

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Мохаммед Шахм Басім

УДК 615.32:582.47:582.711.71

ДИСЕРТАЦІЯ

Фармакогностичне вивчення *Prunus domestica* L.

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

Ш. Б. Мохаммед

Науковий керівник: Ленчик Лариса Володимирівна, доктор фармацевтичних наук,
професор

Харків – 2021

АНОТАЦІЯ

Мохаммед Шахм Басім. Фармакогностичне вивчення *Prunus domestica* L. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» (22 – Охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2021.

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

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

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

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

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

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

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

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

У сливи плодах свіжих сорту Стенлей було проведено визначення складу фенольних сполук якісними реакціями та хроматографічними методами. Методом ВЕРХ було ідентифіковано флавоноїди рутин, кверцетин, нарингін; сумарний вміст ідентифікованих флавоноїдів складав $419,69 \pm 3,94$ мкг/г; домінували рутин ($183,53 \pm 0,76$ мкг/г) та кверцетин ($161,20 \pm 0,45$ мкг/г). Також методом ВЕРХ були ідентифіковані 5 гідроксикоричних кислот: хлорогенова, кофейна, *p*-кумарова, синапова й корична та 2 одноосновних кислоти ароматичного ряду – бензойна і

сирінгова. Сумарний вміст визначених фенольних речовин складав $105,00 \pm 2,73$ мкг/г; $83,20 \pm 2,11$ % від суми усіх ідентифікованих методом ВЕРХ речовин припадало на гідроксикоричні кислоти. Уперше встановлено в плодах сливи домашньої сорту Стенлей, заготовлених в Україні, наявність синапової кислоти.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Розроблено проєкт МКЯ на рідкий екстракт «Прунофен» за такими показниками: опис, ідентифікація (метод ТШХ), залишкові кількості органічних розчинників (етанол – від 46 % (об/об) до 52 % (об/об)), сухий залишок (не менше 15 %), важкі метали (не більше 10 ppm), мікробіологічна чистота та вміст

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

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

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

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

Список публікацій здобувача

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ANNOTATION

Mohammed Shahm Basim Pharmacognostic study of *Prunus domestica* L. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for a Doctor of Philosophy degree by specialty 226 “Pharmacy, Industrial Pharmacy” (22 – Health care). – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The dissertation is devoted to pharmacognostic study of plum fruits, standardization of medicinal plant raw material, development of optimal technology for obtaining herbal medicines with laxative, hepatoprotective, uricosuric and membrane stabilizing activity, their standardization and development of Quality Control Methods (QCM).

A preliminary study of the sum of phenolic compounds, organic acids, hydroxycinnamic acids and flavonoids was carried out in the fresh fruits of the six most common varieties in Ukraine - Bluefrey, Anna Shpet, Amers, Stanley, Ugorka Donetska and Renklod. Based on the results of the research, Stanley plums were selected for in-depth study and development of drugs based on them.

A study of the composition of biologically active substances (BAS) of fresh fruits of Stanley variety plum with qualitative reactions, as well as methods of paper, thin-layer, gas, high performance liquid chromatography (HPLC) and atomic absorption spectrometry was carried out. As a result of the conducted researches the presence of water-soluble polysaccharides, pectin substances, monosaccharides, alcohols, phenolic compounds, including hydroxycinnamic acids and flavonoids, mineral elements was established.

Thirteen macroelements and microelements were found in five series of Stanley variety plums. The total amount of macro- and microelements ranged from 674,03 to 740,62 mg/100 g. The content of heavy metals was beyond the detection of the device, all samples of plums met the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPhU). In the fruits of Stanley variety plums 15 free amino acids and 16 bound were identified, with the highest content of free amino acids: L-alanine ($0,81 \pm 0,01$ µg/mg) and L-serine

($0,51 \pm 0,01$ $\mu\text{g}/\text{mg}$); among the bound amino acids the highest content was determined for L-asparagine ($8,05 \pm 0,05$ $\mu\text{g}/\text{mg}$), L-glutamine ($2,57 \pm 0,01$ $\mu\text{g}/\text{mg}$), L-leucine ($1,00 \pm 0,01$ $\mu\text{g}/\text{mg}$) and L-valine ($0,96 \pm 0,01$ $\mu\text{g}/\text{mg}$).

In the course of research, the content of water-soluble polysaccharides and pectin substances, as well as sorbitol and free sugars in plum fruits was determined by chromatomass spectrometry (GC-MS). To extract pectin substances from plum fruits, the optimal extractant was determined gravimetrically. It was established that the optimal extractant was a 1 % solution of citric acid. The yield of pectin complex during extraction was $8,63 \pm 0,04$ %.

The content of neutral sugars was spectrophotometrically studied in the obtained polysaccharide complexes (PSC) and cake of plum fruits. The highest content of neutral sugars was determined in PSC – $61,52 \pm 1,47$ %, in cake of plum fruits it was found as $59,23 \pm 1,15$ %, in pectin complex – $22,85 \pm 0,55$ %.

Sorbitol ($1,91 \pm 0,01$ %), fructose ($2,90 \pm 0,01$ %), glucose ($3,51 \pm 0,01$ %); seven organic acids, namely: four dicarboxylic, one tricarboxylic, one alicyclic acid and ascorbic acid were found in fresh plums fruits of Stanley variety by GC-MS method. The dominant substances were malic ($2010,25 \pm 91,39$ $\text{mg}/100$ g) and succinic acid ($630,75 \pm 26,61$ $\text{mg}/100$ g). For the first time, the presence of fumaric acid in the fruits of Stanley variety plums harvested in Ukraine was established.

In fresh plums of Stanley variety, the composition of phenolic compounds was determined by qualitative reactions and chromatographic methods. The flavonoids rutin, quercetin, naringin were identified by HPLC; the total content of identified flavonoids was $419,69 \pm 3,94$ $\mu\text{g}/\text{g}$; rutin ($183,53 \pm 0,76$ $\mu\text{g}/\text{g}$) and quercetin ($161,20 \pm 0,45$ $\mu\text{g}/\text{g}$) dominated. Also, five hydroxycinnamic acids were identified by HPLC: chlorogenic, caffeic, *p*-coumaric, sinapic and cinnamic acids as well as two monobasic acids of the aromatic series – benzoic and syringic. The total content of determined phenolic substances was $105,00 \pm 2,73$ $\mu\text{g}/\text{g}$; hydroxycinnamic acids accounted for $83,20 \pm 2,11$ % of the sum of all substances identified by HPLC. For the first time, the presence of sinapic acid in Stanley variety plums harvested in Ukraine was established.

The content of different classes of phenolic compounds in plum fruits was determined spectrophotometrically. The content of the sum of phenolic compounds calculated with reference to pyrogallol in plum fruits was found as $1,98 \pm 0,02$ % (dry weight). The content of anthocyanins in fresh plum fruits was $0,02 \pm 0,001$ %. The content of flavonoids with reference to rutin was $0,026 \pm 0,002$ %. The content of the sum of hydroxycinnamic acids, with reference to chlorogenic acid, in fresh plum fruits was $0,54 \pm 0,01$ %.

At the base of comparative analysis of plum fruit quality indicators, which are regulated by DSTU 21920-76 «Fresh plums and cherry plums. Technical conditions», ST SEV 4304-83 «Fresh plums» and own research the project of Quality Control Methods (QCM) «Domestic Plums Fresh Fruits» by the following parameters: macro- and microscopic features, identification A, B and C; tests: impurities, other impurities, loss on drying, total ash, ash, insoluble in hydrochloric acid; content of phenolic compounds with reference to pyrogallol (not less than 1,8 %) spectrophotometrically, the content of organic acids with reference to malic acid (not less than 1 %) titrimetrically was carried out.

Schemes for obtaining extracts of Prunofen and Plum fruit polysaccharide complex (PFPS) were developed from fresh plums. The developed technology of complex processing of plums is ecologically safe, is characterized by availability, possibility of implementation on the standard equipment in industrial conditions of Ukraine; does not require work with toxic and harmful to human health reagents, and uses as raw materials plums that have a sufficient raw material base. The novelty of the research is confirmed by the patent of Ukraine for a utility model № 118457 and the patent of Ukraine for an invention № 118602.

Schemes for obtaining extracts of Prunofen and PFPS were tested in the conditions of PJSC «Chervona Zirka «Chemical & Pharmaceutical Plant».

The content of alcohols: sorbitol and glycerol, free monosaccharides and organic acids was studied in the extracts obtained according to the developed scheme by the GC-MS method. The study was conducted in comparison with the content of these substances in the obtained from plums fruits pectin complex. The presence of organic acids was

found in all investigated substances, the highest content of which was malic acid. The total content of organic acids in the pectin complex was $15,41 \pm 0,12$ g/kg, in PFPSC – $12,93 \pm 0,10$ g/kg and in Prunofen – $21,78 \pm 0,12$ g/kg with reference to dry matter. The highest content of succinic acid was determined in PFPSC ($2,13 \pm 0,01$ g/kg). The highest content of ascorbic acid was observed in the Prunofen ($1,02 \pm 0,01$ g/kg).

The content of sorbitol and glycerol was the highest in PFPSC – $10,47 \pm 0,05$ mg/100 mg and $3,29 \pm 0,12$ mg/100 mg, respectively, which gave reason to consider it a more promising complex for determining the laxative effect. The glucose content in all three substances was higher than the fructose content: in Prunofen by 5,58 %, in PFPSC by 17,50 %, and in the pectin complex by 13,71 %.

Amino acid content was determined in PFPSC and pectin complex. 15 free and 16 bound amino acids were found in the pectin complex. The content of L-aspartic acid was the highest, in addition, the presence of essential amino acids – threonine, valine, isoleucine, leucine, phenylalanine and histidine was determined; lysine was found only among bound amino acids. The amount of bound amino acids was $32,51 \pm 0,88$ µg/mg, and the free content was 3,62 % of the amount of bound amino acids. L-asparagine and L-proline predominated among the free amino acids, their sum was 44.07% of all amino acids. Bound amino acids were dominated by L-aspartic and L-glutamic acids, accounting for 35% of the total number of bound amino acids.

The amino acid composition of PFPSC had differences in comparison with the pectin complex. It was found 16 free amino acids and 15 bound in the PFPSC, methionine was only among the free amino acids. The amount of bound amino acids in PFPSC was $37,94 \pm 1,75$ µg/mg and free amino acids were $2,29 \pm 0,92$ µg/mg. Among the free amino acids in PFPSC, aspartic, glutamic acid and serine dominated, and among the bound amino acids in PFPSC, aspartic, glutamic acid and leucine dominated, and in total their content was 54,59 % of all free amino acids.

Free amino acids predominated in PFPSC compared to pectin complex by 94 %, and bound – by 16,7 %.

The content and composition of phenolic compounds were studied chromatographically by paper chromatography, TLC and HPLC in the substance

Prunofen. The total amount of identified compounds was 2858 ± 80 mg/kg. The share of hydroxycinnamic acids accounted for 97,00 %; flavonoids – 1,08 %, and phenolic acids – 2,00 %. Gallic acid, rutin, chlorogenic, neochlorogenic and caffeic acids were detected; neochlorogenic acid (2320 ± 42 mg/kg) predominated in Prunofen extract.

The content and composition of volatile compounds in Prunofen extract were also analyzed by GC-MS and eight compounds, with the highest content of 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde, 1,2,3,5-cyclohexantetrol and maltol, were identified.

The elemental composition of the pectin complex from fresh plums and PFPSC was studied by atomic absorption spectrometry, 21 elements with the highest content in PFPSC were investigated. The dominant elements in all extracts were potassium, silicon, magnesium and calcium. Arsenic, cadmium, cobalt, mercury, lead and molybdenum were not detected in the extracts.

The QCM project for liquid extract «Prunofen» was developed according to the following indicators: description, identification (TLC method), residual amounts of organic solvents (ethanol – from 46 % (*vol/vol*) to 52 % (*vol/vol*)), dry residue (not less than 15 %), heavy metals (not more 10 ppm), microbiological purity and content of hydroxycinnamic acids (not less than 0,6 %). Three series of Prunofen extract were obtained and analyzed. All series met the requirements of QCM.

The QCM project was developed for the extract «Plums fruits polysaccharide complex» on the following indicators: description, solubility, identification (TLC method), residual amounts of organic solvents (ethanol – not more than 1,0 %), loss on drying (not more than 5 %), heavy metals (not more than 100 ppm), microbiological purity and monosaccharides in terms of glucose not less than 60 %.

For the first time, acute toxicity was determined for the obtained extracts as well as diuretic, uricosuric, membrane-stabilizing activity for Prunofen extract; for PFPSC extract - hepatoprotective and laxative activity.

Key words: plum, fruits, biologically active compounds, extracts, standardization, medicines, laxative, hepatoprotective, diuretic, uricosuric, membrane stabilizing activity.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	18
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1 БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ СЛИВИ ДОМАШНЬОЇ (Огляд літератури).....	25
1.1 Ботанічна характеристика сливи домашньої.....	25
1.2 Сортимент та культивування сливи домашньої в Україні та світі.....	26
1.3 Хімічний склад плодів сливи	28
1.4 Використання сировини сливи домашньої в медицині та у народному господарстві	34
1.5 Вплив зовнішніх факторів на вміст біологічно активних речовин у плодах сливи	37
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕННЯ	40
2.1 Коротка характеристика об'єктів дослідження.....	40
2.2 Відомості про методи та реактиви.....	41
2.3 Прилади та методики визначення БАР й показників якості.....	44
РОЗДІЛ 3 ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ВИВЧЕННЯ ПЛОДІВ РІЗНИХ СОРТІВ СЛИВИ ДОМАШНЬОЇ ТА ЇХ СТАНДАРТИЗАЦІЯ	62
3.1 Порівняльний аналіз БАР плодів різних сортів сливи домашньої.....	62
3.2 Вивчення елементного складу плодів сливи домашньої.....	64
3.3 Вивчення вмісту та складу речовин первинного та вторинного синтезу у плодах сливи домашньої сорту Стенлей.....	66
3.3.1 Амінокислоти.....	66
3.3.2 Вивчення вмісту полісахаридів, моносахаридів та сорбітолу у плодах сливи домашньої.....	68
3.3.3 Органічні кислоти.....	70
3.3.4 Фенольні сполуки	71
3.4 Стандартизація плодів сливи домашньої сорту Стенлей	76
Висновки до розділу 3.....	84

РОЗДІЛ 4 ОДЕРЖАННЯ ЕКСТРАКТІВ ЗІ СЛИВИ ДОМАШНЬОЇ СОРТУ СТЕНЛЕЙ ПЛОДІВ СВІЖИХ, ЇХ ФІТОХІМІЧНЕ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ	87
4.1 Одержання субстанцій з сливи домашньої плодів свіжих	87
4.2 Вивчення хімічного складу отриманих субстанцій	90
4.2.1 Вивчення елементного складу	90
4.2.2 Вивчення вмісту та складу нейтральних цукрів, сорбітолу та гліцеролу.....	93
4.2.3 Визначення амінокислот.....	94
4.2.4 Вивчення вмісту органічних кислот.....	99
4.2.5 Вивчення вмісту фенольних сполук в екстракті Прунофен	101
4.2.6 Вивчення вмісту летких сполук екстракту Прунофен	105
4.3 Стандартизація отриманих субстанцій	106
4.3.1 Стандартизація екстракту Прунофен	106
4.3.2 Стандартизація Сливи домашньої плодів полісахаридного комплексу	112
4.4 Фармакологічні дослідження отриманих субстанцій.....	122
4.4.1 Дослідження гострої токсичності та визначення середньої летальної дози екстрактів	122
4.4.2 Дослідження діуретичної, мембраностабілізуючої, антиагрегаційної та урикозурічної дії екстракту Прунофен.....	123
4.4.3 Вивчення гепатопротекторної дії Сливи домашньої плодів полісахаридного комплексу (СДППК).....	126
4.4.4 Вивчення проносної дії СДППК.....	129
Висновки до розділу 4.....	130
ВИСНОВКИ.....	134
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	137
ДОДАТКИ.....	156

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЛАТ – аланінамінотрансфераза
АсАт – аспартатамінотрансфераза
БАР – біологічно активні речовини
ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія
ВРПС – водорозчинні полісахариди
ГКК – гідроксикоричні кислоти
γ-ГТ – γ-глутамілтранспептидаза
ГХ – газова хроматографія
ГХ-МС – хромато-мас-спектрометрія
ДСТУ – Державний стандарт України
ДФ XI – Державна фармакопея СРСР
ДФУ – Державна фармакопея України
ЛРС – лікарська рослинна сировина
ЛФ - лужна фосфатаза
МКЯ – методики контролю якості
МПК – мінімальна пригнічувальна концентрація
МС – мас-спектрометричний детектор
НФаУ – Національний фармацевтичний університет
ПХ – паперова хроматографія
СДППК – сливи домашньої плодів полісахаридного комплекс
ТШХ – тонкошарова хроматографія
УФ-спектр – ультрафіолетовий спектр
ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок
ШКТ – шлунково кишковий тракт

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Застосування лікарських препаратів рослинного походження у медицині залишається актуальним в наш час та має тренд до зростання в Україні і за кордоном. Це ґрунтується на полівалентності ефектів біологічно активних речовин рослинного походження на різні системи організму людини, можливістю тривалого курсу лікування, їх доступністю та рентабельністю. Актуальним є дослідження лікарської рослинної сировини, що має достатню сировинну базу. Однією з найпоширеніших культивованих рослин в Україні є слива домашня *Prunus domestica* L. родини *Rosaceae*. Свіжі плоди і сік сливи, а також чорнослив здавна використовуються в народній медицині для нормалізації роботи ШКТ, покращення стану кісток та попередження остеопорозу, що пов'язують з комплексом наявних у них вітамінів і мінералів. Плоди сливи мають високі антиоксидантні властивості (Шингісов, 2017; Stacewicz-Sapuntzakis, 2017), що пов'язують із значним вмістом флавоноїдів та інших фенольних сполук, проте при термічній обробці вміст деяких фенолів, а саме флавоноїдів зменшується, або вони не ідентифікуються у екстрактах взагалі (Stacewicz-Sapuntzakis, 2017; Mihika Bose, 2017).

На українському фармацевтичному ринку наявний препарат Кафіол, який має проносну дію та містить м'якоть плодів сливи. Але цей препарат є комплексним, до його складу входять плоди та листя сени, інжирна паста і всього 6,12 % висушеної сливи у 1 брикеті. Стандартизація ж цього препарату проводиться за антраценпохідними, з якими і пов'язують його дію, хоча відомо що при довготривалому використанні ці речовини потребують збільшення дози та мають подразнюючу дію на шлунково-кишковий тракт. Отже потенціал сливи далеко не вичерпаний, адже саме свіжі плоди сливи містять найбільше природних біологічно активних речовин, тому проведення фармакогностичних досліджень свіжих плодів сливи для створення нових препаратів проносної, урикозурічної, мембраностабілізуючої, гепатопротекторної дії, які б відрізнялися низькою

токсичністю та чинили загальний позитивний вплив на гепатобіліарну систему в цілому, є актуальним.

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

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

Мета і завдання дослідження

Метою роботи було фармакогностичне вивчення плодів сливи домашньої, стандартизація сировини, отримання лікарських рослинних засобів та вивчення складу і вмісту біологічно активних речовин у них з подальшим установленням фармакологічної дії та розробка параметрів їх стандартизації.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- ✓ провести аналіз джерел літератури щодо ботанічної характеристики, розповсюдження, хімічного складу та застосування в медицині сливи домашньої;
- ✓ провести порівняльний аналіз біологічно активних речовин плодів сливи домашньої найбільш розповсюджених в Україні сортів сливи домашньої;
- ✓ на основі проведених досліджень обрати перспективний для подальшого дослідження сорт сливи домашньої, вивчити вміст та склад біологічно активних речовин в цій сировині та провести її морфолого-анатомічне вивчення;
- ✓ встановити для досліджуваної сировини показники якості згідно з вимогами ДФУ;
- ✓ розробити оптимальні схеми одержання екстрактів зі сливи домашньої плодів свіжих;
- ✓ вивчити хімічний склад отриманих екстрактів та запропонувати методи контролю якості;
- ✓ провести вивчення фармакологічної активності одержаних лікарських засобів на основі сливи домашньої плодів свіжих;

Об'єкт дослідження: фармакогностичне дослідження плодів сливи домашньої, фітохімічне та фармакологічне вивчення отриманих екстрактів.

Предмет дослідження: вивчення якісного складу та вмісту БАР у сливи домашньої плодах свіжих, екстрактах на їх основі; визначення параметрів стандартизації сливи домашньої плодів свіжих та екстрактів; розробка проєктів МКЯ на плоди сливи свіжі та отримані екстракти; вивчення фармакологічної активності отриманих екстрактів.

Методи дослідження

Якісний склад і кількісний вміст БАР визначали такими методами: якісними реакціями, хроматографією – тонкошаровою (ТШХ), паперовою (ПХ), високоефективною рідинною хроматографією (ВЕРХ), хромато-мас-спектрометрією (ГХ-МС), атомно-абсорбційною спектрометрією, гравіметрично та спектрофотометрично. Дослідження фармакологічної активності проводили *in vivo*. Статистичну обробку результатів експериментальних досліджень проводили відповідно до вимог ДФУ з використанням програми Microsoft Excel 2013 та пакета прикладних програм «Statistika».

Наукова новизна отриманих результатів

Уперше проведено фармакогностичне вивчення сливи домашньої плодів сорту Стенлей свіжих, заготовлених в Україні та запропоновано параметри їх стандартизації згідно ДФУ. Результати досліджень підтвердили перспективність використання сливи домашньої плодів як лікарської рослинної сировини та можливість створення на їх основі нових лікарських засобів.

У плодах сливи проведено визначення 19 макро- та мікроелементів на 5 зразках сировини. Всі зразки відповідали вимогам ДФУ за вмістом важких металів. Методом ВЕРХ досліджено вміст та склад амінокислот. Виявлено 15 вільних та 16 зв'язаних амінокислот. Встановлено оптимальний екстрагент для вилучення пектинових речовин, вихід яких складав $8,63 \pm 0,04 \%$. Встановлено вміст водорозчинних полісахаридів гравіметричним методом.

Уперше встановлено в сливи домашньої плодах сорту Стенлей, заготовлених в Україні, наявність кислот фумарової і синапової.

З плодів сливи свіжих одержано екстракти та проведено їх стандартизацію згідно вимог ДФУ.

Уперше розроблено проєкти МКЯ на екстракти «Прунофен» та «Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс».

Уперше в екстрактах із сливи плодів свіжих методами ТШХ, ПХ, гравіметрії, спектрофотометрії, хромато-мас-спектрометрії, ВЕРХ та атомно-емісійним спектрометричним методом досліджено якісний склад та кількісний вміст карбонових кислот, вільних та зв'язаних амінокислот, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та поліфенольних сполук, летких сполук, макро- та мікроелементів, полісахаридів, спиртів і моносахаридів.

Уперше розроблено схеми комплексної переробки сировини та одержання екстрактів «Прунофен» та «Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс», досліджено якісний склад та кількісний вміст основних груп БАР. Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель №118457 і патентом України на винахід № 118602.

Уперше для отриманих екстрактів проведено визначення гострої токсичності та діуретичної, урикозуричної, мембраностабілізуючої, гепатопротекторної та проносної активності.

Практичне значення отриманих результатів

Проведено фармакогностичне дослідження плодів сливи домашньої, одержано екстракти «Прунофен», «Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс» із діуретичною, протизапальною, мембраностабілізуючою, гепатопротекторною та проноюною активністю.

Розроблено проєкти МКЯ «Сливи плоди свіжі», «Прунофен» та «Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс».

Схеми одержання екстрактів «Прунофен» та «Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс» апробовано в умовах ПАТ «Хімфарм завод «Червона зірка»».

Результати досліджень впроваджено у науково-дослідну роботу кафедри фізколоїдної хімії Запорізького державного медичного університету; кафедри

фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського; кафедри фармакогнозії і ботаніки Національного медичного університету ім. А.А. Богомольця, кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету.

Особистий внесок здобувача

Здобувачем самостійно вивчено, проаналізовано та узагальнено дані наукових першоджерел із питань, що стосуються теми дисертації, виконано експериментальну частину дисертаційної роботи, проведено статистичну обробку одержаних результатів, написано всі розділи дисертаційної роботи та сформульовано висновки. Постановку мети та завдань, обговорення результатів проведено разом із науковим керівником.

Співавторами наукових праць є науковий керівник Л. В. Ленчик та науковці, спільно з якими проведено частину досліджень: І. В. Сенюк, О. В. Шаповал, В.С. Кисличенко, Башар Джабар Аль Сахлані, Т.В. Упир, Д.В. Упир, М. А. Комісаренко, Н.Б. Саїдов, Г.Ф. Наврузова. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Апробація результатів дисертації

Основний зміст дисертаційної роботи викладено та обговорено на таких науково-практичних конференціях різного рівня: IX міжнародній конференції присвяченій 100-річчю незалежності литовської фармації «Фармацевтична наука і фармацевтична практика» (Каунас, 9 листопада 2018 р.); III науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 26-28 листопада 2018 р.); III міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 14-15 березня 2019 р.); XXVI міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених і студентів «Актуальні питання розробки нових ліків» (Харків, 10-12 квітня 2019 р.); міжнародній науковій конференції «Медицина в сучасних умовах інтеграційного розвитку європейських країн»

(Люблін, 10-11 травня 2019 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку», присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (Харків, 19-20 вересня 2019 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «PLANTA+. Досягнення та перспективи», присвяченій пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження) (Київ, 20-21 лютого 2020 р.); II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (11 березня 2020 р., м. Харків); XXVII Міжнародній науково-практичній конференції молодих учених та студентів «Актуальні питання розробки нових ліків» (8-10 квітня 2020 р., м. Харків).

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційну роботу викладено на 173 сторінках машинописного тексту. Вона складається із анотації, вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 5 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 130 сторінок друкованого тексту. Роботу ілюстровано 29 таблицями та 24 рисунками. Список використаних джерел містить 180 найменувань, із них 67 кирилицею та 113 латиницею.

РОЗДІЛ 1

БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ СЛИВИ ДОМАШНЬОЇ (Огляд літератури)

1.1 Ботанічна характеристика сливи домашньої

Слива домашня – (*Prunus domestica* L.) (рис. 1.1) належить до роду Слива (*Prunus* Mill.), родини Розові (*Rosaceae*). Рід *Prunus* Mill. нараховує більше 40 диплоїдних, тетраплоїдних та гексаплоїдних видів сливи. Переважна більшість видів сливи – диплоїди, терен – тетраплоїд, слива домашня – гексаплоїд [6, 21, 46, 61, 114].



Рис. 1.1 Пагони сливи домашньої (*Prunus domestica*) із стиглими плодами

Слива домашня є видом, час та місце походження якого достатньо не відомі. Вважають, що природне і спонтанне виникнення сливи домашньої сталося на території Центральної Європи або Західної Азії до епохи неоліту, тобто більш ніж

10 тисяч років назад [6]. Ймовірно, що в ході еволюції вона виникла при схрещуванні терену *Prunus spinosa* з аличею *Prunus divaricata*, тому плоди мають широкий діапазон забарвлення у різних сортів – від синього кольору, як терен, до червоного і жовтого, як алича [21, 46, 59, 66, 93, 123, 154].

Слива домашня – це дерево заввишки до 10-15 м, з широко- або вузькояйцевидною кроною, стовбур з бурою корою, гілки не колючі; листки прості, чергові, короткочерешкові, цільні, із залозками по краю, біля основи пластинки або на черешку, еліптичні або оберненояйцеподібні, з городчатим або пильчастим краєм, знизу опушені; завдовжки 4-10 см і завширшки 2-5 см. Квітки правильні, двостатеві, діаметром 1,5-2 см. зібрані в прості зонтики, чашолистиків 5, білих або зеленувато-білих пелюсток 5, тичинок 25-30. Цвіте слива у травні впродовж 8 - 10 днів. Кожна окрема квітка цвіте до 5 днів. Плоди соковиті м'ясисті кістянки округлої чи яйцеподібної форми зеленого, жовтого, червоного, або фіолетового із сизим нальотом кольору, завжди із добре помітною борозенкою, зазвичай 20-30 г ваги. У середині мезокарпію розташована кісточка, вкрита твердим ендокарпієм, в якій знаходиться насінина. Кісточка сплюснута, загострена з обох кінців. Коренева система – стрижнева, основна маса коренів розташована на глибині 20-40 см. Слива є медоносом, її медопродуктивність у сприятливі роки сягає 16-37 кг з 1 га. [21, 46, 59, 123, 154].

Тривалість життя дерева залежить від сорту і може досягати 25 років, продуктивний період плодоношення – 10-15 років. Скороплідні сорти вступають у плодоношення на другий-третій рік після посадки, пізньоплідні – на шостий-сьомий рік. За сприятливих умов слива дає високі врожаї – до 10 -15 т з 1 га [21, 59].

1.2 Сортимент та культивування сливи домашньої в Україні та світі

Світовий генофонд сливи домашньої нараховує більше 1,5 тисяч сортів, що створює великі труднощі в їх класифікації [6]. Систематиками в межах виду сливи домашньої виділено чотири підвиди:

- a) subsp. *domestica* – підвид слива домашня європейська;
- b) subsp. *insititia* (Jusl.) Schneid. – підвид тернослива;
- c) subsp. *italic* (Borkh.) Gams. – підвид ренклюд;
- d) subsp. *syriaca* (Borkh.) Janchen – підвид мірабель [21].

Хоча генофонд сливи нараховує більше 1,5 тисячі сортів, в культурі і селекції використовують менше 300 з них. Наприклад, у походженні 343 сортів, виведених у СРСР у якості материнської та батьківської форми, приймало участь лише 115 з них [6]. У колекціях України та інших країн є багато сортів, що відрізняються такими якостями як стійкість до хвороб, зимостійкість, посухостійкість, солестійкість, витривалість до спеки, стійкість до надмірного зволоження та ін.

Сортимент сливи домашньої досить різноманітний, але більшу частину його складають великоплідні сорти. За статистичними даними перепису 2004 р., майже половина дерев у громадських садах усіх категорій господарств належить до трьох сортів – Угорка італійська (11,4 %), Ганна Шпет (15,4) і Ренклюд Альтана (14,7 %) [39]. Відносно високу питому вагу (20,3 %) становить ряд дрібноплідних сортів і місцевих форм. Решта сортів припадає на Стенлей (6,9 %), Угорку Ажанську (4,4), Ренклюд Карбишева (2,3), Персикову (2,5), Кірке (0,7), Велику синю (2,3), Оду (0,5) і деякі інші [28, 39].

В Україні сливу домашню найбільше вирощують у Поділлі, Покутті, Закарпатті й Харківщині [59, 105]. Слива домашня за кількістю дерев лідирує серед кісточкових культур, загальна площа її насаджень складає 27,8 %, а кількість дерев більше 31 млн. штук, або 37,4 % [28, 39]. Питома вага сливи у виробництві валової промислової продукції дорівнює 58,4 %, що значно перевищує інші кісточкові. Пояснюється це, перш за все, тим, що слива має вищу врожайність, завдяки добрій екологічній пристосованості до умов поліської та лісостепової зон [39].

Ареал вирощування сливи у світі досить широкий, роботи по її селекції ведуться в багатьох країнах, в тому числі в Бразилії, Канаді, США, Австралії, Південній Африці, Іспанії, Франції, Швеції, Англії, Німеччині, Румунії, Білорусі, Україні, Молдові, Китаї, Росії та ін. [18]. Цілі і завдання селекційних програм

визначаються головним чином агроєкологічними умовами регіону культивування сливи, однак, повсюдно цінуються високі товарні якості її плодів [18, 46].

У світі лідером з виробництва сливи є Китай, де отримують понад 5 млн. тон плодів сливи на рік [105]. Також її вирощують у Туреччині, Японії, Пакистані, Афганістані, Індії та Іраку [59, 105].

У Європі Центральні Балкани мають найбільш сприятливі природно-кліматичні та економічні умови для вирощування сливи [46]. Найбільшими виробниками сливи тут є Румунія (до 650 тис. т), Сербія (до 580 тис. т), Іспанія (до 230 тис. т), Франція (200-240 тис. т), Італія (до 200 тис. т), Боснія і Герцеговина (до 155 тис. т). Найважливіші європейські сорти, що культивуються є – Tuleu Gras, Stanley, California Blue, Burbank, Anna Späth, Reine Claude d'Althan, Požegača, Bühler Frühzwetsche і ін. [46, 105].

У країнах Північної і Центральної Америки щорічно заготовляють 800-900 млн. т сливи [105].

Серед країн Південної півкулі, які вирощують сливи, найбільші її плантації розташовані в Чилі, Аргентині, Південній Африканській Республіці й Австралії [105, 131].

1.3 Хімічний склад плодів сливи

Хімічний склад плодів сливи різноманітний і може широко варіювати залежно від сорту. Свіжі плоди сливи містять 79-88 % води, 0,3-0,4 % золи, 120-208 мг/100 г мінеральних речовин [71, 74, 100, 142] Серед мінеральних речовин домінують (мг/100 г): К – 120-208; Са – 6-45; Mg – 4-8 [71, 74, 100, 142].

Плоди сливи містять вуглеводи, серед яких цукор – 6-15 %, харчові волокна – 1,3-2,4 %, пектини – 0,69-8 %, сорбітол – 5,8 % [18, 71, 74, 100, 142, 165].

Хоча плоди сливи накопичують значну кількість цукрів, їх споживання не викликає швидкого підвищення рівня глюкози в крові завдяки тому, що вони містять також значну кількість харчових волокон, пектинів і сорбітол. Вміст глюкози у плодах сливи складає – 15 %, фруктози – 9 %, сахарози – 0,3 % [165]. У

плодах сливи накопичення протопектину переважає в порівнянні з розчинним пектином і сягає 86 % від суми пектинових речовин, що покращує міцність плодів і, як наслідок, їх здатність добре зберігатися [18]. Протопектин входить до складу первинної клітинної стінки і міжклітинної речовини, що являє собою нерозчинний комплекс пектину з целюлозою і геміцелюлозою, а в клітинному соці містяться розчинні пектини. При дозріванні, зберіганні та термічній обробці плодів протопектин перетворюється на розчинний пектин, через що і відбувається розм'якшення тканин. Від швидкості такого переходу багато в чому залежить лежкість плодів [62].

Плоди сливи домашньої містять органічні кислоти (яблучну, лимонну, щавлеву, бурштинову, хінну) [59]. Загальна кислотність свіжих плодів сливи складає 1,37-2,95 % [18]. Вміст окремих кислот у плодах сливи за різними джерелами становить: щавелевої – 1,7-3,4 мг/100 г; хінної – 1,1 %; яблучної – 0,29 % [76, 165].

Вміст аскорбінової кислоти у плодах сливи складає – 4-11 мг/100 г [18, 71, 74, 100, 142, 165]; вміст суми каротиноїдів – 94-780 мкг/100 г [71, 74, 100, 142]. Серед каротиноїдів у плодах сливи визначено наявність лютеїну та β -криптоксантину (рис. 1.2) [106].

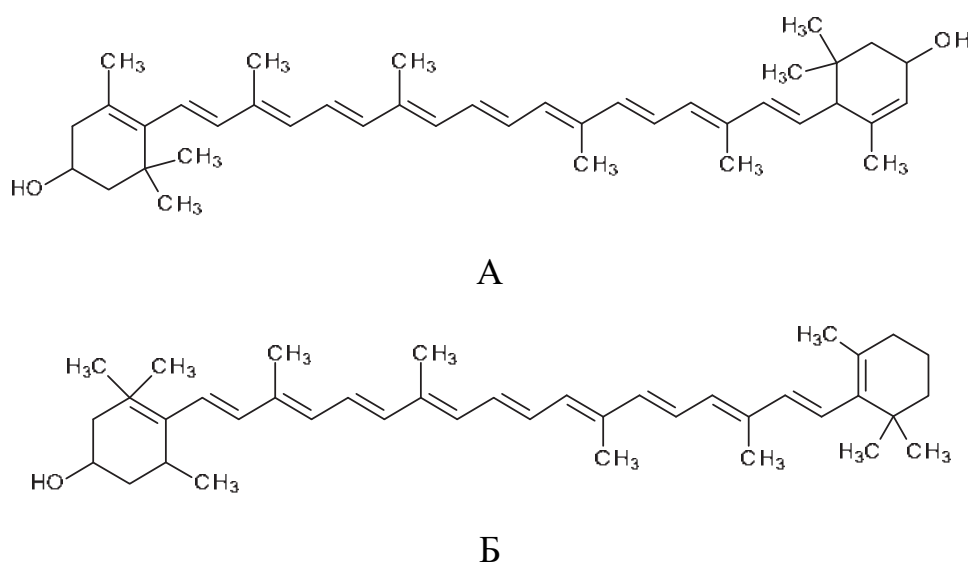


Рис. 1.2 Структурні формули каротиноїдів: А – лютеїн; Б – β -криптоксантин

Було досліджено 8 сортів сливи та встановлено, що вміст каротиноїдів у сливах відрізнявся в 4 рази залежно від сорту та був у 5 разів більший у шкірці плодів ніж у м'якоті [82].

Серед вітамінів групи В у плодах сливи міститься 20-56 мкг/100 г тіаміну, ніацину – 200-900 мкг/100 г, рибофлавіну – 38-50 мкг/100 г [71, 74, 100, 142]. Вміст вітаміну Е складає до 1 мг, вітаміну К – до 0,5 мг [6].

Встановлено, що свіжі плоди сливи багаті на фенольні сполуки, серед яких переважають гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, антоціани. Загальний вміст фенольних сполук, у перерахунку на галову кислоту у плодах сливи становить (мг/100 г): червоні сливи – 478, жовті сливи – 367 [94, 115]. Вміст катехинів у плодах сливи значно варіює залежно від сорту й умов вирощування – від 75 до 181 мг/100 г при середньому вмісті 123 мг/100 г [4]. Шкірочка плодів сливи характеризується високим вмістом кверцетину, флоризину (рис. 1.3) і хлорогенової кислоти [18, 82].

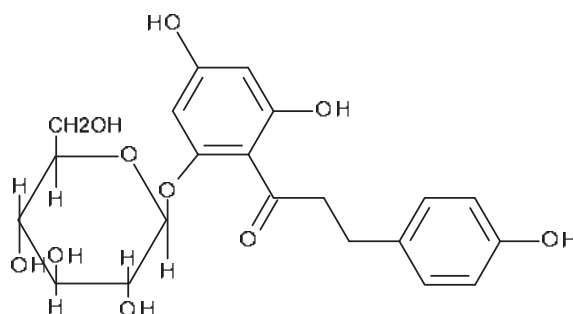


Рис. 1.3 Структурна формула флоризину

Встановлено високий позитивний кореляційний зв'язок на рівні +0,94 між величиною антиоксидантної активності і загальним вмістом фенольних сполук у плодах сливи [18, 43]. Червоні сливи містять апігенін, але значно більше вони містять глікозидів кверцетину – майже виключно в шкірці [75, 109].

Із плодів та листя сливи було виділено декілька глікозидів кемпферолу і кверцетину; загальний вміст цих сполук у плодах складав 20-52 мг/кг [96].

З кори сливи був ізольований доместикозид (2-О-β-D-глюкопіранозил-4-О-метилфлорацетофенон) [104]. Із деревини сливи були виділені: ізосакуранетин,

прудоместин, дигідрокемпферид, нарингенін, 3,5,7-тригідрокси-8-4'-диметоксифлаванон, 5,7,4'-тригідрокси-3-метоксифлаванон і 3,5,7-тригідрокси-7,4'-диметоксифлаванон (рис. 1.4) [138].

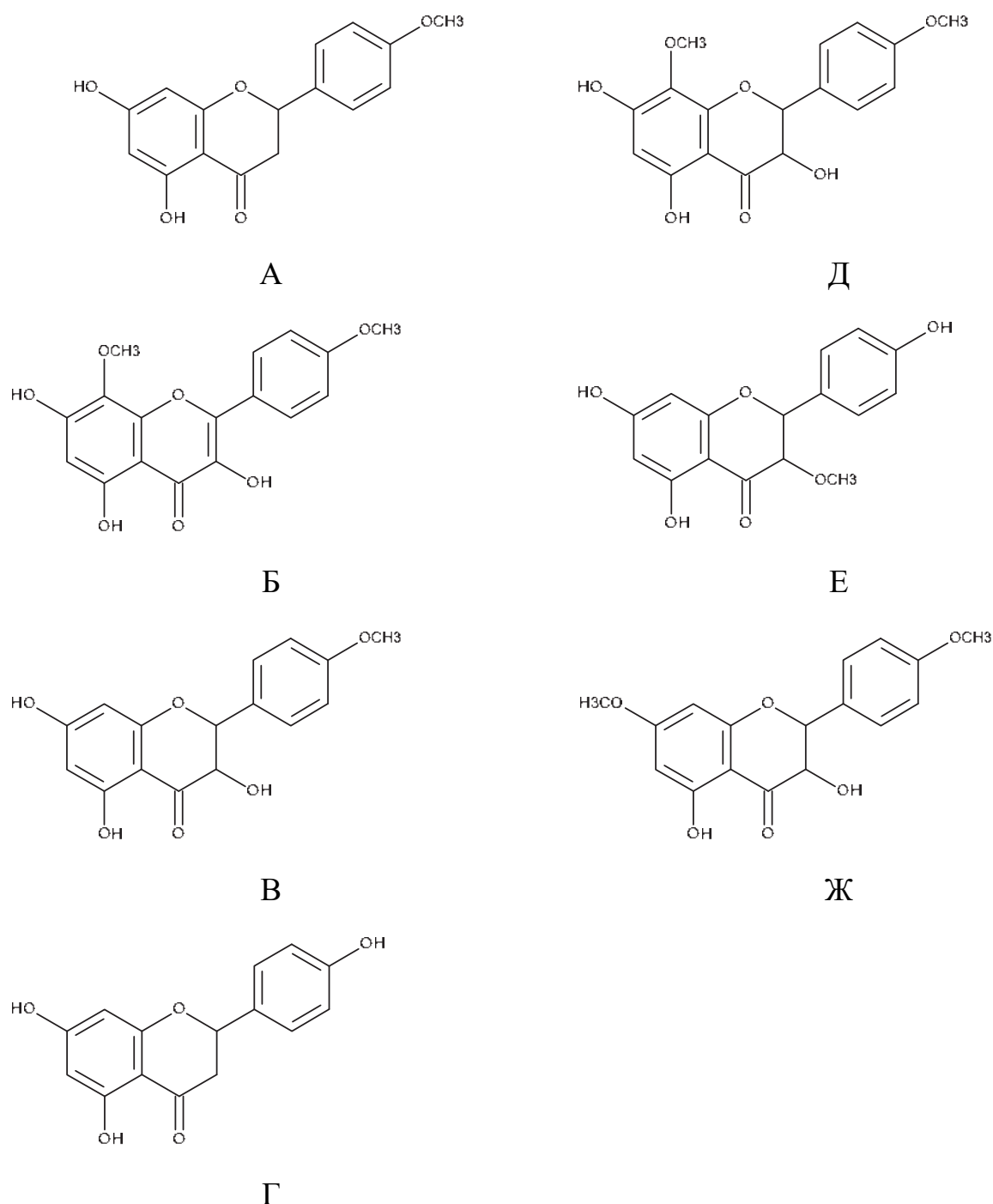


Рис. 1.4 Структурні формули флаваноїдів: А – ізосакуранетин, Б – прудоместин, В – дигідрокемпферид, Г – нарингенін; Д – 3,5,7-тригідрокси-8-4'-диметоксифлаванон; Е – 5,7,4'-тригідрокси-3-метоксифлаванон; Ж – 3,5,7-тригідрокси-7,4'-диметоксифлаванон

Флавонол 3-О-моно- і флавонол 3-О-диглікозиди – в основному, кверцетину глюко-, галакто-, і рамнози – притаманні сировині рослин підродини Сливові [75]. Вміст катехіну, епікатехіну та їх естерів з галоюю кислотою у шість разів більший у сливах з плодами синього забарвлення, ніж у плодах з іншим забарвленням [75].

У плодах сливи було встановлено наявність ціанідину (75,19 мг/100 г) та пеонідину (рис. 1.5) [75].

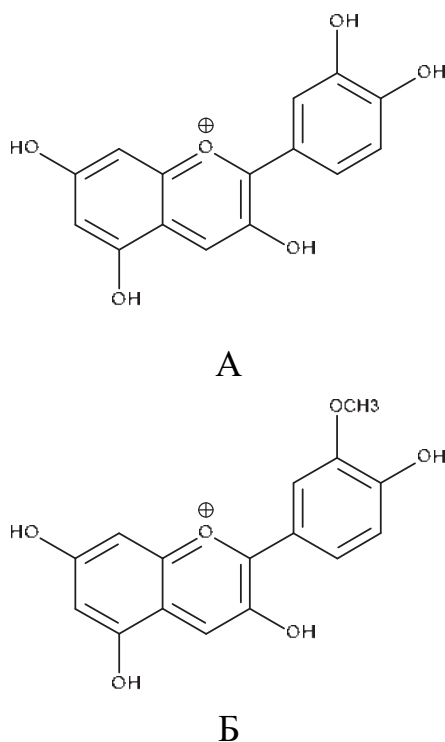


Рис. 1.5 Структурні формули: А – ціанідин; Б - пеонідину

Вміст гідроксикоричних кислот у плодах сливи встановлений у діапазоні 500-770 мг/кг сирої ваги; переважає неохлорогенова кислота [18].

Серед фенольних кислот кофейна зустрічається найчастіше у зрілих плодах рослин підродини Сливові, як у вільному стані, так і у складі глікозидів, її вміст складає приблизно 75-100 % від загального вмісту усіх гідроксикоричних кислот. Вміст гідроксикоричних кислот більший у шкірці зрілих плодів сливи, ніж у м'якоті. Кофейна і хінна кислоти утворюють ізомерні похідні, серед яких плодам сливи притаманні 4-О-кофеїлхінна [108, 145].

Встановлено значні відмінності за вмістом хлорогенової кислоти в плодах сливи. Її вміст варіював у широких межах – 81,5-236,0 мг/100 г при середньому значенні 131,9 мг/100 г [18].

У чорносливі було встановлено наявність неохлорогенової, криптохлорогенової та хлорогенової кислот (рис. 1.6) у співвідношенні 78,7:18,4:3,9 [99].

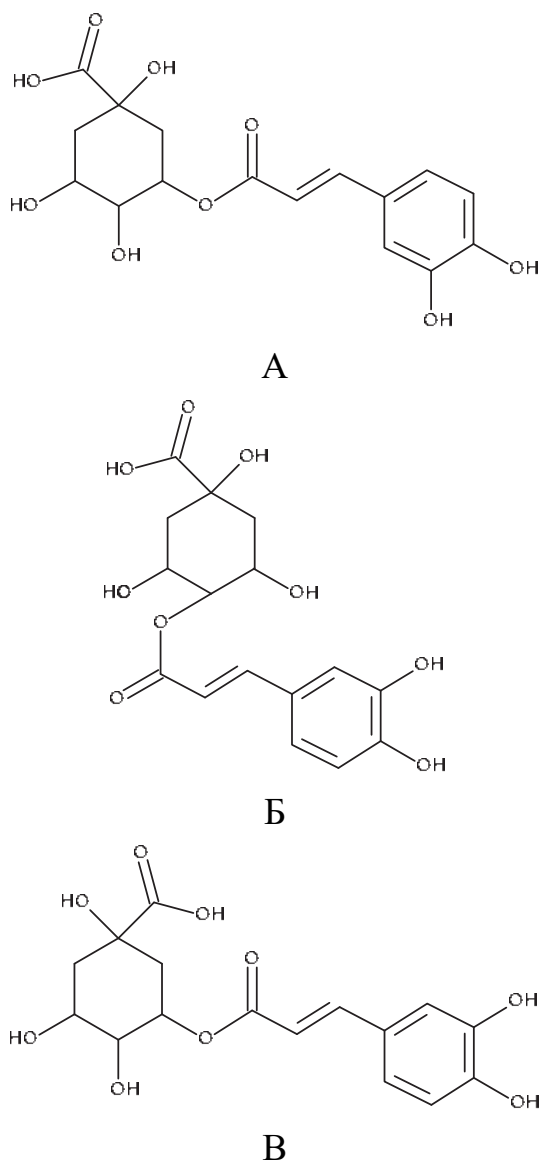


Рис. 1.6 Структурні формули: А – неохлорогенова кислота; Б – криптохлорогенова кислота; В – хлорогенова кислота

Методом ВЕЖХ визначено вміст неохлорогенової (3-О-кофеїлхінної) – 1329,5 мг/кг; криптохлорогенової (4-О-кофеїлхінної) – 312,5 мг/кг; хлорогенової (5-О-кофеїлхінної) – 66,5 мг/кг кислот. Вміст кофеїної кислоти був 25,5 мг/кг. На

моделі поглинання супероксид радикалів та перекисного окиснення ліпідів *in vitro* було встановлено, що всі ці кислоти мають антиоксидантну активність приблизно однакового рівня [113].

У плодах сливи встановлено наявність проантоціанідинів з високим ступенем полімеризації [75].

У насінні сливи, тернослива, терену та аличі міститься 43-52 % жирної олії. Олія кісточок сливи відноситься до невисихаючої та містить олеїнову жирну кислоту – 56-77 %, лінолеву – 13-35 %, пальмітинову – 5-6 % та ін. жирні кислоти [6].

Отже, аналіз первинних джерел літератури виявив багатий хімічний склад плодів сливи, а саме наявність пектинів, моноцукрів, флавоноїдів, антоціанів, гідроксикоричних кислот, вітамінів, а також карбонових кислот.

1.4 Використання сировини сливи домашньої в медицині та у народному господарстві

Плоди сливи широко застосовують у дієтичному харчуванні при захворюваннях серцево-судинної системи, травного тракту та нирок [59].

Вживання слив сприяє підтримці нормального травлення і функціонування шлунково-кишкового тракту [90]. М'якоть сливи входить до складу аптечних препаратів Кафіол, Регулакс, які знайшли використання як проносні засоби.

Препарат Кафіол, який виробляли ще в СРСР, містив 0,7 г листя сени, 0,3 г плодів сени, 2,2 г м'якоті плодів сливи, 4,4 г плодів інжиру, 0,84 г масла вазелінового. Препарат виявляв проносну дію за рахунок хімічного (антрахінони листя і плодів сени) і механічного подразнення (пектинами плодів сливи і інжиру) кишечника, а також в результаті полегшення просування вмісту кишечника вазеліновим маслом. Препарат зараз не наявний на фармацевтичному ринку України [30].

Препарат Регулакс виробляється у Німеччині компанією Кревель Мойзельбах ГмбХ. До складу 1 кубика входять 0,71 г листя сени та 0,3 г плодів сени, що відповідає 30 мг похідних гідроксиантрацену, у перерахунку на сенозид

В, паста інжирна, мусс плодів сливи, кислота лимонна безводна, олія мінеральна, гліцерол моностеарат, лимонний ароматизатор (у складі містить етанол 96 %), сироп цукру інвертного, сорбіт (Е 420), кислота сорбінова, твердий жир, пропіленгліколь [42].

На фармацевтичному ринку України представлено ряд комплексних дієтичних добавок у вигляді капсул, порошоків, рідкого екстракту та гелю виробництва Китаю, Ізраїлю, США та ін., до складу яких входять плоди сливи [30].

З насіння сливи отримують жирну олію, яку використовують у фармації під назвою олія персикова (*Oleum Persicorum*) [9, 29, 59].

З плодів сливи свіжих виготовляють чорнослив, отримуючи його сушінням за особливою технологією. За ДСТУ у готовому продукті не допускається вміст води більше ніж 35 % [17]. Чорнослив було включено до всіх видань британського фармацевтичного кодексу [81]. У монографії було зазначено хімічний склад чорнослива: 23-56 % цукрів, наявність яблучної та лимонної кислот, загальна кислотність – 4 % у перерахунку на лимонну кислоту, невелика кількість жирів, пектину, вітамінів А, В₁, В₂; використання – як м'який проносний засіб.

Вживання плодів сливи та інших рослин підродини Сливові знижує ризик серйозних дегенеративних захворювань, включаючи атеросклероз, захворювання серця і мозку або різних видів раку [79, 95]. Медичні дослідження показали, що оздоровчі ефекти плодів обумовлені взаємодоповнювальними синергетичними комбінаціями суміші БАР, які мають виражені антиоксидантні властивості, наприклад, аскорбінова кислота, флавоноїди, каротиноїди та ін. [129]. Численними дослідженнями підтверджено профілактичні властивості плодів сливи, які досить давно використовуються в народній медицині при лікуванні різних захворювань: порушень травлення і сечовипускання, захворювань печінки і жовчного міхура, харчових отруєнь, а також для зміцнення імунітету [18, 84]. З лікувально-профілактичною метою рекомендується вживати на добу не менше 3 г харчових волокон у розрахунку на 100 г продукту, що відповідає рекомендованій добовій дозі споживання свіжих плодів сливи 40-100 г (в середньому 2-12 шт.) [161].

Чорнослив в Індії використовували в комбінації з іншими компонентами для лікування болів, нерегулярних менструацій [88].

Фенольні сполуки сливи інгібували ріст та індукцію диференціації клітин раку товстої кишки. Дослідження були проведені *in vitro*. Встановлено, що така дія пов'язана з фенольною сполукою, але це не ціанідин і не ціанідин-3-глюкозид [117]. В іншому експерименті досліджували вплив висушених слив на канцерогенез. Результати показали зміни декількох факторів ризику канцерогенезу товстої кишки у щурів, зокрема зниження фекальних загальної та вторинної концентрацій жовчних кислот, зниження діяльності β -глюкуронідази і 7- α -дегідроксилази товстої кишки та збільшення антиоксидантної активності [179].

Хлорогенова і неохлорогенова кислоти плодів сливи були визначені, як БАР з потенційними хіміопрофілактичними властивостями відносно клітин естрогеннезалежного раку молочної залози, з мінімальним впливом на нормальні клітини [116].

Дослідження, проведені зі сливовим соком, показали ефективне зниження когнітивних дефіцитів старих щурів, і цей ефект був пов'язаний з фенольними сполуками [108, 146]. Дослідження метанольних екстрактів незрілих плодів сливи китайської (*Prunus salicina*, 20-40 днів раніше терміну заготівлі) показали інгібіторну дію відносно бензо- α -пірену. Ця речовина викликала токсичність у мишей шляхом інгібування виділення CYP1A1, який бере участь у метаболізмі. Таким чином було доведено, що екстракти незрілих плодів сливи можуть протидіяти токсичним ефектам канцерогенів [112].

Також проводилися дослідження протипухлинної дії екстракту слив висушених. Було встановлено, що субстанція отримана з плодів сливи домашньої сушених мала середню цитотоксичну активність проти клітин карциноми кишечника (Caco-2) та шлунку (КАТО-III) людини у концентрації 125 мкг/мл, викликаючи 60 і 10 % загибелі клітин, відповідно [140].

Плоди сливи широко використовують у свіжому і переробленому вигляді. Найбільш цінними для вживання у свіжому вигляді є плоди крупноплідних угорок і ренкладів, що відрізняються підвищеним вмістом цукру, ніжною м'якоттю,

хорошим гармонійним смаком. Плоди багатьох сортів добре переносять транспортування і зберігаються у фруктосховищ до 1 міс [6].

Плоди сливи переробляють на соки, сиропи, пасту, джем, мармелад, повидло, желе, цукати, компоти, маринади, варення [6, 29, 61]. Продукти технічної переробки плодів йдуть на приготування цукерок, тортів, морозива, киселю та ін. Широко практикується заморожування і сублімація свіжих плодів. Дуже цінним продуктом є чорнослив, який виробляють з деяких сортів сливи домашньої, наприклад, з сорту Стенлей за особливою технологією; він здатний зберігатися тривалий час і відрізняється високою транспортабельністю [6].

Свіжу кору сливи використовують у гомеопатії [29].

Квітучі дерева сливи мають позитивний естетичний вплив на людину, заспокоюють нервову систему. Сливи з махровими квітками (типу Плантерська Махровоцвітна) або з червоним листям (типу Піссарда), а також плакучі і пірамідальні форми є дуже декоративними.

Деревина сливи використовується в деревообробній промисловості для отримання дрібних виробів [6, 29, 61].

Камедь, що виділяється на пошкоджених деревах, використовують у медицині, харчовій та ін. промисловості, а також як канцелярський клей [6, 61].

1.5 Вплив зовнішніх факторів на вміст біологічно активних речовин у плодах сливи

На накопичення БАР впливають процеси дозрівання плодів. Для більшості видів роду *Prunus* характерно збільшення вмісту аскорбінової кислоти у зрілих плодах [85]. Зміни у загальному вмісті фенольних сполук у процесі дозрівання не мають чіткої тенденції у плодах сливи [111]. У плодах сливи загальний вміст фенольних сполук знижується на ранніх стадіях розвитку, але пізніше, при дозріванні, вони з'являються у вигляді антоціанів у шкірці [82, 153]. Сонячне світло сприяє підвищенню вмісту деяких БАР, як, наприклад, аскорбінової кислоти, антоціанів [77,

127, 148]. Натомість тінь негативно впливає на забарвлення шкірки плодів сливи [148].

Ферменти фенілаланінамоніаліаза, халконсинтаза, дигідрофлавінолредуктаза беруть участь у метаболізмі фенілпропаноїдів під впливом УФ-світла [174]. Різна температура вдень і вночі впливає на накопичення антоціанідинів у сливах [176]. Регульований водний дефіцит впливає на вміст БАР у плодах. Він призводить до зниження вмісту вітаміну С і каротиноїдів, але сприяє підвищенню вмісту антоціанів і проціанідинів [102].

По-різному впливає вид землеробства на вміст БАР у фруктах та овочах. Багато праць було присвячено порівнянню впливу традиційного і органічного методів вирощування на накопичення БАР. Було встановлено, що вміст аскорбінової кислоти і фенольних сполук вищий при вирощуванні фруктів органічним способом. Вміст каротиноїдів, вітамінів Е та С був вищим у сливах, вирощених на землі, вкритій травою, тоді як загальний вміст фенольних сполук був вищим у сливах, які були вирощені з традиційними прийомами землеробства [80, 139, 178]. У червоних та жовтих сливах вміст фенольних сполук при зберіганні збільшується [82]. Збільшення вмісту фенольних сполук при зберіганні було встановлено не тільки на прикладі плодів слив, а також і у плодів персика протягом тривалого зберігання взимку [149].

У чорносливі хоча в результаті сушіння і зменшується вміст аскорбінової кислоти й антоціанів, загальна антиоксидантна здатність збільшується шляхом синтезу у плодах нових сполук-антиоксидантів [160].

Проведений огляд джерел наукової літератури показав, що науковцями досліджувався склад біологічно активних речовин плодів сливи домашньої. Хімічний склад сливи, за даними літературних джерел, представлений вуглеводами, серед яких пектини, моноцукри, а також карбоновими кислотами, вітамінами та фенольними сполуками. Досить добре досліджено вуглеводи, вітаміни, проте недостатньо детально вивчено карбонові кислоти, фенольні сполуки та амінокислоти.

Встановлена антиоксидантна дія незрілих плодів сливи домашньої. Мус плодів сливи включено до комплексного проносного препарату «Регулакс», який містить також листя та плоди сени; його стандартизація проводиться за вмістом антраценпохідних. Тим не менш мус плодів сливи наявний у цьому препараті і відіграє певну роль у фармакологічному ефекті цього фітозасобу. Використання плодів сливи у дієтичному харчуванні має багатовекторну спрямованість і застосовується як проносний, засіб та для покращення роботи ШКТ і зміцнення кісток. Плоди сливи домашньої висушені, або у вигляді екстракту входять до ряду дієтичних добавок закордонного виробництва.

Оскільки сливу домашню широко культивують у багатьох країнах світу, зокрема в Україні, вона налічує багато сортів. Її плоди містять різні класи БАР, й мають антиоксидантну та проносну дію, але не стандартизовані як ЛРС, у зв'язку з цим перспективним є проведення їх фармакогностичного дослідження для стандартизації сировини, отримання екстрактів, їх дослідження й стандартизації.

Результати досліджень даного розділу наведено у публікації:

1. Мохаммед Шахм Б., Ленчик Л. В., Саидов Н.Б. Плоды сливы домашней – перспективное сырье для создания лекарственных средств. *Наука и инновации (научный журнал). Серия естественных наук.* 2017. № 4. С. 42-48.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Коротка характеристика об'єктів дослідження

Об'єктами дослідження були плоди сливи домашньої (*Prunus domestica* L.) свіжі – сортів Стенлей, Блуфрі, Анна Шпет, Амерс, Угорка донецька та Ренклюд Альтана, вироблені ТОВ «Нико-Юг» (Херсонська обл., м. Нова Каховка), ТОВ «Атаман Імпорт» Вінницька обл., Калинівський район, с. Павлівка, а також Фермерським господарством «Гадз» (Тернопіль). Плоди заготовляли у стані їх повної стиглості.

Сировина була заготовлена у серпні-жовтні 2017-2019 років. Було заготовлено 5 серій сливи домашньої плодів сорту Стенлей свіжих: 080917, 011018, 021018, 050919, 181019.

Стенлей – це пізній сорт сливи домашньої американської селекції виведений у 1912 році та рекомендований до вирощування у СРСР з 1983 року. Це дуже поширений сорт сливи в усьому світі. Дозрівання сливи Стенлей припадає на початок вересня. Плоди яйцеподібні, темно-синього кольору, з нальотом, великі, середньою вагою близько 50 г і більше. М'якоть дуже соковита, відмінного смаку, щільна, напіввідділяється від кісточки. Плоди придатні до використання як у свіжому вигляді, так і у консервованому. Закордоном, у Європі та США, 90 % чорносливу виробляють саме зі слив цього сорту. Станом на 2018 рік сорт Стенлей входить до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні [16].

Слива Блуфрі є американським сортом, який був отриманий шляхом схрещування сорту Стенлей і англійського сорту Президент. Стигла м'якоть жовта, щільної консистенції, але досить ніжна і соковита, має гарний смак. Від кісточки може відділятися. Зріз м'якоті на повітрі практично не темніє. Середня вага сливи – 60-70 г, Колір шкірки темно-фіолетовий, з сизим восковим нальотом; за термінами дозрівання сорт відноситься до пізніх [49].

Слива Анна Шпет – це пізньостиглий сорт Сливи домашньої західноєвропейського походження. Плоди сливи мають середню вагу – 45 г, за формою - овальні або широкояйцеподібні. Черевний шов широкий, неглибокий, виражений слабо, не розтріскується. Колір шкірки темно-фіолетовий з червонуватим відтінком. Шкірочка тонка, щільна, має рідкісні прожилки, вкрита густим сизим восковим нальотом; з м'якоті знімається легко [47].

Слива Амерс – це сорт американської селекції, отриманий в результаті схрещування двох сортів Standard і Стенлей (Stanley), популярний промисловий сорт у фермерів Німеччини і Польщі. Слива плоди до 60 г - солодко-кислуваті на смак з жовтою або жовто-оранжевою м'якоттю; приплюснуто-овальної форми; шкірка плодів тонка, фіолетово-блакитного кольору, з невеликим восковим нальотом. Термін дозрівання: початок вересня [11].

Слива Угорка донецька є сортом середнього терміну дозрівання, який отриманий в Донецькій філії інституту садівництва УААН. Плоди вагою 25-30 г, овальної форми; шкірочка фіолетово-бура з сильним восковим нальотом; шов невеликий, малопомітний; м'якоть соковита, жовта, солодкого смаку. Кісточка середня, вільна; дозрівають плоди в першій декаді серпня. Сорт Угорка донецька входить до державного реєстру сортів України з 1985 року та широко вирощується в Україні. [53].

Слива Ренклюд Альтана - сорт чеської селекції. Плід округлий, рівнобокий, великий, масою 45-50 г. Шкірочка щільна, від рожево-фіолетового до бурочервоного забарвлення з легким нальотом. М'якоть золотисто-жовта, щільна, соковита, солодкого смаку. Кісточка невелика, легко відділяється від м'якоті. Плоди дозрівають в серпні [48].

2.2 Відомості про методи та реактиви

Для проведення досліджень використовували фізичні, хімічні та фізико-хімічні методи аналізу; визначали числові показники, проведено гравіметричний

аналіз, титриметричний аналіз, ТШХ, ВЕРХ, ГХ, ГХ-МС, АЕС, спектрофотометрію в ультрафіолетовій та видимій ділянках.

Для визначення якісного складу та кількісного вмісту БАР у сировині були одержані водний та водно-спиртові екстракти.

Для приготування водного екстракту брали 50,0 г свіжої сировини, відокремлювали кісточку, розчавлювали до пюре зі шматочками темно забарвленої шкірочки, додавали 200 мл води і струшували протягом 1 год. Отриману витяжку фільтрували крізь складчастий фільтр. Екстракцію сировини проводили тричі з новою порцією розчинника. Об'єднаний екстракт концентрували у вакуумі до 50 мл.

Водно-спиртові екстракти отримували аналогічним чином при кімнатній температурі. Як екстрагент використовували 50 % та 70 % етанол.

Для хроматографування застосовували різні марки паперу «Filtrak» (FN1, 3, 7, 14), а також пластинки «Merck F₂₅₄», «Silufol UV-254», «Silufol UV-366» та «Sorbfil» - ПТСХ-А-УФ.

Для досліджень використовували метод висхідної і низхідної одномірної, двомірної і багаторазової хроматографії на папері та хроматографії в тонкому шарі. Результати значення R_f на хроматограмах є середніми величинами 5 визначень.

Розчинники для приготування рухомих фаз використовували кваліфікації ч.д.а. або х.ч.; співвідношення розчинників, позначені цифрами, взяті в об'ємних одиницях. Для хроматографування використовували такі рухомі фази:

№ 1 – *n*-бутанол – кислота оцтова льодяна – вода (БОВ) (4:1:2);

№ 2 – 15 % кислота оцтова;

№ 3 – 2 % кислота оцтова;

№ 4 – 5 % кислота оцтова;

№ 5 – етилацетат - кислота мурашина безводна – вода –(3:1:1);

№ 6 кислота оцтова –5 %;

№ 7 – мурашина кислота безводна – оцтова кислота - вода - етилацетат (11:11:27:100);

№ 8 – мурашина кислота безводна - вода -метилетилкетон - етилацетат
(10:10:30:50)

№ 9 – мурашина к-та безводна – кислота оцтова безводна – вода – етилацетат Р
(7,5 : 7,5 : 17,5 : 67,5);

№ 10 – мурашина кислота безводна – вода – бутанол (16:19:65)

№ 11 – кислота оцтова льодяна - вода-етилацетат (20:20:60)

№ 12 – хлороформ – кислота оцтова – вода (13:6:2);

№ 13 – вода – метанол – кислот оцтова безводна – етилен хлорид (10:15:25:50);

№ 14 – пропанол-вода (85:15).

На хроматограмах речовини виявляли до і після обробки різними реактивами за забарвленням у денному світлі та за флуоресценцією у фільтрованому УФ-світлі:

А – 3 % розчин заліза (III) хлориду;

Б – пари аміаку;

В – 10 % етанольний розчин калію гідроксиду;

Г – анілінфталатний реактив (0,33 г аніліну та 1,66 г кислоти фталевої у 100 мл *n*-бутанолу, насиченого водою);

Д – 0,2 % розчин нінгідрину в ацетоні;

Е – 1 % спиртовий розчин алюмінію хлориду;

Ж – 0,3 % розчин бромфенолового синього і 0,1 % розчин метилового червоного (0,3 г бромфенолового синього і 0,1 г метилового червоного в 100 мл метанолу);

З – розчин 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру і 50 г/л макроголу 400 у метанолі;

К – розчин 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі;

Л – 2 % розчин натрію карбонату безводного у метанолі;

М – розчин бромкрезолового зеленого (розчин 50 мг бромкрезолового зеленого у суміші 0,72 мл 0,1 М натрію гідроксиду, 20 мл 96 % етанолу, доведений водою до 100 мл);

Н – розчин тимолу у суміші кислоти сірчаної і 96 % спирту.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили відповідно до вимог монографії ДФУ (5.3) «Статистичний аналіз результатів біологічних випробувань та тестів» та 5.3.N.1 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту^N» з використанням програми Microsoft Excel 2013 і пакета прикладних програм «Statistica» [13, 14]. Використовували непараметричний критерій Манна-Уїтні, при порівнянні статистичних показників був прийнятий рівень значущості $p < 0,05$ [27, 37, 41].

2.3 Прилади та методики визначення БАР й показників якості

1. Попередню ідентифікацію *вільних і зв'язаних моноцукрів* проводили за допомогою паперової хроматографії низхідним способом у системі № 1 із достовірними зразками нейтральних моноцукрів. Хроматограми проявляли розчином Г [40].

Для ідентифікації вільних моноцукрів 1,0 г екстракту (точна наважка) поміщали у віалу на 10 мл і додавали 10 мл 3 % розчину хлористоводневої кислоти. Після чого віалу герметично закривали та витримували 45 хв в ультразвуковій бані при кімнатній температурі. Вміст віали центрифугували та фільтрували крізь мембранний тефлоновий фільтр із розміром пор 0,45 мкм у віалу для аналізу.

Для аналізу зв'язаних цукрів проводили кислотний гідроліз, для цього в скляну віалу на 5 мл вносили 400 мг екстракту (точна наважка) та додавали 5 мл 6 N розчину хлористоводневої кислоти. Після цього віалу герметично закривали та витримували 24 год при 100 °C у термошафі. Після охолодження вміст віали центрифугували та фільтрували крізь мембранний тефлоновий фільтр із розміром пор 0,45 мкм у віалу для аналізу [40].

2. Числові показники

Втрату в масі при висушуванні визначали відповідно до вимог ДФУ 2.2.32 «Втрата в масі при висушуванні» [14].

Золу загальну Визначали відповідно до вимог ДФУ 2.4.16 «Загальна зола» [14].

Золу нерозчинну у HCl визначали відповідно до вимог ДФУ (2.8.1) «Зола, нерозчинна в хлористоводневій кислоті» [14].

Вміст екстрактивних речовин досліджуваної сировини визначали за методикою монографії «Полин гіркий^N» [13].

Визначення сухого залишку екстракту проводили відповідно до вимог ДФУ, які зазначені у монографії 2.8.16 «Визначення сухого залишку екстрактів» [14].

3 *Елементний склад* сировини та отриманих екстрактів визначали згідно монографії ДФУ 2.4.8 «Важкі метали» методом атомно-емісійної спектрофотометрії на базі Інституту монокристалів НАН України [14]. Калібрувальні графіки будували з використанням стандартних розчинів солей металів (ICORM-23-27) в інтервалі вимірюваних концентрацій. Дослідження проводили на атомно-емісійному спектрофотометрі ДФС-8 із дифракційною решіткою 600 штр/мм і трилінзовою системою освітлення щілини. Проби випарювали з кратерів графітових електродів у розряді дуги змінного струму силою 16 А при експозиції 60 с. Як джерело збудження спектрів використовували атомізатор ІВС- 28.

Для розчинення міді та ванадію використовували азотну кислоту, а при аналізі інших елементів – реактиви кваліфікації х.ч. та двічі очищену воду. Фотометрували лінії спектрів при довжині хвилі від 240 до 347 нм у пробах у порівнянні з державними зразками суміші мінеральних елементів, за допомогою мікрофотометра МФ-4. Відносне стандартне відхилення ($n = 5$) не перевищувало 3 % при визначенні чисельних величин концентрацій елементів. [5].

4. Визначення кількісного вмісту *суми вільних органічних кислот* проводили методом об'ємного титрування, який наведено у ДФУ 2.1 монографії «Шипшини плоди^N» [15].

5. Визначення кількісного вмісту *водорозчинних полісахаридів* (ВРПС) проводили гравіметрично [143].

Зі 100 г свіжих плодів сливи витягли кісточку, подрібнювали до пюре та додавали гарячу воду у співвідношенні 1:5. Екстракт перемішували протягом 1 год при кімнатній температурі, після чого центрифугували (швидкість обертання 5000 об/хв) протягом 10 хв. Водний екстракт декантували в колбу, упарювали до 100 мл і поміщали в колбу ємністю 1000 мл, після чого додавали при перемішуванні 300 мл 96 % спирту і залишали на 8 год при температурі 17 °С. У колбі утворювався осад ВРПС, який фільтрували через паперовий фільтр. Фільтр з ВРПС сушили спочатку на повітрі, а потім до постійної маси при температурі 100-105 °С і розраховували вихід ВРПС за формулою 2.1:

$$X = \frac{m_2 - m_1 \times 100}{m}, \quad (2.1)$$

де m – наважка сировини, г;

m_1 – маса фільтру, г;

m_2 – маса фільтра з осадом, г.

6. Визначення кількісного вмісту *пектинових речовин* проводили гравіметрично [56]

Близько 50,0 г (точна наважка) пюре сливи заливали відповідним екстрагентом (суміш 0,5 % розчинів кислоти щавлевої і амонію оксалату (1:1), або 1 % розчин лимонної кислоти, або 2 % розчин натрію гідрокарбонату з додаванням 0,16 % розчину натрію гідроксиду) у співвідношенні сировина-екстрагент 1:10, нагрівали на водяній бані при температурі 70-80 °С протягом 20 хв. Екстракцію повторювали тричі. Отримані екстракти фільтрували, об'єднували, упарювали до 1/10 об'єму під вакуумом і висаджували трикратною кількістю етанолу [56]. Осад висушували і розраховували його вихід за формулою 2.2:

$$X = \frac{m_2 - m_1 \times 100}{m}, \quad (2.2)$$

де m – наважка сировини, г;

m_1 – маса фільтру, г;

m_2 – маса фільтра з осадом, г.

7. Визначення кількісного вмісту *суми* моносахаридів у перерахунку на глюкозу у екстрактах проводили спектрофотометрично [143]

0,5 г (точна наважка) екстракту гідролізували кислотною соляною, концентрованою протягом 2,5 год. Розчини охолоджували і кількісно переносили водою в мірну колбу ємністю 25,0 мл, доводили до позначки тим же розчинником і перемішували. Потім відбирали 5 мл з отриманого розчину і нейтралізували розчином 30 % гідроксиду натрію за допомогою універсального індикаторного паперу. Нейтралізований розчин фільтрували через паперовий фільтр, кількісно переносили в мірну колбу об'ємом 25,0 мл, розводили водою до об'єму і перемішували.

Потім з мірної колби відбирали 2-5 мл розчину в іншу мірну колбу місткістю 25,0 мл, в колбу додавали 1,0 мл 1 % пікринової кислоти, 3,0 мл 20 % карбонату натрію і нагрівали при 100 °С протягом 20 хв. Після охолодження об'єм доводили водою і перемішували. Паралельно, за тих самих умов, готували 2,0 мл стандартного зразка глюкози. Оптичну густину досліджуваних розчинів та стандартного зразка глюкози вимірювали на спектрофотометрі Mecasys Optizen POP при довжині хвилі 463 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. В якості еталонного розчину використовували суміш, що складається з 1,0 мл 1 % пікринової кислоти, 3 мл 20 % карбонату натрію та 1,0 мл води.

Вміст моносахаридів у екстракті в перерахунку на глюкозу обчислювали у відсотках за формулою 2.3:

$$X = \frac{A_1 \times a_0 \times 500 \times 25 \times 25 \times 25 \times 2 \times 100 \times 100}{A_0 \times a_1 \times 4 \times 5 \times 1 \times 50 \times 25 \times (100 - w)}, \quad (2.3)$$

де A_1 – оптична густина досліджуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину ФСЗДФУ глюкози;

a_1 – наважка сировини, г;

a_0 – наважка ФСЗДФУ глюкози, г;

w – вологість сировини, %.

Приготування розчину глюкози: 0,02 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ глюкози, висушеної при температурі 105 °С до постійної маси, поміщали у мірну колбу ємністю 50 мл, розчиняли у воді, доводили об'єм розчину водою до мітки і перемішували. Термін придатності отриманого розчину 3 доби.

8. Визначення кількісного вмісту *суми фенольних сполук* у об'єктах дослідження, спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту [13].

1,0 г (точна наважка) об'єкту дослідження поміщали у колбу ємністю 200 мл і додавали 30 мл 40 % етанолу. Колбу приєднували до зворотного холодильника та нагрівали на водяному нагрівачі протягом 15 хв. Екстракцію проводили ще двічі. Витяжки об'єднували, охолоджували та фільтрували крізь паперовий фільтр у мірну колбу ємністю 100,0 мл і доводили об'єм розчину 40 % етанолу до позначки (розчин А).

1,0 мл розчину А вносили у мірну колбу ємністю 25,0 мл, доводили об'єм 40 % етанолом до мітки та перемішували. 2,0 мл отриманого розчину вносили у мірну колбу ємністю 25,0 мл та доводили тим же розчинником до мітки. Вимірювали оптичну густину отриманого розчину на спектрофотометрі Mecasys Optizen POP при довжині хвилі 270 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Як розчин порівняння використовували 40 % етанол.

Вміст суми фенольних сполук (X) в об'єктах дослідження у перерахунку на кислоту галову обчислювали у відсотках за формулою 2.4:

$$\text{для сировини: } X = \frac{A \times 100 \times 25 \times 25 \times 100}{540 \times m \times 1 \times 2 \times (100 - w)}, \quad (2.4)$$

де A – оптична густина дослідного розчину;

m – маса наважки сировини, г;

540 – коефіцієнт питомого поглинання розчину кислоти галової у 40 %

спирті при довжині хвилі 270 нм;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

9. Визначення кількісного вмісту суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол, спектрофотометричним методом за методикою, наведеною у монографії «Визначення танінів у лікарській рослинній сировині» ДФУ 2.8.14 [14] на спектрофотометрі Mecasys Optizen POP у кюветах з товщиною шару 10 мм.

10. Визначення кількісного вмісту *похідних гідроксикоричної кислоти* у сировині, спектрофотометричним методом у перерахунку на хлорогенову кислоту [32].

Пробопідготовка для сировини: 3,0 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщали в колбу ємністю 200 мл і додавали 30 мл 20 % етанолу. Колбу приєднували до зворотного холодильника і нагрівали на водяному нагрівачі протягом 15 хв. Екстракцію проводили тричі. Екстракти об'єднували, охолоджували, фільтрували крізь паперовий фільтр у мірну колбу ємністю 100,0 мл і доводили об'єм розчину тим же розчинником до позначки (розчин А).

1,0 мл розчину А переносили у мірну колбу ємністю 25 мл, доводили об'єм 20 % спиртом до мітки та перемішували. Вимірювали оптичну густину отриманого розчину на спектрофотометрі Mecasys Optizen POP при довжині хвилі 327 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Паралельно 1,0 мл ФСЗ ДФУ хлорогенової кислоти вносили у мірну колбу ємністю 50,0 мл, доводили об'єм до мітки 20 % етанолом, перемішували та вимірювали оптичну густину за тих самих умов, що й дослідний розчин. Розчином порівняння був 20 % етанол.

Вміст суми похідних гідроксикоричної кислоти у сировині обчислювали у відсотках за формулою 2.5:

$$X = \frac{A_1 \times a_0 \times 100 \times 1 \times 25 \times 100 \times 100}{A_0 \times a_1 \times 100 \times 1 \times 50 \times (100 - w)}, \quad (2.5)$$

де A_1 – оптична густина дослідного розчину;

A_0 – оптична густина розчину ФСЗ ДФУ кислоти хлорогенової;

a_1 – наважка сировини (екстракту), г;

a_0 – наважка ФСЗ ДФУ кислоти хлорогенової, г;

w – втрата в масі при висушуванні, %.

Приготування розчину кислоти хлорогенової: 0,05 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ кислоти хлорогенової (ДСТ 6-09-14-66) вносили у мірну колбу ємністю 100 мл, розчиняли у розчині 20 % етанолу, доводили об'єм розчину тим же розчинником до мітки і перемішували.

11. Визначення кількісного вмісту суми *гідроксикоричних кислот* у екстрактах, спектрофотометричним методом у перерахунку на хлорогенову кислоту, який наведено у ДФУ 2.0 монографії «Кропиви листя» [13].

12. Визначення кількісного вмісту *флавоноїдів* у сировині методом диференційної спектрофотометрії у перерахунку на рутин [10, 32].

Близько 5,0 г подрібненої сировини (точна наважка), поміщали у колбу зі шліфом ємністю 200 мл, додавали 50 мл 50 % етанолу. Колбу приєднували до зворотного холодильника та нагрівали на водяній бані протягом 30 хв, періодично збовтуючи для змивання часток сировини зі стінок. Гарячу витяжку фільтрували крізь вату так, щоб частки сировини не потрапляли на фільтр. Вату переносили у колбу для екстрагування і додавали нову порцію екстрагенту. Екстракцію проводили ще двічі в описаних вище умовах, фільтруючи витяжки в ту саму колбу. Об'єднані витяжки упарювали до 1/4 попереднього об'єму. Упарений екстракт кількісно переносили в мірну колбу ємністю 50,0 мл, охолоджували та доводили об'єм 70 % етанолом до мітки (розчин А).

2,0 мл розчину А вносили у мірну колбу ємністю 25 мл, додавали 2,0 мл 3 % алюмінію хлориду у 96 % етанолі, доводили об'єм 70 % спиртом до мітки і перемішували.

Через 30 хв розчин фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші порції фільтрату, та вимірювали оптичну густину отриманого комплексу на спектрофотометрі Mecasys Optizen POP при довжині хвилі 417 нм у

кюветі з товщиною шару 10 мм. Розчином порівняння був розчин, що містить 2,0 мл розчину А, доведений 70 % етанолом до мітки у мірній колбі ємністю 25,0 мл.

Пробопідготовка для розчину порівняння: до 1,0 мл розчину ФСЗДФУ рутину додавали 1,0 мл 3 % спиртового розчину алюмінію хлориду і доводили 70 % спиртом до 25,0 мл. Як розчин порівняння використовували розчин ФСЗДФУ рутину, доведений 70 % етанолом до мітки у мірній колбі ємністю 25,0 мл.

Вміст суми флавоноїдів у сировині обчислювали у відсотках за формулою 2.6:

$$X = \frac{A_1 \times a_0 \times 50 \times 1 \times 25 \times 100 \times 100}{A_0 \times a_1 \times 25 \times 2 \times 50 \times (100 - w)}, \quad (2.6)$$

де A_1 – оптична густина розчину, який досліджується;

A_0 – оптична густина розчину комплексу ФСЗДФУ рутину з алюмінію хлоридом;

a_1 – наважка сировини, г;

a_0 – наважка ФСЗДФУ рутину;

w – втрата в масі при висушуванні, %.

Приготування розчину рутину: 0,01 г (точна наважка) ФСЗДФУ рутину (ФС 42-2508-87), висушеного при температурі 135 °С до постійної маси, вносили у мірну колбу ємністю 25 мл, розчиняли у 96 % спирті, доводили об'єм розчину до мітки і перемішували.

Приготування 3 % розчину алюмінію хлориду: 3 г алюмінію хлориду х.ч. або ч.д.а за ДСТ 3759-85 розчиняли у 50 мл 96 % етанолу в мірній колбі ємністю 100 мл, об'єм розчину доводили тим же розчинником до мітки і перемішували.

13. Визначення кількісного вмісту *флавоноїдів* у сировині та екстрактах, спектрофотометричним методом за методикою, яка описана у монографії «Софори бутони»ДФУ 2.1 [15].

14. Визначення кількісного вмісту *суми антоціанів* у плодах сливи свіжих, спектрофотометричним методом за ДФУ 2.0, Монографія «Чорниці плоди, свіжі» [13]. Визначення проводили на спектрофотометрі Mecasys Optizen POP.

15. Визначення складу та вмісту *органічних кислот, спиртів та вільних моносахаридів* у сировині та екстрактах, методом газової хроматографії на газовому хроматографі Agilent GC 7890, обладнаним мас-спектрометричним детектором Agilent MD 5975 [135, 175].

Наважку 100,0 мг рослинного матеріалу поміщали у пробірку Еппендорфа. Додавали 250,0 мкл піридину та 250,0 мкл BSTFA (силілюючого реагенту); з подальшою інкубацією при 70 °C протягом 40 хв, потім додавали 300 мкл хлороформу.

Силілювання є найбільш широко застосовуваним методом дериватизації в ГХ-МС. У отриманих похідних активний водень груп -OH, -COOH, =NH, -NH₂ та -SH замінюється на триметилсилільну (TMS) групу, в результаті чого вони стають більш термостабільними та леткими.

BSTFA (реагент) та піридин (каталізатор) у співвідношенні 1:1 об./об. використовувались як силілююча суміш.

Була використана система, що складалася з газового хроматографа Agilent GC 7890 та спектрального детектора Agilent MD 5975; колонка HP-5MS з параметрами: довжина 30 м, діаметр 0,32 мм і товщиною плівкового покриття 0,25 мкм; при такій програмі температури: початкова температура 100 °C, утримання 2 хв, збільшення до 180 °C на 15 °C/хв, утримання 1 хв, збільшення до 300 °C на 5 °C/хв, утримання 10 хв; температура інжектора та детектора 250 °C; газ-носії гелій зі швидкістю потоку 1,0 мл/хв; спектр сканування мас-спектрального детектора $m/z = 50-550$; вводили об'єм зразка 1,0 мкл; режим поділу потоку 10:1.

Сполуки ідентифікували шляхом порівняння часу утримування та індексу утримування Ковача (RI) із стандартними речовинами та спектральними даними. з бібліотек баз даних Golm Metabolome (<http://csbdb.mpimp-golm.mpg.de/csbdb/gmd/gmd.html>) та NIST'08 (Національний інститут стандартів та технологій, США).

16. Визначення складу та вмісту *летких сполук* у екстракті Прунофен методом хромато-мас-спектрометрії [31].

Комплекс летких речовин отримували методом перегонки з водяною парою. 20,0 мкл отриманого екстракту розчиняли в 380,0 мкл гексану. Хроматографічний аналіз проводили на газовому хроматографі Agilent GC 7890 обладнаним мас-спектральним детектором Agilent MD 5975 за таких умов: колонка HP-5MS (довжина 30 м, діаметр 0,32 мм, товщина плівкового покриття 0,25 мкм); температура програмувалася на початку 40 °C, збільшувалася до 300°C зі швидкістю 5 °C/хв, утримання 10 хв; температура інжектора та детектора 250 °C; газ-носії гелій, швидкість потоку 1,0 мл/хв; спектр сканування мас-спектрального детектора $m/z = 40-400$. Об'єм зразка, що вводили 1,0 мкл у режимі поділу потоку 20:1.

Сполуки ідентифікували шляхом порівняння часу утримування та відносних індексів Ковача (RI) із показниками стандартних речовин та мас-спектральних даних із бібліотек бази даних Golm (<http://csbdb.mpimp-golm.mpg.de/csbdb/gmd/gmd.html>) та NIST'08 (Національний інститут стандартів та технологій, США).

17. Визначення складу та вмісту *вільних і зв'язаних амінокислот* у сировині та екстрактах методом ВЕРХ [120, 121, 157, 163].

Дослідження проводились на високоефективному рідинному хроматографі Agilent 1200 (Agilent technologies, USA). Метод заснований на екстракції вільних амінокислот із рослинної сировини/препаратів та кислотному гідролізі рослинних препаратів з наступним аналізом гідролізатів методом ВЕРХ з перердколоночною дериватизацією 9-флуоренілметоксикарбоніл хлоридом (ФМОС) та о-фталевим альдегідом (ОРА) з наступною детекцією флуоресцентним детектором. Колонка Zorbax AAA довжиною 150 мм, внутрішнім діаметром 4,6 мм, діаметр зерна сорбента 3 мкм. Мобільна фаза А – 40 mM Na_2HPO_4 pH 7.8; В – $\text{ACN}:\text{MeOH}:\text{water}$ (45:45:10, v/v/v). Режим розділення градієнтний із постійною швидкістю потоку 1,5 мл/хв. Температура термостату колонки 40 °C. Предколоночну дериватизацію

проводили в автоматичному програмованому режимі з використанням FМОС реагенту (Agilent 5061-3337) та ОРА реагенту (Agilent 5061-3335). Детекція дериватизованих амінокислот реалізовувалася за допомогою флуоресцентного детектора.

Пробопідготовка та аналіз рослинної сировини/препаратів проводили таким чином.

Для визначення вільних амінокислот наважку сировини/препарату поміщали у віалу, додавали 2 мл водного розчину 0,1 N соляної кислоти та витримували на ультразвуковій бані при 50 °С впродовж 3 год.

Для визначення загальних амінокислот наважку препарату поміщали у віалу, додавали 2 мл водного розчину 6 N соляної кислоти, поміщали в термостат при 110 °С. Гідроліз проводили впродовж 24 год.

0,5 мл відцентрифугованого екстракту/гідролізату упарювали на роторному випаровувачі, тричі промиваючи дистильованою водою для видалення соляної кислоти. Ресуспендували в 0,5 мл дистильованої води та фільтрували 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 амінокислот проводили шляхом порівняння часів утримування з сумішшю стандартів амінокислот (Agilent 5061-3334). Вміст зв'язаних амінокислот визначали шляхом віднімання вмісту вільних амінокислот від їх загального вмісту.

Вміст вільних / загальних амінокислот розраховували за формулою 2.7:

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

де C - концентрація за хроматографічною системою (мкг/мл);

V - об'єм розчинника для екстракції (вільні) / об'єм розчинника для гідролізу (загальні), мл;

M – наважка сировини/препарату, мг.

18. Визначення складу та вмісту *фенольних сполук* методом ВЕРХ у сировині [90].

Наважку сировини 0,4-1,0 г, екстрагували 5-10 мл 60 % розчину метанолу на ультразвуковій бані при 80 °С впродовж 4 год в скляних герметичних віалах із тефлоною кришкою. Отриманий екстракт центрифугували при 3 тис об/хв та фільтрували крізь одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм.

Рідинну хроматографію проводили на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200. В якості рухомої фази використовували метанол (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти у 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 довжиною 150 мм, внутрішнім діаметром 4,6 мм, діаметр зерна сорбента 3,5 мкм (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку 0,5 мл/хв, температура термостату 30 °С, об'єм інжекції 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 250 та 275 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [90].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів фенольних сполук (галової кислоти, гідроксифеніл оцтової кислоти, хлорогенової кислоти, кофєїної кислоти, бузкової кислоти, р-кумарової кислоти, транс-ферулової кислоти, синапової кислоти, транс-цинамової кислоти, хінної кислоти).

Вміст сполук (X) (мкг/г) визначали за формулою 2.8:

$$X = \frac{c \times V}{m}, \quad (2.8)$$

де с – концентрація сполуки, визначена хроматографічно, мкг/мл;

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини з якої проводили екстракцію, г.

19. Визначення складу та вмісту *фенольних сполук* у екстракті Прунофен методом ВЕРХ [96].

Дослідження проводились на високоефективному рідинному хроматографі Shimadzu HPLC-system, ser.20 обладнаному діодноматричним детектором в таких умовах: колонка Phenomenex Luna C18 (2), розміром 250 мм x 4,6 мм, розмір часток 5 мкм; температура колонки – 35 °С; довжина хвилі детектування – 330 нм (для гідроксикорчних кислот, глікозидів флавоноїдів), 370 нм (для агліконів флавоноїдів), 280 нм (для дубильних речовин); швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв; об'єм проби, що вводився – 5 мкл. Як рухому фазу використовували елюент А: 0.1 % розчин трифтороцтової кислоти у воді та елюент Б: 0.1 % розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі. Градієнтний режим хроматографування був таким:

Час хроматографування, хв	Елюент А, %	Елюент Б, %
0–5	95	5
5–35	95 → 75	5 → 25
35–40	75	25
40–60	75 → 50	25 → 50
60–65	50 → 20	50 → 80
65–70	20	80
70–85	95	5

Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримування та за відповідністю УФ-спектрів речовинам-стандартам.

Кожен пік, виявлений у екстракті Прунофен, ідентифікували шляхом порівняння часу утримування та УФ-спектрів зі стандартами. Флавоноїди та гідроксикоричні кислоти, кількісно визначали шляхом калібрування за стандартами. Об'єм введеної проби становив 5 мл.

20. Визначення складу та вмісту флавоноїдів методом ВЕРХ у сировині [151].

Наважку 0,3-0,6 г досліджуваної сировини екстрагували 10 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.

Хроматографування проводили 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 довжиною 150 мм, внутрішнім діаметром 4,6 мм, діаметр зерна сорбента був 3,5 мкм, (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 [151].

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

Кількість флавоноїдів (X) (мкг/г) визначали за формулою 2.9:

$$X = \frac{c \times V}{m}, \quad (2.9)$$

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

V – об'єм екстракту, мл;

m – маса сировини з якої проводили екстракцію, г.

21. *Вивчення анатомічної будови* лікарської рослинної сировини проводили з свіжої, фіксованої в суміші етанол – гліцерин – вода (1:1:1) сировини; вивчали під світловим мікроскопом «Біолам» при збільшенні в 60-400 разів; діагностичні ознаки фотографували за допомогою фотокамери “Digital camera for microscope DCM 300” (USB 2,0), resolution 10 M pixels.

Фармакологічні дослідження отриманих екстрактів проводилися відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», (Україна, 2001), що погоджені з «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург,

1985) та Етичним кодексом Всесвітньої медичної асоціації (Гельсінська декларація, 1964). [20, 72].

22. Визначення гострої токсичності екстрактів [20].

Гостру токсичність отриманих екстрактів вивчали на білих щурах після одноразового внутрішньошлункового введення екстракту для визначення дози LD₅₀ відповідно до рекомендацій України [20]. Обмежувальною мірою при визначенні LD₅₀ була максимальна доза токсичності четвертого ступеня (малотоксичні речовини) – 5000 мг/кг [20]. Отже, 24 білих щури (самці та самки) були рандомізовані у 2 групи: 1-а група інтактного контролю (ІК) - 6 самців та 6 самок щурів, які використовували розчинник (воду), 2-а група – 6 самців та 6 самок щури, які застосовували досліджуваний екстракт в дозі 5000 мг/кг. За тваринами спостерігали протягом 14 днів.

23. Визначення діуретичної та урікозуричної активності екстракту Прунофен [8, 63, 164].

Для визначення динаміки діурезу, вивчали вплив екстракту на стан сечовидільної системи і, таким чином, визначали наявність діуретичної та урікозуричної дії. Для цього використовували уніфіковану методику. Діуретичну активність вивчали з точки зору добового спонтанного діурезу та форсованого діурезу (з рідинним навантаженням в обсязі 3 % маси тіла тварини, який робили через 1 год після застосування екстракту). Спонтанний діурез вивчався на 1-й день дослідження після одноразового прийому та 20-денного внутрішньошлункового введення екстракту в дозі 5 мл/кг. На 2-й і 21-й дні від початку експерименту, відразу після дослідження спонтанного діурезу, вивчали форсований діурез на 2-й і 21-й день внутрішньошлункового введення екстракту в дозі 5 мл/кг. У тому ж режимі контрольна група щурів отримувала еквівалентну кількість розчинника (питна вода). При дослідженні спонтанного діурезу для збору сечі щурів поміщали в метаболічні клітини на 24 год, а при вивченні форсованого діурезу – на 3 год. Наприкінці експерименту тварин піддавали евтаназії відповідно до етичних вимог

під час роботи з лабораторними тваринами та збирали кров для дослідження сироватки. Концентрацію креатиніну та сечової кислоти визначали за біохімічним набором реагентів («Філізіт», Україна) у сечі та сироватці.

Екскрецію креатиніну та сечової кислоти розраховували за формулою 2.10:

$$E \text{ речовини} = U \text{ речовини} \times V, \quad (2.10)$$

де: E речовини – екскреція речовини;

U речовини – концентрація в сечі;

V – об'єм сечі.

Швидкість клубочкової фільтрації оцінювали за ендogenousним кліренсом креатиніну (КК), також розраховували канальцеву реабсорбцію (КР) за формулами 2.11 та 2.12:

$$KK = \frac{U_{cr} \times V}{P_{cr}}, \quad (2.11)$$

$$KP = \left(\frac{1 - P_{cr}}{U_{cr}} \right) \times 100\%, \quad (2.12)$$

де U_{cr} – концентрація креатиніну в сечі,

V – добовий діурез,

P_{cr} – концентрація креатиніну в плазмі,

U_{ur} – концентрація сечовини в сечі

P_{ur} – концентрація сечовини в плазмі.

24. *Визначення впливу екстракту Прунофен на реологічні властивості крові [23].*

Після рандомізації тваринам внутрішньошлунково вводили воду (група ІК) та екстракт у дозі 5 мл/кг (група екстракту «Прунофен») протягом 3 тижнів. В кінці експерименту, після розрізування кінчика хвоста щурів, визначали час згортання першої краплі крові.

25. *Дослідження впливу екстракту «Прунофен» на стан клітинних мембран.*

Дослідження проводили в умовах спонтанного гемолізу еритроцитів щурів за методикою Jager F.C. [23]. Після рандомізації тварин на 2 групи перша група

отримувала внутрішньошлунково екстракту «Прунофен» у дозі 5 мл/кг, а контрольна група (група ІК) еквівалентну кількість розчинника (води) протягом 3 тижнів. Далі, визначення ступеня гемолізу еритроцитів проводили методом [23]. Мембраностабілізуючий ефект (МЕ) екстракту «Прунофен» визначався за здатністю запобігати пошкодженню мембрани еритроцитів і оцінювався шляхом зміни кількості гемолізованих еритроцитів (КГЕ) щурів у порівнянні з групою ІК та виражався у %. Розрахунок проводили з використанням формули 2.13:

$$ME = \frac{КГЕ_к - КГЕ_д}{КГЕ_к} \times 100\%, \quad (2.13)$$

де МЕ – мембраностабілізуючий ефект

КГЕ_к – кількість гемолізованих еритроцитів в групі контролю

КГЕ_д – кількість гемолізованих еритроцитів в групі досліду

26. Визначення гепатопротекторної активності СДППК [164].

Дослідження проводили на 110 аутбредних самиць щурів масою 220–250 г. Алкогольний гепатит викликали через внутрішньошлункове введення 40 % етанолу у дозі 7 мл/кг протягом 7 днів. ВРПС з плодів сливи вводили внутрішньошлунково у дозах 100 або 200 мг/кг. Як препарат порівняння використовували гепатопротектор рослинного походження – силібор (ФК «Здоров'я», Україна) у дозі 25 мг/кг. Всі препарати розчиняли або суспендували у 4 мл очищеної води та вводили внутрішньошлунково через 1 год після надходження розчину етанолу, тваринам контрольної групи та контрольної патології вводили лише очищену воду для відтворення рівних умов експерименту. Тварин декапітували та збирали кров для отримання сироватки. У сироватці крові визначали рівень сечовини та загального білка за допомогою стандартних наборів реактивів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна). Стан печінки та жовчосекреторної функції печінки оцінювали за активністю ферментів аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАт), лужної фосфатази (ЛФ) та γ-глутамілтранспептидази (γ-ГТ). Активність ферментів

визначали за допомогою стандартних наборів реактивів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна).

27. Вивчення проносної активності СДППК [19, 168].

Вивчення проносної активності ВРПС, одержаного з плодів сливи домашньої за заявленим способом, проводили за здатністю тест-зразків (ТЗ) впливати на перистальтику кишечника мишей. Здатність підвищувати скорочення кишечника оцінювали за швидкістю проходження контрастної маси по кишечнику мишей за методом Sticknau J. S. зі співав.

У досліді використовували білих нелінійних мишей масою тіла 20-22 г. Тест-зразки вводили у профілактичному режимі протягом 3 діб. Останнє введення здійснювали за 40 хв до тестування.

Як тест-зразки використовували: СДППК. Готували водні розчини СДППК та вводили перорально у дозах 25 мг/кг, 50 мг/кг та 75 мг/кг у вигляді суспензії у кількості відповідно до маси тварин.

Препарат порівняння Піколакс ввели одноразово у розмірі 1 мл крапель перорального (містить 7,5 мг пікосульфату натрію) за 12 год до тестування.

За 24 год до тестування тварин позбавляли їжі. Через 40 хв після введення тест-зразку вводили контрастну масу у вигляді 20 % суспензії вугілля на 1 % крохмальному слизу по 0,6 мл на тварину. Через 40 хв тварин знеживлювали за допомогою дислокації шийних хребців під хлороформним наркозом. Проводили розтин, виділяли увесь кишечник від шлунку до анального отвору, розгортали його у одну пряму лінію та вимірювали його загальну довжину (см) та шлях, який пройшов контраст (см). Як інтегральний показник сили перистальтики кишечника використовували відсоток довжини кишечника (Д %), що був заповнений контрастною масою за формулою 2.14:

$$Д\% = \frac{Д_{пк}}{Д_{к}} \times 100\%, \quad (2.14)$$

де $Д_{к}$ – абсолютна довжина кишечника;

$Д_{пк}$ – шлях (см), пройдений контрастною масою по кишечнику за 40 хв.

РОЗДІЛ 3

ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ВИВЧЕННЯ ПЛОДІВ РІЗНИХ СОРТІВ СЛИВИ ДОМАШНЬОЇ ТА ЇХ СТАНДАРТИЗАЦІЯ

3.1 Порівняльний аналіз БАР плодів різних сортів сливи домашньої

Сливи домашня має великий ареал культивування на території України та велику кількість сортів, що вирощуються у агро-промислових комплексах. Значна частина плодів сливи висушується для отримання чорносливу як в Україні, так і закордоном. Процес висушування плодів сливи добре досліджено та встановлено, що хімічний склад значно змінюється, а саме зменшується вміст флавоноїдів й антоціанідинів [83, 167]. За результатами деяких досліджень вміст цих груп речовин зменшується до 0 %, тобто вони не ідентифікуються сучасними методами фітохімічного аналізу у висушених плодах сливи [83, 167]. Тому всі фітохімічні дослідження ми проводили у свіжих плодах сливи.

Для вибору об'єкту дослідження було проведено попереднє вивчення вмісту біологічно активних речовин (БАР), а саме суми фенольних сполук, органічних кислот та флавоноїдів у свіжих плодах 6 найбільш поширених в Україні сортів: Блуфрі, Анна Шпет, Амерс, Стенлей, Угорка донецька та Ренклюд Альтана (рис. 3.1).



Стенлей

Амерс

Угорка донецька



Анна Шпет



Блуфрі



Ренклод Альтана

Рис. 3.1 Плоди різних сортів сливи домашньої

Кількісний вміст поліфенольних сполук у плодах сливи домашньої визначали методом спектрофотометрії за довжини хвилі 270 нм у перерахунку на галову кислоту. Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у сировині визначали спектрофотометрично за довжини хвилі 327 нм у перерахунку на хлорогенову кислоту [10]. Флавоноїди визначали методом диференціальної спектрофотометрії у перерахунку на рутин за довжини хвилі 415 нм [10]. Кількісний вміст органічних кислот визначали титриметрично за методикою ДФУ. Опис методик наведено в розділі 2.3 цієї дисертації.

Результати визначення вмісту БАР у плодах сливи домашньої наведені у табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Результати попереднього визначення вмісту БАР у плодах сливи домашньої

Сорт Сливи домашньої	Вміст, %			
	Органічні кислоти	Флавоноїди	Гідроксикоричні кислоти	Сума фенольних сполук
Блуфрі	1,02±0,03	0,01±0,0005	0,27±0,01	2,99±0,13
Анна Шпет	0,46±0,02	0,02±0,001	0,25±0,01	1,82±0,08
Амерс	0,78±0,02	0,01±0,0005	0,29±0,01	2,54±0,12
Стенлей	1,14±0,04	0,04±0,001	0,31±0,02	2,95±0,13
Угорка донецька	1,12±0,04	0,04±0,002	0,25±0,01	1,98±0,07
Ренклод Альтана	0,95±0,03	0,04±0,002	0,22±0,01	1,16±0,05

Згідно отриманих даних найбагатшими за вмістом фенольних сполук виявилися сорти Блуфрі, Стенлей та Угорка донецька. Найбільше

гідроксикоричних кислот містив сорт Стенлей, також цей сорт не поступався за вмістом флавоноїдів іншим сортам і лідирував за вмістом суми органічних кислот. Оскільки цей сорт досить поширений в Україні і займає більш ніж 6 % усієї площі відведеної під сливу, а також широко культивується закордоном і входить до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні, для подальшого дослідження нами була обраний саме сорт Стенлей і більшість фітохімічних досліджень було проведено саме зі плодами цього сорту.

Для використання плодів сливи як лікарської рослинної сировини потрібно розробити Методику контролю якості (МКЯ) для сировини згідно вимог ДФУ. Для цього нами були проведені фітохімічні дослідження різних груп БАР, а саме вивчення елементного складу, органічних кислот, амінокислот, полісахаридів та фенольних сполук.

3.2 Вивчення елементного складу плодів сливи домашньої

Для подальшої стандартизації плодів сливи й розробки МКЯ, згідно вимог ДФУ, потрібно визначити вміст важких металів у сировині.

Також відомо, що макро- та мікроелементи є необхідними та незамінними речовинами для організму людини. Вони беруть активну участь у багатьох біохімічних процесах і забезпечують нормальне функціонування організму, тому вивчення елементного складу необхідне для повної оцінки корисних властивостей сировини.

Для вивчення елементного складу сировини був використаний атомно-емісійний спектрометричний метод, що ґрунтується на випарюванні золи рослин у дуговому розряді, фотографічній реєстрації розкладеного у спектр випромінювання і вимірюванні інтенсивності спектральних ліній окремих елементів. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації [34, 143].

Визначення проводили на базі Державної наукової установи Науково-технологічний комплекс «Інститут монокристалів» Національної академії наук

України у відділі аналітичної хімії функціональних матеріалів і об'єктів навколишнього середовища.

Результати аналізу мінерального складу сировини сливи домашньої сорту Стенлей наведені у табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Елементний склад плодів сливи домашньої сорту Стенлей

Елемент	Вміст у різних серіях сировини, мг/100 г				
	080917	011018	021018	050919	181019
Макроелементи					
K	550,21±26,84	570,55±22,41	575,24±27,93	532,10±21,83	525,87±25,58
Mg	55,21±2,41	52,51±2,24	61,34±2,61	49,75±2,13	54,23±2,37
Ca	40,84±1,93	43,32±1,90	45,48±1,95	35,76±1,75	38,11±1,81
Si	17,05±0,85	18,01±0,88	15,24±0,73	19,00±0,96	16,98±0,82
Na	15,00±0,71	14,69±0,64	16,04±0,81	16,01±0,82	15,18±0,78
P	6,60±0,30	5,95±0,29	6,32±0,32	6,09±0,33	7,02±0,31
Мікроелементи					
Al	2,03±0,09	2,07±0,10	2,11±0,09	1,89±0,08	1,90±0,08
Sr	0,57±0,02	0,49±0,02	0,52±0,03	0,64±0,03	0,58±0,02
Mn	0,27±0,01	0,26±0,01	0,25±0,01	0,22±0,01	0,25±0,01
Cu	0,27±0,01	0,33±0,02	0,24±0,01	0,22±0,01	0,26±0,01
Zn	0,26±0,01	0,24±0,01	0,25±0,01	0,27±0,01	0,25±0,01
Fe	0,18±0,01	0,19±0,01	0,17±0,01	0,18±0,01	0,19±0,01

Примітка. Co < 0,03 мг/100 г; Cd < 0,01 мг/100 г; As < 0,01 мг/100 г; Hg < 0,01 мг/100 г; Mo < 0,03 мг/100 г; Ni < 0,03 мг/100 г; Pb < 0,03 мг/100 г.

Згідно до регламентації статті «Лікарська рослинна сировина» ДФУ 2.0, якщо немає інших зазначень або обґрунтувань та дозволів, то встановлені такі вимоги до граничної концентрації важких металів: Cd – не більше 0,1 мг/100 г; Pb – не більше 0,5 мг/100 г; Hg – не більше 0,01 мг/100 г [14]. Згідно з отриманими даними всі зразки плодів сливи домашньої відповідали вимогам ДФУ за показником вмісту важких металів.

Сумарна кількість макро- та мікроелементів у плодах сливи домашньої коливається в межах від 674,03 до 740,62 мг/100 г. Серед макроелементів домінували K, Mg та Ca. Наявність значного вмісту K ($550 \pm 25,0$ мг/100 г) може зумовлювати кардіопротекторну дію та підтримку водно-сольового балансу

організму. Присутність Mg ($55 \pm 6,0$ мг/100 г) може покращувати роботу нервової системи приймаючи участь у процесах нервового збудження, нормалізувати водний і вуглеводний обмін, сприяти зміцненню серцево-судинної системи та зменшує ризик виникнення ішемічної хвороби та стенокардії. Наявність Ca ($40 \pm 5,0$ мг/100 г) може сприяти нормалізації проникності клітинних мембран, утворенню кісткової тканини, та поліпшувати функцію залоз, м'язів і нервової системи. Наявність Si ($17 \pm 2,0$ мг/100 г) та силіцій-органічних сполук може обумовлювати літолitiчну дію та зміцнювати легеневу тканину. Такі елементи як Pb, Ni, Co, Mo, Cd, As та Hg в плодах сливи домашньої не було виявлено, або їх вміст знаходиться за межами можливостей визначення методом атомно-емісійної спектроскопії і їх вміст був менший за 0,03 мг/100 г, що свідчить про екологічну чистоту сировини та можливість її використання в харчовій і медичній галузях для одержання субстанцій на її основі та створення проекту МКЯ.

Таким чином, проведений аналіз виявив наявність цінних макро- і мікроелементів у сировині та дозволяє вважати плоди сливи домашньої перспективним джерелом важливих елементів, що входять до складу ферментів (відомо близько 200 металоферментів). Це дає змогу припустити позитивний вплив на серцево-судинну та імунну системи.

3.3 Вивчення вмісту та складу речовин первинного та вторинного синтезу у плодах сливи домашньої сорту Стенлей

3.3.1 Амінокислоти

Хроматографічне вивчення якісного складу вільних та зв'язаних амінокислот водного і водно-спиртового екстрактів плодів сливи домашньої проводили методом ПХ із набором стандартних амінокислот (ТУ 6-09-3147-83). Амінокислоти ідентифікували порівнянням із вірогідними зразками значень R_f при паралельному хроматографуванні у системі розчинників №1 після обробки їх реактивом Д і

нагріванні у сушильній шафі при температурі 100 – 105 °С. Амінокислоти проявлялися у вигляді фіолетових або червоно-фіолетових плям.

Методом ПХ водного і водно-спиртових екстрактів у плодах сливи домашньої встановлено наявність 4 амінокислот: аспарагінової ($R_f = 0,16$), серину ($R_f = 0,15$), аланіну ($R_f = 0,25$) та валіну ($R_f = 0,59$).

Якісний і кількісний аналіз вільних і зв'язаних амінокислот у сировині проводили за допомогою вискоєфективного рідинного хроматографа фірми «Agilent Technologies» (модель 1100). Ідентифікацію амінокислот проводили за часом утримування стандартів відповідних амінокислот (ТУ 6-09-3147-83). Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації та у публікації [163]. Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у розрахунку на абсолютно суху сировину методом ВЕРХ наведені у табл. 3.3.

Таблиця 3.3

Амінокислотний склад сливи домашньої плодів сорту Стенлей

Амінокислота	Вміст, мкг/мг		Загальний вміст, мкг/мг
	Вільні	Зв'язані	
L-Аспарагінова	0,312±0,013	8,046±0,054	8,358±0,067
L- Глутамінова	0,236±0,012	2,569±0,013	2,805±0,025
L- Серин	0,508±0,013	0,741±0,019	1,248±0,032
L- Гістидин*	0,039±0,001	0,489±0,017	0,528±0,018
Гліцин	0,042±0,001	0,637±0,013	0,680±0,014
L- Треонін*	0,139±0,004	0,623±0,015	0,762±0,019
L-Аргінін*	0,070±0,003	0,540±0,018	0,610±0,021
L- Аланін	0,806±0,013	0,692±0,016	1,498±0,029
L- Тирозин	0,052±0,002	0,293±0,011	0,345±0,013
L- Валін*	0,325±0,012	0,960±0,014	1,285±0,026
L- Метіонін	-	0,052±0,002	0,052±0,002
L- Фенілаланін*	0,103±0,011	0,609±0,018	0,712±0,029
L- Ізолейцин*	0,165±0,011	0,655±0,017	0,820±0,028
L- Лейцин*	0,201±0,009	0,996±0,014	1,197±0,023
L- Лізин*	0,073±0,002	0,253±0,009	0,327±0,011
L- Пролін	0,260±0,008	0,264±0,010	0,524±0,018

Примітка. * – незамінна амінокислота

У плодах сливи домашньої було визначено 15 вільних та 16 зв'язаних амінокислот. Серед них вісім - незамінні амінокислоти: L-треонін, L-валін, L-ізолейцин, L-лейцин, L-фенілаланін, L-гістидин, L-лізин та L-аргінін. L-метіонін був знайдений лише як зв'язана амінокислота. Загальна кількість вільних та зв'язаних амінокислот становила (мкг/мг) 3,33 та 18,42 відповідно. Найвищий вміст серед вільних амінокислот виявлено для L-аланіну ($0,81 \pm 0,01$ мкг/мг) та L-серину ($0,51 \pm 0,01$ мкг/мг). Серед зв'язаних амінокислот домінували L-аспарагінова ($8,05 \pm 0,05$ мкг/мг), L-глутамінова ($2,57 \pm 0,01$ мкг/мг), L-лейцин ($1,00 \pm 0,01$ мкг/мг), L-валін ($0,96 \pm 0,01$ мкг/мг), L-серин ($0,74 \pm 0,02$ мкг/мг) та L-аланін ($0,69 \pm 0,02$ мкг/мг).

3.3.2 Вивчення вмісту полісахаридів, моносахаридів та сорбітолу у плодах сливи домашньої

Плоди сливи домашньої користуються попитом у всьому світі завдяки своїм смаковим якостям. З літературних джерел відомо, що ці плоди містять загального цукру до 14 %, клітковини до 2,5 %, й пектинів 0,37-1,80 %. Солодкий смак має також шестиатомний спирт сорбітол, якого у плодах – до 5,8 % [18, 84]. Цей спирт є природньою речовиною, що міститься у багатьох фруктах – сливах, яблуках, грушах, персиках та ін., а також його отримують синтетично і використовують як замінник цукру для хворих на цукровий діабет [123]. Також відомо, що ця речовина має проносну дію [167].

У ході проведених досліджень було визначено вміст у плодах сливи водорозчинних полісахаридів (ВРПС) та пектинових речовин гравіметрично, а також сорбітолу та вільних цукрів методом ГХ-МС. Вихід ВРПС складав $1,13 \pm 0,05$ %, Після отримання ВРПС зі сливи домашньої сорту Стенлей плодів свіжих залишалося шроту $2,20 \pm 0,05$ %. Методики наведені в розділі 2.3 цієї дисертації [135].

З метою визначення оптимального екстрагенту для вилучення пектинових речовин зі свіжих плодів сливи були використані найбільш поширені екстрагенти:

суміш 0,5 % розчинів кислоти щавлевої і амонію оксалату (1:1), 1 % розчин лимонної кислоти і 2 % розчин натрію гідрокарбонату з додаванням 0,16 % розчину натрію гідроксиду [12, 24].

Результати дослідження представлені у табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Результати визначення пектинових речовин у плодах сливи домашньої з використанням різних екстрагентів

Сировина	Вихід пектинових речовин, %		
	суміш 0,5 % розчинів щавлевої кислоти і оксалату амонію (1:1)	1 % лимонна кислота	суміш 2 % розчину натрію гідрокарбонату і 0,16 % розчину натрію гідроксиду
Плоди сливи	6,95±0,05	8,63±0,04	7,29±0,05

Як видно з табл. 3.3, оптимальним екстрагентом для влучення пектинових речовин з сировини є 1 % розчин лимонної кислоти.

У отриманих полісахаридних комплексах та шроті було визначено вміст суми нейтральних цукрів спектрофотометрично після проведення гідролізу полісахаридного комплексу з сірчаною кислотою. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації.

Найбільший вміст нейтральних цукрів було визначено в ВРПС – 61,52±1,47 %, вміст їх у шроті становив 59,23±1,15 %, у пектиновому комплексі – 22,85±0,55 %.

В плодах сливи свіжих методом хроматомас-спектрометрії було виявлено (мг/100 мг): сорбітолу – 1,91±0,01 %, фруктози – 2,90±0,01 %, глюкози – 3,51±0,01 %. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації. Отримані дані корелюють з даними літератури щодо вмісту моноцукрів та сорбітолу у плодах сливи. Сорбітол використовують у медицині як замінник цукру, який має 0,48 солодкості від солодкості сахарози, а також як проносний засіб [123, 126].

3.3.3 Органічні кислоти

Для ідентифікації органічних кислот у плодах сливи використовували водний і водно-спиртовий екстракти. Дослідження проводили методом ПХ у системах розчинників № 2, № 5 № 6 зі зразками органічних кислот. Органічні кислоти виявляли шляхом обробки хроматограм розчином Ж з наступним нагріванням у сушильній шафі при температурі 100-105° С. Карбонові кислоти проявлялися у вигляді жовтих плям на синьому фоні. У плодах сливи були ідентифіковані яблучна, щавлева і лимонна кислоти.

Подальші дослідження якісного складу та вмісту карбонових кислот у плодах сливи свіжих проводили методом хромато-мас-спектрометрії (ГХ-МС). Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації.

Карбонові кислоти були ідентифіковані шляхом порівняння часу утримування і відносних індексів Ковача (RI) з показниками стандартних речовин і мас-спектральними даними з бібліотек бази даних Golm Metabolome (<http://csbdb.mpimp-golm.mpg.de/csbdb/gmd/gmd.html>) і NIST'08 (Національний інститут стандартів і технологій, США).

Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту карбонових кислот у плодах сливи методом ГХ-МС наведені у табл. 3.5.

Таблиця 3.5

Результати вивчення органічних кислот плодів сливи домашньої методом ГХ-МС

№	Кислота	Вміст, мг/100 г
1	Щавлева	240,21±9,53
2	Фумарова	352,06±16,01
3	Бурштинова	630,75±26,61
4	Яблучна	2010,25±91,39
5	Шикімова	338,13±11,89
6	Аскорбінова	280,45±11,56
7	Лимонна	270,66±10,41

Загальний вміст органічних кислот у плодах сливи домашньої свіжих склав 4120,14 мг/100 г. Було виявлено 7 карбонових кислот, а саме: 4 дикарбонових, 1

трикарбонову, 1 аліциклічну кислоту та аскорбінову кислоту. Домінантними речовинами були яблучна та бурштинова кислоти.

Визначення вмісту суми органічних кислот у плодах сливи свіжих було проведено титриметрично за методикою ДФУ 2.1, монографія «Плоди шипшини^N». Встановлено, що свіжі плоди містять $2,98 \pm 0,02$ % органічних кислот, у перерахунку на яблучну кислоту.

3.3.4 Фенольні сполуки

Фенольні сполуки відіграють важливу роль у фармакологічному ефекті лікарських засобів із рослин, тому нами було проведено визначення складу різних класів фенольних сполук якісними реакціями та хроматографічними методами: ПХ, ТШХ та ВЕРХ, а також визначено вміст суми фенольних сполук, флавоноїдів, антоціанів, гідроксикоричних кислот спектрофотометрично за методиками ДФУ [13].

Наявність фенольних сполук у плодах сливи домашньої свіжих підтверджували за допомогою загальновідомих хімічних реакцій: з розчином заліза (III) хлориду, 2 % етанольним розчином алюмінію (III) хлориду та з розчином ферум (III) амонію сульфату [57, 58].

Визначення загального вмісту фенольних сполук у сливи домашньої плодах свіжих у перерахунку на пірогаллол проводили відповідно до методики ДФУ 2.0, яка наведена в розділі 2.3 цієї дисертації [14]. Встановлено, що у плодах сливи домашньої поліфенольні сполуки накопичувалися у кількості $1,98 \pm 0,02$ %.

Наявність антоціанів у свіжих плодах сливи домашньої сорту Стенлей встановлювали методом ТШХ у системі розчинників 10. Для приготування екстракту брали 10 г свіжорозчавлених плодів сливи зі шматочками шкірочки, додавали 50 мл метанолу, настоювали 15 хв, фільтрували. Фільтрат концентрували та наносили на хроматографічну пластинку. Для приготування розчину порівняння 2 мг ціанідину-3-хлориду (хризантеміну) (Cyanidin-3-glucoside chloride, > 98 %,

Chengdu Dioputify Phytochemicals Ltd, Lot 15041502) розчиняли у 10 мл 1 % розчину кислоти хлористоводневої в 95 % етанолі та наносили на пластинку.

Потім пластинку висушували на повітрі протягом 10 хв і поміщали в камеру. Коли фронт розчинників проходив до кінця пластинки, її виймали, сушили на повітрі розглядали при денному світлі. На хроматограмі вдалося встановити декілька плям рожевого кольору, одна з яких знаходилась на рівні хризантеміну.

Визначення кількісного вмісту суми антоціанів у плодах сливи домашньої свіжих проводили спектрофотометрично за ДФУ 2.0, Монографія «Чорниці плоди, свіжі». Вміст антоціанів у плодах сливи свіжих складав $0,02 \pm 0,001$ %

Для визначення якісного складу та кількісного вмісту гідроксикоричних кислот (ГКК) у плодах сливи домашньої використовували водно-спиртовий екстракт.

Ідентифікацію ГКК проводили методом одно- та двомірної ПХ у системах розчинників № 1, 2, 3 та 4 з вірогідними зразками ГКК (Sigma Chemical Company, США). Наявність ГКК виявляли за блакитною та фіолетовою флуоресценцією в УФ світлі, що підсилювалась при обробці хроматограм реактивом Б. Встановлено наявність хлорогенової (система № 1 $R_f = 0,62$, система № 2 $R_f = 0,7$), неохлорогенової (система № 1 $R_f = 0,44$, система № 2 $R_f = 0,82$) та кавової (система № 1 $R_f = 0,81$, система № 2 $R_f = 0,72$) кислот.

Кількісне визначення суми ГКК проводили спектрофотометричним методом у перерахунку на хлорогенову кислоту, за методикою ДФУ 2.0 монографії «Кропиви листя»[13]. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації.

Оптичну густину вимірювали відразу за довжиною хвилі 525 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин. Вміст суми гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту хлорогенову (у відсотках), у сливи домашньої плодах свіжих складав $0,54 \pm 0,01$ %.

Подальші дослідження проводили методом ВЕРХ. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації. Ідентифікацію проводили за часом утримування та порівнянням з УФ-спектрами стандартів

Результати вивчення вмісту та складу фенольних сполук у плодах сливи домашньої свіжих наведені на рис. 3.2 та у табл. 3.3.

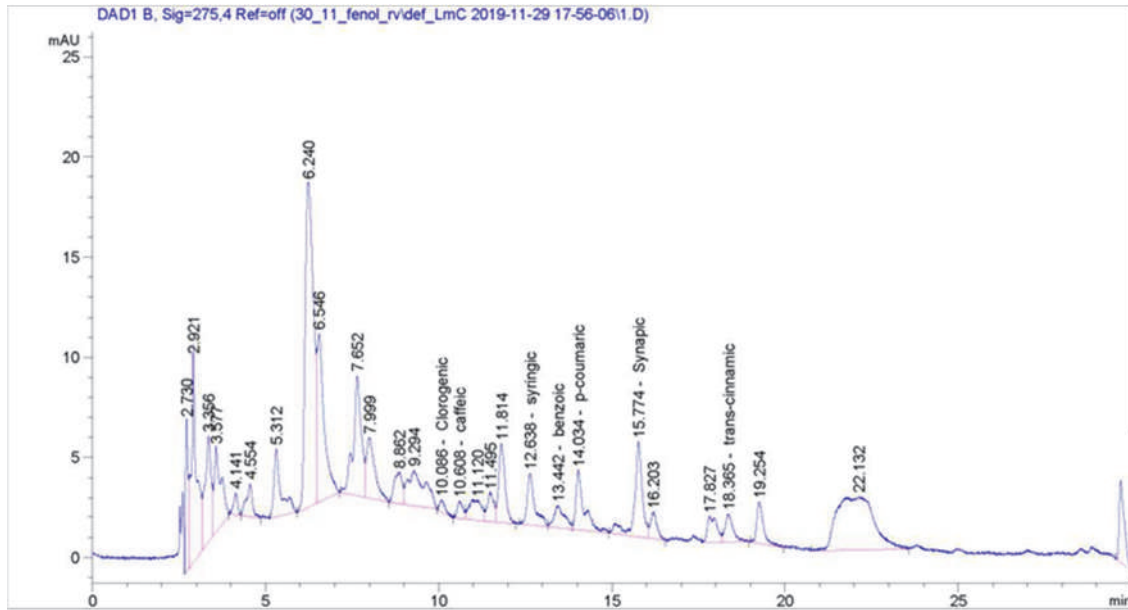


Рис. 3.2 ВЕРХ хроматограма фенольних сполук плодів сливи домашньої

Методом ВЕРХ у плодах сливи домашньої свіжих було ідентифіковано і визначено вміст п'яти ГКК: хлорогенова, кофейна, р-кумарова, синапова й корична, та дві одноосновні кислоти ароматичного ряду – бензойна та бузкова. Результати наведені у табл. 3.6.

Таблиця 3.6

Вміст фенольних кислот у сливи домашньої плодах

№	Сполука	Час утримування, хв	Площа піка, mAU*s	Вміст речовини, мкг/г
1	Галова кислота	4,71	НД	НД
2	Гідроксифеніл оцтова кислота	8,33	НД	НД
3	Хлорогенова кислота	10,08	7,58	31,31±0,65
4	Кофейна кислота	10,60	9,92	8,92±0,25
5	Бузкова кислота	12,63	40,02	13,40±0,42
6	Бензойна кислота	13,44	23,78	8,42±0,11
7	p-кумарова кислота	14,03	49,10	17,22±0,49
8	trans-ферулова кислота	14,87	НД	НД
9	Синапова кислота	15,77	75,51	22,62±0,71
10	Корична кислота	18,36	23,45	3,23±0,10
11	Хінна кислота	23,01	НД	НД

Примітки: НД – не детектовано

Сумарно вміст усіх детектованих фенольних кислот складав $105,00 \pm 2,73$ мкг/г у сливи домашньої плодах свіжих. Вміст ароматичних кислот дорівнював 21,88 мкг/г, а сумарний вміст коричних кислот був $83,27$ мкг/г, що складало $83,20 \pm 2,11$ % від суми усіх ідентифікованих методом ВЕРХ фенольних кислот. Методом ВЕРХ було підтверджено наявність хлорогенової і кофейної кислот, які були ідентифіковані методом ПХ. Найбільший вміст мали хлорогенова та синапова (або синапінова) кислоти.

Відомо, що флавоноїди виявляють діуретичну, мембраностабілізуючу, протизапальну дію. Вони характеризуються значною антиоксидантною активністю [1, 61]. Тому було доцільно визначити якісний склад та вміст флавоноїдів у плодах сливи домашньої свіжих.

Ідентифікацію флавоноїдів у 70 % водно-спиртовому екстракті з плодів сливи домашньої проводили методом ПХ та ТШХ. Виявлення флавоноїдів проводили у порівнянні з референс зразками у рухомих фазах № 1, 2, 7, 9, 12 після обробки реактивами А, Б, В, Е, З, К, Л.

Методами ПХ та ТШХ у плодах сливи домашньої були ідентифіковані рутин та кверцетин.

Вміст флавоноїдів у плодах сливи домашньої визначали спектрофотометричним методом за методикою ДФУ 2.1, монографія «Софори бутони» [15]. За методикою диференційної спектрофотометрії у перерахунку на рутин було встановлено вміст флавоноїдів у плодах сливи домашньої, який склав $0,026 \pm 0,002$ %. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації.

Подальше вивчення компонентного вмісту флавоноїдів у плодах сливи проводили методом ВЕРХ на високоефективному рідинному хроматографі фірми «Agilent Technologies» (модель 1100). Ідентифікацію проводили за часом утримування та порівнянням з УФ-спектрами стандартів. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації.

Результати вивчення флавоноїдів в плодах сливи домашньої наведені на рис. 3.3 та у табл. 3.7.

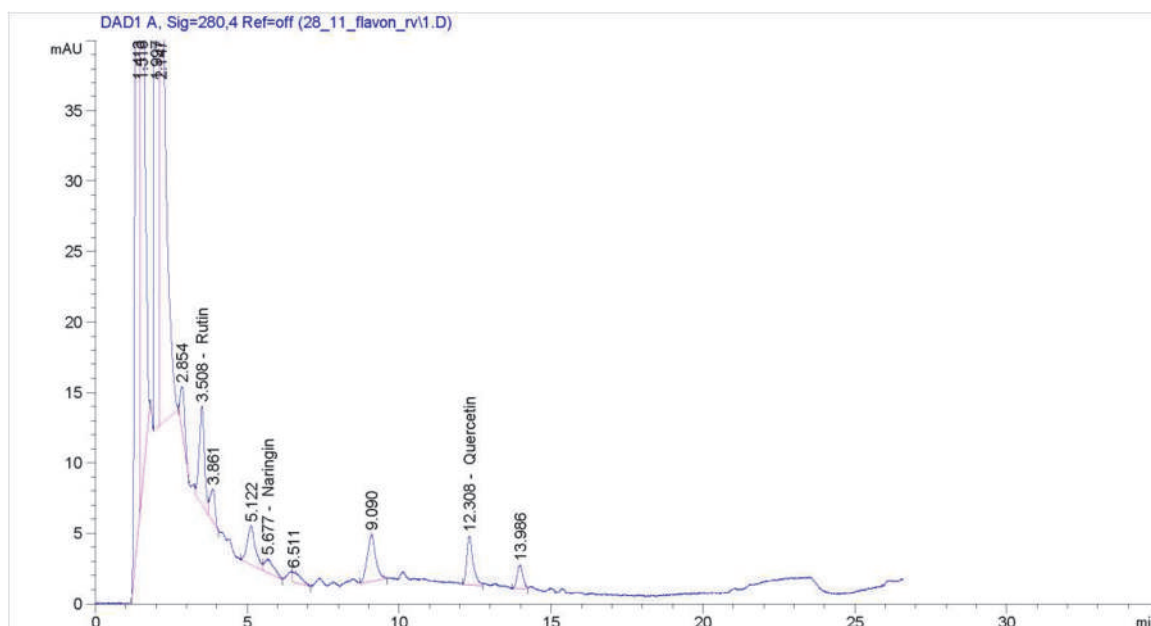


Рис. 3.3 ВЕРХ хроматограма флавоноїдів плодів сливи домашньої

Таблиця 3.7

Результати визначення флавоноїдів у плодах сливи домашньої методом ВЕРХ

№	Сполука	Час виходу, хв	Площа піка,	Вміст, мкг/г
1	Рутин	3,50	83,82	183,53±0,76
2	Кверцетин-3 – b-глікозид	4,68	НД	НД
3	Нарінгін	5,67	20,46	74,96±2,73
4	Неогесперидин	7,89	НД	НД
5	Кверцетин	12,30	49,06	161,20±0,45
6	Лютеолін	13,24	НД	НД
7	Нарінгенін	15,37	НД	НД
8	Апігенін	15,97	НД	НД
9	Кемпферол	17,04	НД	НД

Примітка. НД – не детектовано

Методом ВЕРХ було ідентифіковано три флавоноїди: рутин, нарінгін і кверцетин. Вміст суми ідентифікованих речовин складав $419,69 \pm 3,94$ мкг/г. Максимальний вміст мали рутин ($183,53 \pm 0,76$ мкг/г) та кверцетин ($161,20 \pm 0,45$ мкг/г).

Велика кількість досліджень різних науковців доводить, що флавоноїди мають широкий спектр біологічної активності, такі як: знешкодження вільних радикалів, антиоксидантна, протизапальна, протиракова, бактерицидна, імуномодуюча, антивірусна, антимутагенна, протипухлинна,

гепатопротекторна, а також протиалергічна та протидіабетична [119, 159]. Опубліковано ряд наукових звітів, які демонструють, що флавоноїди можуть модулювати метаболізм арахідонової кислоти шляхом пригнічення активності циклооксигенази та ліпооксигенази [171].

Визначений у досліджуваних плодах сливи свіжих нарингін – це нарингенін 7-О-неогесперидозид, який також міститься в плодах цитрусових, особливо в грейпфруті, де відповідає за гіркий смак фруктів і його вміст там сягає 400 мг/л. [180].

В організмі людини нарингін метаболізується до аглікону нарингеніну (не гіркого) за допомогою нарингінази, присутньої в кишечнику.

Нарингенін сприятливо впливає при різних неврологічних, серцево-судинних, шлунково-кишкових, ревматологічних, метаболічних, злоякісних розладах. Функціонально цей ефект нарингеніну в першу чергу пояснюється його протизапальною (через інгібування цитокінів та запальних факторів) та антиоксидантною дією (через вилучення вільних радикалів, посилення дії ендогенної антиоксидантної системи захисту та хелатування іонів металів) [1, 101].

3.4 Стандартизація плодів сливи домашньої сорту Стенлей

За результатами проведеного аналізу якісного складу та кількісного вмісту речовин первинного і вторинного синтезу було встановлено наявність та визначено вміст моносахаридів, сорбітолу, водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, органічних кислот, гідроксикоричних кислот та флавоноїдів.

У харчовій промисловості для плодів сливи домашньої свіжих існує ДСТУ 21920-76 «Слива і алича крупноплідна свіжі. Технічні умови» та СТ СЄВ 4304-83 «Сливи свіжі». Проаналізувавши ці документи, було встановлено, що підходи до стандартизації сировини у харчовій промисловості і фармації не співпадають, тому були розроблені Методики контролю якості (МКЯ) на плоди сливи домашньої свіжі згідно з вимогами ДФУ для ЛРС [32]. А саме: на відміну від стандарту, що використовується у харчовій промисловості для ЛРС, назва повинна бути надана

латинською мовою, морфологічні ознаки повинні бути описані згідно з вимогами монографії ДФУ 2.0 «Лікарська рослинна сировина», також має бути вивчений вміст золи загальної (2.4.16), золи нерозчинної у HCl (2.8.1), втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Вміст залишкових кількостей пестицидів для ЛРС повинен бути визначений за методикою ДФУ (2.8.13) [14].

Результати визначення втрата в масі при висушуванні, золи загальної, золи нерозчинної у HCl у різних серіях сировини надані у табл. 3.8.

Таблиця 3.8

Показники якості сливи домашньої плодів свіжих за вимогами ДФУ

Показники	серія				
	080917	011018	021018	050919	181019
Втрата в масі при висушуванні, %	74,81±2,93	77,95±2,82	75,21±3,18	72,43±3,44	70,87±2,96
Загальна зола, %	0,40±0,016	0,37±0,012	0,39±0,012	0,41±0,018	0,45±0,02
Зола нерозчинна в HCl, %	0,01±0,00043	0,05±0,0019	0,02±0,001	0,01±0,00051	0,01±0,0003

Для розробки МКЯ на сливи домашньої плоди свіжі відносно вимог ДФУ нами була вивчена морфологічна та анатомічна будова сировини.

Шляхом макроскопічного аналізу сливи домашньої сорту Стенлей плодів свіжих було встановлено, що це кістянки овальної форми з чітко вираженою поздовжньою червеною борозенкою, довжиною 5-9 см, в діаметрі 2-4 см; зовні плоди фіолетово-червоного або чорно-синього кольору, з сивим нальотом, мезокарпій зеленувато-жовтий, м'ясистий, з одного кісточкою, сплюсненої з гострими кінцями, довжиною 1,5-5,5 см, шириною 0,7-4 см.

За результатами анатомічного дослідження плодів сливи домашньої свіжих сорту Стенлей встановлено такі діагностичні ознаки. Екзокарпій (рис. 3.4) складається з паренхімних багатокутних клітин з прямостінними, слабо потовщеними оболонками. Клітини екзокарпію щільно з'єднуються парно або по три-чотири вздовж прямостінних оболонок. Прорихів мало, вони з відкритою

продиховою щілиною, біляпродихових клітин 9-10, розташовуються по колу. Тип продихового апарату визначено як актиноцитний.

Екзокарпій підстеляється 3-4 шарами щільно розташованих дрібних паренхімних клітин мезокарпію (рис. 3.5). Основна маса мезокарпію представлена великими паренхімними округлими або овальними клітинами з тонкими оболонками (рис. 3.6, 3.7). В мезокарпії розташовуються короткі тяжі спіральних судин ксилеми (рис. 3.8), які супроводжуються ланцюжками дрібних друз оксалату кальцію. В мезофілі плоду зустрічаються поодинокі крупні друзи (рис. 3.9).

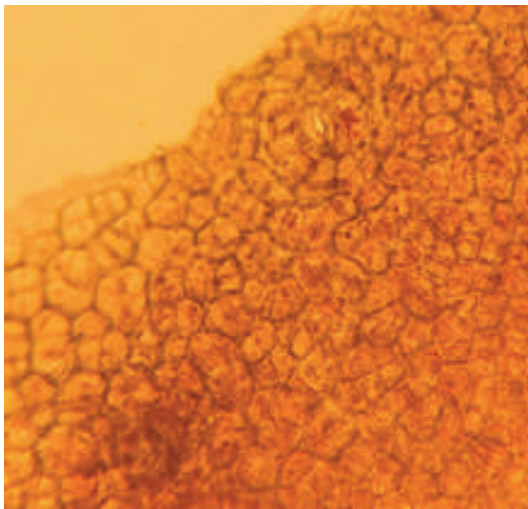


Рис. 3.4 Багатокутові клітини паренхіми з прямостінними, слабо потовщеними оболонками.

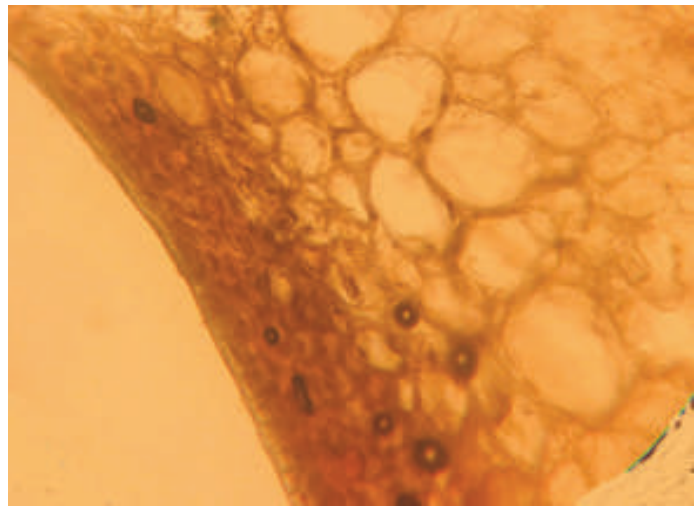


Рис. 3.5 Шари дрібних паренхімних клітин мезокарпію плодів сливи домашньої

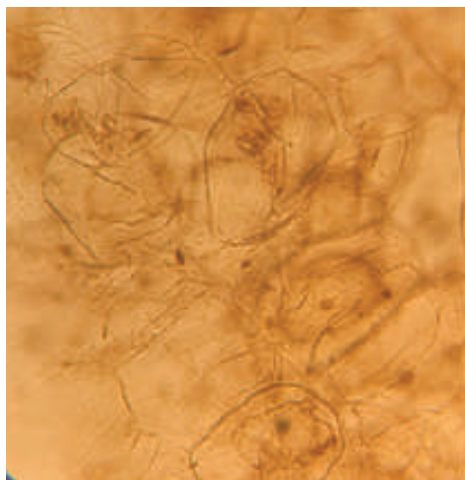


Рис. 3.6 Клітини паренхіми плодів

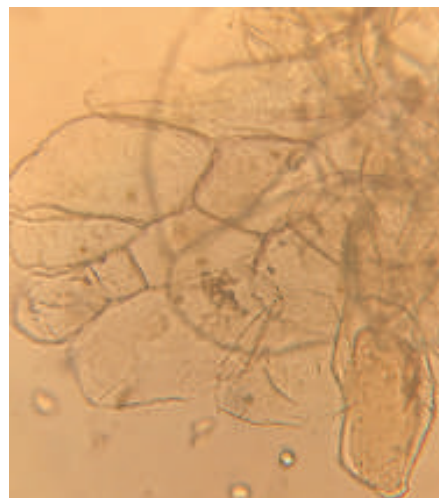


Рис. 3.7 Овальні клітини паренхіми з тонкими оболонками

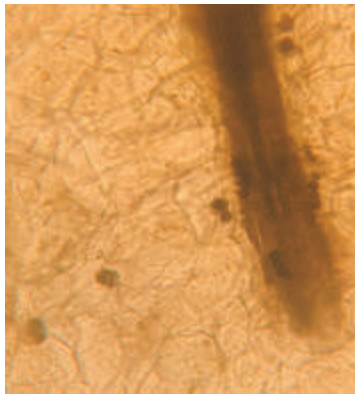


Рис. 3.8 Спіральні судини ксилеми

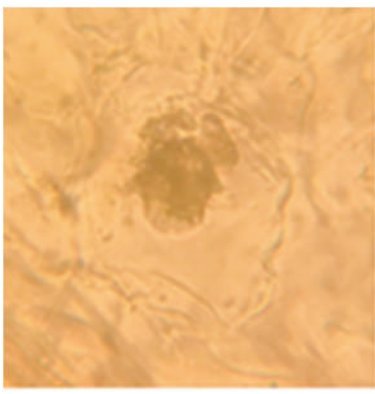


Рис. 3.9 Друза оксалату кальцію у мезофілі

За результатами проведеного макро та мікроскопічного аналізу було встановлено основні морфологічні та анатомічні ознаки сливи домашньої плодів свіжих для розробки розділів МКЯ Ідентифікація А та В.

У табл. 3.9 надано результати порівняльного аналізу вимог до плодів сливи домашньої згідно стандартів харчової промисловості та ДФУ.

Таблиця 3.9

Порівняння розробленого проєкту МКЯ на плоди сливи домашньої з вимогами ДСТУ 21920-76

Параметр	ДСТУ 21920-76 «Слива і алича великоплідна свіжі. Технічні умови », і СТ СЕВ 4304-83 «Сливи свіжі »	Згідно з вимогами ДФУ для ЛРС
1	2	3
Назва	Свіжа слива (<i>Prunus domestica</i> L.)	Сливи домашньої плоди свіжі (<i>Pruni domesticae fructus recens</i>)
Опис	Сливи одного помологічного сорту «Угорка» плоди цілком розвинуті, овальної форми з чітко виявленою повздовжньою черевцевою борозенкою чорно-синього кольору, цілі, чисті, здорові, без надмірної зовнішньої вологи, зрілі, без стороннього запаху і присмаку.	Свіжі цілі плоди культивованої рослини <i>Prunus domestica</i> L. сорту Стенлей, зібрані у фазу повної стиглості

1	2	3
Ідентифікація	-	А. Свіжі плоди - кістянки овальної форми з чітко вираженою поздовжньою черевцевою борозенкою, довжиною 5-9 см, в діаметрі 2-4 см фіолетово-червоного або чорно-синього кольору, з сивим нальотом, мезокарпій зеленувато-жовтий, м'ясистий, з одного кісточкою, сплюсненої з гострими кінцями, довжиною 1,5-5,5 см, шириною 0,7-4 см
	-	В. Екзокарпій складається з паренхімних прямих клітин зі слабо потовщеними оболонками. Прорихів мало, прориховий апарат актиноцитний. Екзокарпій підстеляє 3-4 шарами щільно розташованих дрібних паренхімних клітин мезокарпію. Основна маса мезокарпію представлена великими паренхімними округлими або овальними клітинами з тонкими оболонками. В мезокарпії розташовуються короткі тяжі спіральних судин ксилеми, з ланцюжками дрібних друз оксалату кальцію. В мезофілі зустрічаються поодинокі крупні друзи кальцію оксалату
	Зовнішній вигляд, ступінь зрілості, смак і запах слив, а також наявність пошкоджень визначають органолептичним методом	С. Тонкошарова хроматографія. Випробовуваний розчин: До 1 г здрібненої м'якоті сливи домашньої додають

1	2	3
		10 мл етанолу, нагрівають у водяній бані зі зворотнім холодильником протягом 15 хв, охолоджують і фільтрують. Одержаний фільтрат упарюють насухо у водяній бані при температурі 60 °С, залишок розчиняють у 2 мл етанолу. <i>Розчин порівняння:</i> 1 мг ФСЗ ДФУ хлорогенової кислоти розчиняють у 10 мл етанолу Р. <i>Рухома фаза:</i> оцтова кислота льодяна Р – мурашина кислота Р – вода Р – етилацетат Р (11:11:27:100) <i>Об'єм проб:</i> 10 мкл, смугами. <i>Відстань, що має пройти рухома фаза:</i> 8 см від лінії старту. <i>Висушування:</i> при температурі 100-105 °С. <i>Виявлення:</i> теплу пластинку обприскують розчином 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру Р у метанолі Р. Переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм. <i>Результати:</i> на хроматограмі на рівні стандартного зразку хлорогенової кислоти виявляється зона, яка має блакитну флюоресценцію. Також можуть виявлятися інші зони.

1	2	3
Кількісне визначення	Не визначають	Визначення проводять як зазначено в статті ДФУ (2.8.14). Використовують 50 г свіжої сировини, яку розчавлюють безпосередньо перед випробуванням (355) (2.9.12). Не менше 1,8 % фенольних сполук в перерахунку на пірогаллол; не менше 1 % органічних кислот в перерахунку на яблучну кислоту.
Загальна зола	-	(2.4.16). Не більше 0,1 %
Зола нерозчинна в кислоті хлористоводневій	-	(2.8.1). Не більше 0,05 %
Втрата в масі при висушуванні	-	(2.2.32) Від 70 % до 90 %. 5,000 г свіжорозчавленої сировини сушать при температурі 105 °C.
Числові показники	Вміст плодів з загоєними механічними пошкодженнями не більше 20 %, зі свіжими механічними пошкодженнями (тріщини біля плодоніжки і пом'яті) – не більше 20 %. У сливах призначених для промислової переробки на спиртовані соки, вміст плодів зі свіжими механічними ушкодженнями і пом'ятих не обмежується (другий сорт)	Вміст плодоніжок не більше 0,1 % Вміст плодів з загоєними механічними пошкодженнями не більше 20 %, зі свіжими механічними пошкодженнями (тріщини біля плодоніжки і пом'яті) – не більше 20 %

1	2	3
Токсичність та пестициди	Вміст токсичних елементів і пестицидів в сливі не повинен перевищувати дозволені рівні, встановлені медико-біологічними вимогами і санітарними нормами якості продовольчої сировини і харчових продуктів Мінздраву СРСР. Токсичність визначають за ДСТУ 26927, ДСТУ 26930 - ДСТУ 26934, пестицидів - методами, затвердженими Мінздравом СРСР. Для встановлення зараженості шкідниками всередині плоду розривають не менш 10 % плодів, взятих з різних місць об'єднаної проби. При необхідності розривають всі плоди об'єднаної проби.	Вміст залишкових кількостей пестицидів визначають за ДФУ (2.8.13)
Пакування, маркування, транспортування	Слива повинна бути упакована в ящики по ДСТУ 10131 і ДСТУ 20463. За угодою сторін допускається пакування і в інші види тари, однорідні за розміром, що забезпечують збереження якості плодів при транспортуванні. На кожній пакувальній одиниці чітким і нестираємим шрифтом повинні наноситися такі дані, згруповані на одній стороні і видимі зовні. Найменування пакувальника і / або вантажовідправника і	Упаковку проводять у відповідності до ДСТУ 12303 у картонні коробки чи іншу тару, дозволenu МОЗ України. Тара, яка використовується для упаковки має бути чистою від забруднення та не мати сторонніх запахів. На етикетці кожної коробки українською або українською та російською мовами вказують «Україна», «Розробка НФаУ, м. Харків», його товарний знак і адресу, назву сировини латинською, українською і російською

1	2	3
	адреса або офіційно встановлене або прийняте кодове позначення. Вид продукту, походження продукту: країна і (не обов'язково) район виробництва або національна, назва. Торгові характеристики: сорт; розмір по мінімальному діаметру.	мовами, масу сировини нетто при вологості 10 %, умови зберігання, номер партії, термін придатності. Транспортне маркування у відповідності до ДСТУ 14192-96. Транспортування відповідно до ДСТУ 17768-90. Зберігання відповідно до ДСТУ 6077-80 і ДСТУ 17768-90. У сухому, захищеному від світла місці.
Термін придатності	7 діб	7 діб

Як видно з табл. 3.8, наявні розбіжності у підходах до стандартизації за стандартами, що використовуються у харчовій промисловості, та підходами ДФУ. Назва сировини за ДФУ повинна бути латинською мовою. У розділі ідентифікація за МКЯ, що використовуються у харчовій промисловості, аналізують сливи органолептично, тоді як за вимогами ДФУ ми пропонуємо проводити ідентифікацію А, В та С. Проаналізувавши вміст різних класів БАР у плодах сливи домашньої свіжих вважаємо, що доцільно проводити визначення суми фенольних сполук (у перерахунку на пірогалол), а також визначати вміст суми органічних кислот титриметрично (у перерахунку на яблучну кислоту).

Різні стандарти також використовуються у визначенні токсичності та залишків пестицидів; є відмінності в упаковці, маркіровці та транспортуванні.

Висновки до розділу 3

1. Проведено порівняльний аналіз вмісту основних БАР у плодах сливи домашньої різних сортів. Встановлено, що найбільш перспективним є дослідження плодів сливи сорту Стенлей. Проведено дослідження якісного складу та кількісного вмісту БАР у сливи домашньої сорту Стенлей плодах свіжих.

2. У плодах сливи домашньої було виявлено 13 макро- та мікроелементів. Не виявлено токсичних мікроелементів: арсену, кадмію, кобальту, ртуті, свинцю та молібдену. Ідентифіковано 15 вільних амінокислот і 16 зв'язаних амінокислот з найбільшим вмістом серед вільних амінокислот L-аланіну ($0,81 \pm 0,01$ мкг/мг) та L-серину ($0,51 \pm 0,01$ мкг/мг); серед зв'язаних амінокислот найбільшим вмістом відрізнялися L-аспарагінова ($8,05 \pm 0,05$ мкг/мг), L-глутамінова ($2,57 \pm 0,01$ мкг/мг), L-лейцин ($1,00 \pm 0,01$ мкг/мг) та L-валін ($0,96 \pm 0,01$ мкг/мг).

3. У плодах сливи домашньої сорту Стенлей було ідентифіковано 7 органічних кислот. Кислоту фумарову вперше ідентифікували у плодах сливи домашньої сорту Стенлей, заготовлених в Україні.

4. У плодах сливи домашньої сорту Стенлей вивчено вміст фенольних сполук методом ПХ, ТШХ, спектрофотометрії та ВЕРХ. Встановлено наявність 5 гідроксикоричних та 2 ароматичних кислот, 3 флавоноїдів. Синапова кислота вперше встановлена у плодах сливи домашньої сорту Стенлей заготовлених в Україні.

5. Визначено числові показники у 5 серіях плодів сливи домашньої свіжих. Визначено втрату в масі при висушуванні, золу загальну, золу нерозчинну у хлористоводневій кислоті.

6. На основі порівняльного аналізу показників якості плодів сливи домашньої та власних досліджень було розроблено МКЯ на ЛРС «Сливи домашньої плоди свіжі» за вимогами, що регламентуються ДФУ.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

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

2. Shahm Mohammed, Upyr T., Lenchyk L. V. Study of amino acids composition of *Prunus domestica* fruits. *Topical issues of new medicines development*: матеріали

XXVII Міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів, м. Харків, 8-10 квітня 2020 р. Х.: НФаУ, 2020. С. 60-61.

3. Phytochemical and pharmacological study of polysaccharide complexes of *Prunus domestica* fruit / Upyr T., Shahm Basim Mohammed, Bashar Al-Jabbar Ali Sahlani, Lenchyk L., Senyuk I., Kyslychenko V. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2018. №3 (13). P. 32-37.

РОЗДІЛ 4

ОДЕРЖАННЯ ЕКСТРАКТІВ ЗІ СЛИВИ ДОМАШНЬОЇ СОРТУ СТЕНЛЕЙ ПЛОДІВ СВІЖИХ, ЇХ ФІТОХІМІЧНЕ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ

Існуючий на фармацевтичному ринку України проносний препарат Регулакс стандартизується за вмістом антраценпохідних. Вміст сливового мусу в ньому складає 6,42 % від загальної маси 1 кубіку препарату [42]. Таким чином, потенціал плодів сливи практично не використаний. За результатами наших досліджень ця сировина містить такі класи речовин як фенольні сполуки, карбонові кислоти, полісахариди та сорбітол. Тому доцільно розробити схеми одержання екстрактів із плодів сливи домашньої, провести аналіз їх хімічного складу і фармакологічної активності, та розробити МКЯ на найбільш перспективні субстанції.

Нами був отриманий із плодів сливи домашньої свіжих комплекс пектинових речовин, рідкий екстракт з соку, під назвою Прунофен та Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс (СДППК). Фармакологічна активність екстракту Прунофен та СДППК була визначена на кафедрі біологічної хімії НФаУ та у Центральній науково-дослідній лабораторії НФаУ.

4.1 Одержання субстанцій з сливи домашньої плодів свіжих

Для одержання пектинових речовин 1000 г сливового пюре екстрагували 1 % лимонною кислотою у співвідношенні 1:10, перемішували протягом 2 год при кімнатній температурі, центрифугували (швидкість обертання 5000 об/хв) протягом 10 хв. Рідину декантували у колбу та концентрували до 1000 мл. Після цього 3000 мл 96 % етанолу додавали до 1000 мл концентрованого екстракту, перемішували і залишали на 3 год. Осад (пектиновий комплекс) фільтрували через паперовий фільтр. Одержаний таким чином пектин промивали 96 % етанолом і висушували при температурі не вище 40 °С.

Пектиновий комплекс, отриманий із плодів сливи, мав темно-коричневий колір, ймовірно, через наявність таких пігментів, як флавоноїди та антоціани. Ці речовини належать до фенольних сполук, і мають такі види біологічної активності, як протизапальну, судинозвужувальну та ін. Вміст суми фенольних сполук, у перерахунку на пірогаллол складав – $0,43 \pm 0,01$ %. Методика визначення наведена в розділі 2.3 цієї дисертації.

Одержання інших субстанцій з плодів сливи домашньої свіжих включало такі етапи. Плоди сливи свіжі є досить м'ясистими. У лабораторних умовах з них спочатку відокремлювали кісточку, а потім розчавлювали до пюре. На виробництві для цієї операції використовували двовальцевий млин, що має вальці з поліуретану або харчової резини, які доповнюються ножами з нержавіючої сталі для захоплення і первинного подрібнення сировини, після чого відокремлюють кісточку. Потім до пюре додавали воду у співвідношенні 1:10, перемішували, відстоювали протягом 30 хв при кімнатній температурі та центрифугували. Розділяли тверду та рідку частини. Тверду частину, або шрот, сушили, а рідку частину упарювали до 1/10. Далі до випаруваного екстракту додавали 96 % етанол у співвідношенні 1:3, перемішували і залишали на 8 год. Випадав осад – сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс (СДППК), який відокремлювали центрифугуванням та сушили при температурі 50 °С. Надосадову рідину упарювали до 1/3 об'єму і отримували рідкий екстракт Прунофен [55, 54].

Технологічна схема одержання фітосубстанцій надана на рис. 4.1.

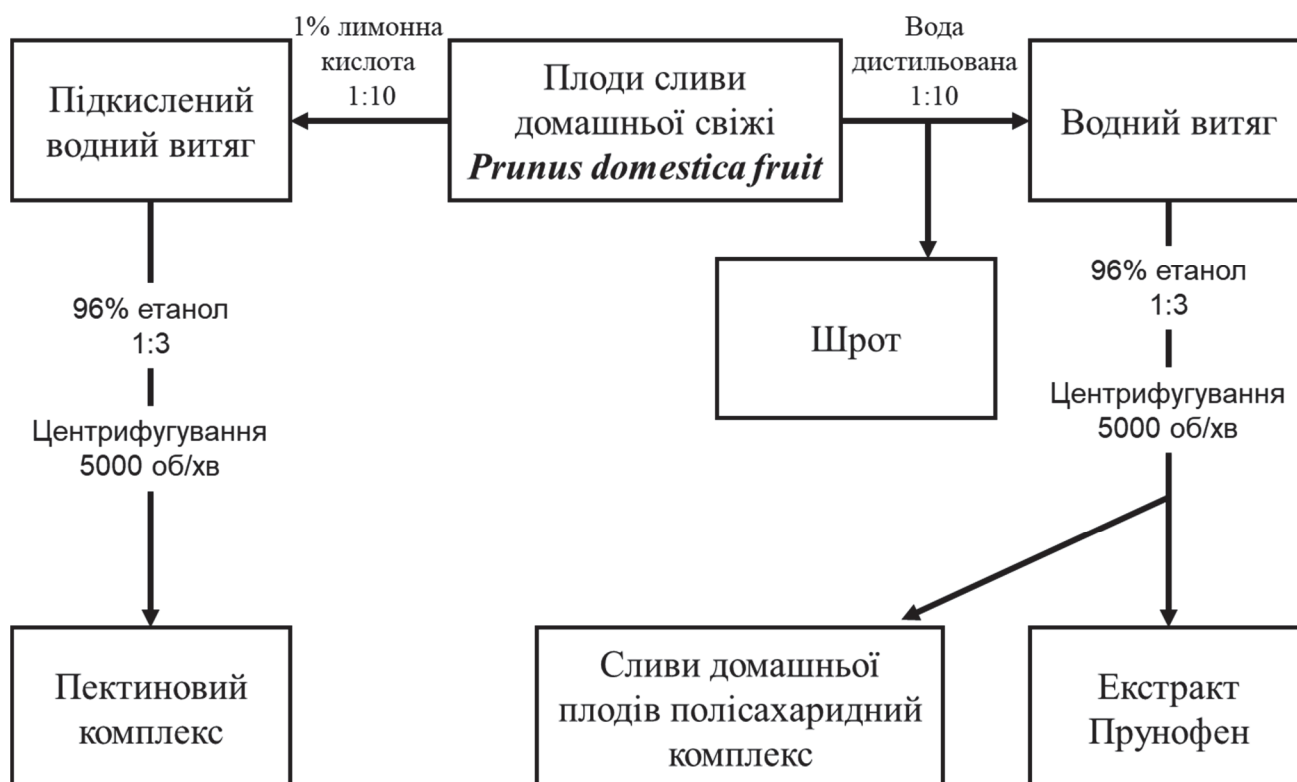


Рис. 4.1 Технологічна схема одержання рідкого екстракту Прунофен та Сливи домашньої плодів полісахаридного комплексу

Екстракт Прунофен являє собою рідину коричневого кольору кисло-солодкого смаку зі специфічним запахом.

СДППК являє собою аморфний порошок світло-коричневого кольору, гігроскопічний, кислуватого смаку, без запаху.

Розроблена технологія комплексної переробки плодів сливи дозволяє отримати рідкий екстракт Прунофен та СДППК і характеризується можливістю здійснення на стандартному обладнанні в промислових умовах України; потребує використання води та етанолу як екстрагентів, тобто спосіб доступний, екологічно безпечний, дешевий, такий, що не вимагає роботи з отруйними та шкідливими для здоров'я людини реактивами, а також використовує в якості сировини плоди сливи домашньої, що широко культивується в Україні і має достатню сировинну базу.

Технологія була апробована в умовах ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»» (Додаток Б).

Отримані екстракти були передані на кафедру біологічної хімії та у Центральну науково-дослідну лабораторію (ЦНДЛ) НФаУ, де були проведені дослідження фармакологічної активності під керівництвом доцента Сенюка Ігоря Валерієвича та доцента Шаповал Ольги Володимирівни.

Для розробки МКЯ отриманих екстрактів були проведені дослідження якісного складу та кількісного вмісту БАР в них.

4.2 Вивчення хімічного складу отриманих субстанцій

4.2.1 Вивчення елементного складу

Вивчення вмісту макро- та мікроелементів було проведено у Пектиновому комплексі та у СДППК методом атомно-емісійної спектrometerії в Інституті монокристалів НАН України. Цей метод ґрунтується на випарюванні золи у дуговому розряді, фотографічній реєстрації розкладеного на спектр випромінювання і вимірюванні інтенсивності спектральних ліній окремих елементів. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації. Результати елементного аналізу екстрактів наведені у табл. 4.1.

Таблиця 4.1

Результати вивчення елементного складу золи субстанцій та плодів сливи домашньої

Елемент	Вміст елемента, мг/100 г		
	Пектиновий комплекс	СДППК	Сливи домашньої плоди
1	2	3	4
Fe	3,80±0,17	16,00±0,66	0,18±0,01
Si	42,00±2,05	95,00±4,05	17,00±0,67
P	2,80±0,10	51,00±2,28	6,60±0,29
Mn	0,28±0,01	1,90±0,09	0,27±0,01
Al	5,70±0,21	14,40±0,70	2,00±0,09
Pb	0,057±0,002	6,40±0,28	<0,03

1	2	3	4
Mg	47,00±2,23	95,00±3,74	55,00±2,48
Ni	0,11±0,005	0,064±0,002	<0,03
Mo	<0,03	0,032±0,001	<0,03
Ca	75,00±3,40	160,00±6,69	40,00±1,32
Cu	1,10±0,04	1,30±0,04	0,27±0,01
Zn	2,30±0,09	2,20±0,09	0,26±0,01
K	610,00±28,38	1025,00±46,31	550,00±21,84
Na	47,00±1,84	57,00±2,65	15,00±0,71
Cd	<0,01	<0,01	<0,01
As	<0,01	<0,01	<0,01
Hg	<0,01	<0,01	<0,01
Co	<0,03	<0,03	<0,03
Sr	3,00±0,13	0,80±0,04	0,13±0,006

У пектиновому та полісахаридному комплексах було визначено 21 елемент. Такі елементи як Hg, Co, Cd та As були відсутні або знаходилися за межами можливості визначення прилада. Мо знаходився за межами можливості визначення прилада у Пектиновому комплексі. Що дозволяє зробити висновок, що сировина та отримані полісахаридні комплекси відповідають вимогам ДФУ щодо вмісту важких металів. Сума всіх визначених елементів складала у пектиновому комплексі 840,15 мг/100 г золи; у СДППК вона була найбільша і складала 1526,10 мг/100 г золи. У свіжих плодах сливи їх вміст був 686,71 мг/100 г. Серед макроелементів домінували калій, кальцій та магній. Серед мікроелементів домінували силіцій, ферум. В пектиновому комплексі збільшується кількість кальцію на 70 % та зменшується кількість магнію на 40 % відносно вмісту цих елементів у плодах сливи. Серед есенціальних елементів у плодах сливи й у отриманих полісахаридних комплексах вдалось встановити наявність Fe, Cu, Zn, Mn та у СДППК – Mo [61]. Причому вміст мікроелементів значно збільшується у обох субстанціях у більшості випадків, хоча вміст деяких елементів не змінився, а навіть зменшився.

Мікроелементи є частиною ферментних комплексів людини, вони отримуються з їжею, а деякі з водою. При їх дефіциті виникає погіршення метаболізму, що може супроводжуватися патологічними проявами. Кратність збільшення (або зменшення) вмісту елементів у отриманих комплексах надана у табл. 4.2. Наприклад, вміст феруму збільшився у 21 раз у пектиновому комплексі і у 88 раз у СДППК порівняно з вмістом його у плодах сливи.

Таблиця 4.2

**Порівняння вмісту елементів у субстанціях отриманих зі сливи
домашньої у порівнянні з її свіжими плодам**

Елемент	Кратність збільшення /зменшення	
	Пектиновий комплекс	СДППК
Fe	21↑	88↑
Si	2,5↑	5,6↑
P	2,4↓	7,7↑
Mn	1	7↑
Al	2,9↑	7,2↑
Mg	1,2↓	1,7↑
Ca	1,8↑	4↑
Cu	4↑	4,8↑
Zn	8,8↑	8,5↑
K	1,1↑	1,9↑
Na	3,1↑	3,8↑
Sr	23↑	6,2↑

Примітка. ↓ - зменшення вмісту; ↑ - збільшення вмісту.

Вміст як макро так і мікро елементів збільшувався порівняно з сировиною як у пектиновому комплексі так і в СДППК, за виключенням двох елементів вміст яких зменшився у пектиновому комплексі – Р та Mg. Якщо порівнювати Пектиновий комплекс і СДППК, можна дійти висновку, вміст елементів у СДППК був більшим, за виключенням стронцію, який у 23 рази перевищував вміст його у сировині і у 3,7 разів у СДППК, та цинк збільшився у обох комплексах майже

рівномірно. Вміст феруму збільшився у 88 разів у СДППК відносно сировини. Це є найбільшим вагомим збільшенням серед отриманих результатів з усіх елементів.

Таким чином, спосіб отримання комплексу полісахаридів суттєво впливає на вміст макро- і мікроелементів у ньому. Зважаючи на це найбільш перспективним для подальшого дослідження можна вважати СДППК.

4.2.2 Вивчення вмісту та складу нейтральних цукрів, сорбітолу та гліцеролу

Сорбітол використовується в медицині як дезінтоксикаційний, сечогінний, спазмолітичний, проносний та жовчогінний засіб, замінник цукру. За літературними даними його вміст у плодах сливи складає 5,8 % у перерахунку на суху речовину, тому доцільно було вивчити його вміст у отриманих з плодів сливи екстрактах.

Вміст спиртів та вільних моносахаридів вивчали у рідкому екстракті Прунофен, пектиновому комплексі і у СДППК методом ГХ-МС. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації. Результати дослідження представлені у табл. 4.3.

Таблиця 4.3

Результатів визначення спиртів та моносахаридів у субстанціях отриманих з плодів сливи домашньої свіжих

Речовина	Вміст, мг/100 мг (у перерахунку на суху речовину)		
	Пектиновий комплекс	СДППК	Прунофен
Гліцерол	1,13±0,09	3,29±0,12	1,22±0,10
Сорбітол	8,10±0,05	10,47±0,05	4,34±0,05
Фруктоза	23,47±0,12	15,93±0,10	21,65±0,12
Глюкоза	27,19±0,12	19,31±0,12	22,93±0,12

Вміст сорбітолу і гліцеролу був найбільший у СДППК, що надає підстави вважати його більш перспективний комплексом для визначення проносної дії.

Вміст глюкози було визначено на 13-17 % більший ніж вміст фруктози. Прунофен містив більше вільних цукрів ніж СДППК, проте вони разом містили більше вільних цукрів ніж пектиновий комплекс. Це можна пояснити тим, що пектиновий комплекс було отримано з окремої наважки сировини, тоді як СДППК та Прунофен отримували послідовно.

Кількісний вміст нейтральних моносахаридів визначали спектрофотометрично у СДППК та пектиновому комплексі, який становив $62,72 \pm 0,05$ % та $48,92 \pm 0,05$ %, відповідно. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації.

ПХ аналіз складу моноцукрів у СДППК та пектиновому комплексі проводили низхідним способом у системі розчинників № 1 із достовірними зразками нейтральних моносахаридів. Було встановлено наявність D-галактози та D-фруктози у порівнянні зі стандартними зразками моноцукрів. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації.

ТШХ аналіз складу моноцукрів був проведений у СДППК у системі розчинників № 13 у порівнянні зі стандартними зразками моноцукрів D-глюкоза, D-галактоза, D-фруктоза, L- арабіноза, D-ксилоза, проявляли реактивом Н та нагрівання протягом 10 хв при 130 °С. Хроматограму переглядали при денному світлі. Було встановлено наявність D-глюкози, D-галактози, D-фруктози, L-арабінози.

4.2.3 Визначення амінокислот

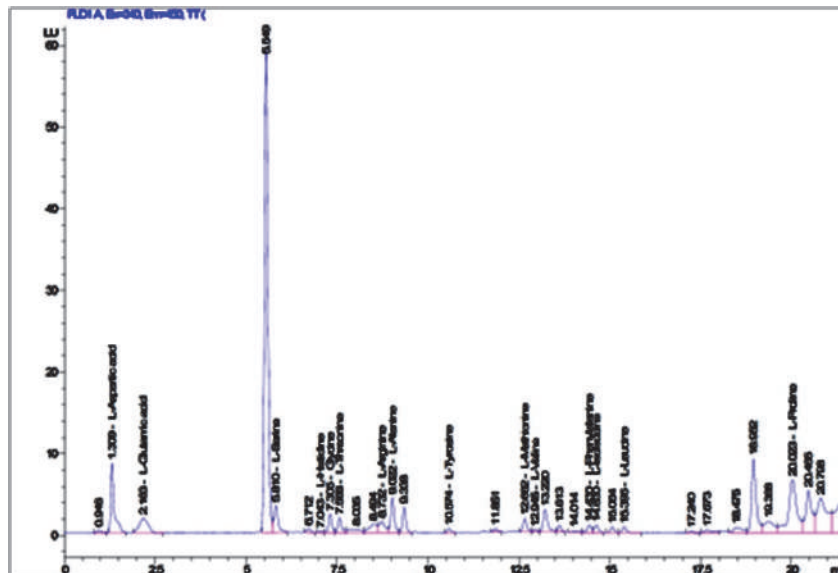
Нами було визначено суму вільних та зв'язаних амінокислот у отриманому пектиновому комплексі з плодів сливи та у СДППК методом ВЕРХ. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації [169].

Результати визначення надані у табл. 4.4 та 4.5. Типові хроматограми визначення амінокислот у пектинових комплексах наведені на рис. 4.2.

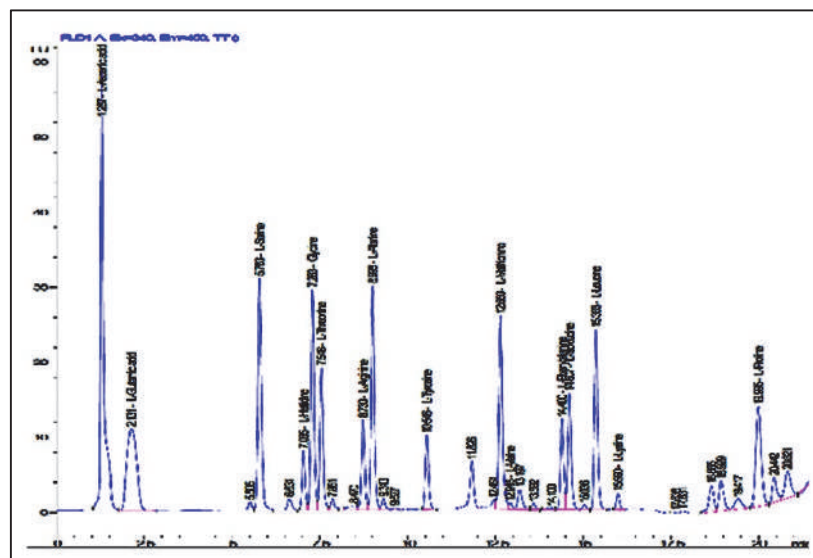
Результати визначення амінокислот у пектиновому комплексі плодів сливи домашньої свіжих

Амінокислоти	Вільні амінокислоти		Загальні амінокислоти		Зв'язані амінокислоти, мкг/мг
	Час утр., хв	Вміст, мкг/мг	Час утр., хв	Вміст, мкг/мг	
L-аспарагінова	1,309	0,28±0,05	1,287	7,02±0,30	6,74±0,25
L-глутамінова	2,163	0,20±0,01	2,131	4,73±0,08	4,53±0,07
L-серин	5,81	0,09±0,005	5,783	2,64±0,04	2,55±0,03
L-гістидин	7,043	0,01±0,001	7,035	1,98±0,04	1,97±0,04
Гліцин	7,306	0,03±0,003	7,283	1,63±0,04	1,59±0,04
L-треонін	7,568	0,05±0,004	7,546	1,67±0,04	1,63±0,04
L-аргінін	8,732	0,07±0,004	8,730	1,37±0,02	1,30±0,02
L-аланін	9,022	0,08±0,005	8,998	1,92±0,05	1,84±0,04
L-тирозин	10,574	0,02±0,002	10,546	1,25±0,02	1,23±0,02
L-валін	12,662	0,04±0,004	12,65	2,19±0,04	2,15±0,04
L-метіонін	12,945	0,01±0,001	12,916	0,07±0,003	0,06±0,002
L-фенілаланін	14,43	0,03±0,003	14,4	1,36±0,02	1,33±0,02
L-ізолейцин	14,63	0,02±0,002	14,607	1,33±0,02	1,31±0,02
L-лейцин	15,396	0,02±0,002	15,363	2,06±0,03	2,04±0,03
L-лізин	16,055	-	15,99	1,25±0,02	1,25±0,02
L-пролін	20,023	0,24±0,05	19,995	1,23±0,25	0,99±0,2

У пектиновому комплексі, який було отримано з плодів сливи домашньої, було виявлено 15 вільних амінокислот і 16 зв'язаних. Лізин знаходився тільки у складі зв'язаних амінокислот. Серед усіх амінокислот вміст L-аспарагінової кислоти був найвищим. Сливовий пектиновий комплекс містив такі важливі амінокислоти, як треонін, валін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін та гістидин.



А



Б

Рис. 4.2 ВЕРХ хроматограми вивчення амінокислот у пектиновому комплексі плодів сливи: А – вільних; Б – загальних

Сума зв'язаних амінокислот становила $32,51 \pm 0,88$ мкг/мг, тоді як кількість вільних амінокислот становила всього $1,18 \pm 0,15$ мкг/мг, що складало 3,62 % від суми зв'язаних амінокислот пектинового комплексу з плодів сливи домашньої. Серед вільних амінокислот переважали L-аспарагін та L-пролін, і їх сума становила майже половину (44,07 %) від усіх кислот. Серед зв'язаних амінокислот домінували L-аспарагінова та L-глутамінова кислоти. Їх вміст разом становив 35 % від загальної кількості зв'язаних амінокислот.

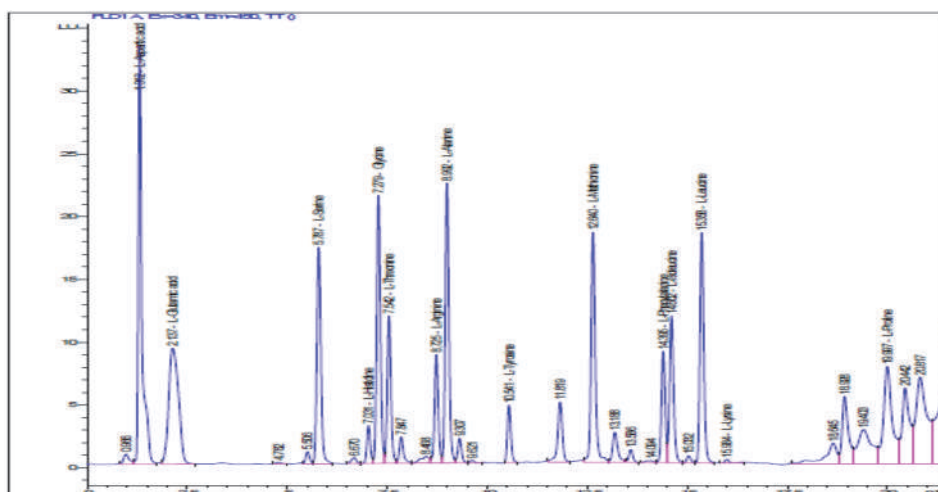
Результати вивчення вільних та зв'язаних амінокислот у СДППК представлено у табл. 4.5 та на рис. 4.3.

Таблиця 4.5

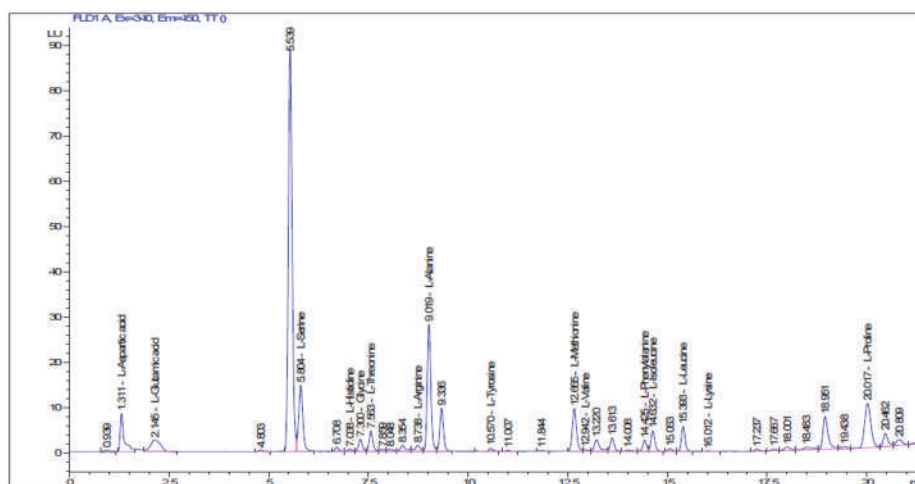
**Результати визначення амінокислот у Сливи домашньої плодів
полісахаридному комплексі**

Амінокислоти	Вільні амінокислоти		Загальні амінокислоти		Зв'язані амінокислоти, мкг/мг
	Час утр., хв	Вміст, мкг/мг	Час утр., хв	Вміст, мкг/мг	
L-аспарагінова	1,298	0,51±0,18	1,312	7,04±0,55	6,52±0,37
L-глутамінова	2,148	0,43±0,15	2,137	7,01±0,56	6,57±0,41
L-серин	5,800	0,31±0,13	5,785	2,72±0,22	2,41±0,09
L-гістидин	7,043	0,07±0,03	7,034	1,20±0,08	1,14±0,05
Гліцин	7,298	0,05±0,01	7,282	2,43±0,1	2,37±0,09
L-треонін	7,561	0,08±0,04	7,545	2,32±0,12	2,23±0,08
L-аргінін	8,738	0,06±0,01	8,732	2,09±0,1	2,03±0,09
L-аланін	9,019	0,19±0,09	8,997	2,80±0,2	2,61±0,11
L-тирозин	10,570	0,02±0,01	10,545	1,19±0,04	1,17±0,03
L-валін	12,660	0,11±0,06	12,644	2,97±0,17	2,86±0,11
L-метіонін	12,943	0,01±0,01	12,976	-	-
L-фенілаланін	14,427	0,06±0,04	14,393	2,08±0,11	2,03±0,07
L-ізолейцин	14,629	0,05±0,02	14,600	2,05±0,08	2,00±0,06
L-лейцин	15,393	0,04±0,01	15,358	3,19±0,14	3,15±0,13
L-лізин	16,014	0,04±0,01	15,986	0,24±0,06	0,20±0,05
L-пролін	20,020	0,26±0,12	19,998	0,91±0,13	0,65±0,01

Всього у СДППК було виявлено 16 вільних амінокислот і 15 зв'язаних. Метіонін знаходився тільки серед вільних амінокислот. Сума вільних амінокислот у полісахаридному комплексі складала 2,29±0,92 мкг/мг, а зв'язаних – 37,94±1,75 мкг/мг. Серед вільних амінокислот у СДППК домінували аспарагінова, глутамінова кислоти та серин. На їх долю приходить 54,59 % від усіх вільних



A



Б

Рис. 4.3. ВЕРХ хроматограми вивчення амінокислот у СДПІК плодів сливи домашньої: А – вільних; Б – загальних.

Порівнюючи склад і вміст амінокислот у пектиновому комплексі і СДППК, слід відмітити, що і вільних і зв'язаних амінокислот було більше у СДППК ніж у Пектиновому комплексі. Вільних амінокислот було більше майже вдвічі (на 94 %), тоді як зв'язаних – на 16,7 %.

4.2.4 Вивчення вмісту органічних кислот

Вміст органічних кислот було вивчено в усіх трьох субстанціях отриманих з плодів сливи домашньої: пектиновому комплексі, СДППК та рідкому екстракті «Прунофен» методами ПХ, титриметрії та ГХ-МС. Методики наведені в розділі 2.3 цієї дисертації.

Якісний склад органічних кислот у отриманих субстанціях визначали методом ПХ у системах розчинників №2, №3 та № 14 зі зразками органічних кислот. Висушені хроматограми обробляли розчином Ж з наступним нагріванням у сушильній шафі при температурі 105 °С. Органічні кислоти проявлялися у вигляді жовтих плям на синьому фоні.

За результатами ПХ у Прунофені, пектиновому комплексі та СДППК було виявлено чотири карбонові кислоти: лимонну, яблучну, щавлеву та бурштинову з найбільшим вмістом яблучної кислоти в усіх екстрактах.

Визначення вмісту органічних кислот проводили за допомогою прямої титриметрії, використовуючи в якості титранта розчин гідроксиду натрію (0,1 моль/л) та індикатори 1 % розчин фенолфталеїну та 0,1 % розчину метиленового синього за ДФУ 2.1, монографія «Шипшини плоди^N» [13]. Титрування проводили до появи фіолетово-червоного кольору. Вміст органічних кислот розраховували в перерахунку на яблучну кислоту.

За результатами титриметричного аналізу було встановлено, що вміст органічних кислот у пектиновому комплексі, Прунофені та СДППК становив у перерахунку на яблучну кислоту, відповідно (%) – $2,78 \pm 0,01$, $2,42 \pm 0,01$ та $1,29 \pm 0,01$ [1].

Подальше вивчення органічних кислот у досліджуваних субстанціях проводили методом ГХ-МС. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації [1].

Результати визначення органічних кислот наведені у табл. 4.6. Хроматограми наведені на рис. 4.4 - 4.6.

Результати визначення органічних кислот у субстанціях з плодів сливи домашньої

Кислота	Вміст, г/кг		
	Пектиновий комплекс	СДППК	Прунофен
Бурштинова	1,452±0,011	2,132±0,012	1,302±0,011
Фумарова	0,971±0,008	1,031±0,011	0,672±0,009
Яблучна	10,270±0,081	6,880±0,037	16,499±0,07
Шикімова	0,696±0,005	1,220±0,011	0,338±0,005
Щавлева	0,551±0,004	0,821±0,011	0,364±0,004
Аскорбінова	0,590±0,004	0,212±0,010	1,022±0,01
Лимонна	0,882±0,007	0,641±0,010	1,580±0,011

Встановлено наявність 7 органічних кислот у субстанціях, отриманих з плодів сливи домашньої свіжих. Найбільший вміст в усіх субстанціях мала яблучна кислота. Загальний вміст органічних кислот у пектиновому комплексі складав $15,41 \pm 0,12$ г/кг, у СДППК – $12,93 \pm 0,10$ г/кг та у Прунофені – $21,78 \pm 0,12$ г/кг. Бурштинова кислота мала найбільший вміст у СДППК. Ця речовина сприяє нормалізації обміну речовин у клітинах, має антигіпоксичний ефект, використовується у медицині при захворюваннях нирок, у кардіології, сприяє виведенню з організму токсичних речовин [51].

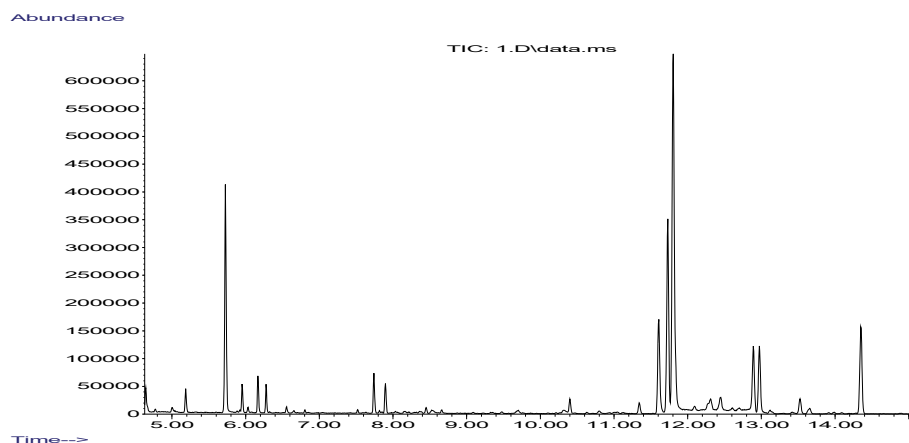


Рис. 4.4 Хроматограма вивчення органічних кислот у пектиновому комплексі зі сливи домашньої плодів свіжих

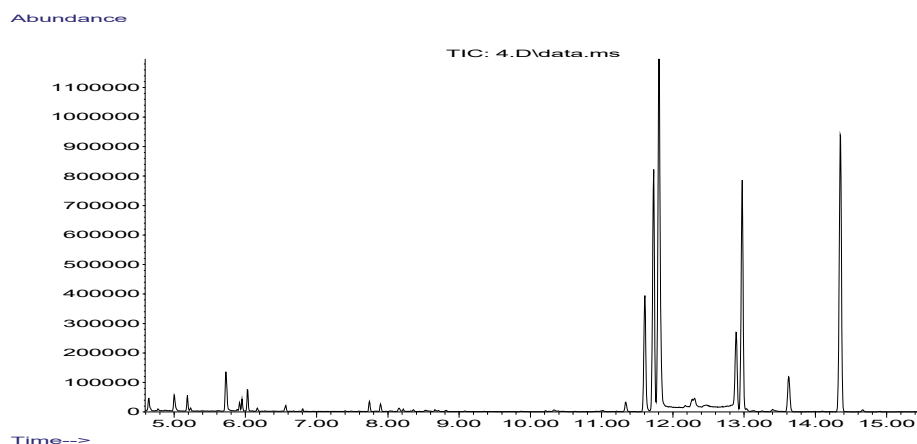


Рис. 4.5 Хроматограма вивчення органічних кислот у СДППК зі сливи домашньої плодів свіжих

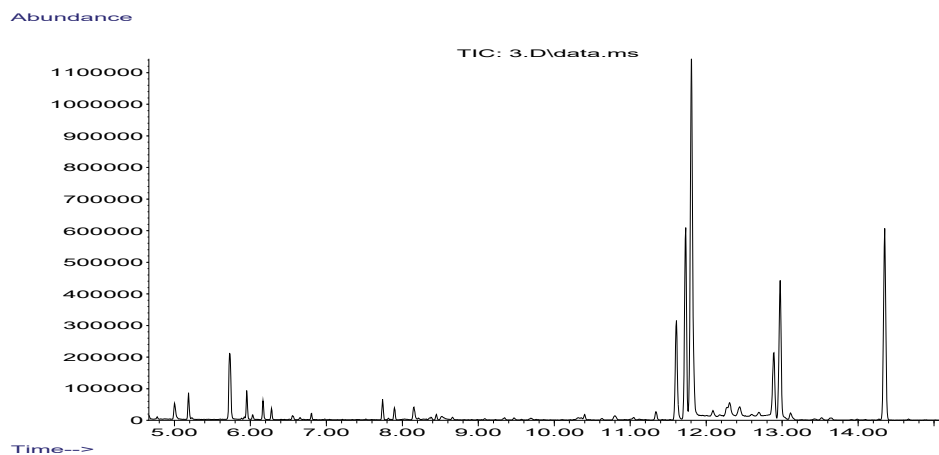


Рис. 4.6 Хроматограма вивчення органічних кислот у екстракті Прунофен зі сливи домашньої плодів свіжих

Найбільший вміст аскорбінової кислоти спостерігався у Прунофені. Ця речовина грає важливу роль в регуляції окислювально-відновних процесів, сприяє регуляції згортання крові, нормалізує проникність капілярів, має протизапальну і протиалергічну дію, а у поєднанні з бурштиною кислотою посилює дезінтоксикаційну функцію печінки [51, 57, 58].

4.2.5 Вивчення вмісту фенольних сполук в екстракті Прунофен

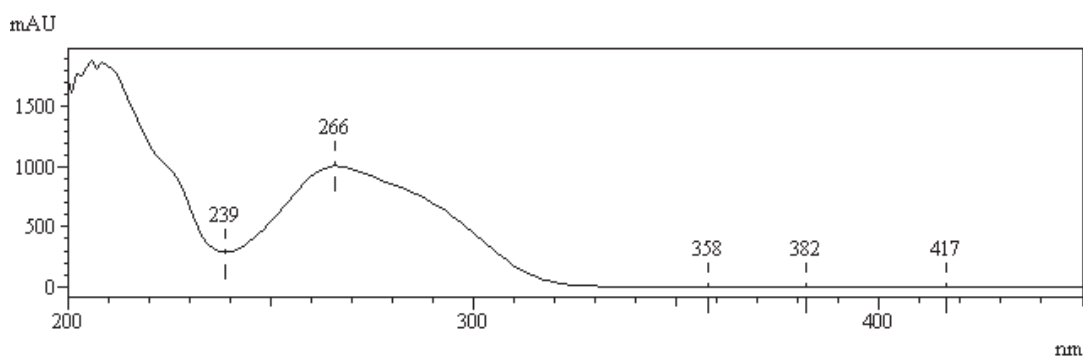
Вміст і склад фенольних сполук було вивчено у рідкому екстракті Прунофен.

Для попередньої ідентифікації БАР екстракту Прунофен використовували методи ПХ і ТШХ. Проведено дослідження ТШХ в системах розчинників № 1, № 2, № 10, та № 11. Аналіз проводили на пластинках ТШХ з шаром силікагелю F254 Merck, 20x10 см на скляній підложці [33].

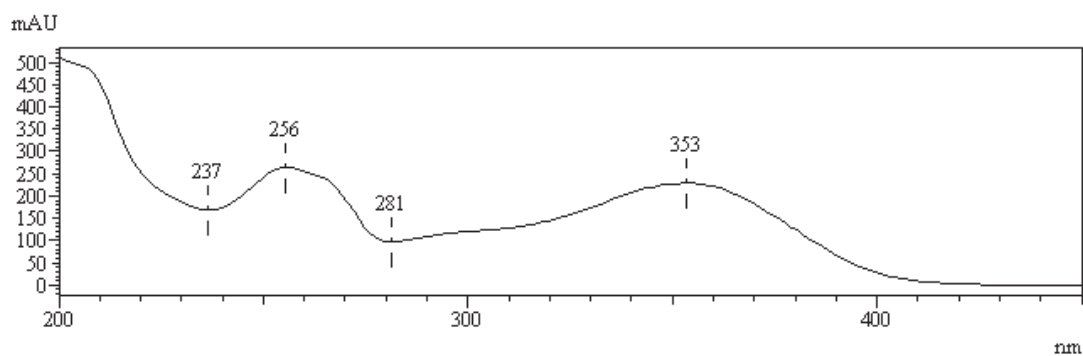
Для ідентифікації гідроксикоричних кислот хроматограми обробляли реактивом З, і після цього пластини нагрівали при температурі 100-105 °С протягом 10 хв і переглядали при денному світлі [57, 58, 128].

У результаті аналізу екстракту Прунофен методами ПХ та ТШХ вдалося встановити наявність гідроксикоричних кислот та флавонолів. З вірогідними зразками хроматографічно підтвердили наявність неохлорогенової та хлорогенової кислот, а також рутину.

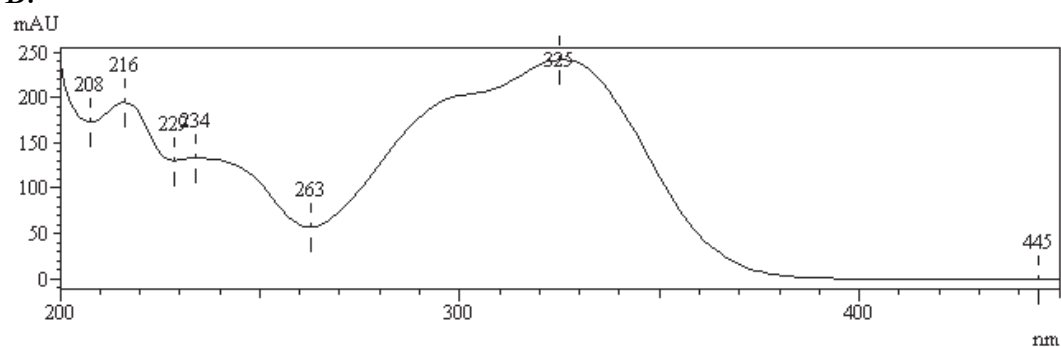
Кількісного вміст суми фенольних сполук у перерахунку на пірогалол склав $2,83 \pm 0,01 \%$ в екстракті Прунофен, та $0,19 \pm 0,001 \%$ у СДППК [33]. Вміст гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту у екстракті Прунофен визначали спектрофотометрично за методикою ДФУ, який дорівнював $0,62 \pm 0,01 \%$ [33, 35]. Вивчення компонентного вмісту фенольних сполук у екстракті Прунофен проводили методом ВЕРХ [96]. Спектри деяких стандартних речовин, які використовували у ВЕРХ-аналізі, надані на рис. 4.7. Методики наведені в розділі 2.3 цієї дисертації.



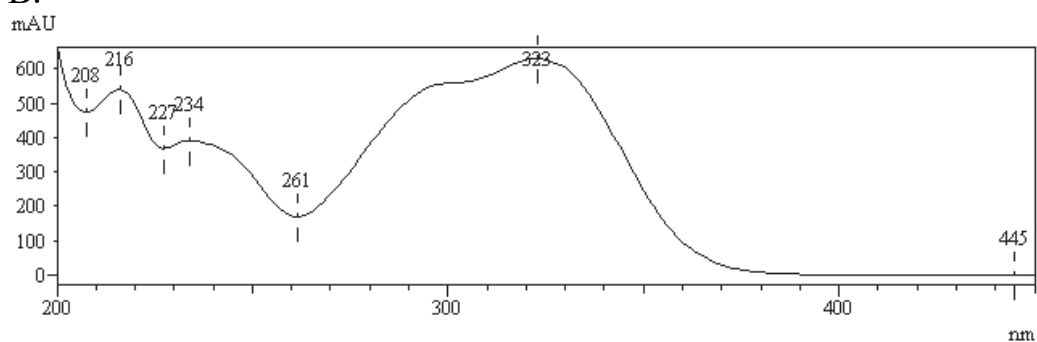
А.



Б.



В.



Г.

Рис. 4.7 Спектри стандартних речовин: А – галова кислота, Б – рутин, В – хлорогенова кислота, Г – кофейна кислота

Було ідентифіковано 5 речовин. Результати визначення фенольних сполук у екстракті Прунофен надані на рис. 4.8 та у табл. 4.7.

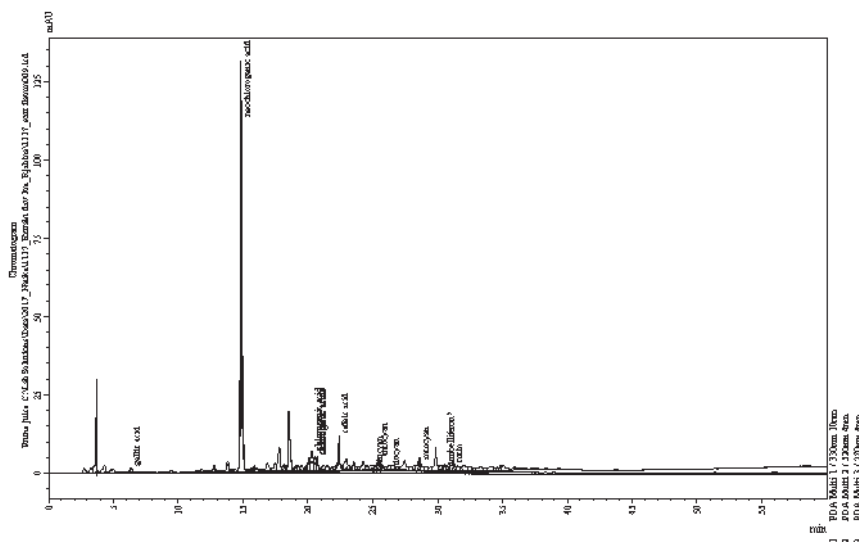


Рис. 4.8. ВЕРХ хроматограма дослідження фенольних сполук екстракту
Прунофен

Таблиця 4.7

**Результати вивчення фенольних сполук в екстракті Прунофен методом
ВЕРХ**

Речовина	Час утримування, хв	Вміст, мг/кг
Галова кислота	5,32	56,24±7,33
Неохлорогенова кислота	14,81	2320,25±42,13
Хлорогенова кислота	20,18	78,91±10,75
Кофейна кислота	21,96	371,07±15,12
Рутин	31,02	31,97±4,41

За результатами досліджень в екстракті Прунофен було встановлено наявність трьох гідроксикоричних кислот, галової кислоти та флавоноїду рутину. У найбільшій кількості в екстракті «Прунофен» містилася неохлорогенова кислота. Загальна кількість визначених сполук становила 2858 ± 80 мг/кг. На частину гідроксикоричних кислот припадало 97,00 %; флавоноїдів – 1,08 %, та фенольних кислот – 2,00 % [31].

Виявлені гідроксикоричні кислоти та рутин характеризуються антиоксидантною, протизапальною, мембраностабілізуючою та цитопротекторною активністю, можуть відновлювати щільність біомембран і функціональну активність клітин, тканин, органів, систем та організму в цілому [74, 87, 89, 136, 159]. Враховуючи вищесказане, було доцільно вивчити вплив екстракту

«Прунофен» на функціональний стан клітинних мембран та здатність проявляти мембраностабілізуючий ефект.

4.2.6 Вивчення вмісту летких сполук екстракту Прунофен

Дослідження вмісту летких сполук у екстракті Прунофен проводили методом ГХ-МС [31]. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації.

Результати дослідження летких сполук у екстракті Прунофен наведені у табл. 4.8 та на рис. 4.9. Кількісний вміст речовин в леткій фракції визначали методом внутрішньої нормалізації.

Таблиця 4.8

Хімічний склад леткої фракції екстракту «Прунофен»

Сполука	Індекс Ковача (RI)	Вміст, %
5-Метил-2-фуральдегід	925	0,57±0,06
2,4-Дигідрокси-2,5-диметил-3 (2Н) -фуран-3-он	989	0,75±0,09
Метилацетоксиацетат	997	0,35±0,04
Мальтол	1104	1,20±0,08
2,3-Дигідро-3,5-дигідрокси-6-метил-4Н-піран-4-он	1118	0,87±0,06
2-Пропіл-тетрагідропіран-3-ол	1156	0,54±0,01
5- (Гідроксиметил) -2-фуральдегід	1175	93,75±0,05
1,2,3,5-Циклогексантетрол	1474	1,93±0,03

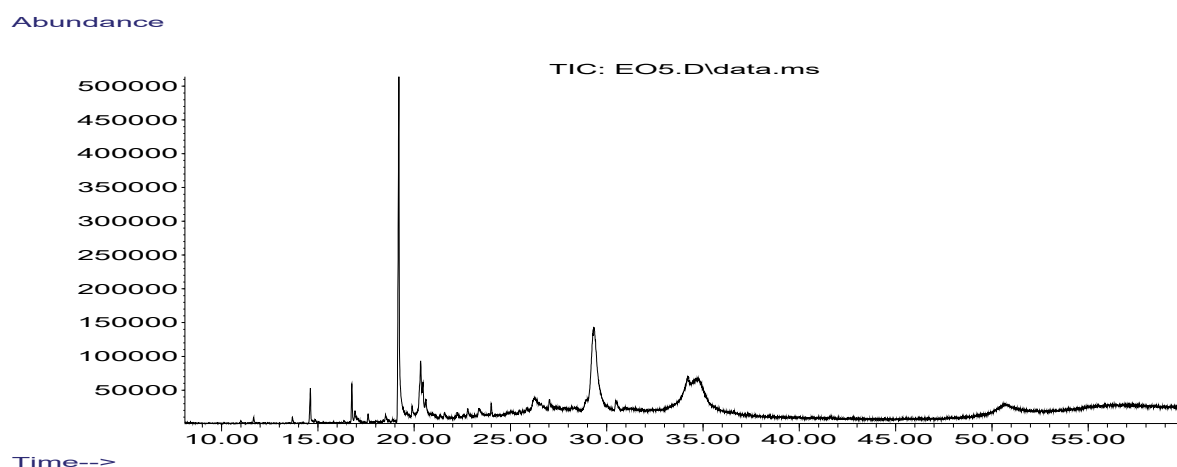


Рис. 4.9 ГХ-МС хроматограма, одержана при вивченні летких сполук в екстракті «Прунофен»

В екстракті «Прунофен» було ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 8 сполук з найбільшим вмістом 5-(гідроксиметил)-2-фуральдегіду, 1,2,3,5-циклогексантиетолу та мальтолу. Значна частина летких сполук екстракту «Прунофен» є побічними продуктами при одержанні цього екстракту, вони утворюються внаслідок термічної обробки цукрів та глікозидів. Відомо, що синтетичне похідне мальтолу проявляло антипроліферативну активність в експерименті *in vitro* по відношенню до ракових клітинних ліній. Можливо, це відбувалось за рахунок індукції апоптозу у цих клітинах [132].

4.3 Стандартизація отриманих субстанцій

4.3.1 Стандартизація екстракту Прунофен

З метою стандартизації екстракту з плодів сливи домашньої Прунофен визначали ряд числових показників у 3 серіях екстракту, отриманих в експериментальних умовах, описаних в розділі 4.1. Подальшу розробку методик стандартизації та стандартизацію одержаних екстрактів проводили відповідно до загальних статей і методик кількісного визначення БАР, викладених у ДФУ [13, 14, 15].

Для стандартизації екстракту Прунофен відповідно до методик ДФУ 2.0 було визначено такі параметри, як: відносна густина, рН, сухий залишок екстракту і вміст етанолу (табл. 4.9).

Таблиця 4.9

Технологічні параметри рідкого екстракту Прунофен

Параметр	Результат визначення
Відносна густина, г/см ³	1,18 ± 0,005
рН	4,22 ± 0,05
Сухий залишок, %	15,14 ± 0,10
Вміст етанолу, %	48,34±0,33

На основі аналізу отриманих результатів досліджень якісного складу та кількісного вмісту БАР у рідкому екстракті Прунофен та визначених його технологічних властивостей на екстракт Прунофен було розроблено проєкт МКЯ.

Специфікація екстракту Прунофен з плодів сливи домашньої згідно проєкту МКЯ надана у табл. 4.10.

Таблиця 4.10

Специфікація екстракту Прунофен з плодів сливи домашньої

Показники якості	Допустимі межі	Методики контролю
1	2	3
Опис	Рідина, від світло-коричневого до коричневого кольору, зі слабким специфічним запахом і кисло-солодким смаком	За п. 1 МКЯ
Ідентифікація		
Метод ТШХ	На хроматограмі випробуваного розчину на рівні розчину порівняння хлорогенової кислоти має виявлятися світло-блакитна флуоресціююча зона. На хроматограмі випробуваного розчину можуть виявлятися також інші флуоресціюючі зони.	За п. 2 МКЯ; ДФУ, 2.2.27
Випробування		
Вміст етанолу	Від 47 % (об/об) до 52 % (об/об)	За п. 3 МКЯ ДФУ, 2.9.10
Відносна густина	Від 1,15 г/см ³ до 1,20 г/см ³	ДФУ, 2.2.5
Потенціометричне визначення рН	Від 4 до 4,5	ДФУ, 2.2.3
Сухий залишок	Не менше 15 %	За п. 5 МКЯ ДФУ, 2.8.16
Важкі метали	Не більше 10 ppm	За п. 6 МКЯ ДФУ, 2.4.8
Мікробіологічна чистота	В 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г. Не допускається наявність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г	За п. 7 МКЯ ДФУ, 2.6.12; 2.6.13, 5.1.4

1	2	3
Кількісне визначення		
Вміст гідроксикоричних кислот у перерахунку на кислоту хлорогенову	не менше 0,6 %	За п. 8 МКЯ, ДФУ, 2.2.25

Примітка. ДФУ – Державна фармакопея України чинного видання.

Опис. Рідина світло-коричневого до коричневого кольору, зі слабким специфічним запахом і кисло-солодким смаком.

Ідентифікація. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.2.27.

Випробовуваний розчин. До 0,5 г екстракту додають 10 мл метанолу, нагрівають на водяній бані при температурі 60 °С зі зворотним холодильником протягом 10 хв, охолоджують і фільтрують.

Розчин порівняння. 1 мг кислоти хлорогенової розчиняють у 10 мл метанолу Р.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: кислота мурашина безводна Р - кислота оцтова льодяна Р - вода Р - етилацетат Р (7:7:14:72).

Об'єм проби, що наноситься: 20 мкл, смугами.

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

Висушування: при температурі від 100 °С до 105 °С.

Виявлення: обприскують розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти Р у метанолі Р, потім розчином 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р, висушують на повітрі протягом 30 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: у нижній третині хроматограми розчину порівняння виявляється світло-блакитна флуоресціююча зона, відповідна хлорогеновій кислоті. На хроматограмі випробовуваного розчину на рівні розчину порівняння хлорогенової кислоти має виявлятися світло-блакитна флуоресціююча зона. На

хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися також інші флуоресціюючі зони.

Випробування.

Вміст етанолу. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.9.10. Вміст етанолу має бути у межах від 47 % (об/об) до 52 % (об/об).

Відносна густина. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.2.5. Відносну густину визначають за допомогою пікнометра, вона має бути у межах від 1,15 г/см³ до 1,20 г/см³.

Потенціометричне визначення рН. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.2.3 шляхом вимірювання різниці потенціалів між двома електродами, зануреними у випробовуваний розчин: один з електродів чутливий до іонів водню (скляний електрод), другий – електрод порівняння (насичений каломельний електрод). рН має бути у межах від 4 до 4,5.

Сухий залишок. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.8.16. 5,0 мл рідкого екстракту, поміщали у зважений бюкс, випарювали на водяній бані, сушать при температурі від 100 °С до 105 °С протягом 3 год, потім охолоджують в ексикаторі протягом 30 хв і зважують.

Важкі метали. З метою токсикологічної безпеки в усіх видах фітохімічної продукції контролюють вміст важких металів, за вимогами ДФУ(2.4.8). Їх вміст має бути не більше 10 ppm.

Мікробіологічна чистота. Для фітохімічних засобів характерна мікробна забрудненість, тому потрібно контролювати кількість життєздатних бактерій і грибів в екстракті. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.6.12, 2.6.13.

У препараті допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно) в 1 г.

Не допускається наявність ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г.

Не допускається наявність *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г.

Не допускається наявність *Staphylococcus aureus* в 1 г.

Кількісне визначення. Вміст гідроксикоричних кислот у екстракті визначають спектрофотометричним методом у перерахунку на хлорогенову кислоту за ДФУ 2.2.25.

Вихідний розчин: 0,100 г екстракту поміщають у круглодонну колбу місткістю 100 мл, та розчиняють у *етанолі* (50 % об/об) *P*

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 свіжоприготованого розчину 10 г натрію нітриту *P* і 10 г натрію молібдату *P* у 100 мл води *P*, 2 мл натрію гідроксиду розчину розведеного *P*, доводять об'єм розчину водою *P* до позначки та перемішують.

Компенсаційний 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 і 2 мл натрію гідроксиду розчину розведеного *P*, доводять об'єм розчину водою *P* до позначки та перемішують. Відразу вимірюють оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст суми гідроксикоричних кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту, у відсотках, обчислюють за формулою 4.1:

$$x (\%) = \frac{A \cdot 1000}{m \cdot 188}, \quad (4.1)$$

де: *A* – оптична густина випробовуваного розчину при довжині хвилі 525 нм;

188 – питомий показник поглинання хлорогенової кислоти при довжині хвилі 525 нм;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, у %.

m – маса наважки випробовуваного зразка, у г.

Вміст суми гідроксикоричних кислот має бути не менше 0,6 %.

Упаковка. Балони по 10 л зі скломаси з гвинтовою горловиною з пластмасовими кришками, що нагвинчуються. Горловину банки з кришкою обгортають пергаментом, обв'язують ниткою поліпропіленовою фібрильованою

або шпагатом з луб'яних волокон, армованим хімічною ниткою, на кінці якої наклеюють етикетку із самоклеючого паперу.

Умови зберігання. Зберігають у захищеному від світла місці при температурі не вище + 25 °С.

Аналіз екстракту Прунофен з плодів сливи домашньої, був проведений згідно з розробленим проєктом МКЯ, його результати наведені у табл. 4.11.

Таблиця 4.11

Результати аналізу екстракту Прунофен, з плодів сливи домашньої згідно з проєктом МКЯ

Показники якості	Допустимі межі	Результати визначення рідкого екстракту, серія		
		1	2	3
1	2	3	4	5
Опис	Рідина в'язка, світло-коричневого кольору, зі специфічним запахом	+	+	+
Ідентифікація				
Метод ТШХ	На хроматограмі випробуваного розчину на рівні розчину порівняння хлорогенової кислоти має виявлятися світло-блакитна флуоресціююча зона. На хроматограмі випробуваного розчину можуть виявлятися також інші флуоресціюючі зони.	+	+	+
Випробування				
Вміст етанолу	Від 46 % (об/об) до 52 % (об/об)	51	50	48
Відносна густина	Від 1,15 г/см ³ до 1,20 г/см ³	1,16	1,16	1,17
Потенціометричне визначення рН	Від 4 до 4,5	4,2	4,2	4,1
Сухий залишок	Не менше 15 %	15,2	16,1	15,8
Важкі метали	Не більше 10 ppm	+	+	+

1	2	3	4	5
Мікробіологічна чистота	В 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г. Не допускається наявність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г	+	+	+
Кількісне визначення				
Вміст гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту	не менше 0,6 %	0,63	0,67	0,65

Примітка. «+» – екстракт відповідає вимогам МКЯ

За результатами аналізу можна зробити висновок, що всі серії екстракту Прунофен відповідають вимогам розробленого проєкту МКЯ (Додаток Д).

4.3.2 Стандартизація Сливи домашньої плодів полісахаридного комплексу

Для стандартизації СДППК з плодів сливи домашньої визначали числові показники 3 серій екстракту, отриманих в експериментальних умовах, описаних у підрозділі 4.1. Подальшу розробку методик стандартизації та стандартизацію одержаного екстракту проводили відповідно до загальних статей і методик кількісного визначення БАР, викладених у ДФУ (табл. 4.12).

**Специфікація Сливи домашньої плодів полісахаридного комплексу згідно з
проектом МКЯ**

Показники якості	Допустимі межі	Методики контролю
1	2	3
Опис	Аморфний гігроскопічний порошок коричневого кольору, без запаху	За п. 1 МКЯ
Розчинність у: – 96 % етанолі – 50 % етанолі – ефірі – хлороформі – воді	практично не розчинний дуже мало розчинний практично не розчинний практично не розчинний легкорозчинний	За п. 2 МКЯ ДФУ, 1.4
Ідентифікація		
Моносахариди після гідролізу Метод ТШХ, подвійний розбіг	На хроматограмі випробовуваного розчину мають проявлятися зони на рівні зон D-глюкози та D-галактози хроматограми розчину порівняння, відповідні їм за забарвленням	За п. 3 МКЯ; ДФУ, 2.2.27 ДФУ 1.0 «Глюкоза безводна» с.360
Випробування		
Залишкові кількості органічних розчинників: – етанол	Не більше 1,0 %	За п. 4 МКЯ ДФУ, 2.2.28.
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 5 %	За п. 5 МКЯ ДФУ, 2.8.17
Важкі метали	Не більше 100 ppm	За п. 6 МКЯ ДФУ, 2.4.8
Мікробіологічна чистота	В 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г. Не допускається наявність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г	За п. 7 МКЯ ДФУ, 2.6.12; 2.6.13, 5.1.4

1	2	3
Кількісне визначення		
Вміст моносахаридів (після гідролізу) у перерахунку на D-глюкозу	Не менше 60 %	За п. 8 МКЯ, ДФУ, 2.2.25
Вміст органічних кислот у перерахунку на кислоту яблучну	Не менше 1 %	

Примітка. ДФУ – Державна фармакопея України чинного видання.

Опис. Одержаний екстракт являє собою аморфний гігроскопічний порошок коричневого кольору, без запаху.

Розчинність. Екстракт легко розчинний у воді, дуже мало розчинний у 50 % спирті, практично не розчинний у 96 % спирті, хлороформі та ефірі.

Ідентифікація.

Випробовуваний розчин. До 0,2 г екстракту додають 2 мл води і гідролізують із 2 мл 20 % розчину кислоти сульфатної при нагріванні на водяній бані протягом 5 год. Гідролізат нейтралізують барію карбонатом до нейтральної реакції за універсальним індикатором. Розчин фільтрують, промивають фільтри й осад на фільтрах водою. Фільтрат випарюють у вакуумі до сухого залишку, який розчиняють у 0,5 мл 96 % етанолу.

Розчин порівняння. По 10 мг ФСЗ D-глюкози та ФСЗ D-галактози та ФСЗ D-фруктози розчиняють у суміші вода Р – метанол Р (2:3) і доводять об'єм розчину тією самою сумішшю розчинників до 20 мл.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: вода Р – метанол Р – кислот оцтова безводна Р – етилен хлорид Р (10:15:25:50).

Об'єм проби, що наноситься: по 2 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 15 см від лінії старту.

Висушування: сушать у струмені теплого повітря.

Виявлення: обприскують розчином 0,5 г *тимолу* Р у суміші 5 мл *кислоти сірчаної* Р і 95 мл 96 % *спирту* Р. Пластинку нагрівають при температурі 130 °С протягом 10 хв.

Результати: На хроматограмі випробовуваного розчину мають проявлятися зони на рівні зон D-глюкози та D-галактози хроматограми розчину порівняння, відповідні їм за забарвленням.

На хроматограмі випробовуваного розчину можуть проявлятися також інші зони.

Випробування.

Залишкові кількості органічних розчинників.

Етанол.

1,0 г (точна наважка) препарату поміщають в мірну колбу ємністю 10 мл з притертою пробкою, розчиняють в 5 мл *диметилформаміду* Р, доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки та перемішують (випробовуваний розчин).

По 0,5 мкл випробовуваного розчину і розчину порівняння поперемінно хроматографують на газовому хроматографі з полум'яно-іонізаційним детектором, отримуючи не менше 5 хроматограм за таких умов:

- колонка капілярна кварцова розміром 50 м × 0,32 мм ID із нанесеним шаром нерухомої фази – FFAP, товщина шару – 1,2 мкм (CP-WAX 58, CHROMPACK) або аналогічна, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;
- температуру термостата колонки програмують від 35 °С (затримка 6 хв) до 200 °С (затримка 5 хв), приріст температури – 25 °С/хв;
- температура блока випарника – 200 °С, розподіл потоку 1 : 20;
- температура детектора – 290 °С;
- швидкість газу-носія (водень, гелій) – 2 мл/хв.

Вміст етанолу, у відсотках, у наважці препарату, обчислювали за формулою 4.2:

$$X = \frac{A_i \times m_0 \times 10 \times 100}{A_0 \times m_i \times 10} = \frac{A_i \times m_0 \times 100}{A_0 \times m_i}, \quad (4.2)$$

де A_i – середнє значення площі піка етанолу з хроматограм випробовуваного розчину;

A_0 – середнє значення площі етанолу з хроматограм розчину порівняння;

m_i – маса наважки препарату, г;

m_0 – маса наважки етанолу в розчині порівняння, г.

Вміст етанолу в екстракті має бути не більше 1,0 %.

Втрата в масі при висушуванні. 0,50 г подрібненого на тонкий порошок екстракту помішають у плоскодонну чашку і сушать у сушильній шафі при температурі 100 – 105 °С протягом 3 год, після чого охолоджують в ексикаторі і зважують. Втрата в масі при висушуванні має бути не більше 5 %.

Важкі метали. 0,2 г препарату, у перерахунку на суху речовину, поміщають у попередньо прожарений порцеляновий або кварцовий тигель, змочують 1 мл *сірчаної кислоти* Р, та обережно нагрівають на сітці або піщаній бані при постійному перемішуванні, обертаючи тигель щипцями, до видалення парів кислоти сірчаної і спалюють до зникнення темних часток при температурі 600 °С. За наявності темних частинок знову додають 1 мл *сірчаної кислоти* Р та повторюють спалювання. Залишок із тигля переносять у пробірку двома порціями *хлористоводневої кислоти розведеної* Р по 5 мл кожна, за необхідності нагрівають при температурі від 50 до 60 °С до розчинення осаду. Охолоджують, додають 0,1 мл *розчину фенолфталеїну* Р та підлужують *розчином аміаку концентрованого* Р до появи рожевого забарвлення. Охолоджують, додають *кислоту оцтову льодяну* Р до знебарвлення розчину та додають ще 0,5 мл *кислоти оцтової льодяної* Р. Якщо необхідно, фільтрують крізь паперовий фільтр невеликого діаметра, попередньо промитий розчином 10 г/л *оцтової кислоти льодяної* Р, а потім гарячою водою Р; після фільтрації промивають фільтр водою Р. Доводять об'єм розчину водою Р до 20 мл і перемішують. До 12 мл одержаного фільтрату додають 2 мл *буферного розчину рН 3,5* та перемішують, одержану суміш додають до 1,2 мл *реактиву*

тіоацетаміду Р і швидко перемішують (допускається слабка опалесценція розчину).

Для приготування еталону в тигель поміщають *сірчану кислоту* Р у кількості, використаній для спалювання препарату, 2 мл *етанольного розчину свинцю* (10 ppm Рb) Р. Спалюють за тих самих умов, що і випробовувану речовину, кількісно переносять хлористоводневою кислотою, додають розчин аміаку, потім кислоту оцтову. Доводять об'єм розчину *водою* Р до 20 мл і перемішують. До 10 мл одержаного розчину додають 2 мл розчину, одержаного при обробці випробовуваної речовини, і 2 мл *буферного розчину рН 3,5* та перемішують. Одержану суміш додають до 1,2 мл *реативу тіоацетаміду* Р і швидко перемішують.

Готують холостий розчин, використовуючи суміш 10 мл *води* Р і 2 мл розчину, одержаного при обробці випробовуваної речовини. Порівняно з холостим розчином еталонний повинен мати світло-коричневе забарвлення.

Через 2 хв коричневе забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим, ніж забарвлення еталону.

Мікробіологічна чистота.

Для визначення загальної кількості життєздатних аеробних бактерій 10 г препарату поміщають у стерильну мірну посудину, доводять до 500 мл стерильною нейтралізуючою рідиною, що містить 10 % полісорбату-80 та 20 % ізопропілміристату. По 1 мл підготовленого зразка висівають двошаровим методом на кожную із п'яти чашок Петрі з густим живильним середовищем № 1.

Для визначення загальної кількості життєздатних грибів 10 г препарату поміщають у стерильну мірну посудину, доводять до 500 мл стерильною нейтралізуючою рідиною, що містить 10 % полісорбату-80 та 20 % ізопропілміристату. По 1 мл підготовленого зразка висівають двошаровим методом на кожную з п'яти чашок Петрі з густим живильним середовищем № 2.

Для випробування на наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus* 10 г препарату поміщають у стерильну мірну посудину, доводять до 500 мл стерильною

нейтралізувальною рідиною, що містить 10 % полісорбату-80 та 20 % ізопропілміристату. По 50 мл підготовленого зразка вносять в 500 мл живильних середовищ № 3 і 8.

У препараті допускається загальна кількість життєздатних аеробних мікроорганізмів не більше 100 (бактерій і грибів сумарно) в 1 г.

Не допускається наявність ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г.

Не допускається наявність *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г.

Не допускається наявність *Staphylococcus aureus* в 1 г.

Примітка. Склад нейтралізувальної рідини, що містить 10 % полісорбату-80 та 20 % ізопропілміристату: полісорбат-80 – 100 г; ізопропілміристант – 200 г; лецитин (яєчний) – 3 г; гістидину гідрохлорид – 1 г; пептон ферментативний – 1 г; натрію хлорид – 4,3 г; калію дигідрофосфат – 3,6 г; динатрію гідрофосфат дигідрат – 7,2 г; вода очищена – 1000 мл.

Кількісне визначення.

Вихідний розчин: 3,0 г (точна наважка) екстракту поміщають в колбу місткістю 100 мл, додають 20 мл *води Р* і збовтують до повного розчинення. Потім додають 60 мл *96 % спирту Р* і перемішують. Через 30 хв розчин з осадом фільтрують крізь скляний фільтр ПОР 16, промивають осад 20 мл суміші *96 % спирт Р – вода Р (3:1)*. Осад із фільтра кількісно переносять за допомогою 10 мл *хлористоводневої кислоти розведеної Р* у колбу місткістю 50 мл і кип'ятять зі зворотним холодильником протягом 1 год. Колбу із вмістом охолоджують до кімнатної температури та поміщають у колбу невелику смужку *конго червоного паперу Р* і додають краплями *натрію гідроксиду розчин концентрований Р* до почервоніння паперу; потім додають краплями *хлористоводневу кислоту розведену Р* до посиніння паперу, а потім краплями *натрію гідроксиду розчин розведений Р* до почервоніння паперу. Розчин кількісно переносять за допомогою 15 мл *води Р* у мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки, перемішують і фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші 5 мл фільтрату.

Випробовуваний розчин. 1 мл *пікринової кислоти розчину Р* поміщають у плоскодонну колбу місткістю 50 мл, додають 3 мл 20 % розчину натрію карбонату

і 1 мл вихідного розчину. Колбу із вмістом витримують у киплячій водянній бані протягом 10 хв і охолоджують до кімнатної температури. Вміст колби кількісно переносять за допомогою 15 мл *води Р* у мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки і перемішують.

Вимірюють оптичну густину отриманого розчину на спектрофотометрі при довжини хвилі 460 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння розчин, що складається з 1 мл *пiкринової кислоти розчину Р*, 3 мл 20 % розчину натрію карбонату й 1 мл *води Р*, оброблений аналогічно випробовуваному розчину, починаючи зі слів «колбу з вмістом витримують на киплячій водянній бані...».

Паралельно вимірюють оптичну густину розчину, що містить 1 мл розчину порівняння глюкози, обробленого аналогічно випробовуваному розчину, починаючи зі слів «1 мл *пiкринової кислоти розчину Р* поміщають...».

Вміст нейтральних моноцукрів (X) у перерахунку на глюкозу, у відсотках, обчислюють за формулою 4.3:

$$X = \frac{A_1 \times 25 \times 25 \times m_0 \times 10 \times 100}{A_0 \times m_1 \times 1 \times 100 \times 25 \times (100 - W)}, \quad (4.3)$$

де A_1 – оптична густина випробовуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння глюкози;

m_1 – маса наважки екстракту, г;

m_0 – маса наважки СЗ глюкози в розчині порівняння глюкози, г;

W – втрата в масі при висушуванні, %.

Примітки: 1. Приготування розчину порівняння глюкози. Близько 0,14 г (точна наважка) глюкози (ФС 42У-52/37-709-00), попередньо висушеної при температурі від 100 до 105 °С до постійної маси, поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 60 мл *води Р*, доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки і перемішують. 10 мл отриманого розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки і перемішують. Термін придатності розчину – 10 діб.

2. Приготування 20 % розчину натрію карбонату. 20 г натрію карбонату безводного для спектрального аналізу (ТУ 6-09-3987-75, х.ч.) поміщають у мірну колбу

місткістю 100 мл, розчиняють у 60 мл *води Р*, доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки і перемішують. Термін придатності розчину – 3 міс.

3. При змішуванні реактивів і випробовуваного розчину суворо дотримуватися порядку, зазначеного в методиці.

Вміст моносахаридів у перерахунку на D-глюкозу має бути не менше 60 %.

Упаковка. По 1 кг у банки зі скломаси з гвинтовою горловиною і пластмасовими кришками, що нагвинчуються, та прокладками з картону прокладного. Горловину банки з кришкою обгортають пергаментом, обв'язують ниткою поліпропіленовою фібрильованою або шпагатом із луб'яних волокон, армованим хімічною ниткою, на кінці якої наклеюють етикетку із самоклеючого паперу.

Умови зберігання. Зберігають у захищеному від світла місці при температурі не вище + 25 °С.

Результати аналізу екстракту СДППК, проведеного згідно з розробленим проектом МКЯ, наведені у табл. 4.13.

Таблиця 4.13

**Результати аналізу Сливи домашньої плодів полісахаридного комплексу
згідно з проектом МКЯ**

Показники якості	Допустимі межі	Серія 1	Серія 2	Серія 3
1	2	3	4	5
Опис	Аморфний гігроскопічний порошок від світло-коричневого до коричневого кольору, без запаху	+	+	+
Розчинність у:				
– 96 % етанолі	практично не розчинний	+	+	+
– 50 % етанолі	дуже мало розчинний	+	+	+
– ефірі	практично не розчиняється	+	+	+
– хлороформі	практично не розчиняється	+	+	+
– воді	легкорозчинний	+	+	+

1	2	3	4	5
Ідентифікація				
Моносахариди після гідролізу Метод ТШХ (подвійний розбіг)	На хроматограмі випробовуваного розчину мають проявлятися зони на рівні зон D-глюкози та D-галактози хроматограми розчину порівняння, відповідні їм за забарвленням. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть проявлятися також інші зони.	+	+	+
Випробування				
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 5 %	3,7	4,2	3,3
Залишкові кількості органічних розчинників: етанол	Не більше 1,0 %	0,3	0,5	0,4
Важкі метали	Не більше 100 ppm	+	+	+
Мікробіологічна чистота	В 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г. Не допускається наявність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г	+	+	+
Важкі метали	Не більше 100 ppm	+	+	+
Кількісне визначення				
Вміст моносахаридів (після гідролізу) у перерахунку на D-глюкозу	Не менше 60 %	61,02	60,67	61,75

Примітка. «+» – екстракт відповідає вимогам МКЯ.

За результатами проведеного аналізу підтверджено, що всі серії екстракту «Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс» відповідають вимогам розробленого проекту МКЯ (Додаток Д). Схема одержання СДППК апробована на обладнанні ПАТ «Хімфарм завод «Червона зірка»» (Додаток Б).

4.4 Фармакологічні дослідження отриманих субстанцій

4.4.1 Дослідження гострої токсичності та визначення середньої летальної дози екстрактів

Згідно з методичними рекомендаціями при проведенні доклінічних досліджень субстанцій, які застосовуються внутрішньо, передусім вивчають гостру токсичність і встановлюють їх середню летальну дозу.

Гостру токсичність екстрактів вивчали на білих щурах після одноразового внутрішньошлункового введення досліджуваних субстанцій для визначення дози LD_{50} [20, 26]. Обмежувальною мірою при визначенні LD_{50} була максимальна доза токсичності четвертого ступеня (малотоксичні речовини) – 5000 мг/кг [14]. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації.

Під час експерименту оцінювався загальний стан тварин, а саме поведінка, дихання, маса тіла, стан шкіри, діурез та кал й летальність.

Протягом усього часу спостереження у контрольній та дослідних групах тварин не спостерігалось токсичних патофізіологічних проявів, тобто дослідні групи і група-контроль не відрізнялися за оцінюваними показниками. Зважаючи на це неможливо визначити середню летальну дозу (LD_{50}), оскільки LD_{50} перевищує максимальну досліджувану дозу 5000 мг/кг маси тіла. Також за час дослідження не спостерігалися жодні клінічні прояви гострої токсичності.

З отриманих даних можна зробити висновок, що досліджувані екстракти Прунофен та Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс не виявили гострої токсичності, і за класифікацією речовин з токсичності можна віднести їх до 5 класу токсичності – «практично нетоксичні речовини».

4.4.2 Дослідження діуретичної, мембраностабілізуючої, антиагрегаційної та урикозуричної дії екстракту Прунофен

Для екстракту Прунофен були досліджені діуретична дія, на моделі спонтанного і форсованого діурезу, мембраностабілізуюча, антиагрегаційна та урикозурична дія.

На тлі спонтанного діурезу було показано, що екстракт Прунофен після внутрішньошлункового введення в дозі 5 мл/кг протягом 21 дня (3 тижні) не змінював обсяг діурезу і добовий діурез в порівнянні з інтактним контролем (ІК), хоча на початку експерименту спостерігалось збільшення об'єму сечі у тварин на 47,1 % відносно групи ІК ($p < 0,05$) а також добового діурезу на 43,6 % ($p < 0,05$) (табл. 4.14).

Таблиця 4.14

Показники функціонування нирок щурів із спонтанним добовим діурезом

Показники	Період	ІК	Прунофен, 5 мл/кг
Об'єм сечі (D), мл	Початкові дані	4,52±0,21	6,65±0,74*
	3 тижні	3,52±0,51	3,82±0,48
Добовий діурез (V), мл/100 г.	Початкові дані	2,20±0,12	3,16±0,39*
	3 тижні	1,62±0,25	1,81±0,11
Кількість креатиніну в сечі, мг	Початкові дані	2,47±0,39	5,39±0,44*
	3 тижні	2,77±0,33	10,08±1,77*
Креатинін у сечі, ммоль/л	Початкові дані	5,19±0,74	6,58±0,66
	3 тижні	7,17±0,65	22,98±3,32*/**
Виведення креатиніну, ммоль/100 г.	Початкові дані	2,64±0,45	3,35±0,26*
	3 тижні	4,99±0,78	16,02±2,12*/**
Сечова кислота в сечі, ммоль/л	Початкові дані	2,37±0,16	2,57±0,15
	3 тижні	1,51±0,24	1,40±0,11
Виведення сечової кислоти, ммоль/100 г.	Початкові дані	1,20±0,13	1,32±0,11
	3 тижні	1,06±0,25	1,02±0,21

Примітки: * - похибка, ймовірно, пов'язана з даними інтактного контролю, $p < 0,05$;

** - похибка, ймовірно, пов'язана з вихідними даними, $p < 0,05$.

Ймовірно, екстракт Прунофен тільки усуває надлишок води і не порушує водний баланс організму. Разом з тим в умовах форсованого діурезу було показано, що екстракт Прунофен не впливав на діуретичну активність після одноразового застосування, проте пригнічував її після тривалого застосування (табл. 4.15).

Таблиця 4.15

Показники функціонування нирок щурів з діурезом при водному навантаженні

Показники	Період	ІК	Прунофен, 5 мл/кг
Об'єм сечі (D), мл	Початкові дані	3,58±0,41	3,12±0,38
	3 тижні	3,20±0,54	1,98±0,36*/**
Добовий діурез (V), мл/100 г за год.	Початкові дані	0,58±0,06	0,48±0,07*
	3 тижні	0,49±0,08	0,22±0,04*/**
Креатинін у сечі, ммоль/л	Початкові дані	2,79±0,34	5,56±0,43*
	3 тижні	3,99±0,57	2,80±0,15*/**
Виведення креатиніну, ммоль/100 г.	Початкові дані	1,77±0,35	3,53±0,23*
	3 тижні	3,41±0,94	2,39±0,62
Швидкість клубочкової фільтрації, мл/100 г за год.	Початкові дані	13,91±0,66	22,24±1,46*
	3 тижні	13,22±1,86	4,74±1,14*/**
Сечова кислота в сироватці крові, ммоль/л	Початкові дані	62,00±3,58	64,14±4,28
	3 тижні	88,51±11,00	97,20±4,31
Сечова кислота в сечі, ммоль/л	Початкові дані	0,73±0,08	0,82±0,14
	3 тижні	0,55±0,05	0,39±0,04*
Виведення сечової кислоти, ммоль/100 г	Початкові дані	0,44±0,06	0,49±0,05
	3 тижні	0,47±0,12	0,76±0,16*

Примітки: * - похибка, ймовірно, пов'язана з даними інтактного контролю, $p < 0.05$;

** - похибка, ймовірно, пов'язана з вихідними даними, $p < 0.05$.

Прунофен через 3 тижні застосування викликав значне зниження обсягу сечі на 37 % ($p < 0,05$) і денного діурезу на 55 % ($p < 0,05$). Цей результат підтверджено зниженням швидкості клубочкової фільтрації на 64 % в порівнянні з вихідними даними і даними ІК (табл. 4.16). Звідси можна зробити висновок, що в умовах

форсованого діурезу після тривалого застосування екстракту виникає стрес в роботі нирок і змінюється фільтраційна здатність нирок, пригнічується реабсорбція, що дуже важливо при лікуванні подагри.

Крім того в експерименті досліджували вміст креатиніну та сечової кислоти в сироватці крові та сечі, які є маркерами балансу азотного і пуринового обміну відповідно (табл. 4.15, 4.16). Що стосується спонтанного діурезу, екстракт Прунофен показав, що після однократного і 3-тижневого застосування відмічалось зростання креатиніну в сечі в 1,1 рази ($p < 0,05$) і в 3,2 рази ($p < 0,05$), у порівнянні з ІК (табл. 4.16), в умовах форсованого діурезу екстракт Прунофен після одноразового застосування підвищував рівень креатиніну в сечі і стимулював зростання показників екскреції креатиніну в 2 рази ($p < 0,05$) в порівнянні з ІК (табл. 4.16). Після 3 тижнів прийому екстракту екскреція креатиніну і швидкість клубочкової фільтрації знизилась в 1,43 рази ($p < 0,05$) і в 2,8 рази ($p < 0,05$), відповідно ІК. Через 3 тижні екстракт Прунофен знижував рівень сечової кислоти в сечі в 1,4 рази ($p < 0,05$) і стимулював зростання показників екскреції сечової кислоти в 1,6 рази ($p < 0,05$) суттєво відносно ІК. Ці результати показали сильну здатність екстракту Прунофен виводити креатинін і сечову кислоту з організму (патогенні продукти метаболізму азоту і пурину, відповідно), урикозурічну дію і дозволили рекомендувати екстракт Прунофен для лікування подагри.

Досліджували також вплив екстракту Прунофен на реологічні властивості крові, оскільки виведення зайвої рідини з організму може спричинити збільшення щільності крові та ризик тромбозу.

Досліджено вплив екстракту Прунофен на реологічні властивості крові, та встановлено, що він викликав збільшення часу згортання крові на 14 % ($p < 0,05$) щодо ІК (табл. 4.16). Це вказує на можливі антиагрегаційні або антикоагулянтні властивості екстракту.

Таблиця 4.16

Вплив екстракту Прунофен на реологічні властивості крові щурів

Показники	ІК	Прунофен, 5 мл/кг
Час згортання, сек	69,67±8,04	79,33±7,23
Гемолітична дія, %	-	14,0

Примітка: * - похибка, ймовірно, пов'язана з даними інтактного контролю, $p < 0,05$;

Була встановлена здатність екстракту Прунофен запобігати пошкодженню мембран клітин еритроцитів і значно знижувати ступінь гемолізу еритроцитів в 1,5 рази ($p < 0,05$) в порівнянні з ІК (табл. 4.17).

Таблиця 4.17

Вплив екстракту Прунофен на стан мембран клітин щурів на моделі спонтанних еритроцитів

Показники	ІК	Прунофен, 5 мл/кг
Ступінь гемолізу еритроцитів, %	10,36±0,74	6,93±0,72*
Мембраностабілізуюча активність, %	-	33

Примітка: * - похибка, ймовірно, пов'язана з даними інтактного контролю, $p < 0,05$;

Мембраностабілізуюча активність екстракту Прунофен складала 33 % ($p < 0,05$) (табл. 4.18) і дозволяла прогнозувати його цитопротекторні, антиоксидантні та метаболічні властивості, і позитивний вплив на функцію клітин організму (наприклад, клітин крові, нирок, печінки та ін.). Ці властивості можуть бути пояснені тим фактом, що Прунофен містить значну кількість фенольних сполук, наприклад, гідроксикоричні кислоти з доведеною антиоксидантною і цитопротекторною активністю [21]. Таким чином, результати фармакологічних досліджень вказують на діуретичну, урикозуричну, мембраностабілізуючу дію екстракту Прунофен і позитивний вплив на реологічні властивості крові, що підтверджує перспективи створення нового препарату з урикозуричним, мембраностабілізуючим ефектом.

4.4.3 Вивчення гепатопротекторної дії Сливи домашньої плодів полісахаридного комплексу (СДППК)

Екстракт «Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс» був переданий на кафедру біохімії НФаУ, де вивчалась його активність аспірантом Башар Джабар Алі Сахлані під керівництвом доцента І. В. Сенюка.

Гепатопротекторну дію було вивчено для субстанції СДППК на моделі алкогольного гепатиту, що супроводжувався розвитком цитолітичного синдрому. Експериментальний розвиток цитолітичного синдрому на моделі алкогольного

гепатиту виявляється через підвищення рівня амінотрансфераз та ураження гепатоцитів, яке відображалось у підвищенні активності ЛФ (табл. 4.19). Підвищення активності γ -ГТ за умов модельної патології є не стільки маркером ушкодження клітин печінки, а й зумовлене збільшенням її синтезу клітинами печінки внаслідок регулярного введення алкоголю тваринам (табл. 4.19). Досліджуваний СДППК достовірно знижував активність гепатоспецифічних ферментів у дозі 200 мг/кг маси тварин [45]. Він знижував активність АлАТ, АсАТ та ЛФ на 18,0, 19,3 та 10 % відповідно, дещо поступаючись препарату порівняння Силібору (табл. 4.18).

Таблиця 4.18

Вплив Сливи домашньої плодів полісахаридного комплексу на активність гепатоспецифічних ферментів у сироватці крові на тлі алкогольного гепатиту ($M \pm m$, $n=10$)

Експериментальна група	АлАТ, мккат/л	АсАТ, мккат/л	ЛФ, мккат/л	γ -ГТ, мккат/л
Контрольна група	0,56 $\pm$ 0,10	1,41 $\pm$ 0,12	3,68 $\pm$ 0,21	2,56 $\pm$ 0,19
Контрольна патологія (КП)	1,17 $\pm$ 0,15*	2,54 $\pm$ 0,26*	6,21 $\pm$ 0,39*	5,97 $\pm$ 0,42*
КП+Силібор, 25 мг/кг	0,85 $\pm$ 0,09*/**	1,93 $\pm$ 0,14*/**	5,08 $\pm$ 0,18*/**	4,93 $\pm$ 0,24*/**
КП+ СДППК, 100 мг/кг	1,15 $\pm$ 0,09*	2,48 $\pm$ 0,15*	6,14 $\pm$ 0,29*	5,83 $\pm$ 0,37*
КП+ СДППК, 200 мг/кг	0,96 $\pm$ 0,07*/**	2,05 $\pm$ 0,15*/**	5,61 $\pm$ 0,18*/**	5,30 $\pm$ 0,30*
СДППК, 100 мг/кг	0,59 $\pm$ 0,06	1,52 $\pm$ 0,14	3,42 $\pm$ 0,28	2,31 $\pm$ 0,16
СДППК, 200 мг/кг	0,68 $\pm$ 0,07	1,29 $\pm$ 0,09	3,53 $\pm$ 0,19	2,68 $\pm$ 0,13

Зниження активності гепатоспецифічних ферментів свідчить про відновлення цілісності плазматичних мембран гепатоцитів, що може бути зумовлене гальмуванням процесів перекисного окиснення ліпідів, яке посилюється при введенні етанолу [14]. Зниження активності лужної фосфатази (ЛФ) у разі введення СДППК у дозі 200 мг/кг свідчить про покращення роботи гепатоцитів печінки щурів. Така дія екстракту пов'язана з вмістом у ньому фенольних сполук та органічних кислот – бурштинової і яблучної. Така активність є важливою у гіпохолестеролемічній дії екстрактів сливи, оскільки з жовчю посилюється

виведення холестеролу з організму, а печінка поглинає надлишковий холестерол із крові та використовує його на біосинтез жовчних кислот [5]. Для діагностики функціонального стану печінки велике значення має визначення показників білкового обміну, зокрема загального рівня білка в сироватці, а також вміст кінцевого продукту обміну білків – сечовини. Отримані дані представлено у табл. 4.20. Розвиток алкогольного ураження печінки супроводжувався достовірним, майже у 2 рази, підвищенням вмісту сечовини, що свідчить про посилення катаболічних процесів, пов'язаних із загальною токсичною дією етанолу на організм. Досліджуваний екстракт достовірно знижував вміст сечовини лише у максимальній дозі – 200 мг/кг маси тварин. Отримані результати можуть бути пов'язані з пригніченням токсичної дії етанолу на організм у цілому, що опосередковується через антиоксидантні властивості фенольних сполук досліджуваного екстракту [18]. У тварин з експериментальним ураженням печінки також спостерігали зниження рівня загального білка в сироватці крові (табл. 4.19). Введення СДППК в обох досліджуваних дозах не мав виразного впливу на цей показник.

Таблиця 4.19

**Вміст загального білка та сечовини в сироватці крові щурів на тлі
алкогольного гепатиту ($M \pm m$, $n=10$).**

Експериментальна група	Загальний білок, г/л	Сечовина, ммоль/л
Контрольна група	69,31±1,06	6,28±0,41
Контрольна патологія (КП)	61,75±1,64*	11,02±0,64
КП+Силібор 25 мг/кг	65,95±0,93*/**	8,11±0,33*/**
КП+ СДППК 100 мг/кг	59,89±2,65*	10,87±0,77*
КП+ СДППК 200 мг/кг	63,31±2,51*	9,40±0,28*/**
СДППК 100 мг/кг	70,03±2,14	6,03±0,71
СДППК 200 мг/кг	69,44±1,09	6,56±0,38

Примітки: *– відмінності вірогідні відносно контрольної групи ($p \leq 0,05$);

**– відмінності вірогідні відносно контрольної патології ($p \leq 0,05$).

Розвиток контрольної патології супроводжувався ушкодженням мембран клітин печінки, порушенням функціонування гепатобіліарної системи та посиленням катаболічних процесів. Екстракт СДППК продемонстрував виразний

гепатопротекторний ефект, який був доведений зниженням активності гепатоспецифічних ферментів та як наслідок стабілізації функціонування гепатоцитів печінки.

Також екстракт проявляв нормалізуючу дію на катаболічні процеси за умов алкогольної інтоксикації. Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс у дозі 200 мг/кг продемонстрував гепатопротекторну активність, проте не мав виразного впливу на функціональний стан печінки.

4.4.4 Вивчення проносної дії СДППК

Вивчення проносної дії Сливи домашньої плодів полісахаридного комплексу проводили за здатністю тест-зразків впливати на перистальтику кишечника мишей. Здатність підвищувати скорочення кишечника оцінювали за швидкістю проходження контрастної маси по кишечнику мишей за методом Stickney J. S. зі співав. [168]. Методика наведена в розділі 2.3 цієї дисертації.

Результати визначення проносної дії СДППК з плодів сливи домашньої наведені у табл. 4.20.

Таблиця 4.20

Вплив Сливи домашньої плодів полісахаридного комплексу на рухову активність кишечника тварин

Групи тварин	n	Доза	Д, % ($M \pm m$)	% від інтакту
Інтактний контроль	6	—	69,84±1,29	—
Піколакс	6	0,3 мл/кг	82,12±0,59*	17,6
СДППК	6	25 мг/кг	81,32±3,20*	16,4
СДППК	6	50 мг/кг	85,45±0,69*/**	22
СДППК	6	75 мг/кг *	83,58±1,87	20

Примітки: * - відмінності статистично значущі щодо значень інтактного контролю (тест Манна-Уїтні), $p < 0,05$;

** - відмінності статистично значущі щодо значень препарату порівняння піколаксу (тест Мана-Уїтні), $p < 0,05$; n - кількість тварин у групі; Д % - довжини кишечника, що був заповнений контрастною масою.

До складу Піколаксу входить активний компонент пікосульфат натрію, який метаболізується під впливом бактеріальних сульфотрансфераз у товстому кишечнику з утворенням активної форми – дифенолу [21]. Препарат впливає на рецептори слизової оболонки товстого кишечника, внаслідок чого посилюється перистальтика і просування калових мас по товстому кишечнику. Після перорального застосування препарат практично не абсорбується в системний кровотік. Найбільша активність спостерігалася СДППК в дозі 50 мг/кг маси тварин. В інтервалі досліджуваних доз СДППК посилював скорочення кишечника на 16-22 % не поступаючись препарату порівняння Піколаксу, а у дозі 50 мг/кг перевищував його.

Таким чином, Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс, має виражену проносну дію і може бути використаний як субстанція при створенні лікарських засобів проносної дії у різних лікарських формах.

Висновки до розділу 4

1. Вперше розроблена технологія комплексної переробки плодів сливи домашньої, отримано три субстанції. Технологія була апробована в умовах ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»». Для СДППК та рідкого екстракту Прунофен було проведено вивчення фармакологічної активності.

2. Отримано пектиновий комплекс з плодів сливи домашньої та проведено дослідження його складу: макро- та мікроелементів, амінокислот, нейтральних цукрів, сорбітолу та гліцеролу, органічних кислот.

3. Досліджено елементний склад полісахаридних субстанцій у порівнянні з плодами сливи. Встановлено домінантні елементи (K, Si, Mg та Na) в екстрактах та відповідність вимогам ДФУ за вмістом важких металів.

4. Методом ГХ-МС вивчено вміст та склад нейтральних цукрів, сорбітолу та гліцеролу в отриманих екстрактах. Встановлено що найбільший вміст сорбітолу і гліцеролу був у СДППК – $10,47 \pm 0,05$ % та $3,29 \pm 0,05$ % відповідно.

5. Досліджено склад та вміст амінокислот у пектиновому комплексі і СДППК. Встановлено, що вільних і зв'язаних амінокислот було більше у СДППК, ніж у пектиновому комплексі – на 94 % і на 16,7 %, відповідно.

6. Вміст органічних кислот було вивчено в трьох субстанціях, отриманих з плодів сливи домашньої: пектиновому комплексі, СДППК та рідкому екстракті Прунофен. Встановлено наявність 7 органічних кислот, найбільший вміст серед яких мала яблучна кислота в усіх субстанціях та бурштинова кислота у СДППК.

7. Методом ВЕРХ в екстракті Прунофен було встановлено наявність трьох гідроксикоричних кислот, галової кислоти та рутину. У найбільшій кількості у екстракті містилася неоохлорогенова кислота (2320 ± 42 мг/кг).

8. В екстракті Прунофен було ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 8 летких сполук з найбільшим вмістом 5-(гідроксиметил)-2-фуральдегіду, 1,2,3,5-циклогексантиролу та мальтолу.

9. За результатами проведених досліджень були розроблені МКЯ на екстракт рідкий «Прунофен» та «Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс». Для препарату Прунофен було проведено дослідження гострої токсичності, вивчено діуретичну дію на моделі спонтанного і форсованого діурезу, а також мембраностабілізуючу та урикозурічну. Для СДППК було досліджено проносну і гепатопротекторну активність.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Determination of phenolic compounds in *Prunus domestica* fruits extract and its pharmacological activity / Mohammed S. B, Upyr T. V., Shapoval O. M., Lenchyk L. V., Georgiev K. *Journal of IMAB*. 2019. № 25 (2). P. 2589-2594.

2. Мохамед Ш. Б., Упир Т. В., Ленчик Л. В. Вивчення летких сполук екстракту «Прунофен» з плодів сливи. *Науково-практична конференція з*

міжнародною участю “Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку”, присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р. Х.: НФаУ, 2019. С. 232-233.

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

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

5. Сенюк І. В., Башар Джабар Аль Сахлані, Мохаммед Ш. Б. Вивчення гепатопротекторної дії екстрактів із плодів сливи домашньої *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 4. С. 57-61.

6. Анализ субстанции из плодов *Prunus domestica* и перспективы создания детской лекарственной формы гепатопротекторного действия на ее основе / Мохаммед Шахм Б., Ленчик Л. В., Крикливая И. А., Упыр Д. В., Саидов Н. Б., Наврузова Г. Ф. *Наука и инновация (научный журнал)*. 2020. №1. С. 71-75.

7. Вивчення мінерального складу субстанцій отриманих з плодів *Prunus domestica* / Шахм Б. Мохамед, Упир Т. В., Ленчик Л. В., Комісаренко М. А. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. Шупика*. 2019. Вип. 33. С. 12-18.

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

9. Комісаренко А. М., Упир Т. В., Сенюк І. В., Башар Джабар Алі-Сахлані, Мохаммед Шахм Басім, Ленчик Л. В. Спосіб одержання водорозчинного

полісахаридного комплексу з послаблюючою активністю з плодів сливи домашньої: пат. винахід 118602 Україна. № а 2017 02117; заявл. 06.03.2017; опубл. 11.02.2019, Бюл. № 3.

10. Study of amino acid composition of *Prunus domestica* fruits pectin complex / Larysa Lenchyk, Taras Upyr, Shahm Mohammed, Mykola Komisarenko. *International Journal of Pharmacy and Chemistry. Special Issue: Drug Research: Current Insights for Search, Development and Analysis*. 2020. Vol. 6, № 5. P. 60-64.

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

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено експериментальне вирішення наукової задачі, що полягає у проведенні фармакогностичного дослідження плодів сливи домашньої свіжих, одержанні лікарських рослинних засобів на їх основі, а також розробці параметрів стандартизації лікарської рослинної сировини та лікарських рослинних засобів із антиагрегаційною, урикозуричною, мембраностабілізуючою, проносною та гератопротекторною активністю.

1. Проведено дослідження якісного складу та кількісного вмісту БАР у плодах сливи домашньої свіжих. Проведено порівняльний аналіз вмісту біологічно активних речовин у плодах шести сортів сливи домашньої, що найбільше культивуються в Україні. Встановлено, що найбільш перспективним є дослідження плодів сливи домашньої сорту Стенлей.

2. У плодах сливи домашньої було виявлено 13 макро- та мікроелементів. Не виявлено: арсен, кадмій, кобальт, ртуть, свинець та молібден. Ідентифіковано 15 вільних амінокислот і 16 зв'язаних амінокислот з найбільшим вмістом серед вільних амінокислот: L-аланіну ($0,81 \pm 0,01$ мкг/мг) та L-серину ($0,51 \pm 0,01$ мкг/мг); серед зв'язаних амінокислот найбільшим вмістом відрізнялися L-аспарагінова ($8,05 \pm 0,05$ мкг/мг), L-глутамінова ($2,57 \pm 0,01$ мкг/мг), L-лейцин ($1,00 \pm 0,01$ мкг/мг) та L-валіну ($0,96 \pm 0,01$ мкг/мг). У плодах сливи домашньої було ідентифіковано 7 органічних кислот. Кислоту фумарову вперше ідентифікували у плодах сливи сорту Стенлей, заготовлених в Україні. У досліджуваній сировині вивчено вміст фенольних сполук методом ПХ, ТШХ, спектрофотометрії та ВЕРХ. Встановлено наявність 5 гідроксикоричних, 2 ароматичні кислоти, 3 флавоноїди. Синапова кислоти вперше встановлена у плодах сливи домашньої сорту Стенлей, заготовлених в Україні.

3. Визначено числові показники у 5 серіях плодів сливи домашньої свіжих. Визначено втрату в масі при висушуванні, золу загальну та золу нерозчинну в хлористоводневій кислоті. На основі порівняльного аналізу показників якості

плодів сливи домашньої за ДСТУ «Слива і алича великоплідна свіжі. Технічні умови» та власних досліджень було розроблено проєкт МКЯ на ЛРС «Сливи домашньої плоди свіжі» за вимогами, що регламентуються ДФУ.

4. Розроблена технологія комплексної переробки плодів сливи домашньої та отримано три субстанції. Для СДППК та рідкому екстракті Прунофен було проведено вивчення фармакологічної активності. Технологія була апробована в умовах ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»». Новизну досліджень підтверджено патентом України на винахід № 118602 «Спосіб одержання водорозчинного полісахаридного комплексу з послаблюючою активністю з плодів сливи домашньої».

5. Досліджено елементний склад отриманих полісахаридних субстанцій у порівнянні з плодами сливи. Встановлено домінантні елементи в екстрактах та відповідність вимогам ДФУ за вмістом важких металів. Методом ГХ-МС вивчено вміст та склад нейтральних цукрів, сорбітолу та гліцеролу в отриманих екстрактах. Встановлено, що найбільший вміст сорбітолу і гліцеролу був у СДППК – $10,47 \pm 0,05$ % та $3,29 \pm 0,05$ % відповідно.

6. Досліджено склад та вміст амінокислот у пектиновому комплексі і СДППК. Встановлено, що вільних і зв'язаних амінокислот було більше у СДППК, ніж у Пектиновому комплексі, на 94 % і 16,7 % відповідно.

7. Вміст органічних кислот було вивчено в трьох субстанціях отриманих з плодів сливи домашньої: пектиновому комплексі, СДППК та рідкому екстракті Прунофен. Встановлено наявність 7 органічних кислот, найбільший вміст серед яких мала яблучна кислота в усіх субстанціях, та бурштинова у СДППК.

8. В екстракті Прунофен було встановлено наявність трьох гідроксикоричних кислот, галової кислоти та рутину. У найбільшій кількості містилася неохлорогенова кислота (2320 ± 42 мг/кг). В екстракті Прунофен було ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 8 летких сполук.

9. За результатами проведених досліджень були розроблені проєкти МКЯ на екстракт рідкий «Прунофен» та «Сливи домашньої плодів полісахаридний

комплекс». Проведено дослідження гострої токсичності, вивчено діуретичну дію на моделі спонтанного і форсованого діурезу, мембраностабілізуючу та урикозуричну для екстракту Прунофен. Для СДППК було встановлено проносну і гепатопротекторну активність.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Анализ субстанции из плодов *Prunus domestica* и перспективы создания детской лекарственной формы гепатопротекторного действия на ее основе / Б. Мохаммед Шахм и др. *Наука и инновация*. 2020. № 1. С. 71–75.
2. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / под ред. чл. кор. НАН Украины В. П. Георгиевского. Харьков : Изд во «НТМТ», 2011. Т. 2. 474 с.
3. Атлас з анатомії рослин (рослинна клітина, тканини, органи): навч. посіб. для студентів вищ. навч. закладів / А. Г. Сербін та ін. Харків : Колорит, 2006. 86 с.
4. Богданов Р. Е. Биологические особенности и хозяйственная ценность сортов и форм сливы для производства и селекции : дис. ... канд. с.-х.наук: 06.01.05 / МГАУ. Мичуринск, 2003. 175 с.
5. Вивчення мінерального складу субстанцій отриманих з плодів *Prunus domestica* / Шахм Б. Мохамед, Т. В. Упир, Л. В. Ленчик, М. А. Комісаренко *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. Шупика*. 2019. Вип. 33. С. 12–18.
6. Витковский В. Л. Плодовые растения мира. Санкт-Петербург : Лань, 2003. – 592 с.
7. Влияние электроактивированных водных растворов на морфофункциональные показатели поджелудочной железы и почек крыс с экспериментальной моделью сахарного диабета / А. П. Гайдарова и др. *Вестник Новосибирского государственного педагогического университета*. 2012. № 4. С. 53–61.
8. Гоженко А. І., Куксань Н. І., Погоріла І. В. Функціональний стан нирок при хронічній блокаді синтезу оксиду азоту в щурів. *Медична хімія*. 2002. Т. 4, № 4. С. 65–68.

9. ГОСТ 30306–95. Масло из плодовых косточек и орехов миндаля. [Действующий с 2001–01–01]. Изд. офиц. г. Киев : Госстандарт Украины, 2000. – 14 с.
10. Государственная Фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. 11–е изд. Москва : Медицина, 1989. 400 с.
11. Деражня сад. Саджанці і підщепний матеріал. Амерс. URL: http://derazhnya-sad.com.ua/index.php?route=product/product&product_id=155 (дата звернення: 06.03.2021).
12. Деренько С. А., Супрунов Н. И. К технологии получения пектиновых веществ из плодов *Sorbus aucuparia*. *Химия природных соединений*. 1979. № 6. С. 777–780.
13. Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.
14. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с
15. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–ге вид., 1 допов. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.
16. Державний реєстр сортів придатних для поширення в Україні на 2018 рік / Міністерство аграрної політики та продовольства в Україні. Київ, 2018. 447 с.
17. ДСТУ ЕЭК ООН DDF–07:2007. Чорнослив. Настанови щодо постачання і контролювання якості (ЕЭК ООН DDF–07:2003, IDT) [Чинний від 2008–10–01 2005–04–01]. Вид. офіц. Київ : Держспоживстандарт України, 2007. 14 с.

18. Дубровская О. Ю. Биохимический состав плодов сортов и форм сливы и выделение лучших генотипов для селекционного использования и переработки : дис. ... канд. сельхоз. наук: 06.01.05. Мичуринск, 2015. 130 с.
19. Експериментальне вивчення нових противиразкових препаратів Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / Л. В. Яковлева та ін. ; за ред. член–кор. АМН України О. В. Стефанова. Київ, 2001. С. 321–333.
20. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / В. М. Коваленко та ін. ; за ред. чл.–кор. АМН України О. В. Стефанова. Київ : Авіцена, 2001. С. 74–97.
21. Жуковский П. М. Культурные растения и их сородичи. Киев : Колос, 1971. 751 с.
22. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария С. А. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев : Вища шк., 1983. 552 с.
23. Камышников В.С. Справочник по клинико–биохимической лабораторной диагностике. Минск : «Беларусь», 2000. С. 268–281.
24. Кисличенко В. С. Новосел О. М., Адель Ахмад Халіль Абуюсеф. Вивчення полісахаридів плодово–ягідних рослин – яблуні домашньої і винограду культурного. *Фізіологічно активні речовини*. 2001. № 1 (31). С. 70–73.
25. Клінічна біохімія : навч. посіб. для студентів вищ. фармац. навч. закл. І фармац. ф–тів вищ. мед. навч. закладів III–IV рівнів акредитації /за ред. О. П. Тимошенко. Київ. : ВД „Професіонал”, 2003. С. 235–237.
26. Клінічні лабораторні методи дослідження : навч. посіб. / І. А. Зупанець та ін. Харків : НФаУ ; Золоті сторінки, 2001. 178 с.
27. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико–биологических исследованиях с использованием Excel. Київ : Морион, 2001. 320 с.

28. Ласкавий В. В. Господарсько–біологічна оцінка нових сортів сливи (*Prunus domestica* L.) селекції інституту помології ім. Л.П. Симиренка. *Садівництво*. 2017. Вип. 72. С. 5–11.
29. Лікарські рослини. Енциклопедичний довідник / під ред. А. М. Гродзинського. Київ : «Українська енциклопедія» ім. Бажана, 1992. С. 49.
30. Лукієнко О. В., Соколова А. Є, Горбань О. М. Анализ отечественного фармацевтического рынка препаратов на основе сливы. *Фітотерапія*. 2012. Часопис. № 1. С. 86–89.
31. Мохамед Ш. Б., Упир Т. В., Ленчик Л. В. Вивчення летких сполук екстракту «Прунофен» з плодів сливи. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.–практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 20–й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19–20 верес. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 232–233.
32. Мохаммед Шахм Б., Ленчик Л. В., Саидов Н. Б. Плоды сливы домашней – перспективное сырье для создания лекарственных средств. *Наука и инновации. Сер. естественных наук*. 2017. № 4. С. 42–48.
33. Мохаммед Шахм Басим, Ленчик Л. В., Упир Т. В. Визначення вмісту фенольних сполук в субстанціях одержаних з плодів *Prunus domestica*. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали III Міжнар. наук.–практ. internet–конф., м. Харків, 26–28 листоп. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 152–153.
34. Мохаммед Шахм Басим, Упир Т. В. Вивчення мікроелементного складу плодів *Prunus domestica*. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали III міжнар. наук.–практ. конф., м. Харків, 14–15 берез. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 181.
35. Мохаммед Шахм Бассім, Упир Т. В., Ленчик Л. В. Стандартизація рідкого екстракту з плодів сливи домашньої. *PLANTA+*. *Досягнення та перспективи* : матеріали Міжнар. наук.–практ. конф., присвяч. пам'яті д-ра хім. наук, проф.

Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження), м. Київ, 20–21 лют. 2020 р. Київ : ПАЛИВОДА А. В., 2020. С. 120–121.

36. Назаренко М. Е., Штрыголь С. Ю., Слободин В. Б. Нефропротекторный эффект билобила при экспериментальной острой почечной недостаточности. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2003. Т. 66, № 6. С. 29–31.
37. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов рук. по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Москва : Ремедиум, 2000. С. 349–354.
38. Подробное описание сорта сливы Стенлей. URL: <http://profermu.com/sad/derevia/sliva/sorta-s/stenlej.html> (дата звернення: 6.08.2019).
39. Помологія. Т. 4. Слива, вишня, черешня / наук. редактор В. В. Павлюк. Киев : Урожай, 2004. С.7–8.
40. Пузак О. А., Упир Л. В., Кисличенко В. С. Дослідження вуглеводів листя абрикоса звичайного (*Armeniaca vulgaris* Lam.). *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2009. Т. 4, № 2. С. 30–34.
41. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica. Москва : МедиаСфера, 2006. 312 с.
42. Регулакс (Regulax). URL: <https://compendium.com.ua/dec/267091/?term=РЕГУЛАКС> (дата звернення: 6.08.2020).
43. Савельев Н. И. Практические результаты совершенствования сортимента плодовых культур на генетической основе для получения функционального назначения. *Достижение науки и техники АПК*. 2010. № 8. С. 3–4.
44. Сенюк І. В., Башар Джабар Аль–Сахлані, Ленчик Л. В. Вивчення послаблюючої активності різних субстанцій, одержаних з плодів сливи домашньої *Prunus domestica*. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 5 (52). С. 21–25

45. Сенюк І. В., Башар Джабар Аль Сахлані, Мохаммед Ш. Б. Вивчення гепатопротекторної дії екстрактів із плодів сливи домашньої *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 4. С. 57–61.
46. Слива / А. М. Журавель та ін. Кишинэу : А.С.М., 2007. 236 с.
47. Слива Анна Шпет (саджанці). Florium. UA. URL: <https://florium.ua/ua/tov-sliva-anna-shpet/> (дата обращения: 06.03.2021).
48. Слива домашня Ренклод Альтана (середня). Proxima, Декоративні рослини. URL: <https://proxima.net.ua/sliva-domashnjaja-prunus-domestica-renkloda-althana.html> (дата обращения: 06.03.2021).
49. Слива сорта Блюфри – американский крупномер. Интернет-журнал по ландшафтному дизайну. URL: <https://diz-cafe.com/sad-ogorod/sliva-blyufri-opisanie-sorta.html> (дата обращения: 06.03.2021).
50. Сливы. MarProCo. URL: <http://www.chile.ru/fruits/plums> (дата обращения: 05.01.2020).
51. Смирнов А. В., Нестерова О. Б., Голубев Р. В. Янтарная кислота и ее применение в медицине. Часть II. Применение янтарной кислоты в медицине. *Нефрология*. 2014. Т. 18, № 4. С.12–24.
52. Сорт сливы Стенли (Стенлей). URL: <http://sortoved.ru/sliva/sort-slivy-stenli-stenlej.html> (дата звернення: 06.09.2020).
53. Сорт Угорка донецька (слива, Слива домашня). Аграрії разом. URL: <https://agrarii-razom.com.ua/culture-variety/ugorka-donecka> (дата звернення: 06.03.2021).
54. Спосіб одержання водорозчинного полісахаридного комплексу з послаблюючою активністю з плодів сливи домашньої : пат. винахід 118602 Україна / Комісаренко А. М., Упир Т. В., Сенюк І. В., Башар Джабар Алі-Сахлані, Мохаммед Шахм Басім, Ленчик Л. В. № а 201702117 ; заявл. 06.03.2017 ; опубл. 11.02.2019, Бюл. № 3.
55. Спосіб одержання засобу з послаблюючою активністю з плодів сливи домашньої : пат. на кор. мод. № 118457 Україна / Комісаренко А. М., Упир

- Т. В., Сенюк І. В., Башар Аль Джабар Алі Сахлані, Мохаммед Шахм Басім, Ленчик Л. В. № u 2017 01747 ; заявл. 23.02.2017 ; опубл. 10.08.17, Бюл. № 15. 4 с.
56. Спосіб одержання пектину яблучного: пат. № 75734 Україна / Новосел О.М., Кисличенко В.С., Карамавров В.С. заявл. 11.05. 2004; опубл. 15.05.2006, Бюл. №5.
 57. Фармакогнозія / В. С. Кисличенко та ін. ; під ред. В. С. Кисличенко. Харків : «Золоті сторінки», 2015. 736 с.
 58. Фармакогнозія з основами біохімії рослин : піручник / за ред. проф. В. М. Ковальова. Харків : "Прапор", 2000. 703 с.
 59. Фармакогнозія. Атлас / под ред. Н. И. Гринкевич, Е. Я. Ладыгиной. Москва : Медицина, 1989. 512 с.
 60. Фармаком: Кислота бурштинова. URL: <https://farmakom.ua/products/yantarnaya-kislota> (дата звернення: 04.03.2021).
 61. Фармацевтична енциклопедія / за ред. В. П. Черних. 3–тє вид., переробл. і допов. Київ : МОРІОН, 2016. 1952 с.
 62. Флора СССР : в 30–ти т. / под ред. акад. В. Л. Комарова. Москва ; Ленинград : Изд–во АН СССР, 1941. Т. X. 675 с.
 63. Функціональна біохімія / А. Л. Загайко та ін. Харків : НФаУ, 2010. 220 с.
 64. Черненко В. В. Метаболические эффекты пищевых волокон. *Частная гастроэнтерология*. 2005. № 1 (21). С. 59–64.
 65. Шингисов А. У., Кантуреева Г. О., Еркебаева С. У. Исследование минерального состава и физико–химических показателей сливы сорта «Венгерка домашняя» культивируемой в южных регионах Казахстана. *Успехи современного естествознания*. 2014. № 12. С. 141–146.
 66. Шумская Н. И., Карамзина Н. Н. К оценке функционального состояния почек у крыс при отравлении промышленными веществами. *Токсикология новых промышленных химических веществ*. Ленинград : Медицина, 1966. В. 8. С. 14–27.

67. Янковский Н. К. Лекция № 18. Сцепление и рекомбинация. Мутации: роль в эволюции и индивидуальном развитии. URL: <https://works.doklad.ru/view/WboeTs2as4g.html> (дата звернения: 10.03.2021).
68. A new bipyrrole and some phenolic constituents in prunes (*Prunus domestica* L.) and their oxygen radical absorbance capacity (ORAC) / S. Kayano et al. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2004. № 68. P. 942–944.
69. A review on wound healing activity of dietary flavonoid naringenin / Ankita Tripathi et al. *International Research Journal of Pharmacy*. 2020. Vol. 11, № 11. P. 25–35.
70. Absciscic acid related compounds and lignans in prunes (*Prunus domestica* L.) and their oxygen radical absorbance capacity (ORAC) / H. Kikuzaki et al. *Agric. Food Chem.* 2004 № 52. P. 344–349/
71. An up-to-date review of rutin and its biological and pharmacological activities / Al-Dhabi N. et al. *EXCLI Journal*. 2015. № 14. P. 59–63.
72. Anon T. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg :Council of European, 1986. № 123. 51 p.
73. Antioxidant activity and selected nutritional values of plums (*Prunus domestica* L.) typical of the White Carpathian Mountains / O. Rop et al. *Sci. Hortic.* 2009. № 122. P. 545–549.
74. Antioxidant activity of polyphenolics in diets. Rate constants of reactions of chlorogenic acid and caffeic acid with reactive species of oxygen and nitrogen / Y. Kono et al. *Biochim. Biophys. Acta*. 1997. № 1335. P. 335–342.
75. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California / M. I. Gil et al. *J. Agric. Food Chem.* 2002. № 50. P. 4976–4982.
76. Antioxidant properties of prunes (*Prunus domestica* L) and their constituents / S. Kayano et al. *BioFactors*. 2004. № 21. P. 309–313.

77. Arakawa O. Effect of ultraviolet light on anthocyanin synthesis in light colored sweet cherry cv. Nato Nishiki. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 1993. № 62. P. 543–546.
78. Bhutani V. P., Joshi V. K., Plum. Fruit science and technology, production, composition, storage and processing / eds. D. K. Salunkhe, S. S. Kadam. Marcel Dekker, Inc, New York, 1995. P. 203–241.
79. Block G., Patterson B., Subar A. Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer*. 1992. № 18 (1). P. 1–29.
80. Bourn D., Prescott J. A comparison of the nutritional value, sensory qualities, and food safety of organically and conventionally produced foods. *Critical Reviews. Food Science and Nutrition*. 2002. № 42. P. 1–34.
81. British Pharmaceutical Codex. URL: <https://wellcomecollection.org/works/mfze4eb8/items?canvas=13>: (Date of access: 12.12.2018).
82. Changes in physicochemical and nutritive parameters and bioactive compounds during development and on–tree ripening of eight plum cultivars: a comparative study / H. M. Díaz–Mula et al. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2008. № 88. P. 2499–2507.
83. Characteristic of prunes produced from plum cultivars developed at fruit research institute, Čačak / O.Mitrović et al. *Acta Hortic*. 2013. № 981. P. 631–636.
84. Chemical and biochemical components in fruit and their role in the human health / S. Nicolae et al. *Fruit growing research*. 2008. Vol. 24. P. 138–143.
85. Chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry at different ripening stages / M. Serrano et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005. № 53. P. 2741–2745.
86. Chen L., Hrazdina G. Structural aspects of anthocyanin–flavonoid complex formation in plant color. *Phytochemistry*. 1981. № 20. P. 297–303.

87. Chlorogenic acid, a polyphenol from *Prunus domestica* (Mirabelle), with coupled anxiolytic and antioxidant effects / J. Bouayed et al. *J Neurol Sci.* 2007. № 262 (1–2). P. 77–84.
88. Chopra R. N., Nayar S. C., Chopra I. C. Glossary of Indian Medical Plants. New Delhi, 1956. 205 p.
89. Chun O. K., Kim D. O. Consideration on equivalent chemicals in total phenolic assay of chlorogenic acid-rich plums. *Food Res. Int.* 2004. № 37. P. 337–342.
90. Combining pressurized liquids with ultrasound to improve the extraction of phenolic compounds from pomegranate peel (*Punica granatum* L.) / B. R. Sumere et al. *Ultrasonics sonochemistry.* 2018. Vol. 48. P. 151–162.
91. Consumption of prunes as a source of dietary fiber in men with mild hypercholesterolemia / L. F. Tinker et al. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991. № 53. P. 1259–1265.
92. Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums / O. K. Chun et al. *J. Agric. Food Chem.* 2003. № 51. P. 7240–7245.
93. Court W. HPLC. reverse phase of naturally occurring phenolic compounds. *J. Chromatogr.* 1977. № 130. P. 287–291.
94. Crane M. B. The genetics of garden plants. Macmillan & Co. LTD, 1947. 233 p.
95. Dauchet L., Dallongeville J. Fruit and vegetables and cardiovascular disease: epidemiological evidence from the non-Western world. *Brit J Nutr.* 2008. № 99 (02). P. 219–220/
96. Determination of phenolic compounds in *Prunus domestica* fruits extract and its pharmacological activity / S. B. Mohammed et al. *Journal of IMAB.* 2019. № 25 (2). P. 2589–2594.
97. Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study / X. L. Gu et al. *Journal of Food Composition and Analysis.* 2004. № 14. P. 407–422/
98. Dihydroflavonols from *Prunus domestica* / V. S. Parmar et al. *Phytochemistry.* 1992. № 31. P. 2185–2216.

99. Donovan J. L., Meyer A. S., Waterhouse A. L. Phenolic composition and antioxidant activity of prunes and prune juice (*Prunus domestica*). *J. Agric. Food Chem.* 1998. № 46. P. 1247–1252.
100. Dried fruits, excellent in vitro and in vivo antioxidant / J. A. Vinson et al. *J. Am. Col. Nutr.* 2005. № 24 (1). P. 44–50.
101. Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action / M. Ashraful Alam et al. *Advances in Nutrition*. 2014. Vol. 5, Issue 4. P. 404–417.
102. Effect of regulated deficit irrigation and crop load on the antioxidant compounds of peaches / B. Buendía et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008. № 56. P. 3601–3608.
103. Fang N., Yu S. Prior R. L. LC/MS/MS characterization of phenolic constituents in dried plums. *J. Agric. Food Chem.* 2002. № 50. P. 3579–3585.
104. Flavonol glycosides of plums of the species *Prunus domestica* L. and *Prunus salicina* Lindley / W. Henning et al. *Unters. Forch.* 1980. № 171. P. 111–118.
105. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2015. URL: <http://faostat3.fao.org/> (Date of access: 18.10.2019).
106. Formation of Amadori compounds in dehydrated fruits / M. L. Sanz et al. *Agric. Food Chem.* 2001. № 49. P. 5228–5231.
107. Fruit–juice concentrate of Asian plum inhibits growth signals of vascular smooth muscle cells induced by angiotensin II / H. Utsunomiya et al. *Life Sci.* 2002. № 72. P. 659–667.
108. Health–promoting properties of fruits and vegetables / ed. by Leon A. Terry. Cranifeld : CAB International, 2011. P. 238–259.
109. Herrmann K. Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1989. № 28. P. 315–347.

110. HPLC–DAD–ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums / F. A. Tomas–Barberan et al. *J. Agric. Food Chem.* 2001. № 49. P. 4748–4760.
111. HPLC–DAD–ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums / F. A. Tomás–Barberán et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001. № 49. P. 4748–4760.
112. Hyun Jeong Kim, Mi–Hee Yu, In–Seon Lee. Inhibitory effects of methanol extract of plum (*Prunus salicina* L., cv. ‘Soldam’) fruits against benzo(α)pyrene–induced toxicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*. 2008. № 46 (11). P. 3407–3413.
113. Identification of a flavonoid isolated from plum (*Prunus domestica*) as a potent inhibitor of Hepatitis C virus entry / Mihika Bose et al. *Scientific reports*. 2017. № 7. P. 3965.
114. Identification, quantitative determination, and antioxidative activities of chlorogenic acid isomers in prune (*Prunus domestica* L.) / N. Nacatani et al. *J. Agric. Food Chem.* 2000. № 48. P. 5512–5516/
115. Identification, quantitative determination, and antioxidative activities of chlorogenic acid isomers in prune (*Prunus domestica* L.) / N. Nakatani et al. *J. Agric. Food Chem.* 2000. № 48. P. 5512–5516.
116. Identifying peach and plum polyphenols with chemopreventive potential against estrogen independent breast cancer cells / G. Noratto et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. № 57. P. 5219–5226.
117. Inhibition of growth and induction of differentiation of colon cancer cells by peach and plum phenolic compounds / M. Lea et al. *Anticancer Research*. 2008. № 28. P. 2067–2076.
118. ITIS Integrated Taxonomic Information System. URL: <https://www.itis.gov/> (Date of access: 08.01.2020).
119. Jae–Hong Park, Shanmugam Sureshkumar, In Ho Kim. Influences of dietary flavonoid (quercetin) supplementation on growth performance and immune

response of growing pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Journal of Animal Science and Technology*. 2020. № 62 (5). P. 605–613.

120. Jambor A., Molnar–Perl I. Amino acid analysis by high–performance liquid chromatography after derivatization with 9–fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. Literature overview and further study. *Journal of Chromatography A*. 2009. № 1216. P. 3064–3077.
121. Jambor A., Molnar–Perl I. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9–fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. *Journal of Chromatography A*. 2009. № 1216. P. 6218–6223.
122. Kahlon T. S., Smith G. E. *In vitro* binding of bile acids by blueberries (*Vaccinium* spp.), plums (*Prunus* spp.), prunes (*Prunus* spp.), strawberries (*Fragaria X ananassa*), cherries (*Malpighia punicifolia*), cranberries (*Vaccinium macrocarpon*) and apples (*Malus sylvestris*). *Food Chem*. 2007. № 100. P. 1182–1187.
123. Kearsley M. W., Deis R. C. Sorbitol and mannitol in sweeteners and sugar alternatives in food technology. Oxford, 2006. P. 249–261.
124. Khanizadeh S., Cousineau J. Our Plums – Les Pruniers de chez nous. Canada : Agriculture and Agri–Food, 2000. 109 p.
125. Komarov L. Rosaceae: Rosoideae, Amygdaloideae. Flora of the U.S.S.R, English translation. Washington :Smithsonian Institution, 1971. Vol 10. P. 1–512.
126. Lederle F. A. Epidemiology of constipation in elderly patients. Drug utilisation and cost–containment strategies. *Drugs & Aging*. 1995. № 6 (6). P. 465–469.
127. Lee S. K., Kader A. A. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biology and Technology*. 2000. № 20. P. 207–220.
128. Lenchyk L. V. Determination of phenolic compounds in *Prunus domestica* leaves extract. *Scripta Scientifica Pharmaceutica*. 2015. Vol. 2, № 2. P. 35–39.
129. Liu R. H. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr*. 2003. № 78 (3). P. 517S–520S.

130. Łoś J., Wilska-Jeszka J., Pawlak M. Polyphenolic compounds of plums (*Prunus domestica*). *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2000. № 9/50 (1). P. 35–38.
131. Mabry T., Markham K., Thomas M. The Systematic Identification of Flavonoids. New York : Springer Science & Business Media, 2012. 15 p.
132. Malten, a new synthetic molecule showing in vitro antiproliferative activity against tumour cells and induction of complex DNA structural alterations / S Amatori et al. *British Journal of Cancer*. 2010. Vol. 103 (2). P. 239–248.
133. Mohammed S. B., Upyr T. V., Lenchyk L. V. Determination of carbon acids composition and content in the "Prunofit" and polysacharide complex obtained from *Prunus domestica* fruits. *Topical issues of new drugs development : XXVI international scientific and practical conference of young scientists and students*, Kharkiv, April 10–12 2019. Kharkiv : NUPh, 2019. P 51.
134. Mohammed S. B., Upyr T. V., Lenchyk L. V. Study of phenolic compounds in prunes. *The 9th International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy*, Kaunas, 9 November 2018. Kaunas : LSMU, 2018. P. 44.
135. Mohammed Sh. B., Lenchyk L. V. Determination of sugar alcohols and monosaccharides in extract "Prunophen". *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження : матеріали II Міжнар. наук.–практ. інтернет–конф., м. Харків, 11 берез. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 8.*
136. Morishita H., Kido R. Antioxidant activities of chlorogenic acids. *Assoc. Sci. Int. Cafe Colloq.* 1995. № 1. P. 119–124.
137. Mc. Murrough I., Hennigan G., Loughrey M. Quantitative analysis of hop flavonols using HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 1982. № 30. P. 1102–1106.
138. Nagarajan G. R., Parmar V. S. Phloracetophenon derivatives in *Prunus domestica*. *Phytochemistry*. 1977. № 16. P. 614–615.

139. Nutrients and antioxidant molecules in yellow plums (*Prunus domestica* L.) from conventional and organic productions: a comparative study / G. Lombardi–Boccia et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004. № 52. P. 90–94.
140. Nutritional quality of fruits and vegetables subjected to minimal processes / Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables / M. A. McCarthy, R. H. Mattheus, ed. R. C. Wiley. New York : Chapman and Hall, 1994. P. 313–326.
141. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of selected foods / US Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USDA. Maryland : Beltsville Human Nutrition Research Center Nutrient Data Laboratory, 2007. 36 p.
142. Patil S. L. Somashekarappa H., Rajashekhar K. Radiomodulatory role of rutin and quercetin in swiss albino mice exposed to the whole body gamma radiation. *Indian J Nucl Med*. 2012. № 27. P. 237–242.
143. Phytochemical and pharmacological study of polysaccharide complexes of *Prunus domestica* fruit / T. Upyr et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2018. № 3 (13). P. 32–37.
144. Phytochemical assessment of plum (*Prunus domestica* L.) cultivars selected in Serbia / J. Tomića et al. *Food Chemistry*. 2019. Vol. 299. P. 125113.
145. Piekarska J., Łoś–Kuczera M. Skład i wartość odżywcza produktów spożywczych (Composition and Nutritive Value of Food Products). Warszawa : PZWL, 1983. pp. 152–157.
146. Plum juice, but not dried plum powder, is effective in mitigating cognitive deficits in aged rats / B. Shukitt–Hale et al. *Nutrition*. 2009. № 25 (5). P. 567–573.
147. Polyphenols: food sources and bioavailability / C. Manach et al. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2004. № 79. P. 727–747.
148. Postharvest quality of ‘Laetitia’ and ‘Songold’ (*Prunus salicina* Lindell) plums as affected by preharvest shading treatments / X. J. Murray et al. *Postharvest Biology and Technology*. 2005. № 37. P. 81–92.

149. Processing-induced changes in total phenolics and procyanidins in clingstone peaches / D. K. Asami et al. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2002. № 83. P. 56–63.
150. Prune suppresses ovariectomy-induced hypercholesterolemia in rats / E. A. Lucas et al. *J. Nutr. Biochem*. 2000. № 11 P. 255–259.
151. Pyrzynska K., Sentkowska A. Chromatographic Analysis of Polyphenols. Polyphenols in Plants. *Academic Press*. 2019. P. 353–364.
152. Qaiser J., Naveed A. The pharmacological activities of prunes: The dried Plums. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011. № 5 (9). P. 1508–1511.
153. Quality changes during ripening of plums (*Prunus domestica* L.) / V. Usenik et al. *Food Chemistry*. 2008. № 111. P. 830–836.
154. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums / D. Kim et al. *J. Agric. Food Chem*. 2003. № 51. P. 6509–6515.
155. Quantification of quinic acid in prunes (*Prunus domestica* L.) by HPLC analysis / S. Kayano et al. *ITE Lett*. 2003. № 4. P. 639–644.
156. Quantitative evaluation of antioxidant components in prunes (*Prunus domestica* L.) / S. Kayano et al. *J. Agric. Food Chem*. 2003. № 51. P. 1480–1485.
157. Rapid, accurate, sensitive, and reproducible HPLC analysis of amino acids amino acid analysis using Zorbax Eclipse–AAA columns and the Agilent 1100 HPLC / John W. Henderson et al. *Agilent Technical Note*. 1999. P. 5980–1193.
158. Raynal J., Moutounet M. Intervention of phenolic compounds in plum technology. I. Mechanism of anthocyanin degradation. *J. Agric. Food Chem*. 1989. № 37. P. 1051–1055.
159. Rutin and quercetin show greater efficacy than nifedipin in ameliorating hemodynamic, redox, and metabolite imbalances in sodium chloride induced hypertensive rats / M. Olaleye et al. *Hum Exp Toxicol*. 2013. № 33. P. 602–608.
160. Ryley J., Kayda P. Vitamins in thermal processing. *Food Chemistry*. 1993. № 49. P. 119–129.

161. Scientific opinion on the substantiation of health claims related to dried plums of «prune» cultivars (*Prunus domestica* L.) and maintenance of normal bowel function / EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). *EFSA Journal*. 2010. Vol. 8, № 2. P. 1486–1499.
162. Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties / B. Cevallos–Casals et al. *Food Chem.* 2006. № 96, P. 273–280.
163. Shahm Mohammed, Upyr T., Lenchyk L. V. Study of amino acids composition of *Prunus domestica* fruits. *Topical issues of new medicines development : матеріали XXVII Міжнар. наук.–практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 8–10 квіт. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 60–61.*
164. Shumskaya N. I., Karamzina N. N. To the evaluation of the functional state of the kidneys in rats during industrial poisoning. *Toxicology of new industrial chemicals*. London : Medicine, 1966. (8). P. 14–27.
165. Simmonds M., Preedy V. R. Nutritional Composition of Fruit Cultivars. London : Academic Press, 2015. 796 p.
166. Simopoulos A. P., Galli C. Nutrition and Fitness in Health and Disease. World Review of Nutrition and Diet. Switzerland, Basel: Karger, 1993. 148–164 pp. 172.
167. Stacewicz–Sapuntzakis M. Dried plums and their products: composition and health effects – an updated review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2013. № 53. P. 1277–1302.
168. Sticknay J. S., VanLiere E. J, Narthup D. W. Correllation between progressive motility and length of the small–intestine in albino rats and dogs. *Amer. J. Physiol.* 1951. Vol. 167, № 2. P. 399–402.
169. Study of amino acid composition of *Prunus domestica* fruits pectin complex / Larysa Lenchyk, Taras Upyr, Shahm Mohammed, Mykola Komisarenko. *International Journal of Pharmacy and Chemistry. Special Issue: Drug Research: Current Insights for Search, Development and Analysis*. 2020. Vol. 6, № 5. P. 60–64.

170. Tabele wartosci odzywczej produktów spozywczych / H. Kunachowicz et al. *Prace Instytutu Żywności i Żywienia*. 1998. № 85. P. 1–694.
171. Tapas A. R., Sakarkar D. M., Kakde R. B. Flavonoids as nutraceuticals: a review / *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2008. № 7 (3). P. 1089–1099.
172. The effect of *Descureania Sophia* L. and *Prunus Domestica* L. in prevention of constipation among iranian Hajj Pilgrims Saudi Arabia / Mehdi Pasalar et al. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2013. Vol. 4, Issue 2. P. 1195–1205.
173. The high antioxidative power of quercetin (aglycone flavonoid) and its glycone (rutin) avert high cholesterol diet induced hepatotoxicity and inflammation in Swiss albino mice / K. Sikder et al. *Food Funct.* 2014. № 5. P. 1294 – 1303.
174. Tomás-Barberán F., Espín J. C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2001. № 81. P. 853–876.
175. Trutayev S. I., Mohammed Shahm B., Lenchyk L. V., Trutayeva L. M. Determination of carboxylic acids in the extract of *Prunus domestica* fruits. *Medicine under the modern conditions of integration development of European countries: international scientific conference*, Lublin, May 10–11 2019. Lublin, 2019. P. 271–274.
176. Tsuji M., Harakawa M., Komiyama Y. Inhibition of increase of pulp colour and phenylalanine ammonia-lyase activity in plum fruit at high temperature (30°C). *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*. 1983. № 30. P. 688–692.
177. Walkowiak–Tomczak D. Characteristics of plums as a raw material with valuable nutritive and dietary properties – A Review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2008. Vol. 58, № 4. P. 401–405.
178. Winter C., Davis S. F. Organic foods. *Journal of Food Science*. 2006. № 71. P. R117–R124.

179. Yang Y., Gallaher D. Effect of dried plums on colon cancer risk factors in rats. *Nutrition and Cancer*. 2005. Vol. 1, № 53. P. 117–125.
180. Yusof Salmah. Naringin content in local citrus fruits. *Food Chemistry*. 1990. № 37 (2) P. 113–121.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

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

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

3. Сенюк І. В., Башар Джабар Аль Сахлані, Мохаммед Ш. Б. Вивчення гепатопротекторної дії екстрактів із плодів сливи домашньої *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 4. С. 57-61. (Особистий внесок – дисертант брав участь у проведенні експериментальних досліджень з одержання екстрактів, обробці результатів та оформленні статті)

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

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

Продовж. дод. А

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

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

8. Комісаренко А. М., Упир Т. В., Сенюк І. В., Башар Аль Джабар Алі Сахлані, Мохаммед Шахм Басім, Ленчик Л. В. Спосіб одержання засобу з послаблюючою активністю з плодів сливи домашньої: пат. на кор. мод. № 118457 Україна. № и 2017 01747; заявл. 23.02.2017; опубл. 10.08.17, Бюл. № 15. 4 с. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, оформленні патенту).

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

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

11. Мохаммед Шахм Басим, Ленчик Л. В., Упир Т. В. Визначення вмісту фенольних сполук в субстанціях одержаних з плодів *Prúnus doméstica*. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: Матеріали III Міжнародної науково-практичної internet-конференції, м. Харків, 26-28 листопада 2018 р. Х.: НФаУ, 2018. С. 152 – 153 с.
12. Мохаммед Шахм Басим, Упир Т. В. Вивчення мікроелементного складу плодів *Prunus domestica*. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: Матеріали III міжнародної науково-практичної конференції, м. Харків, 14-15 березня 2019 р. Х.: НФаУ, 2019. С. 181.
13. Mohammed S. B., Upyr T. V., Lenchyk L. V. Determination of carbon acids composition and content in the "Prunofit" and polysacharide complex obtained from *Prunus domestica* fruits. *Topical issues of new drugs development: XXVI international scientific and practical conference of young scientists and students*, Kharkiv, April 10-12 2019. Kharkiv: NUPh, 2019. P 51.
14. Trutayev S. I., Mohammed Shahm B., Lenchyk L. V., Trutayeva L. M. Determination of carboxylic acids in the extract of *Prunus domestica* fruits. *Medicine under the modern conditions of integration development of European countries: international scientific conference*, Lublin, May 10-11 2019. Lublin. 2019, P. 271-274.
15. Мохамед Ш. Б., Упир Т. В., Ленчик Л. В. Вивчення летких сполук екстракту «Прунофен» з плодів сливи. *Науково-практична конференція з міжнародною участю “Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку”*, присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р. Х.: НФаУ, 2019. С. 232-233.
16. Мохаммед Шахм Бассім, Упир Т. В., Ленчик Л. В. Стандартизація рідкого екстракту з плодів сливи домашньої. *PLANTA+. Досягнення та перспективи*: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження), м. Київ, 20–21 лютого 2020 р. К.: ПАЛИВОДА А. В., 2020. С. 120-121.

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

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

Продовж. дод. А

Апробація результатів дисертації

Основний зміст дисертаційної роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. The 9th International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy (Каунас, 9 листопада 2018р., форма участі – постерна доповідь);

2. Міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 26-28 листопада 2018 р. форма участі – публікація тез).

3. III міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» Матеріали (Харків, 14-15 березня 2019 р. форма участі – публікація тез).

4. XXVI міжнародній науково-практична конференції молодих вчених та студентів «Topical issues of new drugs development» (Харків, 10-12 квітня, 2019 р. форма участі – усна доповідь).

5. Міжнародній наукова конференція «Medicine under the modern conditions of integration development of European countries» (Люблін, 10-11 травня, 2019р. форма участі – публікація тез).

6. Науково-практична конференція з міжнародною участю “Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку”, присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (Харків, 19-20 вересня 2019 р. форма участі – публікація тез).

7. Міжнародній науково-практичної конференції, присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної «*PLANTA+*. Досягнення та перспективи» (до 95-річчя від дня народження) (Київ, 20–21 лютого 2020 р. форма участі – постерна доповідь);

8. XXVII Міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів «Topical issues of new medicines development» (Харків, 8-10 квіт. 2020 р., форма участі – публікація тез.);

9. II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 11 березня 2020 р., форма участі – публікація тез).

Додаток Б

Акти впровадження

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Директор

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»»

Григася І. В.

„ 20 ”



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результати наукових досліджень аспіранта кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету **Мохаммеда Шахма Басіма** були використані при опрацюванні технології виробництва полісахаридного комплексу з плодів сливи домашньої на промислових потужностях ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»» згідно проекту технологічної документації. Запропонована технологія повністю відтворюється у промислових умовах.

Було отримано три серії екстракту, по 2,75, 2,91 та 2,82 кг, які відповідали показникам якості розробленого проекту методик контролю якості. Одержаний екстракт переданий для аналізу на стабільність, визначення терміну зберігання та розробки лікарської форми.

Запропонована технологія отримана в результаті науково-технічної співпраці ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»» та кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету.

Директор з виробництва
ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»»

Кропивка А.О.

Професор кафедри хімії природних сполук
і нутриціології
Національного фармацевтичного університету

Ленчик Л.В.

Додаток Б

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Директор

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»»

Грутаєв І. В.

„ 20 ”

2010 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Розроблений проект методик контролю якості на полісахаридний комплекс з плодів сливи домашньої, який був апробований в лабораторних умовах ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»» та використаний при аналізі якості екстракту, який був отриманий на промисловому обладнанні. При розробці документації були використані матеріали науково-дослідної роботи аспіранта Мохаммеда Шахма Басіма.

Запропоновані методики отримані в результаті науково-технічної співпраці ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»» та кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету.

Отриманий екстракт відповідав показникам якості розробленого проекту МКЯ та був переданий для дослідження строків придатності.

Директор з виробництва
ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»»

Кропивка А.О.

Професор кафедри хімії природних сполук
і нутриціології
Національного фармацевтичного університету

Ленчик Л.В.

Продовж. дод. Б

Акт приймання-передачі №

від 20.10.2021 р.

ПАТ «Хімфармзавод « Червона зірка »» в особі директора Трутаєв І.В. (надалі іменується «Замовник»), з однієї сторони, і Ленчик Л.В., професор кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету (надалі іменується «Виконавець»), з іншої сторони, склали цей Акт про те, що Замовник прийняв від Виконавця:

- блок-схему та технологічну інструкцію зі способу одержання полісахаридного комплексу з плодів сливи домашньої для написання технологічного регламенту;
- проект методик контролю якості на одержаний полісахаридний комплекс з плодів сливи домашньої для розробки фармацевтичного досьє на лікарський засіб.

Розроблений проект документації переданий повністю, зауважень до його якості, достовірності та відтворюваності в промислових та лабораторних умовах ПАТ «Хімфармзавод « Червона зірка »» немає.

Документацію передав:

Професор кафедри хімії природних сполук
і нутриціології
Національного фармацевтичного університету

 Ленчик Л.В.

Документацію прийняв:

Директор
ПАТ «Хімфармзавод « Червона зірка »»

 Трутаєв І. В.



Продовж. дод. Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи та інновацій
Національного медичного університету
імені О.О. Богомольця
д.м.н., професор Земсков С.В.

« 2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Результати фітохімічного дослідження плодів сливи домашньої та екстрактів отриманих з них.
- 2. Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант – Мохаммед Шахм Бассім.
- 3. Джерела інформації:** 1. Мохаммед Шахм Бассім, Упир Т.В., Ленчик Л.В. Стандартизація рідкого екстракту з плодів сливи домашньої. *PLANTA+. Досягнення та перспективи*: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої пам'яті доктора хімічних наук, професора Ніни Павлівни Максютіної (до 95-річчя від дня народження) (Київ, 20–21 лютого 2020 р.). – К. : ПАЛИВОДА А. В., 2020. С. 120-121.
2. Mohammed Sh. B., Lenchuk L. V. Determination of sugar alcohols and monosaccharides in extract "Prunophen". *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали II Міжнар. наук. -практ. інтернет-конф. (11 березня 2020 р., м. Харків). Х.: НФаУ, 2020. С. 8.
3. Bashar Jabbar Ali Al-Sahlane. The study of influence of the extracts obtained from Prunus domestica fruits on lipid peroxydation and antioxidant system indicators in liver / Bashar Jabbar Ali Al-Sahlane, I. V. Senyuk, L. V. Lenchuk, T. V. Upry // *Фармацевтичний журнал*. - 2019. - Т. 74, № 6. - С. 85-93.
4 Мохамед Ш.Б., Упир Т.В., Ленчик Л.В. Вивчення летких сполук екстракту «Прунофен» з плодів сливи Науково-практична конференція з міжнародною участю "Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку", присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (19-20 вересня 2019 р.). Харків, 2019. 232-233.
- 4. Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії і ботаніки Національного медичного університету ім. А. А. Богомольця.
- 5. Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційному курсі.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
- 7. Строки впровадження:** 2020-2021 навч. рік.

Професор кафедри фармакогнозії
та ботаніки Національного медичного
університету імені О.О. Богомольця

У.В. Карпюк

Завідувач кафедри фармакогнозії
та ботаніки Національного медичного
університету імені О.О. Богомольця
професор

В. М. Мінарченко

Продовж. дод. Б

“ЗАТВЕРДЖУЮ”



Перший проректор
з науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
член-кор НАМНУ
професор Гжегоцький М.Р.
28 травня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозицій для впровадження:** Результати вивчення хімічного складу плодів сливи домашньої (*Prunus domestica* L.) та фармакологічної активності біологічно активних субстанцій на їх основі.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант Мохаммед Шахм Бассім.
3. **Джерела інформації:**
 1. Phytochemical and pharmacological study of polysaccharide complexes of *Prunus domestica* fruit / T. Upyr, Shahm Basim Mohammed, Bashar Al-Jabbar Ali Sahlani, L. Lenchyk, I. Senyuk, V. Kyslychenko, *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»* №3 (13)2018. С.32-37.
 2. Сенюк І. В., Башар Джабар Аль Сахлані, Мохаммед Ш. Б. Вивчення гепатопротекторної дії екстрактів із плодів сливи домашньої. *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 4. С. 57-61.
 3. Вивчення мінерального складу субстанцій отриманих з плодів *Prunus domestica* / Мохамед Шахм Б., Т.В.Упир, Ленчик Л. В., М. А. Комісаренко - *Зб. наук. праць співробіт. НМАПО імені П. Л. Шутика* 33. 2019. С. 12-18.
 4. Bashar Jabbar Ali Al-Sahlane. The study of influence of the extracts obtained from *Prunus domestica* fruits on lipid peroxidation and antioxidant system indicators in liver / Bashar Jabbar Ali Al-Sahlane, I. V. Senyuk, L. V. Lenchyk, T. V. Upyr // *Фармацевтичний журнал*. - 2019. - Т. 74, № 6. - С. 85-93.
 5. Мохаммед Шахм Басим, Ленчик Л.В., Саидов Н.Б. Плоды сливы домашней перспективное сырье для создания лекарственных средств. *Наука и инновация. Серия естественных наук*. №4/1. 2017.- С 42-48.
 6. Анализ субстанции из плодов *Prunus domestica* и перспективы создания детской лекарственной формы гепатопротекторного действия на ее основе Мохаммед Шахм Б., Ленчик Л. В., Крикливая И. А., Упыр Д. В., Саидов Н. Б., Наврузова Г.Ф.// *Наука и инновация (научный журнал)*. 2020. №1. С. 71-75
 7. Mohammed SB, Upyr TV, Shapoval OM, Lenchyk LV, Georgiev K. Determination of phenolic compounds in *Prunus domestica* fruits extract and its pharmacological activity. *J of IMAB*. 2019 Apr-Jun;25(2):2589-2594. DOI: <https://doi.org/10.5272/jimab.2019252.2589>
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.
5. **Форма впровадження:** в навчальний процес (лекційний курс та практичні заняття) і наукову роботу (планування і виконання дипломних, магістерських та дисертаційних робіт).
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів щодо хімічного складу, фармакологічної активності та перспектив використання сировинних органів сливи домашньої.
7. **Термін впровадження :** 2019 / 2020 навчальний рік.

Відповідальний за впровадження: доц. Дармограй Р.Є.

Завідувач
кафедри фармакогнозії і ботаніки
ЛНМУ імені Данила Галицького,
канд.фарм.наук, доцент

Шаповалова Н.В.

Продовж. дод. Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Тернопільського національного
медичного університету імені
І. Я. Горбачевського МОЗ України,
проф. І. М. Кліш

24.09 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати вивчення хімічного складу екстрактів отриманих з плодів сливи домашньої.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант – Мохаммед Шахм Бассім.
3. **Джерела інформації:** 1. Determination of carboxylic acids in the extract of *Prunus domestica* fruits / Medicine under the modern conditions of integration development of European countries (May 10-12, 2019). Lublin, 2019. 271-274.
2. Shahm Mohammed, Upyr T., Lenchyk L. Study of amino acids composition of *Prunus domestica* fruits. *Topical issues of new medicines development*: матеріали XXVII Міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів (8-10 квіт. 2020 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2020. С. 60-61.
3. Mohammed Sh. B., Lenchyk L. V. Determination of sugar alcohols and monosaccharides in extract "Prunophen". *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (11 березня 2020 р., м. Харків). Х. : НФаУ, 2020. С. 8.
4. Phytochemical and pharmacological study of polysaccharide complexes of *Prunus domestica* fruit / T. Upyr, Shahm B. Mohammed, Bashar Al-Jabbar Ali Sahlani, L. Lenchyk, I. Senyuk, V. Kyslychenko. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science»* №3 (13)2018. С.32-37.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

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



С. М. Марчишин

Продовж. дод. Б



ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
Запорізького державного
медичного університету

проф. В. О. Туманський

«гравис» 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Результати визначення біологічно активних сполук плодів сливи та отриманих з них субстанцій.
- 2. Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології, аспірант – Мохаммед Шахм Басим.
- 3. Джерела інформації:** 1 Study of phenolic compounds in prunes / Mohammed S.B., Upyr T.V., Lenchyk L.V. // The 9th International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy (9 November), 2018 Kaunas, Lithuania). Kaunas: LSMU, 2018. P. 44.
- 2. Визначення вмісту фенольних сполук в субстанціях одержаних з плодів *Prunus domestica*** / Мохаммед Шахм Басим, Ленчик Л. В., Упир Т. В. // Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: Матеріали III Міжнародної науково-практичної internet-конференції, 26-28 листопада 2018 р. м. Харків, 2018. С. 152 – 153 с.
- 3. Determination of phenolic compounds in *Prunus domestica* fruits extract and its diuretic activity/** Shahm B. Mohammed, Taras V. Upyr, Olga V. Shapoval, Larysa V. Lenchyk, Koluyan Georgiev // *J of IMAB*. 2019 Apr-Jun;25(2). P. 2589-2594.
- 4. Анализ субстанции из плодов *Prunus domestica* и перспективы создания детской лекарственной формы гепатопротекторного действия на ее основе** Мохаммед Шахм Б., Ленчик Л. В., Крикливая И. А., Упыр Д. В., Саидов Н. Б., Наврузова Г.Ф.// Наука и инновация (научный журнал). 2020. №1. С. 71-75
- 4. Де впроваджено:** кафедра фізколоїдної хімії Запорізького державного медичного університету (Протокол засідання кафедри від 26 червня 2020 р. № 11).
- 5. Форма впровадження:** навчальний процес, науково-дослідна робота, в лекційному курсі.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань аналізу природних сполук.
- 7. Строки впровадження:** 2019-2020 навч. рік.

Завідувач кафедри
фізколоїдної хімії
Запорізького державного
медичного університету,
д. фарм. наук, професор

Каплаушенко А. Г.

Додаток В

Патенти



Продовж. дод. Г



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118457** (13) **U**

(51) МПК

A61K 36/736 (2006.01)**B01D 53/18** (2006.01)**A61P 1/10** (2006.01)**A61K 131/00** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2017 01747**
 (22) Дата подання заявки: **23.02.2017**
 (24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.08.2017**
 (46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.08.2017, Бюл.№ 15**

(72) Винахідник(и):
Комісаренко Андрій Миколаєвич (UA),
Упир Тарас Володимирович (UA),
Сенюк Ігор Валерійович (UA),
Башар Джабар Алі-Сахлані (UA),
Мохаммед Шахм Басім (UA),
Ленчик Лариса Володимирівна (UA)
 (73) Власник(и):
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ,
 вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З ПОСЛАБЛЮЮЧОЮ АКТИВНІСТЮ З ПЛОДІВ СЛИВИ ДОМАШНЬОЇ**(57) Реферат:**

Спосіб одержання засобу з послаблюючою активністю включає обробку рослинної сировини гарячою водою з наступними відстоюванням, центрофугуванням і сушінням. При цьому як рослинну сировину використовують свіжі плоди сливи домашньої у співвідношенні сировини до екстрагенту 1:5-1:6.

U
UA 118457

Додаток Д

Методики контролю якості

ПРОЕКТ

Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного фармацевтичного
університету, професор

Інна ВЛАДИМИРОВА

2021 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна
Виробник, країна: Україна



МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Prunus domestica fructus liquid extract «Prunofen»

Сливи домашньої плодів рідкий екстракт «Прунофен»

Продовж. дод. Д

ПРОЕКТ

Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного фармацевтичного
університету, професор

Інна ВЛАДИМИРОВА
2021 р.



Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна
Виробник, країна: Україна

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Prunus domestica fructus polysaccharide complex

Сливи домашньої плодів полісахаридний комплекс