журн.* 2023. Т. 78, № 5. С. 62-70.
4. Leontiiev B., Fedchenkova J., Khvorost O. Fatty acids in the components of *Viburnum opulus* fruit. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2019. Vol. 29 (2). P. 59-61.
5. Леонтиев Б. С., Хворост О. П. Определение количественного содержания аскорбиновой кислоты в плодах калины обыкновенной. *Актуальные вопросы современной медицины и фармации: Сб. Мат. 69-й итоговой научно-практ. конф. студ. и молодых ученых, г. Витебск, 19-20 апрель 2017. В.: ВГМУ. 2017. С. 644.*
6. Leontiev B. S. Quntative finding organic acides in series of fruits *Viburni opulus*. *Topical issues of new drugs development: abstracts of XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student, April 20, 2017. Kh., 2017. Vol. 1. P. 89.*
7. Леонтієв Б. С., Скребцова К. С. Дослідження перспективного виду рослинної сировини калини звичайної / *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : мат. I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. м. Харків, 5 квіт. 2018 р. Х. : НФаУ. 2018. С. 81.
8. Леонтієв Б.С. Перспективні групи БАР, що містяться у плодах калини звичайної. *Scientific Research Priorities – 2018 : theoretical and practical value: Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference, Nowy Sącz, Poland, June 26-29, 2018. Nowy Sącz., 2018. P. 176.*
9. Леонтиев Б.С., Хворост О.П. Фармакогностическое изучение семян различных сортов калины обыкновенной. *Роль и место инновационных технологий в современной медицине: мат. 66-ой годичной научно-практической конференции ТГМУ им. Абуали ибни Сино с*

международным участием, г. Душанбе 23 ноября 2018. Душанбе, 2018. ТОМ II. С. 374-375.

10. Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Використання сировини плодів калини звичайної як джерела отримання флавоноїдів. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи*: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 100-річчю Національного фармацевтичного університету, м. Харків, 10 верес. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 214.

## РОЗДІЛ 5

### **ВИЗНАЧЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ПЛОДІВ КАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ, ПАРАМЕТРІВ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ОТРИМАННЯ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ЦЬОГО ВИДУ СИРОВИНИ ТА ПАРАМЕТРІВ ЙОГО СТАНДАРТИЗАЦІЇ**

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 [24]. Це обумовлює необхідність знання фізико-хімічних та технологічних характеристик сировини у процесі розробки оптимальної технології отримання препаратів рослинного походження [40,59]. 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 плодів калини звичайної**

Для розробки технології одержання субстанцій необхідно провести ряд досліджень [5]. Частина з них стосуються параметрів сировини, решта – власне технологічного процесу. Технологічні параметри сировини мають вирішальний вплив на технологічний процес та якість субстанцій []. 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 [5].

Для визначення норм витрат сировини та урахування їх в технологічному процесі, визначали наступні технологічні параметри плодів: 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 – 90 % етанолу.

*Визначення втрати в масі при висушуванні.* Визначення цього показника проводилося в 6 серіях плодів калини звичайної за методикою ДФУ 2.0 [1]. Результати наведено в таблиці 5.1.

*Таблиця 5.1*

**Визначення втрати в масі при висушуванні серій плодів калини звичайної в перерахунку на абсолютно суху речовину (n=3, %)**

| Серія сировини | Втрата в масі<br>при висушуванні |
|----------------|----------------------------------|
| 1              | $5,66 \pm 0,05$                  |
| 2              | $5,69 \pm 0,05$                  |
| 3              | $5,84 \pm 0,05$                  |
|                | $7,93 \pm 0,05$                  |
| 5              | $7,25 \pm 0,05$                  |
| 6              | $6,76 \pm 0,05$                  |

Аналіз результатів дослідження свідчив, що втрата в масі при висушуванні плодів калини звичайної не перебільшувала 8 %.

*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. Визначення проводили за методикою, наведеною в літературі. Фракційний склад сировини від ступеня подрібненості сировини, вираженням середнього розміру часток в мм, приведений в таблиці 5.2.

*Таблиця 5.2*

**Фракційний склад подрібненості плодів калини звичайної (n=5, мм)**

| Розмір часток<br>плодів калини<br>звичайної, мм | Результати<br>статистичної<br>обробки |
|-------------------------------------------------|---------------------------------------|
| 3,210                                           | 3,55 ± 0,45                           |
| 3,110                                           |                                       |
| 3,980                                           |                                       |
| 3,560                                           |                                       |
| 3,89                                            |                                       |

Середній розмір часток плодів калини звичайної становив  $3,55 \pm 0,45$  мм.

*Визначення питомої маси* плодів калини звичайної. Визначення питомої маси ( $d_n$ ) проводили за методикою [5], 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 плодів калини звичайної ( $m=5$ )**

| Питома маса плодів<br>калини звичайної,<br>г/см <sup>3</sup> | Результати<br>статистичної обробки |
|--------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 1,250                                                        | 1,26±0,075                         |
| 1,290                                                        |                                    |
| 1,250                                                        |                                    |
| 1,250                                                        |                                    |
| 1,190                                                        |                                    |

Таким чином, з даних таблиці 5.3 видно, що питома маса плодів калини звичайної становить 1,26 г/см<sup>3</sup>, що буде враховано при завантаженні рослинної сировини у екстрактор.

*Визначення об'ємної маси* плодів калини звичайної. 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 [5].

Результати визначення об'ємної маси наведені у таблиці 5.4.

Таким чином, можна зробити висновок, що значення об'ємної маси плодів ( $0,47 \pm 0,02$  г/см<sup>3</sup>) не перевищує допустимих норм.

Таблиця 5.4

**Результати визначення об'ємної маси плодів калини звичайної**

| Об'ємна маса плодів<br>калини звичайної, г/см <sup>3</sup> | Результати статистичної<br>обробки |
|------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 0,480                                                      | 0,47 ± 0,02                        |
| 0,4150                                                     |                                    |
| 0,490                                                      |                                    |
| 0,3480                                                     |                                    |
| 0,450                                                      |                                    |

*Визначення насипної маси плодів калини звичайної.*

Насипну масу (густину,  $d_n$ ) плодів калини звичайної 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 (див. розділ 2) [1].

Результати визначення насипної маси наведені у таблиці 5.5.

Як витікає з даних таблиці 5.5, насипна маса плодів калини звичайної дорівнювала  $0,63 \pm 0,031$  г/см<sup>3</sup>. Отже, сировина буде займати невеликий об'єм у ємності для екстрагування, що повинно бути враховано при екстрагуванні сировини.

Таблиця 5.5

**Результати визначення насипної маси плодів калини звичайної**

| Насипна маса плодів<br>калини звичайної, г/см <sup>3</sup> | Результати<br>статистичної обробки |
|------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 0,610                                                      | 0,63 ± 0,031                       |
| 0,630                                                      |                                    |
| 0,620                                                      |                                    |
| 0,630                                                      |                                    |
| 0,630                                                      |                                    |

*Визначення плинності* плодів калини звичайної. Плинність та кут природного ухилу визначали на приладі ВП-12А за методикою ДФУ 2.0 [6]. 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 плодів калини звичайної становить  $\infty$ .

*Визначення пористості* плодів калини звичайної. 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 [5].

Розрахований показник приведено у таблиці 5.6 і складає для плодів калини звичайної –  $0,89 \pm 0,02$ .

*Визначення порізності* плодів калини звичайної. Порізність шару ( $P_{ш}$ ), 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 [5].

Цей визначений показник наведений у таблиці 5.6 і становив для плодів калини звичайної –  $0,37 \pm 0,01$ .

*Визначення вільного об'єму шару* плодів калини звичайної. 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 [5]. Результати визначення вільного об'єму шару, приведені в таблиці 5.6, становлять для плодів калини звичайної  $0,87 \pm 0,02$ .

*Розрахунок питомої поверхні часток* плодів калини звичайної. Розрахунок проводили за методикою, що викладена в роботі [5]. В результаті визначення питомої поверхні часток плодів калини звичайної приведені в таблиці 5.6. Цей показник характеризував поверхню одиниці маси матеріалу і складає для плодів калини звичайної  $11,46 \pm 0,43 \text{ г/см}^3$ .

*Визначення коефіцієнту поглинання екстрагенту* для плодів калини звичайної.

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 [5].

В якості розчинника використовували воду очищену та обраний екстрагент для вилучення БАР плодів – 90 % етанол.

Результати визначення коефіцієнтів поглинання приведені в таблиці 5.6.

Основні технологічні параметри плодів калини звичайної також узагальнені в таблиці 5.6.

Таблиця 5.6

**Основні технологічні параметри плодів калини звичайної**

| № з/п | Найменування технологічних параметрів | Од. виміру         | Результати визначення |
|-------|---------------------------------------|--------------------|-----------------------|
| 1     | втрата в масі при висушуванні         | %                  | $6,16 \pm 0,06$       |
| 2     | середній розмір часток                | мм                 | $2.89 \pm 0,12$       |
| 3     | питома маса                           | г/см <sup>3</sup>  | $1,32 \pm 0,07$       |
| 4     | об'ємна маса                          | г/см <sup>3</sup>  | $0,43 \pm 0,04$       |
| 5     | насипна маса                          | г/см <sup>3</sup>  | $0,40 \pm 0,03$       |
| 6     | пористість сировини                   | -                  | $0,89 \pm 0,02$       |
| 7     | порізність шару                       | -                  | $0,37 \pm 0,01$       |
| 8     | вільний об'єм шару                    | -                  | $0,87 \pm 0,02$       |
| 9     | питома поверхня часток                | см <sup>2</sup> /г | $11,46 \pm 0,43$      |
| 10    | плинність                             | г/сек              | $\infty$              |
| 11    | коефіцієнт водопоглинання             | мл/г               | $2,89 \pm 0,10$       |
| 12    | коефіцієнт поглинання 90% етанолу     | мл/г               | $2,12 \pm 0,10$       |

Таким чином, вперше для плодів калини звичайної, що подрібнені різаним способом, визначено основні технологічні параметри сировини, що будуть використані при розробці технології отримання субстанції.

## 5.2 Розробка технології одержання густого екстракту з плодів калини звичайної

На підставі отриманих даних нами була розроблена технологія переробки сировини [31,47], що складалася з послідовного отримання з плодів методом мацерації екстракту та його концентрування до густого стану (волога не більше 25 %), узагальнену технологічну схему зображено на рис. 5.1.

### 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) [25].

#### 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 етиловий спирт різної концентрації. Критеріями оцінки виступали вихід



екстрактивних речовин (за методикою ДФУ 2.0) [6] та вихід суми органічних кислот, суми поліфенолів, суми гідроксикоричних кислот та суми антоціанів [48]. Нами була досліджена закономірність вилучення екстрактивних речовин, суми органічних кислот та різних груп фенольних сполук (суми поліфенолів, суми гідроксикоричних кислот та суми антоціанів) з плодів калини звичайної в залежності від використаного екстрагенту. Отримані для плодів дані узагальнені у таблиці 5.7.

Таблиця 5.7

**Динаміка екстрагування екстрактивних речовин, суми органічних кислот, суми поліфенолів, суми гідроксикоричних кислот з плодів калини звичайної в залежності від використаного екстрагенту (m=5, %)**

| Екстрагент  | Вихід екстрактивних речовин | Кількісний вміст суми                              |                                        |                             |                                                              |
|-------------|-----------------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------------------------------|
|             |                             | органічних кислот в перерахунку на яблучну кислоту | поліфенолів в перерахунку на пірогалол | антоціанів в перерахунку на | гідроксикоричних кислот в перерахунку на розмаринову кислоту |
| Вода        | 28,10±0,16                  | 7,88 ± 0,06                                        | 1,78 ± 0,07                            | 0,15 ± 0,06                 | 3,98±0,13                                                    |
| 10 % етанол | 25,01±0,31                  | 8,67 ± 0,07                                        | 1,75 ± 0,07                            | 0,16 ± 0,08                 | 3,06 ± 0,05                                                  |
| 20 % етанол | 26,45±0,32                  | 8,99 ± 0,09                                        | 1,68 ± 0,07                            | 0,17 ± 0,07                 | 3,61 ± 0,04                                                  |
| 30 % етанол | 29,42±0,30                  | 9,88 ± 0,17                                        | 1,72 ± 0,07                            | 0,17 ± 0,07                 | 3,67 ± 0,06                                                  |
| 40 % етанол | 24,03±0,22                  | 10,12± 0,17                                        | 1,72 ± 0,07                            | 0,18 ± 0,06                 | 3,76 ± 0,07                                                  |
| 50 % етанол | 25,69±0,16                  | 10,21 ± 0,17                                       | 1,65 ± 0,07                            | 0,18 ± 0,06                 | 3,18 ± 0,09                                                  |
| 60 % етанол | 27,22±0,11                  | 10,34 ± 0,17                                       | 1,72 ± 0,07                            | 0,17 ± 0,06                 | 3,66 ± 0,06                                                  |
| 70 % етанол | 24,49±0,22                  | 10,54 ± 0,17                                       | 1,75 ± 0,07                            | 0,17 ± 0,08                 | 3,65 ± 0,09                                                  |
| 80 % етанол | 21,49±0,16                  | 11,88 ± 0,09                                       | 1,88 ± 0,07                            | 0,19 ± 0,07                 | 3,56 ± 0,07                                                  |
| 90 % етанол | 19,90±0,22                  | 12,56 ± 0,11                                       | 1,99 ± 0,08                            | 0,21 ± 0,07                 | 4,52 ± 0,07                                                  |
| 96 % етанол | 15,75±0,19                  | 9,85 ± 0,08                                        | 1,52 ± 0,07                            | 0,20 ± 0,05                 | 3,01 ± 0,07                                                  |

### 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 3-4 мм. Використовували метод мацерації (1 злив, екстрагування при кімнатній температурі, екстракція протягом 24 години). В якості екстрагенту для плодів використовували 90% етанол. Одержаний екстракт відстоювали протягом 24 годин, відфільтровували від осаду баластних речовин. Вміст екстрактивних речовин та суми органічних кислот у екстрактах, одержаних при різному співвідношенні сировини до екстрагенту, наведено у таблиці 5.8. Дані свідчать, що спостерігається прямо пропорційна залежність: в процесі збільшення співвідношення сировина-екстрагент збільшується вихід екстрактивних речовин та суми органічних кислот. Не зважаючи на цю закономірність, співвідношення 1:5 приводило до досить низького виходу як екстрактивних речовин, так і суми органічних кислот в екстрактах, можливе збільшення ж співвідношення до 1:20 та 1:25 економічно недоцільне внаслідок, скоріш за все, із-за незначного збільшення виходу екстрактивних речовин.

Таблиця 5.8

**Вибір оптимального співвідношення сировина-готовий продукт для плодів калини звичайної (m=5, в %, у перерахунку на абсолютно суху сировину)**

| № з/п | Співвідношення сировина-готовий продукт | Вміст                 |                                                         |
|-------|-----------------------------------------|-----------------------|---------------------------------------------------------|
|       |                                         | екстрактивних речовин | суми органічних кислот в перерахунку на яблучну кислоту |
| 1     | 1:5                                     | 16,44±0,0,6           | 9,56±0,03                                               |
| 2     | 1:10                                    | 19,32±0,03            | 12,44±0,04                                              |
| 3     | 1:15                                    | 21,25±0,03            | 12,95±0,05                                              |

Таким чином, для плодів калини звичайної оптимальним є співвідношення сировини до готового продукту як 1:10.

### 5.2.1.3 Визначення оптимального часового терміну екстрагування

Оптимальний часовий термін настоювання визначали шляхом мацерації плодів при кімнатній температурі протягом 6 год, 12 год, 18 год, 24 год та 30 год. Результати визначення виходу екстрактивних речовин та суми органічних кислот наведено у таблиці 5.9.

Таблиця 5.9

**Динаміка виходу екстрактивних речовин та суми органічних кислот з плодів калини звичайної в залежності від часового терміну екстракції (m=5, в %, у перерахунку на абсолютно суху сировину)**

| Часовий термін екстракції, год | Вихід                 |                                                         |
|--------------------------------|-----------------------|---------------------------------------------------------|
|                                | екстрактивних речовин | суми органічних кислот в перерахунку на яблучну кислоту |
| 6                              | 10,66 ± 0,76          | 5,21 ± 0,18                                             |
| 12                             | 13,48 ± 0,92          | 8,70 ± 0,28                                             |
| 18                             | 15,42 ± 1,06          | 10,85 ± 0,29                                            |
| 24                             | 18,56 ± 1,23          | 12,95 ± 0,27                                            |
| 30                             | 19,45 ± 1,28          | 13,96 ± 0,29                                            |

Динаміка, що спостерігалася при збільшенні часового терміну настоювання свідчить про прямо пропорційну залежність виходу екстрактивних речовин та суми органічних кислот від часового терміну процесу.

Таким чином, для одержання екстрактів з плодів калини звичайної оптимальним є час настоювання сировини протягом 24 год.

### 5.2.2 Відпрацювання технологічних параметрів одержання густого екстракту з плодів калини звичайної

Найстарішими та найрозповсюдженішими лікарськими формами, що використовуються фармацією є галенові препарати настойки, рідкі екстракти, а також густі та сухі екстракти.

Той факт, що у наш час ці лікарські форми не втратили актуальності, а ще й постійно осучаснюються, зумовлено їхнім високим комплаєнсом та низькою себевартістю. В багатьох державах вони мають фармакопейний статус.

До Доповнення 1 Державної фармакопеї України I видання введена у 2005 року стаття «Екстракти», яка об'єднала у собі дві статті «Настойки» і «Екстракти», [6], також вона була гармонізована з Європейською фармакопеєю і має національні вимоги.

Таким чином, процес одержання препарату, а саме густого екстракту із перспективного виду ЛРС –плодів калини звичайної, 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 застуда, гнійні рани, виразки, запалення тощо (див. розділ 5, п. 5.4).

Концентрацію екстрагенту нами визначено як 90% етанол, тому що даний розчинник вилучає оптимальну кількість екстрактивних речовин та суми поліфенолів (див. розд. 5.2.1), 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 85% і 95% етанолом (як критичні при отриманні екстрагенту) та провести напрацювання 3 серій густого екстракту у відповідності до ДФУ 2.0 [8].

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 5.10).

Таблиця 5.10

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

| Екстрагент  | Термін<br>екстракції,<br>год, | Вихід екстрактивних речовин у витягу,<br>%, в розрахунку на 100 мл екстракту |            |            |
|-------------|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------|------------|
|             |                               | Ступінь подрібнення сировини                                                 |            |            |
|             |                               | 3 мм                                                                         | 5 мм       | 7 мм       |
| 85 % етанол | 12                            | 14,88±0,18                                                                   | 14,77±0,17 | 14,53±0,16 |
|             | 24                            | 16,15±0,20                                                                   | 15,95±0,19 | 16,75±0,15 |
|             | 36                            | 16,19±0,20                                                                   | 16,03±0,17 | 16,87±0,16 |
|             | 48                            | 16,15±0,20                                                                   | 16,56±0,18 | 17,06±0,19 |
| 90 % етанол | 12                            | 14,72±0,16                                                                   | 4,54±0,14  | 14,19±0,13 |
|             | 24                            | 15,95±0,18                                                                   | 17,72±0,18 | 15,48±0,17 |
|             | 36                            | 16,02±0,16                                                                   | 17,98±0,16 | 15,89±0,16 |
|             | 48                            | 16,09±0,17                                                                   | 17,77±0,17 | 15,98±0,15 |
| 95 % етанол | 12                            | 14,47±0,15                                                                   | 14,32±0,15 | 14,19±0,15 |
|             | 24                            | 16,64±0,15                                                                   | 14,48±0,14 | 15,38±0,17 |
|             | 36                            | 16,98±0,14                                                                   | 16,71±0,15 | 15,69±0,16 |
|             | 48                            | 16,76±0,18                                                                   | 15,58±0,15 | 14,49±0,15 |

Насипна маса: 400 г/л

Екстрагент готували відповідно до ДФУ 2.0

Співвідношення сировина-готовий продукт – 1:10

Температура: 20-25<sup>0</sup>С

Спосіб екстракції: мацерація (24 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 етанолу в межах 85-95 % істотного впливу на вихід екстрактивних речовин не має.

Таким чином, обрано найкращі параметри отримання густого екстракту плодів калини звичайної. Оптимальний екстрагент – 90 % етанол, співвідношення сировина-екстрагент 1:10, кратність зливів – 1, загальний час екстрагування – 24 год, температура процесу – 25 °С, критеріями оцінки обрано – вихід екстрактивних речовин та вихід суми органічних кислот. На основі здійснених експериментів розроблено технологію отримання густого екстракту з плодів калини звичайної, вихід субстанції у перерахунку на повітряно-суху сировину становив 17,5 %.

### 5.3 Визначення основних показників густого екстракту з плодів калини звичайної

Для стандартизації було визначено ряд числових показників (з урахуванням вимог [36-39,58] 5 серій густого екстракту з плодів калини звичайної, напрацьованих у лабораторних умовах із сировини 2020 року заготівлі.

Виробництво. Екстракт виробляють з лікарської рослинної сировини підходящим методом, використовуючи *етанол 90 % (об/об) Р*.

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

#### 3. Ідентифікація С.

Метод ТШХ. Випробовуваний розчин. До 0,1 г густого екстракту додають 10 мл суміші рівних об'ємів *води Р* і *метанолу Р*, нагрівають на водяній бані при температурі 65 °С протягом 5 хв і фільтрують.

Розчин порівняння. 5 мг яблучної кислоти *Р* та 5 мг лимонної кислоти *Р* розчиняють у 5 мл *метанолу Р*.

*Пластика: ТШХ пластика із шаром силікагелю Р (2-10) мкм). Рухома фаза: етанол Р - хлороформ Р – амоніак концентрований Р – вода Р (70:40:20:2).*

*Об'єм проб: 2 мкл, смугами.*

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

*Висушування: на повітрі.*

Виявлення: обробляють 0,1 % розчином 2,6-дихлорфеноліндофеноляту в 96 % етанолі Р, нагрівають при температурі (100-105) °С протягом 5 хв і переглядають при денному світлі.

*Результати:* На хроматограмах розчину порівняння та випробовуваного розчину повинні бути зони світло-жовтого кольору, що відповідають яблучній та лимонній кислоті.

На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші слабкі зони.

#### 4. Випробування.

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 плодів калини звичайної 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 випробуваного 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 мірного циліндру ємністю 100 мл.

Об'єм вмісту пакування має бути від 47 мл до 53 мл.

*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 органічних кислот згідно монографії ДФУ 2.0 «Шипшини плоди»<sup>N</sup>.

Вихідний розчин. 0,5 г густого екстракту розчиняють у *етанолі 90 % (об/об) Р* та доводять об'єм до 100 мл *етанолом 90 % (об/об) Р*. Відбирають 10 мл розчину, поміщають в колбу місткістю 500 мл, додають 200-300 мл води *Р*, 1 мл фенолфталеїну розчину *Р1*, 2 мл розчину 1 г/л метиленового синього *Р* й титрують 0,1 М розчином натрію гідроксиду до появи в піні світло-фіолетово-червоного забарвлення.

Вміст органічних кислот, в перерахунку на яблучну кислоту, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 0,0067 \cdot 1000 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де 0,0067 – кількість яблучної кислоти, що відповідає 1 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду, у г;

V – об'єм 0,1 М розчину натрію гідроксиду, витраченого на титрування, у мл;

m – маса наважки густого екстракту, у г;

W – втрата в масі при висушуванні густого екстракта, %.

Вміст суми органічних кислот має бути не менше 10,0 %.

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.

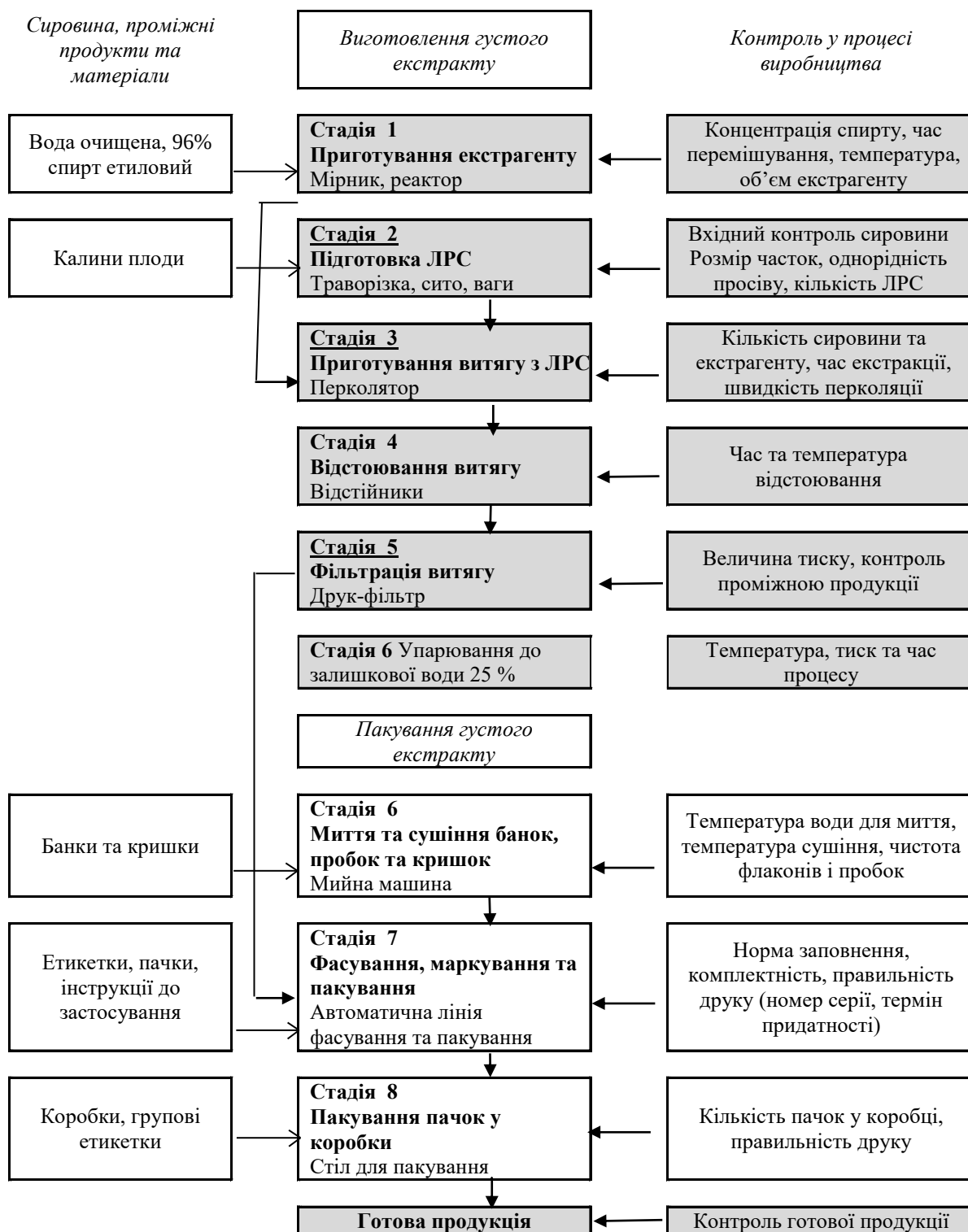


Рис. 5.1 Технологічна схема одержання калини звичайної плодів

## 5.4 Дослідження біологічної активності субстанцій з плодів калини звичайної

### 5.4.1 Дослідження спектру антимікробної активності густого екстракту з плодів калини звичайної

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 плодів калини звичайної.

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.

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 плодів 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 5.11).

Таблиця 5.11

**Спектр антимікробної активності густого екстракту плодів калини  
звичайної**

| №<br>з/п | Об'єкти<br>дослідження                               | Діаметри зон затримки росту тест-штамів мікроорганізмів, мм |                                  |                                 |                                    |                                    |                                       |                                      |                                            |                              |
|----------|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------|
|          |                                                      | <i>S. aureus</i><br>ATCC<br>25923                           | <i>S. aureus</i><br>ATCC<br>6538 | <i>E. coli</i><br>ATCC<br>25922 | <i>P. vulgaris</i><br>ATCC<br>4636 | <i>B. subtilis</i><br>ATCC<br>6633 | <i>P. aeruginosa</i><br>ATCC<br>27853 | <i>P. aeruginosa</i><br>ATCC<br>9027 | <i>Candida albicans</i><br>ATCC<br>855/653 | <i>S. pyogenes</i><br>Dick-1 |
| 1        | Густий екстракт плодів калини звичайної (1 % розчин) | 12,9±0,7                                                    | 12,6±0,7                         | -                               | -                                  | 12,0±0,9                           | -                                     | -                                    | 10,0±0,9                                   |                              |
| 2        | Густий екстракт плодів калини звичайної (5 % розчин) | 21,4±0,9                                                    | 21,8±1,0                         | 18,8±0,8                        | -                                  | 17,8±1,0                           | 12,8±0,8                              | 11,8±0,6                             | 13,0±0,9                                   | 17,2±0,6                     |
| 3        | Густий екстракт плодів калини звичайної (10% розчин) | 24,0±1,0                                                    | 23,5±1,0                         | 23,8±1,0                        | -                                  | 22,9±1,0                           | 18,8±0,7                              | 15,6±0,4                             | 15,5±0,6                                   | 24,4±1,0                     |

Примітка: - - відсутня зона затримки росту мікроорганізмів

Методом дифузії в агар досліджено протимікробну активність плодів калини звичайної екстракту густого у концентрації 1 %, 5 % та 10 % (розчинник 90 % етанол). Як референс-препарат використовували обраний для отримання субстанції екстрагент – 90 % етанол. Густий екстракт плодів калини звичайної у розчинах концентрації 10 % та 5 % пригнічував ріст практично усіх

досліджуваних штамів мікроорганізмів (окрім *Proteus vulgaris*). Густий екстракт був ефективним у концентрації розчину 1 % лише по відношенню до обох штамів *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* та *Candida albicans*. Найзначнішу затримку зон росту усіх штамів було зафіксовано при використанні 10 % розчину плодів калини звичайної екстракту густого. Найвразливішими до дії густого екстракту плодів калини звичайної у цій концентрації були штами *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pyogenes*, *Escherichia coli* та *Bacillus subtilis*, зона затримки росту яких становила більше 22,0 мм. Загалом спостерігається наступна закономірність: прямо пропорційна кореляція – концентрація розчину густого екстракту плодів калини звичайної – розмір зони затримки росту штаму мікроорганізму.

#### 5.4.2 Дослідження антиоксидантної дії густого екстракту з плодів калини звичайної

Метанольний розчин радикалу готували шляхом розчинення 4 мг DPPH у 100 мл метанолу і використовували впродовж робочої доби. Визначення АО одержаних екстрактів проводили у дозі 0,02 мл, що у перерахунку на сухий залишок становило 400 мкг/мл, а препарату порівняння аскорбінової кислоти – 2,8 мкг/мл, дегідрокверцетину. Оптичну густину визначали при довжині хвилі 517 нм [48].

Антиоксидантна активність густого екстракту складала не менше 78%.

#### 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 90%-вого спирту етилового) плодів калини звичайної, що подрібнені комбінованим способом.
2. Визначено оптимальні параметри технологічного процесу та розроблено технологію отримання густого екстракту з плодів калини звичайної, яка полягає в наступному: оптимальний екстрагент – 90 % спирт етиловий, співвідношення сировина-екстрагент 1:10, кратність зливів – 1, час екстрагування 24 год, температура процесу – 25 °С. Критеріями оцінки обрано – вихід екстрактивних речовин не менше 17,5 %, вихід суми органічних кислот – не менше 10,0 %.
  3. Доведено антимікробну та антиоксидантну дію густого екстракту з плодів калини звичайної, що увійшло до патенту на корисну модель 150940 «Спосіб одержання засобу з антимікробною та антиоксидантною активністю з плодів калини».
  4. На підставі проведених досліджень обрано ряд критеріїв стандартизації, результати використано для розробки монографії ДФУ 2.0 «Калини плоди» та проєкту МКЯ «Калини звичайної плодів екстракт густий" "*Viburni opuli* Fructus Extractum spissum”.

*Результати експериментальних досліджень розділу наведено у таких публікаціях:*

1. Леонтієв Б. С., Шпичак О. С., Хворост О. П., Скребцова К. С. Спосіб одержання засобу з антимікробною та антиоксидантною активністю з плодів калини: пат. на кор. мод. А 61К 36/35, А 61К 131/00, А 61Р 31/04, А 61Р 17/18, 150940, Україна. № заявки а202106952; заявл. 06.12.2021; опубл. 11.05.2022, Бюл. № 19.
2. Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Динаміка вилучення екстрактивних речовин з плодів калини звичайної. *Промислова фармація: етапи становлення та майбутнє* : зб. наук. пр. Міжнар. наук.-практ. конф.,

- присвяч. 25-річчю з дня відкриття спец. "Промислова фармація" в Україні, м. Харків, 29-30 верес. 2017 р. - Х., 2017. С. 87.
3. Леонтієв Б. С., Скребцова К. С. Дослідження перспективного виду рослинної сировини калини звичайної / *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : мат. I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. м. Харків, 5 квіт. 2018 р. Х. : НФаУ. 2018. С. 81.
  4. Леонтієв Б. С., Скребцова К. С. Визначення числових показників рослинної сировини калини звичайної. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження д-ра фармац. наук, професора О. М. Гайдукевича, м. Харків, 12-13 квіт. 2018 р. Х.: НФаУ. 2018. С. 279.
  5. Леонтієв Б. С., Зудова Є. Ю., Хворост О. П. Перспективи використання лікарської рослинної сировини в Україні. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку*: матеріали XI наук.-практ. інтернет - конф., м. Харків, 24 травня 2019 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 125-126.
  6. Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Використання екстракту з плодів калини звичайної у м'яких лікарських формах для лікування дерматологічних захворювань. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : мат. IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 14-15 листоп. 2019 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2019. С. 119-120.
  7. Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Створення нових фітозасобів з маловивчених рослинних джерел. *Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці*: мат. міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, м. Харків, 25 берез. 2020 р. Харків: Вид-во НФаУ, 2020. С. 151-152.



8. Леонтьєв Б. С., Хворост О. П. *Можливості комплексної переробки вітчизняної сировини - плодів калини звичайної. Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 2 квіт. 2021 р. Харків, 2021. С. 125.
9. Определение оптимальных параметров технологии получения субстанций из перспективных видов растительного сырья./ О.П. Хворост, И.Ю. Посохова, Б.С. Леонтиев, Е.Ю. Зудова. *Актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли* : мат. I-ой Республ. науч.-практич. конф. с междунар. уч. г. Ташкент, 25-26 апреля 2023 г. Электрон. данные. Ташкент: 2023. С. 172.
10. Перспективи застосування природних антиоксидантів в відновленні пацієнтів після ряду захворювань./ О. П. Хворост, Т. В. Опрошанська, І. Ю. Посохова, Є. Ю. Зудова та ін. *Мультидисциплінарний підхід у фізичній реабілітаційній медицині*: мат. Всеукр. конф. 26 травня 2023 року, м. Харків. Х.: Вид-во НфаУ, 2023. С.37.
11. Леонтьєв Б. С., Хворост О. П., Вельма С. В. *Фармакогностичне вивчення плодів калини звичайної. Фундаментальні та прикладні дослідження в сучасній хімії та фармації*: мат. IX Міжнародної заочної науково-практичної конференції молодих учених : Ніжин, 23 травня 2023 р. / заг. ред. В. В. Суховєєва. м. Ніжин : НДУ ім. Миколи Гоголя, 2023. С 29.

## ВИСНОВКИ

У дисертації узагальнено експериментальні дослідження з вирішення наукового завдання, спрямованого на системний фармакогностичний аналіз серій плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі, розробці технології отримання густого екстракту з цього виду сировини, а також стандартизації густого екстракту.

1. Проведено аналіз морфолого-анатомічної будови серій плодів калини звичайної вітчизняної заготівлі з встановленням морфометричних показників.
2. За допомогою ГХ, ГХ/МС, ВЕРХ, АЕС досліджено компонентний склад первинних метаболітів (вільних та зв'язаних амінокислот, вільних та загальних вуглеводів, мінеральних сполук) вторинних метаболітів (сполук, що переганяються з водяною парою, ряду груп фенольних сполук).
3. Проведено кількісне визначення основних груп БАР в 6 серіях сировини: полісахаридів (не менше 4,5 %), аскорбінової кислот (не менше 26 мг%), суми органічних кислот (не менше 6,8 %), суми поліфенолів (не менше 1,7 %), таніннів (не менше 0,7 %), суми флавоноїдів (не менше 1,9 %), суми гідроксикоричних кислот (не менше 3,9 %), антоціанів (не менше 0,17 %) та проціанідинів (не менше 0,23 %).
4. Визначені технологічні параметри сировини та основні параметри технологічного процесу отримання густого екстракту (із наступною його стандартизацією).
5. Доведено антимікробну та антиоксидантну дію густого екстракту з плодів калини звичайної, що підтверджено патентом України на корисну модель 150940 «Спосіб одержання засобу з антимікробною та антиоксидантною активністю з плодів калини».
6. На підставі проведених досліджень обрано ряд критеріїв стандартизації, результати використано для розробки розділів монографії ДФУ 2.0 «Калини плоди» та проекту МКЯ «Калини звичайної плодів екстракт густий" "*Viburni opuli* Fructus 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. Баула О. П., Деркач Т. М. Забезпечення якості лікарських засобів рослинного походження: стан та перспективи. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 2. С. 79-78.
3. Виготовлення екстемпоральних лікувально-профілактичних засобів та їх використання в медико-фармацевтичній практиці. Методичні рекомендації : а. с. на науковий твір 75991 Україна / О. І. Тихонов, Т. Г. Ярних, О. Є. Фролова, О. С. Шпичак, В. М. Коваль, С. Г. Бобро, Л. В. Коношевич, А. О. Шпичак. № 77100 ; заявл. 15.01.18 ; опубл. 17.01.2018.
4. Вирішення проблеми комплексної розробки лікувально-профілактичних засобів для застосування в дерматології. Тихонов О. І., Фролова О. Є., Ярних Т. Г., Шпичак О. С. *Управління якістю в фармації* : матеріали XII наук.-практ. конф., м. Харків, 18 трав. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 187-188.
5. Гарна О. В., Ветров П. П., Георгіянц В. А. Взаємозв'язок основних технологічних параметрів рослинної сировини. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. № 1. С. 54-57.
6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., 4 допов. Х.: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2020. 600 с.
7. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., 4 допов. Х.: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2021. 424 с.

8. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
9. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 2-е вид. Х.: Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 2014. Т. 3. 732 с.
10. Державне нормування лікарських та косметичних засобів заводського та екстемпорального виготовлення. Тихонов О. І., Ярних Т. Г., Фролова О. Є., Шпичак О. С., Мельник Г. М. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 14-15 листоп. 2017 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2017. № 16. С. 194-197.
11. Довідник лікарських препаратів. Компендіум 2021. URL: <https://compendium.com.ua>
12. Дудченко Л. Г., Гарник Т. П., Шураєва Т. К. Збирання фітосировини. *Фітотерапія в Україні*. 1999. № 3-4. С. 58-65.
13. Желага А. М., Безпала Т. М. Лікарська рослинна сировина як основа для виробництва якісних фармацевтичних препаратів. URL: <http://gisar.eu/ru/node/1618> (дата звернення: 22.02.2022).
14. Коваленко О. А., Хоненко Л. Г., Заволока К. С. Ринок ефіро-олійних культур в Україні та Європі. *Сучасні підходи до вирощування, переробки і зберігання плодоовочевої продукції* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., 18-20 берез. 2020 р. Миколаїв : МНАУ, 2020. С. 229-230.
15. Компендіум 2019 – лікарські препарати / за ред. В. М. Коваленка. Київ: МОРІОН, 2019. 2480 с. [compendium.com.ua](http://compendium.com.ua) (дата звернення: 22.02.2022).
16. Коритнюк Р. С., Давтян Л. Л., Дроздова А. О. Фітозасоби в комплексному лікуванні та медичній реабілітації хворих з бронхітом. *Scientific achievements of modern society: 12-th International scientific and practical conference*, Liverpool, United Kingdom, July 22-24, 2020. Liverpool: Cognum Publishing House, 2020. P. 230.

- 17.Касіянчук В. Д.; Касіянчук М. В.; Ковач М. М. Особливості використання плодів калини як сировини для виготовлення лікувально-профілактичних засобів. *Науковий вісник НЛТУ України*. 2013. Т. 23, № 18. С. 32 -35.
- 18.Леонтиев Б. С., Хворост О. П. Определение количественного содержания аскорбиновой кислоты в плодах калины обыкновенной. Сборник: *«Актуальные вопросы современной медицины и фармации»*. Мат. 69-й итоговой научно-практ. конф. студ. и молодых ученых, г. Витебск, 19-20 апрель 2017. В.: ВГМУ. 2017. С. 644.
- 19.Хворост О. П., Леонтиев Б.С. Компонентний склад ряду сполук фенольної природи у плодах *Viburnum opulus* L. *Аннали Мечніковського інституту*. 2023. № 4. С. 21-24.
- 20.Леонтиев Б.С., Хворост О.П. Фармакогностическое изучение семян различных сортов калины обыкновенной. *«Роль и место инновационных технологий в современной медицине»*: мат. 66-ой годичной научно-практической конференции ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием, г. Душанбе 23 ноября 2018. Душанбе, 2018. ТОМ II. С. 374-375.
- 21.Леонтиев Б. С., Скребцова К. С. Визначення числових показників рослинної сировини калини звичайної. *«Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій»* : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження д-ра фармац. наук, професора О. М. Гайдукевича, м. Харків, 12-13 квіт. 2018 р. Х.: НФаУ. 2018. С. 279.
- 22.Леонтиев Б. С., Скребцова К. С. Дослідження перспективного виду рослинної сировини калини звичайної / *«Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження»* : матеріали I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. м. Харків, 5 квіт. 2018 р. Х. : НФаУ. 2018. С. 81.

- 23.Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Використання сировини плодів калини звичайної як джерела отримання флавоноїдів. *«Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи»* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 100-річчю Національного фармацевтичного університету, м. Харків, 10 верес. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 214.
- 24.Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Динаміка вилучення екстрактивних речовин з плодів калини звичайної. *Промислова фармація : етапи становлення та майбутнє* : зб. наук. пр. Міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 25-річчю з дня відкриття спец. "Промислова фармація" в Україні, м. Харків, 29-30 верес. 2017 р. - Х., 2017. - С. 87
- 25.Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Можливості комплексної переробки вітчизняної сировини - плодів калини звичайної. *«Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження»* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 2 квіт. 2021 р. Харків, 2021. С. 125.
- 26.Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Дослідження елементного складу серій плодів калини звичайної (*Viburnum opulus* L.). *Фармац. журн.* 2023. Т. 78, № 5. С. 62-70.
- 27.Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Створення нових фітозасобів з маловивчених рослинних джерел. *«Застосування методів лікування і аніпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці»* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., присвяч.пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, м. Харків, 25 берез. 2020 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2020. С. 151-152.
- 28.Леонтієв Б. С., Хворост О. П., Вельма С. В. Фармакогностичне вивчення плодів калини звичайної. *«Фундаментальні та прикладні дослідження в сучасній хімії та фармації»* : за матеріалами IX Міжнародної заочної науково-практичної конференції молодих учених : м. Ніжин, 23 травня 2023 р. / заг. ред. В. В. Суховєєва. Ніжин : НДУ ім. Миколи Гоголя, 2023. С 29.

- 29.Леонтієв Б.С. Перспективні групи БАР, що містяться у плодах калини звичайної. «Scientific Research Priorities – 2018» : theoretical and practical value : Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference, Nowy Sącz, Poland, June 26-29, 2018. Nowy Sącz., 2018. Р. 176.
- 30.Леонтієв Б.С., Зудова Є. Ю., Хворост О. П. Перспективи використання лікарської рослинної сировини в Україні. «Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку» : матеріали XI наук.-практ. INTERNET-конф., м. Харків, 24 травня 2019 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 125-126.
- 31.Леонтієв Б.С., Хворост О.П. Використання екстракту з плодів калини звичайної у м'яких лікарських формах для лікування дерматологічних захворювань. «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» : матеріали IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 14-15 листоп. 2019 р. Харків. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 119-120.
- 32.Леонтієв Б.С., Хворост О.П. Оцінка сировинної бази плодів калини звичайної у деяких регіонах України. «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. 87.
- 33.Леонтієв Б.С., Хворост О.П. Перспективи застосування плодів калини звичайної в медицині. «Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів»: матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф. 14-15 березня 2019 року. у2-х т. Х. : НФаУ, 2019. Т. 2. С. 163.
- 34.Лікарські засоби. Випробування стабільності: настанови з якості : Настанова 42-3.3-2004 / В. Георгієвський та ін. Вид. офіц. Київ : МОЗ України, 2004. 60 с. 178/48.
- 35.Лікарські засоби. Доклінічні дослідження безпеки як підґрунтя клінічних випробувань за участю людини та реєстрації лікарських засобів (ICH

- МЗ(R2)) : настанова СТ–Н МОЗУ 42–6.0:2014 / МОЗ України. Київ, 2014. 55 с.
36. Лікарські засоби. Належна виробнича практика: настанови з якості : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2015. / М. Ляпунов та ін. Вид. офіц. Київ : МОЗ України, 2015. 315 с.
37. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика / МОЗ України. Київ, 2009. 255 с. 45. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8) : настанова СТ–Н МОЗУ 42–3.0:2011. Київ, 2011. 42 с.
38. Лікарські засоби. Належна практика дистрибуції : настанови з якості: Настанова СТ-Н МОЗУ 42-5.0:2014. / М. Ляпунов та ін. Вид. офіц. Київ : МОЗ України, 2014. 41 с.
39. Лікарські засоби. Специфікації: контрольні випробування та критерії прийнятності : настанови з якості : Настанова 42-3.2:2004 / В. Георгієвський та ін. Вид. офіц. Київ : МОЗ України, 2004. 40 с.
40. Макуха О. В. Економічна ефективність вирощування фенхелю звичайного залежно від агротехнічних заходів в умовах півдня України. *Таврійський науковий вісник*. 2020. № 111. С. 112-118. DOI:10.32851/ 2226-0099.2020.111.15
41. Методичні рекомендації 12. Тихонов О. І., Ярних Т. Г., Фролова О. Є., Гудзенко О. П., Шпичак О. С., Коваль В. М., Руденко В. В., Бобро С. Г., Коношевич Л. В., Шпичак А. О. Виготовлення екстемпоральних лікувально-профілактичних засобів та їх використання в медико-фармацевтичній практиці : метод. рек. / за ред. О. І. Тихонова. Харків, 2017. 40 с.
42. Мінарченко В. М., Серeda П. І. Ресурсознавство. Лікарські рослини : навч.-метод. посіб. К.: 2004. 183 с.
43. Мінарченко В. М., Тимченко І. А. Атлас лікарських рослин України (хорологія. ресурси та охорона). К.: Фітосоціоцентр. 2002. 172 с.



44. Мірзоєва Т. В. Економічні аспекти виробництва лікарських ефіроолійних культур. Проблеми системного підходу в економіці. 2019. № 3 (1). С. 79-84.
45. Мірзоєва Т. В. Особливості вітчизняного ринку лікарських рослин в умовах сьогодення. *Інноваційна економіка*. 2013. № 6. С. 209–212.
46. Оксенюк О. Є., Гудзенко О. П., Шпичак О. С. Аналіз фармацевтичного ринку України лікарських засобів протигрибкової дії. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2020. Т. 6, № 1. С. 69-80.
47. Определение оптимальных параметров технологии получения субстанций из перспективных видов растительного сырья./ О.П. Хворост, И.Ю. Посохова, Б.С. Леонтиев, Е.Ю. Зудова. «Актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли» : мат. І-ой Республ. науч.-практич. конф. с междунар. уч. г. Ташкент, 25-26 апреля 2023 г. Электрон. данные. Ташкент: 2023. С. 172.
48. Перспективи застосування природних антиоксидантів в відновленні пацієнтів після ряду захворювань./ О. П. Хворост, Т. В. Опрошанська, І. Ю. Посохова, Є. Ю. Зудова та ін. «Мультидисциплінарний підхід у фізичній реабілітаційній медицині»: мат. Всеукр. конф. 26 травня 2023 року, м. Харків. Х.: Вид-во НфаУ, 2023. С.37.
49. Розробка технології лікувально-профілактичних антисептичних маркерів і їх застосування в комплексній терапії мікозів і уражень шкіри/ О. І Тихонов., О. Є. Фролова, Т. Г. Ярних, та ін. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2018. № 4 (56). С. 22-30.
50. Семенчук Ю., Киричук А., Стадницька Н. Антиоксидантні властивості компонентів фіточаїв. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали ІХ наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 22–23 верес. 2022 р. Тернопіль : ТНМУ, 2022. С. 158–159.
51. Склад лікарського препарату протигрибкової, протимікробної та кератолітичної дії : пат. корисну модель 122333 Україна / Тихонов О. І.,

- Шпичак О. С., Фролова О. Є. ; заявник і патентовласник Тихонов О. І. № u 201711173 ; заявл. 15.11.2017 ; опубл. 26.12.2017, Бюл. № 24. – 5 с.
- 52.Склад лікарського препарату протигрибкової, протимікробної та кератолітичної дії : пат. на винахід 117330 Україна / Тихонов О. І., Фролова О. Є., Шпичак О. С. ; заявник і патентовласник Тихонов О. І. № а 201711171 ; заявл. 15.11.2017 ; опубл. 10.07.2018, Бюл. № 13. 6 с.
- 53.Спосіб одержання засобу з антимікробною та антиоксидантною активністю з плодів калини: Леонтієв Б. С., Шпичак О. С., Хворост О. П., Скребцова К. С. пат. на кор. мод. А 61К 36/35, А 61К 131/00, А 61Р 31/04, А 61Р 17/18, 150940, Україна. № заявки а202106952; заявл. 06.12.2021; опубл. 11.05.2022, Бюл. № 19.
- 54.Створення екстемпоральних алопатичних і косметичних засобів на основі стандартизованих субстанцій продуктів бджільництва. Тихонов О. І., Ярних Т. Г., Шпичак О. С., Скрипник-Тихонов Р. І., Фролова О. Є., Богдан Н. С., Коношевич Л. В. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. Участю, 10–11 листоп. 2016 р. Тернопіль : ТДМУ, 2016. С. 159-160.
- 55.Тихонов О. І., Фролова О. Є., Гудзенко О. П., Барнатович С. В. Маркетингові дослідження ринку протигрибкових лікарських засобів для місцевого застосування. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2016. Т. 2, № 2. С. 77-81.
- 56.Тихонов О. І., Фролова О. Є., Гудзенко О. П., Шпичак О. С., Кудрик Б. Т. Технологія фармацевтичних композицій з протигрибковою, антимікробною і кератолітичною активністю : інформ. лист / Укрмедпатентінформ МОЗ України. Київ, 2017. Вип. 3. з проблеми «Фармація». № 182-2017. 5 с.
- 57.Фармацевтична композиція з протигрибковою, протимікробною і кератолітичною активністю : пат. на корисну модель 115974 Україна / Тихонов О. І., Фролова О. Є., Новіков С. М., Ленчін В. М., Шпичак О. С. ;

заявник і патентовласник Тихонов О. І. № u 201607579 ; заявл. 11.07.2016 ; опубл. 10.05.2017, Бюл. № 9. 7 с.

58. Фармацевтична розробка (ICN Q8): настанови з якості : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011 / М. Ляпунов та ін. Вид. офіц. Київ : МОЗ України, 2011. № 33 с. 81.
59. Федоровська М. І., Половко Н. П., Стрілець О. П. Розроблення складу гелевої маски з соком кропиви дводомної, що призначена для наскірного застосування при телогеновій алопеції. *Фармацевтичний журнал*. 2019. № 3. С. 76-85.
60. Фролова О. Є., Гудзенко О. П., Тихонов О. І. Розробка антисептичних засобів для лікування мікозів і уражень шкіри – одна із проблем дерматології і косметології. *Актуальні питання в народній і нетрадиційній медицині. Здоров'я та довголіття: Фундаментальні дослідження, впровадження* : матеріали наук. симпоз. з міжнар. участю, 8-9 квіт. 2016 р. Київ, 2016. С. 53-54.
61. Фролова О. Є., Гудзенко О. П., Тихонов О. І., Шпичак О. С. Дослідження протигрибкової, протимікробної і кератолітичної дії фармацевтичних композицій «Прополіс–Дерма». *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2016. Т. 11, № 3. С. 77-80.
62. Фролова О. Є., Тихонов О. І., Шпичак О. С. Опрацювання методик ідентифікації та кількісного визначення діючих речовин лікувальнопрофілактичних засобів «Прополіс–Дерма». *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку* : матеріали II наук.- практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 27 квіт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 233-236.
63. Шостак Т. А., Калинюк Т. Г., Вронська Л. В. Ідентифікація та кількісне визначення флавоноїдів комплексного густого екстракту трави звіробою та квіток нагідок. *Фармацевтичний журнал*. 2017. № 3-4. С. 71-79.
64. Acute and Subacute Oral Toxicity Assessment of European Cranberrybush (*Viburnum opulus L*). Fruit Extract./ G. Ozan, A. Cumbul, E. Sümer et al.

- Current Developments in Nutrition*. 2021. Vol. 5, Issue 2. P. 355. DOI:10.1093/cdn/nzab037\_065.
65. Agro-morphological and biochemical characteristics of european cranberrybush (*Viburnum opulus L.*)/ N. Ersoy, M. Akin, M. Gundogdu et al. *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences*. 2018. Vol. 71. P. 491-499. DOI:10.7546/CRABS.2018.04.07.
66. Al Disi S.S, Anwar M. A., Eid A. H. Anti-Hypertensive Herbs and their Mechanisms of Action: Part I. *Frontiers in pharmacology*. 2015. Vol. 6, Art. 323. P. 1-24. DOI:10.3389/fphar.2015.00323.
67. Alifakı Ö., Şakıyan Ö., Isci A. Extraction of phenolic compounds from cranberrybush (*Viburnum opulus L.*) fruit using ultrasound, microwave, and ultrasound-microwave combination methods. *J. of Food Measurement and Characterization*. 2022. Vol. 16. DOI:10.1007/s11694-022-01498-9.
68. Aloufi B. H., Atwan M. A., Alshammari A. M. Treatment of Hypertension by Using Natural Herbs and their Mechanism of Action. *Journal of Biochemical Technology*. 2022. Vol. 2, Issue 13. P. 19-28. DOI:10.51847/wx7mN3flrC.
69. Amino acids in cancer./ E.L. Lieu, T. Nguyen, S. Rhyne, J. Kim. *Exp Mol Med*. 2020. Vol. 52, Issue 1. P. 15-30. DOI:10.1038/s12276-020-0375-3.
70. An *In Vitro* Study of the Effect of *Viburnum opulus* Extracts on Key Processes in the Development of *Staphylococcal* Infections./ U. Wójcik-Bojek, J. Rywaniak, P. Bernat et al. *Molecules*. 2021. Vol. 26, Issue 6. P. 1758. DOI:10.3390/molecules26061758.
71. An overview on role of some trace elements in human reproductive health, sperm function and fertilization process./ M. Mirnamniha, F. Faroughi, E. Tahmasbpour et al. *Rev Environ Health*. 2019. Vol. 3, Issue 4. P. 339-348. DOI:10.1515/reveh-2019-0008.
72. Antimicrobial activity of Turkish *Viburnum* species./ M. Eryilmaz, S. Ozbilgin, B. Ergene et al. *Bangladesh Journal of Botany*. 2014. Vol. 42, Issue 2. P. 355–360. DOI:10.3329/bjb.v42i2.18044.

73. Antimicrobial activity of *Viburnum opulus* fruit juices and extracts./ L. Česonienė, R. Daubaras, V. Kraujalytė et al. *J. Verbr. Lebensm.* 2014. Vol. 9. P. 129–132. DOI:10.1007/s00003-014-0864-1.
74. Antimicrobial and Antifungal Activity of Fabrics Dyed with *Viburnum opulus* and Onion Skins./ Ş. Selamoğlu, H. Yılmaz, F. Vural, C. Bahtiyari et al. *International Journal of Secondary Metabolite*. 2017. Vol. 4. P. 280-284. DOI: 10.21448/ijsm.372225.
75. Antinephrolithiatic activity of *Persea americana* (Avocado) and *Viburnum opulus* (guelder rose) against ethylene glycol-induced nephrolithiasis in rats./ G. Erdem, V. Kesik, T. Honca. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 2016. Vol. 13. P. 110-119. DOI:10.21010/ajtcam.v13i2.14.
76. Antioxidant components of *Viburnum opulus* L. determined by on-line HPLC-UV-ABTS radical scavenging and LC-UV-ESI-MS methods./ A. A. Karaçelik, M. Küçük, Z. İskefiyeli et al. *Food Chem.* 2015. Vol. 175. P. 106-114. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.11.085.
77. Antioxidant properties and polyphenolic compositions of fruits from different European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) genotypes./ V. Kraujalytė, P. R. Venskutonis, A. Pukalskas et al. *Food Chem.* 2013. Vol. 141, Issue 4. Art. 3695702. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.06.054.
78. Beaumont M., Blachier F. Amino Acids in Intestinal Physiology and Health. *Adv Exp Med Biol.* 2020. Vol. 1265. P. 1-20. DOI:10.1007/978-3-030-45328-2\_1.
79. Bioaccessibility and transepithelial transportation of cranberrybush (*Viburnum opulus*) phenolics: Effects of non-thermal processing and food matrix./ G. Ozkan, T. Kostka, G. Dräger et al. *Food Chem.* 2022. Vol. 380, Art. 132036. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.132036.
80. Boeldt D.S., Joss-Moore L. The wide reach of fatty acids and their metabolites. *Mol. Cell Endocrinol.* 2023. Vol. 560, Art. 111823. DOI:10.1016/j.mce.2022.111823.

81. Botanical Provenance of Traditional Medicines From Carpathian Mountains at the Ukrainian-Polish Border./ W. Kozłowska, C. Wagner, E. M. Moore et al. *Front Pharmacol*. 2018. Vol. 9. P. 295. DOI:10.3389/fphar.2018.00295.
82. Botanicals and Their Bioactive Phytochemicals for Women's Health./ B. Dietz, A. Hajirahimkhan, T. Dunlap et al. *Pharmacol Rev*. 2016. Vol. 68, Issue 4. P. 1026-1073. DOI:10.1124/pr.115.010843.
83. Çanga E. M., Dudak F. C. Characterization of cellulose acetate/gum Arabic fibers loaded with extract of *Viburnum opulus* L. Fruit. *LWT*. 2019. Vol. 110. P. 247-254. DOI:10.1016/j.lwt.2019.04.085.
84. Characterization of European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) genetic resources in Turkey./ K. Ozrenk, G. Ilhan, H. I. Segbus et al. *Scientia Horticulturae*. 2020. Vol. 273, Art. 109611. DOI:10.1016/j.scienta.2020.109611.
85. Chellan P., Sadler P. J. The elements of life and medicines. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series A*. 2015. Vol. 373, Issue 2037, Art. 20140182. P. 1-56. DOI:10.1098/rsta.2014.0182.
86. Dag Z., Akturk G., Filik L. Acute pancreatitis induced by *Viburnum opulus* juice in a patient with urolithiasis. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2014. Vol. 4, Issue 10. P. 791. DOI:10.12980/APJTB.4.201414B308.
87. Dal F., Karacabey E. Determination of The Physical, Physio-Chemical and Chemical Properties of Gilaburu Fruits (*Viburnum opulus*) Dried by Convectional Drying Technique. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*. 2022. Vol. 9. P. 2547-2551. DOI:10.24925/turjaf.v9isp.2547-2551.4924.
88. David L., Moldovan B. Green Synthesis of Biogenic Silver Nanoparticles for Efficient Catalytic Removal of Harmful Organic Dyes. *Nanomaterials* (Basel). 2020. Vol. 10, Issue 2. P. 202. DOI:10.3390/nano10020202.
89. de Carvalho C. R., Caramujo M. J. The Various Roles of Fatty Acids. *Molecules*. 2018. Vol. 23, Issue 10. P. 2583. DOI: 10.3390/molecules23102583.

- 90.Determination of active substances of the «Propolis-Derma» pharmaceutical compositions by reverse-phase high-performance liquid chromatographic method. Tykhonov O. I., Shpychak O. S., Blazheyevskiy M. Ye., Frolova O. E., Gudzenko A. P. *International Journal of Green Pharmacy*. 2017. Vol. 11, Issue 4. P. 259-267. Oxidative stress and cancer: An overview / V. Sosa et al. *Ageing Research Reviews*. 2013. Vol. 12, № 1. P. 376-390.
- 91.Development and Characterization of *Viburnum opulus* L. Extract-Loaded Orodispersible Films: Potential Route of Administration for Phytochemicals./ O. Samet, K. Alptug, Ç. Egemen et al. *Journal of Pharmaceutical Innovation*. 2022. Vol. 18. DOI:10.1007/s12247-022-09627-z.
- 92.Development of drugs with the apiculture products is one of the strategic research areas of the National university of Pharmacy/ O. I. Tikhonov, T. G. Yarnykh, O. S. Shpychak et al. *Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации* : материалы республ. научн.-практ. конф. с междунар. участием, г. Ташкент, 17-18 нояб. 2016 г. Ташкент, 2016. С. 212-214.
- 93.Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review / U. Asmat et al. *Saudi pharmaceutical journal*: SPJ. 20162 № 4(5). P. 547-553. DOI:10.1016/j.jsps.2015.03.013.
- 94.Dienaitė L., Baranauskienė R., Rimantas Venskutonis P. Lipophilic extracts isolated from European cranberry bush (*Viburnum opulus*) and sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) berry pomace by supercritical CO<sub>2</sub>- Promising bioactive ingredients for foods and nutraceuticals. *Food Chem*. 2021. Vol. 348, Art. 129047 DOI:10.1016/j.foodchem.2021.129047.
- 95.Diversity and probiotic potentials of lactic acid bacteria isolated from gilaburu, a traditional Turkish fermented European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit drink. O. Sagdic, I. Ozturk, N. Yapar, H. Yetim et al. *Food Res Int*. 2014. Vol. 64. P. 537-545. DOI:10.1016/j.foodres.2014.07.045.

96. Dog T. L. The Role of Botanicals in Cardiovascular Health. *Nutritional and Integrative Strategies in Cardiovascular Medicine*. CRC Press. 2022. P. 369–379.
97. Dönmez A., Kadakal Ç. Hot-air drying and degradation kinetics of bioactive compounds of gilaburu (*Viburnum opulus L.*) fruit. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*. 2023. P. 11-12. DOI:10.2298/CICEQ220614011D.
98. Düz M., Korcan S., Uysal A.G. Determination of Total Phenolic, Flavonoid Content and Antimicrobial Properties in Different Solvent Extracts of *Viburnum opulus L.* (Gilaburu) in Afyonkarahisar. *Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry*. 2021. Vol. 22. P. 388-395. DOI:10.21743/pjaec/2021.12.17.
99. Effects of Non-Thermal Treatment on Gilaburu Vinegar (*Viburnum opulus L.*): Polyphenols, Amino Acid, Antimicrobial, and Anticancer Properties./ B. Erdal, S. Yıkmış, N.T. Demirok et al. *Biology (Basel)*. 2022. Vol. 11, Issue 6. P. 926 DOI:10.3390/biology11060926.
100. Effects of *Viburnum opulus L.* fruit extracts on adipogenesis of 3T3-L1 cells and lipase activity./ A. Podsędek, M. Zakłós-Szyda, D. Polka, D. Sosnowska. *Journal of Functional Foods*. 2020. Vol. 73, Art. 104111. DOI:10.1016/j.jff.2020.104111.
101. Endometriosis still a challenge./C. Mehedintu, M.N. Plotogea, S. Ionescu, M. Antonovici. *J Med Life*. 2014. Vol. 7, Issue 3. P. 349-357.
102. Evaluation of new selection forms of guelder rose (*Viburnum opulus L.*) on ecological and economically valuable traits./ V. Moskalets, T. Moskalets, Y. Barat et al. *Scientific Horizons*. 2020. Vol. 93. P. 125-132. DOI:10.33249/2663-2144-2020-93-8-125-132.
103. Evaluation of *Viburnum opulus L.* Fruit Phenolics Cytoprotective Potential on Insulinoma MIN6 Cells Relevant for Diabetes Mellitus and Obesity./ M. Zakłós-Szyda, A. Kowalska-Baron, N. Pietrzyk et al. *Antioxidants (Basel)*. 2020. Vol. 9, Issue 5. P. 433. DOI:10.3390/antiox9050433.



104. Exploring the potential function of trace elements in human health: a therapeutic perspective./ M.R. Islam, S. Akash, M.H. Jony, et al.. *Mol. Cell Biochem.* 2023. Vol 478, Issue 10. P. 2141-2171. DOI:10.1007/s11010-022-04638-3.
105. Extraction method affects seed oil yield, composition, and antioxidant properties of European cranberrybush (*Viburnum opulus*)./ T. D. Capar, T. Dedebas, H. Yalcin, L. Ekici et al. *Industrial Crops and Products*. 2021. Vol. 168, Art. 113632. DOI:10.1016/j.indcrop.2021.113632.
106. Flavonoids and Phenolic Acids Content in Cultivation and Wild Collection of European Cranberry Bush *Viburnum opulus* L./ S. Goławska, I. Łukasik, A.A. Chojnacki, G. Chrzanowski. *Molecules*. 2023. Vol. 28, Issue 5. P. 2285. DOI: 10.3390/molecules28052285.
107. Flynn N. E., Shaw M. H., Becker J. T. Amino Acids in Health and Endocrine Function. *Adv Exp Med Biol*. 2020. Vol. 1265. P. 97-109. DOI:10.1007/978-3-030-45328-2\_6.
108. Genus *Viburnum*: Therapeutic Potentialities and Agro-Food-Pharma Applications./ J. Sharifi-Rad, C. Quispe, C. V. Vergara et al. *Oxid Med Cell Longev*. 2021. Vol. 2021, Art. 3095514. DOI:10.1155/2021/3095514.
109. Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) fruit extract alleviates testis and sperm damages induced by taxane-based chemotherapeutics./ S. Sarıözkan, G. Türk, A. Eken et al. *Biomed Pharmacother*. 2017. Vol. 95. P. 1284-1294. DOI:10.1016/j.biopha.2017.09.057.
110. Gilaburu extract (*Viburnum opulus* L.) is as effective as Tamsulosin in medical expulsive therapy of distal ureteral calculi./ B. Gok, Y. Tarik Atik, B. Uysal et al. *Int J Clin Pract*. 2021. Vol. 75, Issue 12, Art. 14950. DOI: 10.1111/ijcp.14950.
111. Guelder-rose ordinary (*Viburnum opulus* L.) breeding study at the Institute of Horticulture, NAAS of Ukraine./ V. Moskalets, I. V. Grynyk, V. V. Moskalets et al. *Horticulture: Interdepartment Subject Scientific Collection*. 2021. P. 150-166. DOI:10.35205/0558-1125-2021-76-150-166.

112. Gulesci N. A Review of the Effects of *Viburnum opulus L. (Adoxaceae)* Fruit on Metabolism in Terms of Antimicrobial, Antioxidant and Chemical Content. *Istanbul Gelesi University Saglik Bilimler Dergisi*. 2019. P. 920-928. DOI:10.38079/igusabder.594480.
113. Hinojosa-Gonzalez D.E., Eisner B.H. Biomarkers in Urolithiasis. *Urol Clin North Am*. 2023. Vol. 50, Issue 1. P. 19-29. DOI:10.1016/j.ucl.2022.09.004.
114. Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass-spectroscopy./ N. P. Seeram, R. Lee, H. S. Scheuller, D. Heber. *Food Chemistry*. 2006. Vol. 97, Iss. 1. P. 1-11. DOI:10.1016/j.foodchem.2005.02.047.
115. Ike N. A. Overview of the Phytochemicals of medicinal plants to lower blood pressure. *Scholars Academic J. of Pharmacy*. 2020. Vol. 11, Issue 9. P. 318-329. DOI:10.36347/sajp.2020.v09i11.006.
116. Impacts of selected lactic acid bacteria strains on the aroma and bioactive compositions of fermented gilaburu (*Viburnum opulus*) juices./ O. Sevindik, G. Guclu, B. Agirman et al. *Food Chem*. 2022. Vol. 378, Art. 132079. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.132079.
117. *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory properties of green synthesized silver nanoparticles using *Viburnum opulus L.* fruits extract./ B. Moldovan, L. David, A. Vulcu et al. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017. Vol. 79. P. 720-727. DOI:10.1016/j.msec.2017.05.122.
118. *In Vitro* inhibitory Effects of *Viburnum opulus* Bark and Flower Extracts on Digestion of Potato Starch and Carbohydrate Hydrolases Activity./ D. Kajszczyk, A. Kowalska-Baron, D. Sosnowska, A. Podśędek. *Molecules*. 2022. Vol. 27, Issue 10. P. 3118. DOI: 10.3390/molecules27103118.
119. Influence of gilaburu (*Viburnum opulus*) juice on 1,2-dimethylhydrazine (DMH)-induced colon cancer./ H. Ulger, T. Ertekin, O. Karaca et al. *Toxicol Ind Health*. 2013. Vol. 29, Issue 9. P. 824-829. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.129918.

120. Influence of *in vitro* human digestion on the bioavailability of phenolic content and antioxidant activity of *Viburnum opulus* L. (European cranberry) fruit extracts./ T. H. Barak, E. Celep, Y. İnan, E. Yesilada et al. *Industrial Crops and Products*, 2019. Vol. 131. P 62-69. DOI:10.1016/j.indcrop.2019.01.037.
121. Investigation of the photocatalytic activity of magnesium-doped *Viburnum Opulus*-like nickel oxide microstructure under visible light irradiation./ K. Hashemi, F. & A. Seyedehe et al. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*. Sep. 2021, Vol. 32. P. 1-14. DOI:10.1007/s10854-021-06714-8.
122. Janka Z. Tracing trace elements in mental functions. *Ideggyogy Sz.* 2019. Vol. 72, Issue 11-12. P. 367-379. DOI:10.18071/isz.72.0367.
123. Kajszczak D., Kowalska-Baron A., Podsędek A. Glycoside Hydrolases and Non-Enzymatic Glycation Inhibitory Potential of *Viburnum opulus* L. Fruit-*In Vitro* Studies. *Antioxidants* (Basel). 2021. Vol. 10, Issue 6. P. 989. DOI:10.3390/antiox10060989.
124. Kajszczak D., Zakłós-Szyda M., Podsędek A. *Viburnum opulus* L.-A Review of Phytochemistry and Biological Effects. *Nutrients*. 2020. Vol. 12, Issue 11. P. 3398. DOI:10.3390/nu12113398.
125. Karakurt S., AbuŞoĖlu G., Arituluk Z. C. Comparison of anticarcinogenic properties of *Viburnum opulus* and its active compound *p*-coumaric acid on human colorectal carcinoma. *Turk J Biol.* 2020. Vol. 44, Issue 5. P. 252-263. DOI:10.3906/biy-2002-30.
126. Kirazli S., Tunca S. NISIN and gilaburu (*Viburnum opulus* L.) combination is a cost-effective way to control foodborne *Staphylococcus aureus*. *Food Control*. 2022. Vol. 142, Art. 109213. DOI:10.1016/j.foodcont.2022.109213.
127. Konarska A., Domaciuk M. Differences in the fruit structure and the location and content of bioactive substances in *Viburnum opulus* and *Viburnum lantana* fruits. *Protoplasma*. 2018. Vol. 255, Issue 1. P. 25-41. DOI:10.1007/s00709-017-1130-z.

128. Lachowicz S., Oszmiański J. The influence of addition of cranberrybush juice to pear juice on chemical composition and antioxidant properties. *J Food Sci Technol*. 2018. Vol. 55, Issue 9. P. 3399-3407. DOI:10.1007/s13197-018-3233-8.
129. Leontiev B. S. Quantitative finding organic acids in series of fruits *Viburni opulus*. «*Topical issues of new drugs development*»: abstracts of XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student, April 20, 2017. Kh., 2017. Vol. 1. P. 89.
130. Leontiev B. S., Khvorost O. P. Finding morphological and anatomical differences of sorts of *Viburnum opulus*. «*Topical issues of new drugs development*» : abstracts of XXV international scientific and practical conference of young scientists and student, April 18-20, 2018. Kh., 2018. P. 54.
131. Leontiev B., Fedchenkova J., Khvorost O. Fatty acids in the components of *Viburnum opulus* fruit. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2019. Vol. 29, Issue 2. P. 59-61.
132. Leontiev B., Khvorost O. Morphometric marks research of fruits of the *Viburnum opulus* in different sorts. 9<sup>TH</sup> International conference of pharmacy «*Science and practice*» 2018 9th of November, 2018 Lithuanian University of Health Sciences, Sukilėjų 13, Kaunas Lithuania. P. 72.
133. Li M, Wu Y, Ye L. The Role of Amino Acids in Endothelial Biology and Function. *Cells*. 2022. Vol. 11, Issue 8. P.1372. DOI:10.3390/cells11081372.
134. Łukasik I., Goławska S., Sytykiewicz H. Differences in Oxidative Stress Markers and Antioxidant Enzyme Activities in Black Bean Aphid Morphs (*Aphis fabae* Scop.) Fed on the Primary Host *Viburnum opulus* L. *Antioxidants* (Basel). 2022. Vol. 11, Issue 12. P. 2476. DOI:10.3390/antiox11122476.
135. Machine learning approach for predicting the antifungal effect of gilaburu (*Viburnum opulus*) fruit extracts on *Fusarium* spp. isolated from diseased potato tubers./ A. Zongur, H. Kavuncuoglu, E. Kavuncuoglu et al. *J. Microbiol Methods*. 2022. Vol. 192, Art. 106379. DOI: 10.1016/j.mimet.2021.106379.

136. Metabolite profiling, arginase inhibition and vasorelaxant activity of *Cornus mas*, *Sorbus aucuparia* and *Viburnum opulus* fruit extracts./ A. Bujor, A. Miron, S.V. Luca et al. *Food Chem Toxicol.* 2019. Vol. 133, Art. 110764. DOI:10.1016/j.fct.2019.110764.
137. Microbial Biotransformation of Bioactive Flavonoids./ H. Cao, X. Chen, A. R. Jassbi, J. Xiao. *Biotechnol. Adv.* 2015. Vol. 33, Iss. 1. P. 214–223. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2014.10.012.
138. Mills K. T., Stefanescu A., He J. The global epidemiology of hypertension. *Nature Reviews Nephrology.* 2020. Vol. 4, Issue 16. P. 223-237. DOI:10.1038/s41581-019-0244-2.
139. Mohsen Ibrahim M. Hypertension in developing countries: a major challenge for the future. *Current hypertension reports.* 2018. Vol. 20, Issue 38. P. 1-10. DOI:10.1007/s11906-018-0839-1.
140. Nutrition and the Immune System: A Complicated Tango./ C. Venter, S. Eyerich, T. Sarin, K.C. Klatt. *Nutrients.* 2020. Vol. 12, Issue 3. P. 818. DOI:10.3390/nu12030818.
141. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? / S. Reuter et al. *Free Radical Biology and Medicine.* 2010. Vol. 49, Issue 11. P. 1603-1616. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006.
142. Pasayeva L., & Karaboğa A. A., Kararenk A. *Viburnum opulus L.* Fruit Extracts Protect Human Neuroblastoma SH-SY5Y Cells against Hydrogen Peroxide-Induced Cytotoxicity. *Proceedings*, 2019. Vol. 40. P. 5. DOI:10.3390/proceedings2019040005.
143. Phylogenetic and Comparative Analyses of Complete Chloroplast Genomes of Chinese *Viburnum* and *Sambucus* (*Adoxaceae*)./ H. Ran, Y. Liu, C. Wu, Y. Cao et al. *Plants* (Basel). 2020. Vol. 9, Issue 9. P. 1143. DOI:10.3390/plants9091143.
144. Phytotherapy in patients with cardiovascular diseases-a descriptive survey in Vojvodina, Serbia./ M. Hitl, N. Gavarić, N. Kladar, K. Radovanović et al. *J.*

- of Herbal Medicine*. 2023. Vol. 41, Art. 100684. P. 1-8. DOI: 10.1016/j.hermed.2023.100684.
145. Polka D., Podsędek A., Koziolkiewicz M. Comparison of Chemical Composition and Antioxidant Capacity of Fruit, Flower and Bark of *Viburnum opulus*. *Plant Foods Hum Nutr*. 2019. Vol. 74, Issue 3. P. 436-442. DOI:10.1007/s11130-019-00759-1.
  146. Polyphenols: potential anti-inflammatory agents for treatment of metabolic disorders./ F. Zamani-Garmsiri, S. Emamgholipour, S. Rahmani Fard, G. Ghasempour et al. *Phytotherapy Research*. 2022. Vol. 36, Issue 1. P. 415-432. DOI:10.1002/ptr.7329.
  147. Preclinical Evaluation of Antiurolithiatic Activity of *Viburnum opulus L.* on Sodium Oxalate-Induced Urolithiasis Rat Model./ M. Ilhan, B. Ergene, I. Süntar et al. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014. Vol. 2014, Art. 578103. DOI:10.1155/2014/578103.
  148. Rehman K., Akash M. S. Mechanism of Generation of Oxidative Stress and Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus: How Are They Interlinked. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2017. Vol. 118, Issue 11. P. 3577-3585. DOI:10.1002/jcb.26097.
  149. Relationship of Oxidative Stress as a Link between Diabetes Mellitus and Major Depressive Disorder / G. Z. Réus et al. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019. Vol. 2019. P. 1-6. DOI:10.1155/2019/8637970.
  150. Retention of polyphenols and vitamin C in cranberrybush purée (*Viburnum opulus*) by means of non-thermal treatments./ G. Ozkan, A. S. Stübler, K. Aganovic et al. *Food Chem*. 2021. Vol. 360, Art. 129918. DOI:10.1177/0748233712445049.
  151. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease / Z. Chen et al. *Free Radical Biology and Medicine*. 2020. Vol. 152. P. 116-141. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.025.
  152. Screening of Naturally Grown European Cranberrybush (*Viburnum opulus L.*) Genotypes Based on Physico-Chemical Characteristics./ A. M.

- Çolak, K. Mertoğlu, F. Alan et al. *Foods*. 2022. Vol. 11, Issue 11. P. 1614. DOI: 10.3390/foods11111614.
153. Self assembled snowball-like hybrid nanostructures comprising *Viburnum opulus* L. extract and metal ions for antimicrobial and catalytic applications./ N. Ildiz, A. Baldemir, C. Altinkaynak et al. *Enzyme Microb Technol*. 2017. Vol. 102. P. 60-66. DOI:10.1016/j.enzmictec.2017.04.003.
  154. Short overview on metabolomics approach to study pathophysiology of oxidative stress in cancer / L. Andrisic et al. *Redox biology*. 2018. Vol. 14. P. 47-58. DOI:10.1016/j.redox.2017.08.009.
  155. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*. 2015. Vol. 4. P. 180-183. DOI:10.1016/j.redox.2015.01.002.
  156. Strengthening the Immune System and Reducing Inflammation and Oxidative Stress through Diet and Nutrition: Considerations during the COVID-19 Crisis./ M. Iddir, A. Brito, G. Dingeo, et al. *Nutrients*. 2020; Vol. 12, Issue 6. P. 1562. DOI:10.3390/nu12061562.
  157. Study of Amino Acid Composition and Basic Technological Parameters of *Viburnum* Fruits Harvested in Ukraine. / O. Khvorost, B. Leontiiev, A. Yaroshenko, O. Shpychak. *Journal of Global Pharma Technology*. 2020. Vol. 12, Issue 1.
  158. Substantiation of the efficiency of the method for processing *Viburnum* by the method of osmotic dehydration./ M. Samilyk, D. Korniienko, E. Demidova et al. *EUREKA: Life Sciences*. 2022. P. 60-68. DOI:10.21303/2504-5695.2022.002693.
  159. Supercritical carbon dioxide and pressurized liquid extraction of valuable ingredients from *Viburnum opulus* pomace and berries and evaluation of product characteristics./ P. Kraujalis, V. Kraujalienė, R. Kazernavičiūtė, P. R. Venskutonis et al. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2017. Vol. 122. P. 99-108. DOI:10.1016/j.supflu.2016.12.008.
  160. Szyda Z., Małgorzata & Pietrzyk, Nina. The influence of *Viburnum opulus* polyphenolic compounds on metabolic activity and migration of HeLa and MCF

- cells. *Acta Innovations*. 2019. Vol. 2. P. 33-42. DOI:10.32933/ActaInnovations.31.4.
161. Tabassum N., Ahmad F. Role of natural herbs in the treatment of hypertension. *Pharmacognosy reviews*. 2011. Vol. 9, Issue 5. P. 30-40. DOI:10.4103/0973-7847.79097.
  162. Taspinar T., Güven M., Ağçam E. Bioactivity, volatile profile and physicochemical properties of set-type yogurt enriched with European cranberrybush (*Viburnum opulus L.*) juice during storage. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2021. Vol. 46. DOI:10.1111/jfpp.16212.
  163. Thalacker-Mercer A., Riddle E., Barre L. Protein and amino acids for skeletal muscle health in aging. *Adv Food Nutr Res*. 2020. Vol. 91. P. 29-64. DOI:10.1016/bs.afnr.2019.08.002.
  164. The antihypertensive potential of flavonoids from Chinese Herbal Medicine: A review./ Y. Cao, L. Xie, K. Liu, Y. Liang et al. *Pharmacological Research*. 2021. Vol. 174, Art. 105919. P.1-7. DOI:10.1016/j.phrs.2021.105919.
  165. The Effect of Gilaburu (*Viburnum opulus*) Juice on Ehrlich Ascites Tumor (EAT) Cell Culture./ Ö. Al, H. Ülger, T. Eetekin et al. *Proceedings*. 2017. Vol. 1, Issue 10. P. 1051. DOI:10.3390/proceedings1101051.
  166. The Effect of Simulated *In Vitro* Digestion on Biological Activity of *Viburnum opulus* Fruit Juices./ N. Pietrzyk, M. Zakłós-Szyda, M. Redzynia, A. Podsędek. *Molecules*. 2021. Vol. 26, Issue 13. P. 4086. DOI: 10.3390/molecules26134086.
  167. The effects of gilaburu (*Viburnum opulus*) juice on experimentally induced Ehrlich ascites tumor in mice./ D. Ceylan, A. Aksoy, T. Ertekinet al. *J. Cancer Res Ther*. 2018. Vol. 14, Issue 2. P. 314-320. DOI:10.4103/0973-1482.181173.
  168. The evaluation of the effectiveness of Gilaburu (*Viburnum opulus L.*) extract in the medical expulsive treatment of distal ureteral stones./ F. Kızılay, V. Ülker, O. Çelik et al. *Turk J Urol*. 2019. Vol. 45, Issue 1. P. 63-69. DOI:10.5152/tud.2019.23463.



169. The impact of silver nanoparticles phytosynthesized with *Viburnum opulus* L. extract on the ultrastructure and cell death in the testis of offspring rats./ C. Bidian, G. A. Filip, L. David et al. *Food Chem Toxicol.* 2021. Vol. 150, Art. 112053. DOI: 10.1016/j.fct.2021.112053.
170. The pharmacological activity, biochemical properties, and pharmacokinetics of the major natural polyphenolic flavonoid: Quercetin./ G. S. Batiha, A. M. Beshbishy, M. Ikram, Z. S. Mulla et al. *Foods.* 2020. Vol. 9, Issue 3, Art. 374. P. 1-16. DOI:10.3390/foods9030374.
171. The quantitative content determination of main groups of biologically active substances in batches of *Viburnum opulus* fruits. / O. P. Khvorost, B. S. Leontiev, Yu. A. Fedchenkova, K. S. Skrebtsova. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії.* 2022. Vol. 20, Issue 1. P. 57-62.
172. The Short Overview on the Relevance of Fatty Acids for Human Cardiovascular Disorders./V. S. Shramko, Y. V. Polonskaya, E. V. Kashtanova et al. *Biomolecules.* 2020. Vol. 10, Issue 8. P. 1127. DOI:10.3390/biom10081127.
173. Trace Elements in Ovaries: Measurement and Physiology./ M.J. Ceko, S. O'Leary, H.H. Harris et al. *Biol. Reprod.* 2016. Vol. 94, Issue 4. P. 86. DOI:10.1095/biolreprod.115.137240.
174. Trace minerals intake: Risks and benefits for cardiovascular health./ N. Mohammadifard, K.H. Humphries, C. Gotay et al. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2019. Vol. 59, Issue 8. P. 1334-1346. DOI:10.1080/10408398.2017.1406332.
175. Tyhyi T.I. Cranberry tree (*Viburnum opulus* L.) accessions of the L.P. Symyrenko pomology experimental station of the institute of horticulture in the forest-steppe of Ukraine. *Plant Genetic Resources.* 2020. P. 77-85. DOI:10.36814/pgr.2020.27.07.
176. Update on endometriosis pathogenesis./ A. Czyzyk, A. Podfigurna, A. Szeliga, B. Meczekalski. *Minerva Ginecol.* 2017. Vol. 69, Issue 5. P. 447-461. DOI:10.23736/S0026-4784.17.04048-5.

177. Valorization of European Cranberry Bush (*Viburnum opulus* L.) Berry Pomace Extracts Isolated with Pressurized Ethanol and Water by Assessing Their Phytochemical Composition, Antioxidant, and Antiproliferative Activities./ L. Dienaitė, M. Pukalskienė, C. V. Pereira et al. *Foods*. 2020. Vol. 9, Issue 10. P. 1413. DOI:10.3390/foods9101413.
178. Variation in volatile and fatty acid contents among *Viburnum opulus* L. fruits growing different locations./ M. Zarifikhosroshahi, Z. T. Murathan, E. Kafkas, V. Okatan et al. *Scientia Horticulturae*. 2020. Vol. 264, Art. 109160. DOI:10.1016/j.scienta.2019.109160.
179. Vascular Inflammation and Oxidative Stress: Major Triggers for Cardiovascular Disease / S. Steven et al.. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019. Vol. 2019. P. 1-26. DOI:10.1155/2019/7092151.
180. *Viburnum opulus* fruit extract-capped gold nanoparticles attenuated oxidative stress and acute inflammation in carrageenan-induced paw edema model./ C. Bidian, A. Filip, L. David et al. *Green Chemistry Letters and Reviews*. 2022. Vol. 15. P. 319-335. DOI:10.1080/17518253.2022.2061872.
181. *Viburnum opulus* L. fruit phenolic compounds protect against FFA-induced steatosis of HepG2 cells via AMPK pathway./ N. Pietrzyk, M. Zakłos-Szyda, M. Koziółkiewicz, A. Podsędek et al. *J.of Functional Foods*. 2021. Vol. 80, Art. 104437. DOI:10.1016/j.jff.2021.104437.
182. *Viburnum opulus* L.: A remedy for the treatment of endometriosis demonstrated by rat model of surgically-induced endometriosis./ G. Saltan, I. Süntar, S. Ozbilgin et al. *J. Ethnopharmacol.* 2016. Vol. 193. P. 450-455. DOI: 10.1016/j.jep.2016.09.029.
183. *Viburnum opulus* Fruit Phenolic Compounds as Cytoprotective Agents Able to Decrease Free Fatty Acids and Glucose Uptake by Caco-2 Cells./ M. Zakłos-Szyda, N. Pawlik, D. Polka. *Antioxidants* (Basel). 2019. Vol. 8, Issue 8. P.262. DOI:10.3390/antiox8080262.
184. *Viburnum opulus* L. Juice Phenolic Compounds Influence Osteogenic Differentiation in Human Osteosarcoma Saos-2 Cells./ M. Zakłos-Szyda, A.

- Nowak, N. Pietrzyk et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2020. Vol. 21, Issue 14. P. 4909. DOI: 10.3390/ijms21144909.
185. *Viburnum opulus* L. Juice Phenolics Inhibit Mouse 3T3-L1 Cells Adipogenesis and Pancreatic Lipase Activity./ M. Zakłos-Szyda, N. Pietrzyk, M. Szustak et al. *Nutrients*. 2020. Vol 12, Issue 7. P. 2003. DOI:10.3390/nu12072003
  186. *Viburnum opulus*: could it be a new alternative, such as lemon juice, to pharmacological therapy in hypocitraturic stone patients?/ D. Tuglu, E. Yılmaz, E. Yuvanc et al. *Arch. Ital. Urol. Androl.* 2014. Vol. 86, Issue 4. P. 297-299. DOI:10.4081/aiua.2014.4.297.
  187. Wagner C.A. Etiopathogenic factors of urolithiasis. Factores etiopatogénicos de la urolitiasis. *Arch. Esp. Urol.* 2021. Vol. 74, Issue 1. P. 16-23.
  188. Xu X., Pan J., Zhou X. Amelioration of Lipid Profile and Level of Antioxidant Activities by Epigallocatechin-gallate in a Rat Model of Atherogenesis. *Heart, Lung and Circulation*. 2014. Vol. 23, Issue 12. P. 1194-1201. DOI: 10.1016/j.hlc.2014.05.013.
  189. Yamagata K. Fatty acids act on vascular endothelial cells and influence the development of cardiovascular disease. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2023. Vol. 165, Art. 106704. DOI:10.1016/j.prostaglandins.2023.106704.
  190. Yıldız R., Ekici H., Yarsan E. Antioxidant effects of *Viburnum opulus* on Streptozotocin-induced experimental diabetic rats. *J. of Applied Biol. Sci.* 2020. Vol. 14, Issue 2. P. 124–135.
  191. Yilmaztekin M., Sislioglu K. Changes in volatile compounds and some physicochemical properties of European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) during ripening through traditional fermentation. *J. Food Sci.* 2015. Vol. 80, Issue 4. P. 687-694. DOI: 10.1111/1750-3841.12836.
  192. Yorek M.A. The Potential Role of Fatty Acids in Treating Diabetic Neuropathy. *Curr. Diab. Rep.* 2018. Vol. 18, Issue 10. P. 86. DOI:10.1007/s11892-018-1046-9.

193. Zeng X., Xi Y., Jiang W. Protective roles of flavonoids and flavonoid-rich plant extracts against urolithiasis: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2019. Vol. 59, Issue 13. P. 2125-2135. DOI:10.1080/10408398.2018.1439880.
194. Zhang Y. Trace Elements and Healthcare: A Bioinformatics Perspective. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017. Vol. 1005. P. 63-98. DOI:10.1007/978-981-10-5717-5\_4.

## **ДОДАТКИ**

## Додаток А

## Список публікацій здобувача

1. Study of Amino Acid Composition and Basic Technological Parameters of Viburnum Fruits Harvested in Ukraine. / O. Khvorost, B. Leontiev, A. Yaroshenko, O. Shpychak. *Journal of Global Pharma Technology*. 2020. Vol. 12, Issue 1. P. (Особистий внесок здобувача – проведено пробопідготовку та аналіз літературних даних, приймав участь у виконанні аналітичних досліджень, в аналізі даних, формулюванні висновків, оформленні статті).
2. The quantitative content determination of main groups of biologically active substances in batches of Viburnum opulus fruits / O. P. Khvorost, B. S. Leontiev, Yu. A. Fedchenkova, K. S. Skrebtsova. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2022. Vol. 20 (1). P. 57-62 (Особистий внесок здобувача – проведено заготівлю сировини, пробопідготовку та аналіз літературних даних, приймав участь у проведенні кількісного визначення, в аналізі отриманих даних, формулюванні висновків, оформленні статті).
3. Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Дослідження елементного складу серій плодів калини звичайної (*Viburnum opulus* L.). *Фармац. журн.* 2023. Т. 78, № 5. С. 62-70. (Особистий внесок здобувача – проведено заготівлю сировини, пробопідготовку та аналіз літературних даних, приймав участь у проведенні кількісного визначення, в аналізі отриманих даних, формулюванні висновків, оформленні статті).
4. Хворост О. П., Леонтієв Б.С. Компонентний склад ряду сполук фенольної природи у плодах *Viburnum opulus* L. *Аннали Мечніковського інституту*. 2023. № 4. (Особистий внесок здобувача – проведено заготівлю сировини, пробопідготовку та аналіз літературних даних, приймав участь у проведенні кількісного визначення, в аналізі

отриманих даних, формулюванні висновків, оформленні статті).  
[www.imiamn.org.ua/journal.htm](http://www.imiamn.org.ua/journal.htm) DOI: 10.5281/zenodo.10256992

5. Леонтьєв Б. С., Шпичак О. С., Хворост О. П., Скребцова К. С. Спосіб одержання засобу з антимікробною та антиоксидантною активністю з плодів калини: пат. на кор. мод. А 61К 36/35, А 61К 131/00, А 61Р 31/04, А 61Р 17/18, 150940, Україна. № заявки а202106952; заявл. 06.12.2021; опубл. 11.05.2022, Бюл. № 19. (Особистий внесок – брав участь у патентному пошуку, одержанні лікарського рослинного засобу та оформленні патенту).
6. Leontiiev B., Fedchenkova J., Khvorost O. Fatty acids in the components of *Viburnum opulus* fruit. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2019. Vol. 29 (2). P. 59-61.
7. Леонтиев Б. С., Хворост О. П. Определение количественного содержания аскорбиновой кислоты в плодах калины обыкновенной. *Актуальные вопросы современной медицины и фармации*: Сб. Мат. 69-й итоговой научно-практ. конф. студ. и молодых ученых, г. Витебск, 19-20 апрель 2017. В.: ВГМУ. 2017. С. 644.
8. Leontiev B. S. Quntative finding organic acides in series of fruits *Viburni opulus*. *Topical issues of new drugs development: abstracts of XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 20, 2017. Kh., 2017. Vol. 1. P. 89.
9. Леонтьєв Б. С., Хворост О. П. Динаміка вилучення екстрактивних речовин з плодів калини звичайної. *Промислова фармація: етапи становлення та майбутнє* : зб. наук. пр. Міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 25-річчю з дня відкриття спец. "Промислова фармація" в Україні, м. Харків, 29-30 верес. 2017 р. - Х., 2017. С. 87.
10. Леонтьєв Б. С., Скребцова К. С. Дослідження перспективного виду рослинної сировини калини звичайної / *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного*

*походження* : мат. І Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. м. Харків, 5 квіт. 2018 р. Х. : НФаУ. 2018. С. 81.

11. Леонтьєв Б. С., Скребцова К. С. Визначення числових показників рослинної сировини калини звичайної. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження д-ра фармац. наук, професора О. М. Гайдукевича, м. Харків, 12-13 квіт. 2018 р. Х.: НФаУ. 2018. С. 279.
12. Leontiev B. S., Khvorost O. P. Finding morphological and anatomical differences of sorts of *viburnum opulus*. *Topical issues of new drugs development: abstracts of XXV international scientific and practical conference of young scientists and student*, April 18-20, 2018. Kh., 2018. P. 54.
13. Леонтьєв Б.С. Перспективні групи БАР, що містяться у плодах калини звичайної. *Scientific Research Priorities – 2018 : theoretical and practical value: Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference*, Nowy Sącz, Poland, June 26-29, 2018. Nowy Sącz., 2018. P. 176.
14. Leontiiev B., Khvorost O. Morphometric marks research of fruits of the *Viburnum opulus* in different sorts. *Science and practice* : Mat. 9<sup>TH</sup> International conference of pharmacy, 2018 9th of Novemver, 2018 Lithuanian University of Health Sciences, Sukilėlų 13, Kaunas Lithuania. P. 72.
15. Леонтиев Б.С., Хворост О.П. Фармакогностическое изучение семян различных сортов калины обыкновенной. *Роль и место инновационных технологий в современной медицине: мат. 66-ой годичной научно-практической конференции ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием*, г. Душанбе 23 ноября 2018. Душанбе, 2018. ТОМ II. С. 374-375.



- 16.Леонтієв Б.С., Хворост О.П. Перспективи застосування плодів калини звичайної в медицині. *Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф. 14-15 березня 2019 року. у2-х т. Х. : НФаУ, 2019. Т. 2. С. 163.
- 17.Леонтієв Б. С., Зудова Є. Ю., Хворост О. П. Перспективи використання лікарської рослинної сировини в Україні. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку*: матеріали XI наук.-практ. інтернет - конф., м. Харків, 24 травня 2019 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 125-126.
- 18.Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Використання екстракту з плодів калини звичайної у м'яких лікарських формах для лікування дерматологічних захворювань. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : мат. IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 14-15 листоп. 2019 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2019. С. 119-120.
- 19.Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Оцінка сировинної бази плодів калини звичайної у деяких регіонах України. *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. 87.
- 20.Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Створення нових фітозасобів з маловивчених рослинних джерел. *Застосування методів лікування і аніпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці*: мат. міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, м. Харків, 25 берез. 2020 р. Харків: Вид-во НФаУ, 2020. С. 151-152.
- 21.Леонтієв Б. С., Хворост О. П. Можливості комплексної переробки вітчизняної сировини - плодів калини звичайної. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських*

засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження : матеріали III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 2 квіт. 2021 р. Харків, 2021. С. 125.

22. Леонтьєв Б. С., Хворост О. П. Використання сировини плодів калини звичайної як джерела отримання флавоноїдів. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи*: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 100-річчю Національного фармацевтичного університету, м. Харків, 10 верес. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 214.
23. Определение оптимальных параметров технологии получения субстанций из перспективных видов растительного сырья./ О.П. Хворост, И.Ю. Посохова, Б.С. Леонтиев, Е.Ю. Зудова. *Актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли* : мат. I-ой Республ. науч.-практич. конф. с междунар. уч. г. Ташкент, 25-26 апреля 2023 г. Электрон. данные. Ташкент: 2023. С. 172.
24. Перспективи застосування природних антиоксидантів в відновленні пацієнтів після ряду захворювань./ О. П. Хворост, Т. В. Опрошанська, І. Ю. Посохова, Є. Ю. Зудова та ін. *Мультидисциплінарний підхід у фізичній реабілітаційній медицині*: мат. Всеукр. конф. 26 травня 2023 року, м. Харків. Х.: Вид-во НфаУ, 2023. С.37.
25. Леонтьєв Б. С., Хворост О. П., Вельма С. В. Фармакогностичне вивчення плодів калини звичайної. *Фундаментальні та прикладні дослідження в сучасній хімії та фармації*: мат. IX Міжнародної заочної науково-практичної конференції молодих учених : Ніжин, 23 травня 2023 р. / заг. ред. В. В. Суховєєва. м. Ніжин : НДУ ім. Миколи Гоголя, 2023. С 29.

### **Апробація результатів дослідження**

1. 69-я итоговая научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины и фармации» (г. Витебск, 19-20 апреля. 2017 г.)

2. XXIV international scientific and practical conference of young scientists and student «*Topical issues of new drugs development*» (Kharkiv, April 20 2017)
3. Міжнародна науково-практична конференція, присвячена 25-річчю з дня відкриття спец. "Промислова фармація" в Україні «*Промислова фармація : етапи становлення та майбутнє*» (м. Харків, 29-30 вересня 2017 р.)
4. I Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «*Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*» (м. Харків, 5 квітня 2018р.)
5. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження д-ра фармац. наук, професора О. М. Гайдукевича «*Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*» (м. Харків, 12-13 квітня 2018 р.)
6. XXV international scientific and practical conference of young scientists and student «*Topical issues of new drugs development*» (Kharkiv, April 12-20 2018)
7. II International Scientific and Practical Conference "Theoretical and practical value: Proceedings of the Scientific Research Priorities – 2018" (Nowy Sącz, June 26-29 2018)
8. 9<sup>TH</sup> International conference of pharmacy «*Science and practice*» (Kaunas November 9 2018)
9. 66-я годовичная научно-практическая конференция ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием «*Роль и место инновационных технологий в современной медицине*» (г. Душанбе 23 ноября 2018)
10. III Міжнародна науково-практична конференція «*Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*» (м. Харків, 14-15 березня 2019 р)
11. XI науково-практична інтернет-конференція «*Фармакоєкономіка в Україні: стан та перспективи розвитку*» (м. Харків, 24 травня 2019 р.)

- 12.IV Міжнародна науково-практична інтернет-конференція *«Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії»* (м. Харків, 14-15 листопада 2019 р.)
- 13.II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція *«Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження»* (м. Харків, 11 березня 2020 р.)
- 14.Міжнародна науково-практична конференція, присвячена пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова *«Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці»* (м. Харків, 25 березня 2020 р.)
- 15.III Міжнародна науково-практична інтернет-конференція *«Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження»* (м. Харків, 2 квітня 2021 р.)
- 16.Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 100-річчю Національного фармацевтичного університету *«Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи»* (м. Харків, 10 верес. 2021 р.)
- 17.I-я Республиканская научно-практическая конференция с международным участием *«Актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли»* (г. Ташкент, 25-26 апреля 2023 г.)
- 18.Всеукраїнська конференція *«Мультидисциплінарний підхід у фізичній реабілітаційній медицині»* (м. Харків, 26 травня 2023 р.)
- 19.IX Міжнародна заочна науково-практична конференція молодих учених *«Фундаментальні та прикладні дослідження в сучасній хімії та фармації»* (м. Ніжин, 23 травня 2023 р.)



## Додаток Б



Продовж. дод. Б



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **150940** (13) **U**

(51) МПК

**A61K 36/35** (2006.01)**A61K 131/00** (2006.01)**A61P 31/04** (2006.01)**A61P 17/18** (2006.01)

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

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**(21) Номер заявки: **u 2021 06952**(22) Дата подання заявки: **06.12.2021**(24) Дата, з якої є чинними  
права інтелектуальної  
власності: **12.05.2022**(46) Публікація відомостей  
про державну  
реєстрацію: **11.05.2022, Бюл.№ 19**

(72) Винахідник(и):

**Леонтієв Богдан Станиславович (UA),  
Шпичак Олег Сергійович (UA),  
Хворост Ольга Павлівна (UA),  
Скребцова Катерина Сергіївна (UA)**

(73) Володілець (володільці):

**Шпичак Олег Сергійович,  
вул. Світла, 11-А, кв. 76, м. Харків,  
61121 (UA)**

**(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З АНТИМІКРОБНОЮ ТА АНТИОКСИДАНТНОЮ АКТИВНІСТЮ З ПЛОДІВ КАЛИНИ**

(57) Реферат:

Спосіб одержання засобу з антимікробною та антиоксидантною активністю включає екстракцію рослинної сировини спиртом етиловим 96 %, фільтрування та упарювання під вакуумом. Як рослинну сировину використовують плоди калини, екстракцію здійснюють 90-96 % спиртом етиловим шляхом настоювання при кімнатній температурі впродовж 12 годин, при загальному співвідношенні сировина:екстрагент - 1:5, з відокремленням від сировини та подальшим відстоюванням впродовж 1 години та концентруванням під вакуумом до видалення розчинника - до густого залишку.

**UA 150940 U**



## Додаток В

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ  
З ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ  
ТА КОНТРОЛЮ ЗА НАРКОТИКАМИ  
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО  
"УКРАЇНСЬКИЙ НАУКОВИЙ  
ФАРМАКОПЕЙНИЙ ЦЕНТР  
ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ"



STATE SERVICE OF UKRAINE  
ON MEDICINES  
AND DRUGS CONTROL  
STATE ENTERPRISE  
"UKRAINIAN SCIENTIFIC  
PHARMACOPOEIAL CENTER  
FOR QUALITY OF MEDICINES"

61085, м. Харків, вул. Астрономічна, 33. [http:// www.sphu.org](http://www.sphu.org), E-mail: [phukr@phukr.kharkov.ua](mailto:phukr@phukr.kharkov.ua)  
Тел. +38 099 2932583 ФСЗ, +38 050 4056222 ППТ, +38 099 1800602 ЛФА, +38 099 1800603 гр. біол. методів,  
+38 099 1800601 бухгалтерія, +38 099 1800604 відділ кадрів

Від 08.12.2023 № 118-3  
На \_\_\_\_\_ № \_\_\_\_\_

Акт про участь Леонтієв Б.С. у розробці проекту монографії  
«Калини плоди<sup>Н</sup>»

Леонтієв Б.С. у складі групи «Лікарська рослинна сировина» брав участь в експериментальних дослідженнях щодо вивчення макроскопічних та мікроскопічних ознак лікарської рослинної сировини, а також ідентифікації методом ТШХ в процесі розробки національної монографії на калини плоди у відповідності до вимог ДФУ та ЄФ.

В результаті був розроблений проект розділу Ідентифікація А та В (макроскопія, мікроскопія) для проекту національної монографії у ДФУ 2.4 «Калини плоди<sup>Н</sup>»

Директор ДП «Фармакопейний центр»,  
д.х.н., професор



О.І. Гризодуб

## Додаток Г

ПРОЄКТ  
ЗАТВЕРДЖУЮ



Проректор з науково-педагогічної  
роботи Національного  
фармацевтичного університету  
Інна ВЛАДИМИРОВА

15 листопада 2023 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

## МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

*Viburni opuli Fructis extractum spissum*

Калини звичайної плодів екстракт густий



## Продовж. дод. Г

додають 1,0 мл фосфорномолібденово-позитивного реактиву Р. 10,0 мл сумі Р, перемішуючи після кожного додавання, та доводять натрієм карбонатом розчином Р до об'єму 25,0 мл. Через 30 хв вимірюють оптичну густина (2.2.25) розчину за довжиною хвилі 760 нм, використовуючи як компенсаційну рідину воду Р.

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

$$\frac{62,5 \times A_1 \times m_1 \times P}{A_0 \times m_1 \times 100}$$

$A_1$  — оптична густина випробовуваного розчину.

$A_0$  — оптична густина розчину порівняння.

$m_1$  — маса навідки випробовуваної сировини, у міліграмах.

$m_2$  — маса навідки ФСЗДФУ пірогалолу, у міліграмах.

$P$  — вміст пірогалолу у ФСЗДФУ пірогалолу, у відсотках.

Вміст суми поліфенолів має бути не менше 6 %.

**УПАКОВКА**

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

**МАРКУВАННЯ**

На етикетці ємності українською мовою вказують «Україна», «Розробка НФаУ, 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 °С в сухому захищеному від світла місці.

**ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ**

2 роки.

Антимікробний, антиоксидантний засіб.

Професор ЗВО кафедри фармакології

та нутриціології професорка

Аспірант кафедри фармакології

та нутриціології

О. П. Хворост

«14» 11 2023 р.

Б. С. Леонтів

«14» 11 2023 р.

## Додаток Д

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**

Проректор закладу вищої освіти  
з наукової роботи  
Тернопільського національного  
медичного університету  
імені І.Я. Горбачевського  
МОЗ України



проф. І. М. Кліщ

«12 травня» 2023 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати вивчення компонентного складу жирних кислот плодів калини звичайної.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант Леонтієв Б. С.
3. **Джерела інформації:** Leontiev B., Khvorost O., Fedchenkova Yu. Fatty acids in the components of *Viburnum opulus* fruit. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2019. №29 (2). P. 59-61.
4. **Впроваджено:** кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.
5. **Форма впровадження:** в навчальний процес при вивченні теми «Жирні олії» та в науково-дослідницьку роботу.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань здобувачів вищої освіти з аналізу лікарської рослинної сировини.
7. **Терміни впровадження:** 2022-2023 навчальний рік.

Затверджено на засіданні кафедри, протокол № 6 від 16 травня 2023 р.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри фармакогнозії  
з медичною ботанікою Тернопільського  
національного медичного університету  
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України  
д. фарм. наук, професор

С. М. Марчишин

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Ректор Ніжинського державного  
 університету імені Миколи Гоголя  
**Олександр САМОЙЛЕНКО**  
 03 2023 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати вивчення кількісного вмісту ряду груп БАР в плодах калини звичайної.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант Леонтієв Б.С.

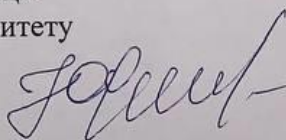
**Джерела інформації:** The quantitative content determination of main groups of biologically active substances in batches of *Viburnum opulus* fruits / O. P. Khvorost1, B. S. Leontiev1, Yu. A. Fedchenkova, K. S. Skrebtsova. J. of Org. and Pharm. Chem. 2022. Vol. 20(1). P. 58-62.

3. **Впроваджено:** кафедра хімії та фармації Ніжинського державного університету ім. Миколи Гоголя.
4. **Форма впровадження:** в науково-дослідницьку роботу.
5. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань стосовно аналізу лікарської рослинної сировини.
6. **Терміни впровадження:** 2022-2023 н. р.

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

#### Відповідальний за впровадження:

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

 Ю. А. Федченкова