

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Маркін Олександр Миколайович

УДК 582.711.714:001.891

ДИСЕРТАЦІЯ

**Вивчення біологічно активних речовин горобини звичайної та розробка
субстанцій на їх основі**

226 – 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

О. М. Маркін

Науковий керівник Криворучко Олена Вікторівна, доктор фармацевтичних
наук, професор

Харків – 2020

АНОТАЦІЯ

Маркін О. М. Вивчення біологічно активних речовин горобини звичайної та розробка субстанцій на їх основі. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація» (22 «Охорона здоров'я»). – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2020.

Дисертаційна робота присвячена комплексному вивченню біологічно активних речовин листя, плодів, квіток і кори горобини звичайної, одержанню субстанцій з горобини звичайної листя, та розробці нормативної документації на горобини плоди і перспективну субстанцію з горобини звичайної листя.

В листі, плодах, квітках і корі горобини звичайної виявлено вуглеводи, органічні кислоти, аскорбінову кислоту, каротиноїди, карбонові та гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, проціанідини, поліфеноли, мінеральні речовини та терпеноїди, ароматичні і гетероциклічні сполуки у складі летких сполук.

Гравіметричним методом встановлено, що вміст полісахаридів у листі горобини звичайної становить від 7,84 % до 9,15 %, у плодах – 3,47 %. У результаті хроматографічного дослідження у полісахаридному комплексі з горобини плодів після попереднього гідролізу виявлено глюкозу, арабінозу та галактозу.

Вміст органічних кислот у горобини плодах становить від 2,45 % до 3,71 %, у перерахунку на яблучну кислоту і суху сировину.

Титриметричним методом у горобини плодах визначено вміст аскорбінової кислоти, який становить від 0,01 % до 0,03 %, у перерахунку на суху сировину; методом ВЕРХ – 0,001 %, у перерахунку на суху сировину.

Дослідження складу і вмісту карбонових кислот у сировині проводили методом ГХ-МС. У горобини звичайної листі вересневого збору виявлено

28 карбонових кислот (6 двоосновних, 1 триосновну, 4 ароматичних, 17 жирних), у корі – 40 (11 двоосновних, 1 триосновну, 10 ароматичних, 18 жирних). Загальний вміст карбонових кислот у горобини звичайної листі становить 18,2 г/кг, у корі – 6,8 г/кг, тобто у листі їх міститься у 2,7 % більше, ніж у корі. Найбільше двоосновних, триосновних і жирних кислот накопичується у горобини звичайної листі, ароматичних кислот – у корі. Домінуючими в листі рослини є пальмітинова, яблучна, лимонна і щавлева кислоти; в корі – тапсієва, лігноцерінова, бегенова й азелаїнова кислоти. В горобини звичайної корі карбонові кислоти ідентифіковані вперше.

Методом ВЕРХ у горобини плодах ідентифіковано 6 фенольних сполук: 2 гідроксикоричні кислоти (хлорогенову, кофейну) і 4 флавоноїди (катехін, рутин, кверцетин, нарингін). Із гідроксикоричних кислот у сировині переважає хлорогенова кислота ($2329,74 \pm 15,04$ мкг/г), із флавоноїдів – рутин ($128,8 \pm 1,64$ мкг/г). Сума фенольних сполук у горобини плодах становить 5717,74 мкг/г, з них гідроксикоричних кислот – 62 %, флавоноїдів – 16,6 %. У горобини звичайної корі ідентифіковано 6 фенольних сполук: 3 фенольні кислоти (хлорогенову, кофейну, галову) і 3 флавоноїди (катехін, кверцетин і апігенін-7-глюкозид). Із кислот у сировині превалює хлорогенова ($0,056 \pm 0,01$ мг/г), із флавоноїдів – катехін ($0,191 \pm 0,01$ мг/г). Апігенін-7-глюкозид у горобини звичайної корі виявлено вперше.

Методом абсорбційної спектрофотометрії визначено вміст гідроксикоричних кислот у горобини звичайної плодах, який становить від 1,53 % до 2,61 % у перерахунку на кислоту хлорогенову, а також у листі рослини, який становить від 1,75 % до 2,59 % у перерахунку на кислоту хлорогенову.

Визначено вміст флавоноїдів у горобини звичайної плодах, який становить 0,04 % у перерахунку на гіперозид, а також у листі рослини, який становить від 1,21 % до 1,29 % у перерахунку на рутин.

Спектрофотометричним методом визначено вміст проціанідинів і поліфенолів у горобини плодах, який, відповідно, становить 0,13 %, у

перерахунку на ціанідину хлорид і суху сировину, та від 0,62 % до 0,92 %, у перерахунку на пірогалол.

Вперше методом ГХ-МС вивчено леткі сполуки горобини звичайної квіток і кори. У горобини звичайної квітках виявлено 23 компонента: 2 терпеноїда, 5 ароматичних сполук, 5 гетероциклічних сполук і їх похідних, 9 карбонових кислот і їх похідних, 2 алкани; у корі – 39 компонента: 3 терпеноїда, 12 жирних кислот, 24 алкани, алкени і їх похідні.

Методом АЕС у горобини звичайної листі, квітках, плодах і корі визначено вміст 19 елементів, з яких 6 макроелементів і 13 мікроелементів. Найбільше елементів накопичується в горобини звичайної квітках і плодах, найменше – в корі. У досліджуваній сировині переважають (у мг/100 г) калій (від 710 до 1980) і кальцій (від 365 до 770), також в значній кількості містяться магній (від 95 до 290), силіцій (від 103 до 410) і фосфор (від 18 до 130). У сировині відсутні або знаходяться за межами можливостей визначення приладу мікроелементи кобальт, кадмій, арсен і меркурій. Вміст важких металів в усіх досліджуваних зразках знаходиться в межах допустимої для ЛРС норми згідно з вимогами ДФУ. Якість плодів горобини регламентується фармакопейною статтею ДФ СРСР XI видання, але вона не відповідає сучасним вимогам ДФУ і ЄФ. На фармацевтичному ринку України існують лікарські засоби з горобини плодів, тому є потреба у розробці монографії ДФУ на цю сировину. В результаті дослідження 7 зразків горобини плодів згідно з вимогами, що регламентуються настановою Фармакопейного комітету «Порядок розробки монографій для лікарської рослинної сировини для введення в ДФУ», у складі групи «Лікарська рослинна сировина» під керівництвом начальника відділу ДФУ д. фарм. н., с. н. с. Котова А. Г. та завідувача сектором «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» к. фарм. н., с. н. с. Котової Е. Е. розроблено проєкт національної монографії «Горобини плоди^N», який рекомендовано ДП «Українським науковим фармакопейним центром якості лікарських засобів» до внесення в ДФУ 2.5

(акти про участь у розробці проєкту монографії № 11/1486-5 – 11/1489-5 від 09.11.2020). Запропоновано наступні параметри стандартизації горобини плодів: ідентифікацію за макро- та мікроскопічними ознаками, ідентифікацію гідроксикоричних кислот і флавоноїдів методом ТШХ, визначення сторонніх домішок (плодів підгорілих – не більше 3,0 %; плодів недозрілих (світло-жовтих, жовтих) – не більше 2 %; інших частин рослини (плодоніжок, гілочок, листків) – не більше 0,5 %; плодів із плодоніжками – не більше 3,0 %; органічних часток – не більше 0,5 %; мінеральних часток – не більше 0,2 %), втрати в масі при висушуванні – не більше 15,0 %, загальної золи – не більше 5,0 %; визначення вмісту суми похідних гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту хлорогенову і суху сировину – не менше 1,5 %.

З горобини звичайної листя екстракцією сировини 50 % етанолом одержано горобини звичайної листя екстракт густий спиртовий, який отримав умовну назву «Сорбафол». Запропоновано комплексну переробку горобини звичайної листя шляхом послідовного отримання хлороформного, етилацетатно-спиртового і водного очищеного густих екстрактів. Горобини звичайної листя екстракт густий етилацетатно-спиртовий отримав умовну назву «Феногор».

У густих екстрактах із горобини звичайної листя «Сорбафол» і «Феногор» методом ВЕРХ ідентифіковано хлорогенову кислоту та флавоноїди – кверцитрин і рутин. В екстракті «Сорбафол» переважає рутин ($3,57 \pm 0,14$ мг/г), в екстракті «Феногор» – кверцитрин ($11,61 \pm 0,27$ мг/г). Також в обох екстрактах виявлено наявність галової, неохлорогенової і кофейної кислот, катехіну і гіперозиду. Результати дослідження використано при розробці проєкту МКЯ на «Горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол».

Методом спектрофотометрії визначено вміст гідроксикоричних кислот у горобини звичайної листя екстракті густому «Сорбафол», який становить $3,41 \pm 0,04$ % у перерахунку на кислоту хлорогенову.

Методом ГХ-МС в екстракті «Сорбафол» визначено вміст

38 карбонових кислот, з яких 10 двоосновних, 1 триосновна, 10 ароматичних, 17 жирних (13 насичених, 4 ненасичені) кислот. Загальний вміст карбонових кислот в екстракті становить 35,2 г/кг, з них двоосновних – 40 %, триосновних – 13,1 %, ароматичних – 18,8 %, жирних кислот – 28,1 %. Домінуючими з двоосновних кислот є яблучна гідроксикислота і бурштинова, з триосновних – лимонна гідроксикислота, з ароматичних – бензойна, з жирних – левулінова, ліноленова і пальмітинова кислоти.

В екстракті «Феногор» визначено вміст 40 карбонових кислот, з яких 11 двоосновних, 1 триосновна, 10 ароматичних, 18 жирних (14 насичених, 4 ненасичені) кислот та їх похідних. Загальний вміст карбонових кислот становить 32,2 г/кг, з них двоосновних – 13,7 %, триосновних – 0,6 %, ароматичних – 38,4 %, жирних кислот – 47,3 % (вміст насичених кислот становить 52,5 % від суми жирних кислот). Домінуючими з двоосновних кислот є бурштинова, з триосновних – лимонна гідроксикислота, з ароматичних – α -гідроксифенілоцтова, бензойна і *n*-кумарова, з жирних – ліноленова, пальмітинова і ліолева кислоти. В екстракті «Сорбафол» у 1,1 разів міститься більше карбонових кислот ніж в екстракті «Феногор». Двоосновних і триосновних кислот міститься більше в екстракті «Сорбафол», а ароматичних і жирних кислот – в екстракті «Феногор». Адипінову і 9-оксононанову кислоти виявлено лише у екстракті «Феногор».

У екстракті «Сорбафол» методом ВЕРХ визначено вміст 16 вільних амінокислот, з яких переважають пролін, аланін і глютамінова кислота, а також 16 зв'язаних, з яких переважають глютамінова і аспарагінова кислоти. Із виявлених амінокислот 9 є незамінними. Сума всіх амінокислот у екстракті становить 29,67 мкг/мг. Вміст незамінних амінокислот від їх загальної суми становить 34,21 %, від суми вільних амінокислот – 30,89 %, від суми зв'язаних амінокислот – 35,08 %.

В екстракті «Сорбафол» методом ГХ-МС ідентифіковано 4 вільних моносахаридів: манозу, глюкозу, галактозу і фруктозу, з яких переважають фруктоза і глюкоза. Вміст ідентифікованих вільних моносахаридів в

екстракті становить 5,35 мг/г. Загальний вміст ідентифікованих моносахаридів в екстракті становить 8,3 мг/г, з яких домінуючим моносахаридом є глюкоза.

Методом АЕС у досліджуваних екстрактах із горобини звичайної листя визначено вміст 19 макро- і мікроелементів. У екстракті «Сорбафол» і горобини звичайної листя екстракті водному очищеному спостерігався високий вміст макроелементів: калію, кальцію, магнію, натрію і фосфору, а також мікроелементів силіцію, феруму і мангану. У екстракті «Феногор» і хлороформному екстракті в значній кількості містяться кальцій, фосфор і манган. У хлороформному екстракті досліджуваної сировини міститься найменша кількість макро- і мікроелементів.

Фармакологічні дослідження екстрактів «Сорбафол» і «Феногор» проводили на базі Навчально-наукового інституту прикладної фармації НФаУ під керівництвом завідувача кафедри фармакології та фармакотерапії НФаУ, професора Штриголя С. Ю. і доцента Товчиги О. В. За результатами дослідження гострої токсичності густі екстракти «Сорбафол» і «Феногор» віднесені до V класу токсичності – практично нетоксичних речовин.

Вперше досліджено вплив густих екстрактів «Сорбафол» і «Феногор» на обмін глюкози і видільну функцію нирок у щурів. Встановлено, що екстракт «Сорбафол» виявляє достовірну гіпоглікемічну дію за одноразового введення в дозах 250 та 500 мг/кг, за виразністю якої перевищує офіцинальний препарат настій чорниці пагонів (10 мл/кг). Новизну проведених досліджень підтверджено патентом України на корисну модель «Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної» (№ 133831, Бюл. № 8 від 25.04.2019) та патентом України на винахід «Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної» (№ 122521, Бюл. № 22 від 25.11.2020).

Горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол» є перспективним для створення на його основі нових гіпоглікемічних засобів. До того ж, беззаперечною перевагою цього екстракту є достатня сировинна

база та економічний спосіб його одержання.

Вперше за результатами досліджень розроблено проєкт МКЯ «Горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол».

Результати проведеного фармакогностичного дослідження впроваджено в науково-дослідну роботу профільних закладів вищої освіти України.

Ключові слова: горобина звичайна, фармакогностичне вивчення, біологічно активні речовини, субстанція, густий екстракт, гіпоглікемічна активність.

Список публікацій здобувача

1. Криворучко О. В., Маркін О. М. Гідроксикоричні кислоти і флавоноїди горобини звичайної і горобини арії. *Зб. наук. прац. співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика*. К., 2017. Вип. 28. С. 67–73 (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).
2. Research in the chemical composition of the bark of *Sorbus aucuparia* / E. Krivoruchko, A. Markin, V. Samoilova, T. Ilina, O. Koshovyi. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2018. Vol. 67 (3). P. 113–115 (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).
3. Карбоновые кислоты экстрактов листьев рябины обыкновенной / А. Н. Маркин, Е. В. Криворучко, О. В. Товчига, В. А. Самойлова, А. А. Стремоухов. *Вестник фармации*. 2019. № 2 (84). С. 34–38 (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).
4. Маркин А. Н., Криворучко Е. В., Самойлова В. А. Исследование карбоновых кислот почек и листьев *Sorbus aucuparia*. *Наука и инновация*. 2019. № 4. С. 122–125 (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні

експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

5. Дослідження хімічного складу екстрактів листя горобини звичайної та їх впливу на обмін глюкози і видільну функцію нирок у щурів / О. В. Товчига, О. М. Маркін, С. Ю. Штриголь, О. В. Криворучко. *Клінічна фармація*. 2020. Т. 24, № 1. С. 26–34 (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

6. Маркін О. М., Криворучко О. В. Визначення фенольних сполук у горобини плодах. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 3 (85). С. 68–73. (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

7. Товчига О. В., Штриголь С. Ю., Криворучко О. В., Маркін О. М., Баля О. А. Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної: пат. на кор. мод. 133831 України: МПК А61К 36/00, А61К 36/73, А61Р 3/10. № u201811026; заявл. 08.11.2018; опубл. 25.04.2019, Бюл. № 8 (*Особистий внесок* – брав участь у патентному пошуку, плануванні експерименту, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту).

8. Товчига О. В., Штриголь С. Ю., Криворучко О. В., Маркін О. М., Баля О. А. Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної: пат. на винахід 122521 України: МПК А61К 36/73, А61Р 3/10. № a201811027; заявл. 08.11.2018; опубл. 25.11.2020, Бюл. № 22 (*Особистий внесок* – брав участь у патентному пошуку, плануванні експерименту, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту).

9. Маркин А. Н., Криворучко Е. В. Содержание аскорбиновой кислоты в плодах рябины обыкновенной. *Перспективы развития биологии, медицины и фармации*: материалы IV Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, г. Шымкент, Республика Казахстан, 9–10 декабря 2016 г. *Вестник ЮКГФА*. 2016. № 4 (77), Т. 4. С. 114–115.

10. Markin O. M., Krivoruchko O. V. The content of procyanidins in fruits of mountain ash. *Topical Issues of New Drug Development: Abstracts of XXIV International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Student*, April 20, 2017: in 2 vol. Kh.: Publishing Office NUPh, 2017. Vol. 1. P. 97.

11. Маркін О. М., Криворучко О. В. Органічні кислоти плодів горобини звичайної і горобини домашньої. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*: тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича, 12-13 квітня 2018 р. Х.: НФаУ, 2018. С. 280.

12. Markin A. N., Samoilova V. A., Krivoruchko O. V. Essential oil of flowers of *Sorbus aucuparia* and *Sorbus aria*. *Science and practice 2018: abstracts of 9th International Pharmaceutical Conference*, 9 November, 2018. Kaunas, 2018. P. 25.

13. Маркін О. М., Криворучко О. В., Товчига О. В. Дослідження горобини звичайної листя екстракту густого, який має антигіперглікемічну дію. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 14-15 березня 2019 р.: у 2 т. Х.: НФаУ, 2019. Т. 2. С. 174.

14. Маркін О. М., Криворучко О. В. Леткі сполуки екстрактів листя горобини звичайної. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку*: матеріали наук.-практ. конф. з міжнародною участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р.: у 2 т. Харків: НФаУ, 2019. Т. 1. С. 261–262.

15. Элементный состав экстрактов рябины обыкновенной листьев / А. Н. Маркин, А. А. Баля, Е. В. Криворучко, О. В. Демешко. *Современные достижения фармацевтической науки и практики*: материалы Международной конференции, посвященной 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования «Витебский государственный ордена

Дружбы народов медицинский университет», Витебск, 31 окт. 2019 г. Витебск: ВГМУ, 2019. С. 115–116.

16. Маркин А. Н., Криворучко Е. В. Элементный состав рябины обыкновенной. *Актуальные вопросы фармации: фармацевтическая опека в педиатрии. Дизайн, производство и контроль качества лекарственных средств*: материалы факультетских чтений школы фармации, проводимых в рамках международной научно-практической конференции «Дни университета-2019: Педиатрия XXI века. Современные вызовы и тенденции». Алматы, 2019. С. 81–82.

17. Екстракти листя горобини звичайної як перспективні об'єкти для розробки нових лікарських засобів і дієтичних добавок / О. М. Маркін, І. Г. Капелька, О. В. Криворучко, О. В. Товчига. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження*: матеріали наук.-практ. дистанц. міжнар. конф., м. Івано-Франківськ, 19-20 трав. 2020 р. Івано-Франківськ: ІФНМУ, 2020. С. 167.

ANNOTATION

Markin O. M. The study of biologically active compounds of European mountain ash and development of herbal preparations on their basis. – A qualifying scientific work as a manuscript.

The thesis for the degree of Doctor of Philosophy in speciality 226 “Pharmacy” (22 – Healthcare). – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2020.

The thesis is devoted to the comprehensive study of biologically active compounds in European mountain ash leaves, fruits, flowers and bark; obtaining of herbal preparations from European mountain ash leaves, and development of normative documents on European mountain ash fruits and perspective herbal preparation from European mountain ash leaves.

In European mountain ash leaves, fruits, flowers and bark, carbohydrates, organic acids, ascorbic acid, carotenoids, carboxylic acids, hydroxycinnamic acids, flavonoids, procyanidins, polyphenols, major and trace elements were determined; also terpenoids, aromatic compounds and heterocyclic compounds as volatile compounds were studied.

By means of gravimetric analysis, the content of polysaccharides in European mountain ash leaves (the value ranges from 7,84 % to 9,15 %) and European mountain ash fruits (3,47 %) was determined. As a result of the chromatographic studies, glucose, arabinose and galactose were identified in the polysaccharide complex from European mountain ash fruits after preliminary hydrolysis.

The content of organic acids in European mountain ash fruits ranges from 2,45 % to 3,71 %, expressed as malic acid (on a dry weight fruit basis).

Ascorbic acid in European mountain ash fruits was quantified by the titrimetric method (the value ranges from 0,01 % to 0,03 % on a dry weight fruit basis), as well as by the HPLC method (0,001 % on a dry weight fruit basis).

By means of GC/MS analysis, a composition and content of carboxylic acids in the raw materials were determined. In European mountain ash leaves harvested in September, 28 carboxylic acids were determined, of which 6 dibasic acids, 1 tribasic acid, 4 aromatic acids and 17 fatty acids; 40 carboxylic acids were detected in the bark, namely 11 dibasic acids, 1 tribasic acid, 10 aromatic acids and 18 fatty acids. The total content of carboxylic acids in European mountain ash leaves was measured at 18,2 g/kg; in the bark it came to 6,8 g/kg, i.e. the content of carboxylic acids in leaves is 2,7 percent greater than that in the bark. Dibasic acids, tribasic acids and fatty acids are most accumulated in European mountain ash leaves, aromatic acids are most accumulated in the bark. In European mountain ash leaves, palmitic acid, malic acid, citric acid and oxalic acid prevail; taspic acid, lignoceric acid, behenic acid and azelaic acid prevail in European mountain ash bark. In European mountain ash bark carboxylic acids were first identified.

With the use of the HPLC method, in European mountain ash fruits 6 phenolic compounds were identified as 2 hydroxycinnamic acids (chlorogenic acid and caffeic acid) and 4 flavonoids (catechin, rutin, quercetin, naringin). Chlorogenic acid (2329,74 $\mu\text{g/g}$) was found to prevail among hydroxycinnamic acids; among flavonoids, rutin (128,8 $\mu\text{g/g}$) prevails. The content of total phenolic compounds in European mountain ash fruits is 5717,74 $\mu\text{g/g}$, of which hydroxycinnamic acids constitute 62 %, flavonoids constitute 16,6 %. In European mountain ash bark 6 phenolic compounds were identified, namely 3 phenolic acids (chlorogenic acid, caffeic acid, gallic acid) and 3 flavonoids (catechin, quercetin and apigenin-7-glucoside). Among acids, prevailing is chlorogenic acid with the content of 0,056 mg/g; catechin (0,191 mg/g) is the prevailing flavonoid. In European mountain ash bark, apigenin-7-glucoside was first identified.

By means of absorption spectrophotometry, the content of hydroxycinnamic acids in European mountain ash fruits was quantified as ranging from 1,53 % to 2,61 %, expressed as chlorogenic acid; and as ranging from 1,75 % to 2,59 % in European mountain ash leaves, expressed as chlorogenic acid.

The content of flavonoids in European mountain ash fruits was quantified as 0,04 %, expressed as hyperoside; in European mountain ash leaves the content of flavonoids ranges from 1,21 % to 1,29 %, expressed as rutin.

Procyanidins and polyphenols in European mountain ash fruits were also quantified using spectrophotometric method; the content of procyanidins constitutes 0,13 %, expressed as cyanidin chloride (on a dry weight fruit basis), and the content of polyphenols ranges from 0,62% to 0,92% (expressed as pyrogallol).

By means of GC/MS analysis, volatile compounds in European mountain ash flowers and bark were first studied. In European mountain ash flowers 23 compounds were detected, including 2 terpenoids, 5 aromatic compounds, 5 heterocyclic compounds and their derivatives, 9 carboxylic acids and their derivatives, 2 alkanes; in the bark 39 compounds were identified as 3 terpenoids, 12 fatty acids, 24 alkanes, alkenes and their derivatives.

The elemental composition of European mountain ash leaves, flowers, fruits and bark was studied by the atomic emission spectroscopy (AES) with 19 elements found, of which 6 identified as major elements and 13 identified as trace elements. Elements are most accumulated in European mountain ash flowers and fruits; the smallest amounts thereof are accumulated in European mountain ash bark. In the studied raw materials the following elements prevail (mg/100 g): potassium (from 710 to 1980) and calcium (from 365 to 770); also, significant amounts of magnesium (from 95 to 290), silicon (from 103 to 410) and phosphorus (from 18 to 130) were detected. The trace elements cobalt, cadmium, arsenic and mercury are absent in the raw materials or are beyond the determination capabilities of the apparatus. The content of heavy metals in all the samples studied conformed with the permissible limits of heavy metals specified for herbal drugs in the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPh Ukraine).

The quality requirements for European mountain ash fruits are specified in the pharmacopoeial monograph of the State Pharmacopoeia of the USSR, XI ed.; however, this monograph does not meet the current requirements of the SPh Ukraine and the European Pharmacopoeia. Herbal drug preparations from European mountain ash fruits are sold in the pharmaceutical market of Ukraine, so there is a need to develop the monograph on this raw material for the SPh Ukraine. Seven samples of European mountain ash fruits were studied according to the algorithm laid out in the instructions of the Pharmacopoeia Committee "Procedures for the elaboration of monographs on the herbal drugs for the introduction in the SPh Ukraine". The studies were carried out in a group "Herbal drugs" under the supervision of Andriy G. Kotov, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Senior Researcher, Head of the Department of the SPh Ukraine, and Elina E. Kotova, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Senior Researcher, Head of the Sector "Experimental support for the elaboration of monographs on herbal drugs" of the State Enterprise (SE) "Pharmacopoeia Center". As the results of the studies, the draft national monograph "Sorbi fructus"^N was developed and it was recommended by the SE "Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Centre for Quality of Medicinal

Products" for the introduction in the SPh Ukraine 2.5 (the protocols of participation in the development of the draft monograph № 11/1486-5 – 11/1489-5 of 09.11.2020). The following standardization parameters of European mountain ash fruits were suggested: identification by morphological and anatomical features; TLC identification of hydroxycinnamic acids and flavonoids; foreign matter (burnt fruits: maximum 3.0 per cent; unripe fruits (light yellow, yellow): – maximum 2 per cent; other parts of the source plant (peduncles, off-shoots, leaves): maximum 0.5 per cent; fruits with peduncles: maximum 3.0 per cent; foreign elements of herbal origin: maximum 0.5 per cent; foreign elements of mineral origin: maximum 0.2 per cent); loss on drying: maximum 15.0 per cent; total ash: maximum 5.0 per cent; content: minimum 1.5 per cent of hydroxycinnamic acids derivatives, expressed as chlorogenic acid (on a dry weight fruit basis).

With the use of 50 % ethanol, European mountain ash leaves thick alcohol extract was obtained, this extract received a proposed name "Sorbafol". A proposed complex processing of European mountain ash leaves consists in obtaining sequential chloroform, ethyl acetate-alcohol and aqueous purified thick extracts. European mountain ash leaves thick ethyl acetate-alcohol extract received the proposed name "Phenogor".

By means of the HPLC method, chlorogenic acid and flavonoids quercitrin and rutin were identified in European mountain ash leaves thick extracts "Sorbafol" and "Phenogor". The prevailing compound in the thick extract "Sorbafol" is rutin (3,57 mg/g); in the thick extract "Phenogor", quercitrin (11,61 mg/g) prevails. Also, in both extracts gallic acid, neochlorogenic acid and caffeic acid, catechin and hyperoside were determined. The results of the study were used in the development of Drug Quality Control Methods (DQCM) for "European mountain ash leaves thick extract "Sorbafol".

By means of spectrophotometry, the content of hydroxycinnamic acids in European mountain ash leaves thick extract "Sorbafol" was quantified as $3,41 \pm 0,04$ %, expressed as chlorogenic acid.

By means of GC/MS analysis, in the extract "Sorbafol" 38 carboxylic acids were quantified, of which 10 dibasic acids, 1 tribasic acid, 10 aromatic acids, 17 fatty acids (13 saturated acids and 4 unsaturated acids). The total content of carboxylic acids in the extract is 35,2 g/kg, of which dibasic acids constitute 40 %, tribasic acids account for 13,1 %, aromatic acids constitute 18,8 %, fatty acids account for 28,1 %. Among dibasic acids, prevailing are malic acid (the hydroxy acid) and succinic acid; among tribasic acids, citric acid (the hydroxy acid) prevails, the prevailing aromatic acid is benzoic acid; among fatty acids, the prevailing are levulinic acid, linolenic acid and palmitic acid.

In the extract "Phenogor" 40 carboxylic acids were quantified, of which 11 dibasic acids, 1 tribasic acid, 10 aromatic acids, 18 fatty acids and their derivatives (14 saturated acids and 4 unsaturated acids). The total content of carboxylic acids is 32,2 g/kg, of which dibasic acids account for 13,7%, tribasic acids constitute 0.6%, aromatic acids account for 38,4%, fatty acids constitute 47,3% (in the sum of fatty acids, saturated acids account for 52,5 %). Among dibasic acids, prevailing is succinic acid; among tribasic acids, citric acid (the hydroxy acid) prevails, the prevailing aromatic acids are α -hydroxyphenylacetic acid, benzoic acid and *p*-coumaric acid; among fatty acids, the prevailing are linolenic acid, palmitic acid and linoleic acid. The carboxylic acid content in the extract "Sorbafol" is 1.1-fold higher than that in the extract "Phenogor". Dibasic acids and tribasic acids prevail in the extract "Sorbafol", while aromatic acids and fatty acids prevail in the extract "Phenogor". Moreover, adipic acid and 9-oxononanoic acid were detected only in the extract "Phenogor".

16 Free and 16 bound amino acids in the extract "Sorbafol" were quantified by the HPLC method; among the free amino acids prevailing are proline, alanine and glutamic acid; the prevailing bound amino acids are glutamic acid and aspartic acid. Among the identified amino acids, 9 are essential ones. The sum of all amino acids in the extract is 29,67 $\mu\text{g}/\text{mg}$. In the total amino acid content, essential amino acids account for 34,21%; in the sum of free amino acids, essential amino acids constitute

30,89%, while in the sum of bound amino acids, essential amino acids account for 35,08%.

Monosaccharides in the extract "Sorbafol" were studied by GC/MS analysis with 4 free monosaccharides identified as mannose, glucose, galactose and fructose, of which fructose and glucose prevail. The sum of identified free monosaccharides in the extract is 5,35 mg/g. The total content of identified monosaccharides in the extract is 8,3 mg/g, of which glucose is the prevailing monosaccharide.

By means of AES, in the studied extracts from European mountain ash leaves 19 elements were quantified. In the extract "Sorbafol" and European mountain ash leaves aqueous purified extract high concentrations of the following major elements were detected: potassium, calcium, magnesium, sodium and phosphorus, as well as of trace elements, namely silicon, iron and manganese. The extract "Phenogor" and chloroform extract contain significant amounts of calcium, phosphorus and manganese. The chloroform extract from the studied raw material is characterized by the smallest amounts of major and trace elements.

The pharmacological studies of the extracts "Sorbafol" and "Phenogor" were carried out at the Educational and Scientific Institute of Applied Pharmacy of the NUPh under the supervision of Sergey Yu. Shtrygol', Head of the Department of Pharmacology and Pharmacotherapy of the NUPh, Professor, and Olga V. Tovchiga, Associate Professor. Based on the results of acute toxicity studies, thick extracts "Sorbafol" and "Phenogor" are classified in Class V – practically non-toxic substances.

The effects of thick extracts "Sorbafol" and "Phenogor" on glucose metabolism and the excretory renal function in rats were first studied. Established was the significant hypoglycaemic effect of the extract "Sorbafol" after a single administration at the doses of 250 and 500 mg/kg, the extent of which exceeds that of blueberry shoots infusion (10 ml/kg), the authorized herbal drug preparation. The novelty of the research was confirmed by the utility model patent of Ukraine "Therapeutic and prophylactic preparation with hypoglycaemic effect from European mountain ash leaves" (No. 133831, Bull. No. 8 of 25.04.2019), and the

invention patent of Ukraine "Therapeutic and prophylactic preparation with hypoglycaemic effect from European mountain ash leaves" (No. 122521, Bull. No. 22 of 25.11.2020).

European mountain ash leaves thick extract "Sorbafol" is the promising herbal preparation for the development of new hypoglycaemic agents. Moreover, the undeniable advantages of this extract are a significant raw material availability and an economical way to obtain this extract.

Based on the results of the research, the DQCM project for "European mountain ash leaves thick extract "Sorbafol" was first developed.

The results of the performed pharmacognostic study were introduced in scientific and research work of corresponding higher educational institutions of Ukraine.

Key words: European mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.), pharmacognostic study, biologically active compounds, herbal preparation, thick extract, hypoglycemic effect.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	21
ВСТУП	22
РОЗДІЛ 1 БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД І ЗАСТОСУВАННЯ РОСЛИН РОДУ ГОРОБИНА В МЕДИЦИНІ ТА ІНШИХ ГАЛУЗЯХ (Огляд літератури)	29
1.1 Ботанічна характеристика та розповсюдження деяких представників роду горобина	29
1.2 Хімічний склад	37
1.3 Застосування в медицині та інших галузях	45
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ, ПРИЛАДИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕННЯ	52
2.1 Об'єкти дослідження	52
2.2 Короткі відомості про прилади, методи та реактиви	53
2.3 Методики визначення БАР	58
2.4 Методики фармакологічних визначень	65
РОЗДІЛ 3 ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У СИРОВИНІ ГОРОБИНИ ЗВИЧАЙНОЇ	69
3.1 Полісахариди	69
3.2 Органічні кислоти	70
3.2.1 Карбонові кислоти	70
3.3 Аскорбінова кислота	74
3.4 Каротиноїди	76
3.5 Фенольні сполуки	78
3.5.1 Гідроксикоричні кислоти	83
3.5.2 Флавоноїди	85
3.5.3 Проціанідини	87
3.5.4 Поліфенольні сполуки	87
3.6 Леткі сполуки	88

	20
3.7 Мінеральні речовини	92
Висновки до розділу 3	95
РОЗДІЛ 4 ОДЕРЖАННЯ З ГОРОБИНИ ЗВИЧАЙНОЇ ЛИСТЯ СУБСТАНЦІЙ ТА ЇХ ДОСЛІДЖЕННЯ	100
4.1 Одержання субстанцій з горобини звичайної листя	100
4.1.1 Одержання «Горобини звичайної листя екстракту густого «Сорбафол»	100
4.1.2 Комплексна переробка сировини. Одержання «Горобини звичайної листя екстракту густого «Феногор»	101
4.2 Фітохімічне дослідження одержаних субстанцій	102
4.2.1 Фенольні сполуки	102
4.2.2 Карбонові кислоти	104
4.2.3 Амінокислоти	108
4.2.4 Моносахариди	111
4.2.5 Мінеральні речовини	112
4.3 Обговорення результатів фармакологічних досліджень одержаних субстанцій	115
4.3.1 Гіпоглікемічна активність	115
Висновки до розділу 4	123
РОЗДІЛ 5 РОЗРОБКА НОРМАТИВНОЇ ДОКУМЕНТАЦІЇ НА ГОРОБИНИ ПЛОДИ ТА ГОРОБИНИ ЗВИЧАЙНОЇ ЛИСТЯ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ «СОРБАФОЛ»	128
5.1 Проект монографії «Горобини плоди ^N »	128
5.2 Стандартизація «Горобини звичайної листя екстракту густого «Сорбафол»	139
Висновки до розділу 5	142
ВИСНОВКИ	144
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	146
ДОДАТКИ	166

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЕС –	атомно-емісійна спектроскопія;
БАР –	біологічно активні речовини;
ВЕРХ –	високоєфективна рідинна хроматографія;
ГХ-МС –	газова хроматографія – мас-спектрометрія;
ДФ РБ –	Державна фармакопея Республіки Білорусь;
ДП –	Державне підприємство;
ДФ СРСР XI вид. –	Державна фармакопея Союзу Радянських Соціалістичних Республік XI видання;
ДФУ –	Державна фармакопея України;
ЄФ –	Європейська фармакопея;
ЛРС –	лікарська рослинна сировина;
МКЯ –	методи контролю якості;
МОЗ –	Міністерство охорони здоров'я;
НФаУ –	Національний фармацевтичний університет;
ПХ –	паперова хроматографія;
ТШХ –	тонкошарова хроматографія;
УФ –	ультрафіолетовий;
ФСЗ –	фармакопейний стандартний зразок;
ХС –	холестерол;
ХС ЛПВЩ –	холестерол ліпопротеїнів високої щільності;
ЦД –	цукровий діабет;
ЦНДЛ –	центральна наукова дослідна лабораторія;
Час утр. –	час утримування.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Цукровий діабет (ЦД) є серйозною медико-соціальною проблемою, яка набирає глобального масштабу. За даними експертів Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я, до 2030 року очікується збільшення кількості хворих на ЦД у 1,5 рази [International Diabetes Federation]. В Україні близько 1,5 млн людей страждають на ЦД і ще 3 – 4 млн схильні до цього захворювання. Одним із напрямів лікування ЦД є застосування фітопрепаратів, які можуть тривало використовуватися без суттєвих побічних явищ, добре поєднуватися з іншими лікарськими препаратами, а їх різноманітний хімічний склад має різнонаправлений механізм впливу на всі ланки патогенезу даного захворювання. Тому розробка та впровадження нових фітопрепаратів гіпоглікемічної активності з мінімальною побічною дією є актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки.

Перспективною в цьому плані є широко розповсюджена в Україні горобина звичайна (*Sorbus aucuparia* L.) з родини розові (*Rosaceae* Juss.), плоди і листя якої містять органічні кислоти, фенольні сполуки, вуглеводи, вітаміни, терпеноїди та інші біологічно активні сполуки, що обумовлюють їх жовчогінну, діуретичну, антиоксидантну, протизапальну, антидіабетичну, гемостатичну та легку послаблюючу активності.

З літературних джерел відомо, що екстракти з плодів горобини звичайної, горобини глоговини, плодів і листя горобини домашньої, з кори горобини красивої і горобини американської мають антидіабетичну дію, яка може бути зумовлена присутніми в них фенольними сполуками.

Плоди горобини звичайної входять до складу багатьох лікарських засобів, дієтичних добавок. Якість горобини плодів регламентується вимогами статті «Плоди горобини» ДФ СРСР XI видання, яка носить рекомендувальний характер і потребує гармонізації, враховуючи сучасні вимоги ДФУ та ЄФ.

Раніше фітохімічними і фармакологічними дослідженнями плодів і листя горобини звичайної займалися українські (Носовська Т. Д., Прокопенко О. П., Ветров П. П., Попович В. П., Дроговоз С. М., Криворучко О. В. та ін.) і закордонні (Olszewska M. A., Aladedunye F., Raudonis R. et al.) науковці, але комплексного фітохімічного дослідження цієї рослини не проводилося, монографії в ДФУ на горобини плоди, яка би регламентувала якість української сировини, немає. Тому вивчення БАР сировини горобини звичайної, розробка на її основі субстанцій гіпоглікемічної дії, стандартизація сировини і одержаних субстанцій є актуальними і обґрунтованими.

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

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану МОЗ і НАМН України та є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946).

Мета і завдання дослідження

Метою роботи було фармакогностичне вивчення біологічно активних речовин листя, плодів, квіток і кори горобини звичайної, одержання субстанцій з горобини звичайної листя, розробка нормативної документації на горобини плоди і субстанцію гіпоглікемічної дії.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- проаналізувати та узагальнити дані першоджерел щодо ботанічної характеристики, поширення, дослідження хімічного складу, застосування в медицині та інших галузях рослин роду Горобина;
- провести комплексне фітохімічне вивчення якісного складу та кількісного вмісту БАР у плодах, листі, квітках та корі горобини звичайної;
- одержати з горобини звичайної листя субстанції;

- провести фітохімічне і фармакологічне дослідження субстанцій, одержаних з горобини звичайної листя;
- розробити проєкт монографії ДФУ «Горобини плоди^N»;
- стандартизувати найбільш перспективну субстанцію, одержану з горобини звичайної листя.

Об'єкт дослідження – фармакогностичне дослідження плодів, листя, квіток і кори горобини звичайної та субстанцій, що одержані з листя цієї рослини.

Предмет дослідження – визначення якісного складу та кількісного вмісту БАР у плодах, листі, квітках та корі горобини звичайної та субстанцій, одержаних із листя цієї рослини; встановлення фармакологічної активності субстанцій; стандартизація горобини плодів та найбільш перспективної субстанції, отриманої з горобини звичайної листя.

Методи дослідження

Морфолого-анатомічні – для встановлення морфологічних і анатомічних діагностичних ознак сировини; фізичні – визначення втрати в масі при висушуванні, загальної золи, розчинності; фізико-хімічні – ПХ, ТШХ, ВЕРХ, спектрофотометрія в УФ- та видимій ділянках спектру, АЕС; ГХ-МС; хімічні – реакції ідентифікації БАР; гравіметричний, титриметричний методи аналізу; технологічні; фармакологічні дослідження *in vivo* з використанням стандартних методик; статистичні – обробка результатів експериментів згідно з вимогами ДФУ.

Наукова новизна одержаних результатів

Вперше проведено комплексне фармакогностичне дослідження листя, плодів, квіток і кори горобини звичайної, в яких за допомогою методів ПХ, ТШХ, АЕС, ГХ-МС, ВЕРХ виявлено та ідентифіковано понад 103 речовини, з яких 3 фенольні кислоти, 5 флавоноїдів; 50 карбонових кислот та їх похідних, 5 терпеноїдів, 5 ароматичних сполук, 5 гетероциклічних сполук, 3 вуглеводи, 26 алканів, алкенів і їх похідних, аскорбінову кислоту, а також макро- і мікроелементи. З флавоноїдів – апігенін-7-глюкозид у корі горобини

звичайної виявлено вперше.

У горобини плодах визначено вміст полісахаридів, органічних кислот, аскорбінової кислоти, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, проціанідинів, поліфенолів; у листі горобини звичайної – полісахаридів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів.

Одержано горобини звичайної листя екстракти густі «Сорбафол» і «Феногор», в яких виявлено 4 фенольні кислоти, 4 флавоноїда, 40 карбонових кислот, із яких 11 двоосновних, 1 триосновна, 10 ароматичних, 18 жирних кислот і їх похідних; 16 амінокислот, 5 моносахаридів, 19 макро- і мікроелементів. У екстракті «Сорбафол» визначено вміст гідроксикоричних кислот.

Вперше визначено гостру токсичність і гіпоглікемічну активність екстрактів «Сорбафол» і «Феногор».

Новизну проведених досліджень підтверджено патентом України на корисну модель «Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної» (№ 133831, Бюл. № 8 від 25.04.2019) та патентом України на винахід «Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної» (№ 122521, Бюл. № 22 від 25.11.2020).

Практичне значення одержаних результатів

На основі проведених досліджень розроблено проєкт національної монографії «Горобини плоди^N», який рекомендовано ДП «Українським науковим фармакопейним центром якості лікарських засобів» до внесення в ДФУ 2.5 (акти про участь у розробці проєкту монографії № 11/1486-5 – 11/1489-5 від 09.11.2020 р.).

Розроблено технології та одержано з горобини звичайної листя густі екстракти «Сорбафол» і «Феногор», які є нетоксичними. Встановлено, що горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол» є перспективним для створення на його основі нових гіпоглікемічних засобів.

За результатами досліджень розроблено проєкт МКЯ «Горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол».

Результати досліджень дисертаційної роботи впроваджено в навчальний процес кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету, кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Особистий внесок здобувача

Безпосередньо автором здійснено:

- інформаційний пошук та аналіз наукових першоджерел за темою дисертації;
- встановлено наявність та визначено вміст основних груп БАР листя, плодів, квіток і кори горобини звичайної;
- одержано густі екстракти з горобини звичайної листя, а також водні та спиртові витяги з досліджуваної сировини;
- встановлено наявність і визначено вміст основних груп БАР у густих екстрактах «Сорбафол» і «Феногор»;
- визначено основні показники якості сировини та одержаних екстрактів;
- розроблено проєкт національної монографії «Горобини плоди^N»;
- розроблено проєкт МКЯ «Горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол».

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з Криворучко О. В., Кошовим О. М., Ільїною Т. В., Штриголем С. Ю., Товчигою О. В., Демешко О. В., Стремоуховим О. О., Самойловою В. А., Капелькою І. Г., Баля О. А.

Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у

співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок. Постановка мети та завдань, обговорення одержаних результатів проведені разом з науковим керівником.

Розробку проєкту національної монографії «Горобини плоди^N» проводили у складі групи «Лікарська рослинна сировина» під керівництвом начальника відділу ДФУ д. фарм. н., с. н. с. Котова А. Г. та завідувача сектором «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» к. фарм. н., с. н. с. Котової Е. Е.

Фармакологічні дослідження екстрактів, одержаних із листя горобини звичайної, проведені на базі Навчально-наукового інституту прикладної фармації НФаУ під керівництвом завідувача кафедри фармакології та фармакотерапії НФаУ, професора С. Ю. Штриголя і доцента О. В. Товчиги.

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: IV Международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Шымкент, Республика Казахстан, 9–10 декабря 2016 г.); XXIV International Scientific and Practical Conference Of Young Scientists and Student «Topical Issues of New Drug Development» (Kharkiv, April 20, 2017); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (Харків, 12-13 квітня 2018 р.); 9th International Pharmaceutical Conference «Science and practice 2018» (Kaunas, 9 November 2018); III Міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 14-15 березня 2019 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку» (Харків, 19-20 вересня 2019 р.); Международной

конференции, посвященной 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» «Современные достижения фармацевтической науки и практики» (г. Витебск, 31 окт. 2019 г.); Факультетских чтениях школы фармации, проводимых в рамках международной научно-практической конференции «Дни университета-2019: Педиатрия XXI века. Современные вызовы и тенденции» «Актуальные вопросы фармации: фармацевтическая опека в педиатрии. Дизайн, производство и контроль качества лекарственных средств» (Алматы, 2019 г.); науково-практичній дистанційній міжнародній конференції «Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження» (Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р.).

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 185 сторінках машинописного тексту, складається з анотації, вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 5 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 131 сторінку друкованого тексту. Робота ілюстрована 28 таблицями та 29 рисунками. Список використаних джерел містить 183 найменування, з них 102 кирилицею та 81 латиницею.

РОЗДІЛ 1

БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД І ЗАСТОСУВАННЯ РОСЛИН РОДУ ГОРОБИНА В МЕДИЦИНІ ТА ІНШИХ ГАЛУЗЯХ (Огляд літератури)

1.1 Ботанічна характеристика та розповсюдження деяких представників роду горобина

Серед значної кількості аборигенних та інтродукованих деревних плодових рослин на особливий інтерес заслуговує рід горобина (*Sorbus* L.) родини розові (*Rosaceae* Juss.). Латинська ботанічна назва роду *Sorbus* зустрічалася в працях античних вчених Вергілія і Плінія. В даний час існує декілька версій щодо походження латинської назви рослини. Так, одна з версій вказує на те, що *Sorbus* походить від кельтського слова «*sor*», що в перекладі означає «терпкий» і вказує на смак плодів рослини. Згідно з іншою версією, назва *Sorbus* походить від латинського слова «*sorberi*», що в перекладі означає «поглинати» або «споживати» і вказує на те, що плоди горобини використовували для харчування [4, 10, 22, 42, 78, 87, 116].

Згідно з літературними даними, у 1735 році рід *Sorbus* був представлений у ліннеївській «*Systema naturae*». На основі 2 видів, а саме *S. aucuparia* і *S. domestica*, К. Лінней виділив окремий рід *Sorbus*. У подальшому в систематику цього роду значний вклад внесли: Декандоль О. П., Унгер Ф., Максимович К. И., Хедлунд Т., Шнайдер К. К., Редер А., Гроссгейм О. А., Гурський А. В. та ряд інших вчених.

Рід *Sorbus* нараховує понад 80 (за іншими даними 100–200) видів, чисельні гібриди і форми. Місцем походження й первісного розвитку роду є Східноазіатська флористична область, де зафіксована максимальна кількість видів і примітивних таксонів. Такі регіони, як Кавказ і Балкани, розглядаються як вторинні центри видоутворення роду [4, 62, 80, 156].

Комаров В. Л. і Цинзерлінг Ю. Д. у «Флоре ССРСР» поділяють рід

Sorbus L. на 2 підроди: *Eu-Sorbus* Kom. і *Hahnia* Med. До підроду *Eu-Sorbus* входить 2 секції: *Cormus*, яка включає єдиний вид *S. domestica*, і *Aucuparia* з трьома рядами. До підроду *Hahnia* також входить 2 секції: *Aria* з п'ятьма рядами, які включають 20 видів, та монотипна секція *Torminaria* з видом *S. torminalis* [62].

Питання систематики роду *Sorbus* L. флори України є актуальним і сьогодні. Результати досліджень свідчать про те, що в українській флорі цей рід представлений 2 аборигенними і 35 введеними в культуру видами. На основі проведеного аналізу доступних літературних джерел, українські науковці вважають доцільним поділ роду *Sorbus* L. на 2 підроди і 6 секцій та підтверджують систему роду, що запропонувала Габріелян Е. Ц.

Підрід *Eu-Sorbus*. Секція 1 – *Aucuparia* Medic.: *S. americana* Marsh. – горобина американська; *S. amurensis* Koehne – горобина амурська; *S. aucuparia* L. – горобина звичайна; *S. commixta* Hedl. – горобина змішана; *S. decora* (Sarg) Schneid. – горобина красива; *S. discolor* (Maxim.) Maxim. – горобина двокольорова; *S. esserteauiana* Koehne – горобина Есертто; *S. gracilis* (Sieb et Zucc) Koch. – горобина витончена; *S. koehneana* Schneid. – горобина Кене; *S. matsumurana* (Mak.) Koehne – горобина Мацумори; *S. minima* (Ley) Hedl. – горобина маленька; *S. pohuaschanensis* (Hance) Hedl. – горобина погуашанська; *S. reflexipetala* Koehne – горобина відігнутопелюсткова; *S. rehderiana* Koehne – горобина Редера; *S. rufo-ferruginea* (Schneid) Schneid. – горобина рудо-іржава; *S. sambucifolia* (Cham. et Schlecht.) M. Roem. – горобина бузинолиста; *S. sargentiana* Koehne – горобина Сержентова; *S. serotina* Koehne – горобина пізня; *S. sibirica* Hedl. – горобина сибірська; *S. tianschanica* Rupr. – горобина тяньшанська.

Підрід *Hahnia* Med. Секція 2 – *Lobatae* Gabr.: *S. caucasigena* Zinserl. – горобина кавказька; *S. fennica* (Kalm.) Fries. – горобина фінська; *S. thuringiaca* (Ise) Fritch. – горобина тюрінгська. Секція 3 – *Aria* Pers.: *S. aria* (L.) Crantz. – горобина арія; *S. graeca* (Spach) Lood. et Schauer. – горобина грецька; *S. hybrida* L. – горобина гібридна; *S. intermedia* (Ehrh.) Pers. – горобина

проміжна; *S. latifolia* (Lam.) Pers. – горобина широколиста; *S. mougeottii* Soy et Gord. – горобина Мугеоттова; *S. subtomentosa* (Albov) Zinserl – горобина слабкоповстяна; *S. turkestanica* (Franch.) Hedl. – горобина туркестанська; *S. umbellata* (Desf.). Fritch. – горобина парасолькоподібна. Секція 4 – *Micromeles* (Decne) Rehd.: *S. albovii* Zinserl. – горобина Альбова; *S. alnifolia* (Siebold et Zucc.) Koch – горобина вільхолиста; *S. armeniaca* Hedl. – горобина армянська. Секція 5 – *Torminaria* (DC.) Dumort.: *S. torminalis* (L.) Crantz. – горобина глоговина (берека). Секція 6 – *Cormus* (Spach.) Boiss.: *S. domestica* L. – горобина домашня [62].

У Дендрофлорі України [10] наведено 2 підроди роду *Sorbus* L.: *Eu-Sorbus* Kom. і *Hahnia* Medic. Горобини з підроду *Eu-Sorbus* Kom. мають непарноперисті, пилчасті по краю листочки; плодолистки на 2/3 зростаються з гіпантієм у нижній частині, зверху вільні; стовпчиків 2–5 (частіше 3), вільних; стінки гнізд перепончасті, рідше – тверді. Основними представниками підроду *Eu-Sorbus* Kom. є: *S. domestica* L. – горобина домашня (горобина садова або великоплідна); *S. sambucifolia* (Cham. et Schlecht.) M. Roem. – горобина бузинолиста; *S. pohuaschanensis* (Hance) Hedl. – горобина погушанська; *S. aucuparia* L. – горобина звичайна; *S. sargentiana* Koehne – горобина Сержентова; *S. koehneana* Schneid. – горобина Кене; *S. sibirica* Hedl. – горобина сибірська; *S. amurensis* Koehne – горобина амурська; *S. serotina* Koehne – горобина пізня; *S. americana* Marsh. – горобина американська; *S. tianschanica* Rupr. – горобина тяньшанська.

Горобини з підроду *Hahnia* Medic. мають прості цілісні листки, зубчасто-лопатеві або лопатеві, інколи одна пара лопатей зовсім відокремлена; стовпчиків 2–5, зрослих біля основи; стінки гнізд тверді. Основними представниками підроду *Hahnia* Medic. є: *S. albovii* Zinserl. – горобина Альбова; *S. velutina* (Albov) C. K. Schneid. – горобина оксамитова; *S. intermedia* (Ehrh.) Pers. (*S. scandica* Fr.) – горобина проміжна; *S. aria* (L.) Crantz. – горобина арія (горобина круглолиста); *S. torminalis* (L.) Crantz. – горобина глоговина (берека); *S. latifolia* (Lam.) Pers. (*S. aria* × *S. torminalis*) –

горобина широколиста; *S. graeca* (Spach) Lood. et Schauer. – горобина грецька [10, 62, 76, 117].

Серед вищенаведених видів роду горобина, найбільше медичне значення мають види підроду *Eu-Sorbus* Kom., від якого походять більшість різновидів, які формують сучасний асортимент культивованих форм і сортів рослини. Види, що входять до підроду *Hahnia* Medic., мають більш декоративне значення і використовуються переважно у декоративному садівництві.

Найбільш поширеним видом є горобина звичайна (*Sorbus aucuparia* L.), яка має синоніми: *Mespilus aucuparia* Scop., *Pyrus aucuparia* Gaertn., *Aucuparia silvestris* Med., *Pyrenia aucuparia* Clairville, *Sorbus caucasigena* Kom., *Sorbus anadyrensis* Kom., *Sorbus polaris* Koehne. Плоди горобини звичайної дуже люблять птахи, особливо дрозди. Із цим, ймовірно, і пов'язана її видова назва – від латинського слова *aucupari*, що означає «ловити птахів». Народні назви: богорошник, грабина, рабина, скорух.

Дерево або кущ до 15 – 20 м заввишки з гладкою сірою корою. Молоді пагони оливково-зелені або червонувато-бурі, голі і покриті зверху блискучою сіруватою плівкою. Часто зустрічаються укорочені пагони. Кінцеві бруньки великі, завдовжки 8 – 15 мм, подовжено-конічні, чорнувато-бурі, у основи оточені сильно розвиненими листовими подушками. Луски бруньок чорнувато-бурі, волосисті, щільно прилягають, неначе склеєні. Бічні бруньки менших розмірів і менш волосисті, сидять в пазухах сильно розвинених листових подушок. Листовий рубець вузький, з 5 слідами, але зовні видні найчастіше тільки 3 сліди. Серцевина вузька, округло-вуглувата, біла, з рудуватим відтінком. Деревина розсіяно-пориста, з широкою червонувато-білою заболонню і червонувато-бурым ядром, тверда, важка і блискуча. Листя непарноперисте з 9 – 17 майже сидячих листочків, в контурі довгасто-ланцетне, 10 – 20 см завдовжки. Листочки 3 – 5 см завдовжки, гострі, пильчасті, голі або опушені, зверху матові, знизу світло-зелені. Прилистки до 10 мм завдовжки, нерівнозубчасті або цілокраї. Суцвіття –

щиток, 5 – 10 см у поперечнику, квітки суцвіть – 6 – 15 мм у поперечнику. Квітки двостатеві, правильні, п'ятипелюсткові з подвійною оцвітиною. Нижні частини чашолистків зрощені в квіткову трубку (гіпантій), яка у свою чергу зростається з укладеною в неї зав'яззю. Верхня частина чашки представлена зубцями чашолистків, що зберігаються при плодах або обпадають. Пелюстки білі, блідо-жовті або рожеві, чисельні, вільні. Тичинок 15 – 20, розташованих по краю гіпантія. Зав'язь нижня або напівнижня, з 2 – 5 плодолистиків, зовнішні сторони яких зрослися з гіпантієм, тоді як внутрішні краї із стовпчиками, що відходять вгору, зростаються частково. Зав'язь з 2 – 5 гніздами, що містять по 2 сім'ябруньки. Цвіте у травні – червні. Плоди, переважно кулясті, деколи яблукоподібні, по 1,5 см у діаметрі, яскраво-червоні, в деяких сортах оранжеві або жовтуваті, блискучі, з чашечкою, яка має п'ять малопомітних зубчиків, з 2 – 7 довгастими, злегка серпоподібнозігнутими, гладкими насінинами із загостреними кінцями; гіркі або терпкі на смак, важать 0,5 – 0,6 г. Дозрівають плоди в залежності від географічного поширення, переважно, з першої половини вересня до жовтня, а подекуди і до кінця листопада, і, зазвичай, висять на деревах до початку зими. У посушливі роки плоди горобини можуть дозрівати раніше вказаних термінів. Горобина звичайна є довговічною рослиною, вік якої може досягати до 100 – 150, а інколи і до 200 років [10, 81].

Ареал роду горобина переважно охоплює країни помірного поясу північної півкулі. Ареал горобини звичайної охоплює північну частину євразійського материка. Оскільки вона є морозостійкою рослиною, то її ареал деколи може заходити навіть за полярне коло [22, 90, 92, 117].

У дикорослих фітоценозах горобина звичайна росте поодинокі і невеликими групами на полянах лісів, уздовж ярів, на узліссі листяних, мішаних і хвойних лісів, деколи може утворювати суцільні зарості. В лісовій зоні добре росте на дерново-підзолистих і сірих лісових ґрунтах, краще росте на легких і середніх суглинистих ґрунтах, проте на бідних, піщаних і суглинистих ґрунтах росте погано. Природні запаси сировини горобини

звичайної в країнах Східної Європи є значними. Особливо багато горобини звичайної у західних областях України (Львівській, Тернопільській, Хмельницькій, Рівненській, Волинській). В Україні щорічно можна заготовляти десятки тон плодів горобини, в першу чергу в Поліссі і Карпатах [10, 63].

Горобина домашня має великий ареал зростання, що охоплює західну, південну і південно-східну частини Європи, Малу Азію та Атлаські гори в Північній Африці. В дикому виді ця горобина зустрічається також в Криму. Зростає поодинокі або групами в підліску широколистяних лісів. Світлолюбний мезофіт, мезотерм, мезотроф, нерідко асектатор підліску. Завдяки досить великим, красивим і смачним плодам, горобина домашня введена в культуру ще в Стародавній Греції в IV столітті до н. е. Плоди *S. domestica* великі, можуть бути яблуко- та грушоподібної форми, масою від 15 до 25 г. Однак, їм після збору необхідний режим зберігання при знижених плюсових температурах, тоді вони стають приємними на смак. *S. domestica* здатна до регулярного плодоношення, і має високу продуктивність 100 – 200 (в умовах Болгарії до 400) кг плодів з дорослого дерева. Основна проблема, яка обмежує поширення цього виду – недостатня стійкість до морозів. Відомо, що основні регіони вирощування *S. domestica* – це: Північний Кавказ, Крим, Україна (Закарпаття, південні області). До негативних показників *S. domestica* слід також віднести її високорослість, пізне плодоношення, нездатність схрещуватися з іншими видами горобини. Селекційна робота з горобиною домашньою ведеться в Україні, Росії, Болгарії, Сербії, Італії та Британії. Існує програма EUFORGEN, яка проводиться Міжнародним інститутом генетичних ресурсів рослин по збереженню горобини домашньої. В Австрії, Німеччині, Франції, Чехії, Швейцарії, Болгарії, Угорщині, Іспанії, Італії, Сербії, Словаччині з місцевих популяцій були відібрані і збережені десятки перспективних зразків горобини домашньої як джерела цінного генетичного матеріалу. В Нікітському ботанічному саду зібрано понад 50 місцевих кримських зразків,

деяким із них дани назви: Лимонна, Малоріченська, Рясна, Рубінова, Соковита, Таврида. В Україні на Артемівській дослідній станції розсадництва отримані сорти горобини домашньої – Рум'яна Грушка і Рум'яне Яблучко.

Горобина звичайна через гіркий смак плодів довго не вводилася в культуру, тому що вживання її плодів можливо тільки після проморожування або переробки. В даний час вона також знаходить харчове застосування. У Росії з солодкоплодної форми горобини звичайної – горобини Невежинської були отримані нові сорти – Кубова, Жовта і Червона. У Чехії (район Моравії) на початку XIX століття були відібрані природні сіянці горобини звичайної без гіркоти плодів, кисло-солодкого смаку (горобина моравська). У німецькій фірмі Шпета з 1898 почалося розмноження на основі моравської горобини великоплідних сортів Россика і Россика майор. Селекція з моравською горобиною проводиться і в Плодово-ягідному інституті в Дразднях у Чехії. Солодкоплодні форми і сорти горобини звичайної вирощують в Центральній і Східній Європі, США. Вчені багатьох країн продовжують займатися питаннями інтродукції та селекції горобин, виводити нові сорти, міжвидові і міжродові гібриди [4, 80, 92, 138].

Інші види горобини мають переважно власні ареали поширення на території Європи і Азії. Для флори Західного і Східного Сибіру, Далекого Сходу та Камчатки типовими є горобина сибірська – *S. sibirica* Hedl. та горобина амурська – *S. amurensis* Koehne. Там також розповсюджені горобина бузинолиста – *S. sambucifolia* (Cham. et Schlecht.) M. Roem і горобина камчатська – *S. kamtchatiensis* Kom., які за ботанічними ознаками є схожими з горобиною бузинолистою. В деяких ботанічних джерелах вказані види об'єднують і вважають одним видом *S. sambucifolia* (Cham. et Schlecht.) M. Roem. Проте, згідно з сучасною ботанічною систематикою, горобина бузинолиста, горобина амурська і горобина камчатська є окремими самостійними видами. В Прибалтиці та в скандинавських країнах поширені такі види горобини, як горобина швецька (або горобина проміжна) – *S. intermedia* (Ehrh) Pers. і горобина фінська – *S. fennica* (Kalm.) Fries, що

мають високу морозостійкість і привабливу декоративність. В країнах середньої і південної Європи найбільш поширеною є горобина приземиста – *S. chamaemesfilus* (L.), що відрізняється від інших видів горобини раннім дозріванням плодів, які можуть застосовуватися як повноцінний замітник плодів горобини звичайної. У балканських країнах горобина приземиста культивується з 1683 року.

Для потреб фармацевтичної промисловості як лікарську рослинну сировину використовують висушені плоди горобини звичайної. Горобини плоди (*Sorbi fructus*) є офіційною сировиною в Україні, Росії, Білорусі, Польщі, Словаччині [8, 9, 22, 30].

Плоди горобини звичайної заготовляють у період їх повного дозрівання із дикорослих і культивованих рослин, переважно, у вересні – листопаді. При заготівлі зривають щитки разом із плодами. З низьких дерев плоди зривають руками. Для збору плодів із високих дерев використовують секатори. Не дозволяється вирубувати деревця та зривати окремі гілки з плодами. Зібрані плоди складають у кошики, відра або миски. Плоди з щитками, що зібрані до заморозків, очищують від гілок, листків і плодоніжок. Плоди, що зібрані після заморозків, залишають у щитках і деякий час витримують на холоді, після чого очищують і складають у кошики. Такі плоди можна зберігати впродовж зими у прохолодному приміщенні, або у замороженому вигляді. Урожайність свіжозібраних плодів горобини становить від 3 до 30 кг з дерева. Перед сушінням сирі плоди сортують, відкидають плодоніжки і сторонні домішки. Сушать сировину в сушарках або печах при температурі до 60 °С, а також у добре провітрюваних приміщеннях. В теплу погоду плоди горобини можна сушити під наметами на повітрі, розкладаючи їх тонким шаром на тканині, час від часу періодично перемішуючи. Висушені плоди не повинні бути вицвілими або почорнілими. Упаковують плоди горобини у паперові або полотняні мішки і зберігають у сухому приміщенні з гарною вентиляцією [22, 60, 66].

1.2 Хімічний склад

Вуглеводи. У плодах горобини звичайної виявлені вуглеводи та споріднені сполуки: цукри 5,1–7,5 % (до 14,6 %): глюкоза (3,8 %), фруктоза (4,3 %), сахароза (0,7 %), галактоза, арабіноза, L-сорбоза, 1-бензоїлглюкоза; спирти сорбіт і маніт; пектинові речовини; глюкозид *n*-сорбінової кислоти (зумовлює гіркість плодів), 3-(β -D-глюкопіранозилокси)-5-гексанолід. У недозрілих плодах рослини вміст пектинових речовин досягає 12 %, а в дозрілих – зменшується до 6 %, у перерахунку на суху сировину. Із пектинових речовин у плодах горобини виявлено протопектин, пектин, пектову кислоту та її солі. У листі горобини звичайної виявлені глюкоза і фруктоза [10, 20, 24, 28, 42, 43, 60, 66, 70, 71, 76, 77, 78, 94, 158].

У плодах горобини сибірської містяться вуглеводи: глюкоза, сахароза; спирти: маніт, сорбіт, у плодах горобини грецької – вуглеводи (9,8 %) [77, 82].

Водорозчинні полісахаридні фракції, що виділені з калусів стовбура горобини звичайної, належать до групи арабіногалактану і сорбану, який складається із залишків 1,4- α -D-галактопіранозилуронової кислоти. Нейтральні цукри представлені залишками 1,6-зв'язаної галактопіранози та 1,5-зв'язаної арабінофуранози, а також залишками 1,6-зв'язаної маннопіранози та 1,4-зв'язаної глюकोпіранози та ксилопіранози [154].

Органічні кислоти. Загальна кислотність плодів горобини звичайної становить 2,75–3,9 %. У плодах містяться яблучна (2,8 %), бурштинова, фумарова, маленова, виноградна, лимонна, щавлева, винна, сорбінова (0,02 %), *n*-сорбінова (зумовлює гіркий смак плодів) кислоти [20, 66, 75, 89].

У плодах горобини домашньої, горобини бузинолистої і горобини проміжної міститься *n*-сорбінова кислота, у плодах горобини тяньшанської – бензойна кислота, у плодах горобини кавказької – винна, лимонна, бурштинова і *n*-сорбінова кислоти, у плодах горобини сибірської – лимонна, щавлева і винна кислоти [76, 77, 82, 171, 172].

Фенольні сполуки. Фенолкарбонові кислоти та їх похідні у плодах горобини звичайної (близько 285 мг%) представлені хлорогеновою, ізохлорогеновою, неохлорогеновою, кофейною, феруловою, кумаровою, ваніліною, коричною, галовою, саліциловою кислотами, є естери *n*-кумароїлхінної і ферулоїлхінної кислот. В процесі дозрівання плодів вміст аліфатичних кислот у них зменшується, а ароматичних – збільшується. Наприклад, вміст кофейної кислоти збільшується з 0,39 до 0,63 %. У листі горобини звичайної з фенолкарбонових кислот та їх похідних містяться кофейна, хлорогенова, ізохлорогенова, неохлорогенова і *n*-кумарова кислоти, у квітках – хлорогенова кислота [23, 28, 168].

У плодах горобини виявлені катехіни (до 412 мг%): (–)-епігалокатехін, (–)-епікатехінгалат, (–)-епігалокатехінгалат; антоціанідини: ціанідин; антоціани (795 мг%): 3-арабінозид ціанідину, 3-галактозид ціанідину, 3,5-диглюкозид ціанідину; лейкоантоціанідини: лейкоціанідин; кверцетин, ізокверцитрин, гіперозид, кверцитрин, мератин, рутин, байкалін, апігенін, кемпферол, скутелярин; дубильні речовини (0,3 %). Кількість флавоноїдів у плодах горобини звичайної (у перерахунку на рутин) становить 0,11 – 0,14 %, а в плодах горобини амурської – 0,14 – 0,27 % [20, 23, 28, 42, 60, 66, 76, 94, 97, 142, 152, 155, 158].

У листі горобини звичайної містяться: антоціани: ціанідин; флавоноїди: кверцетин, рутин, ізокверцитрин, гіперозид, кверцитрин, астрагалін, спіреозид, кверцетин-3- β -софорозид, кемпферол, кемпферол-3- β -софорозид, мератин, сексангуларетин 3-О- β -D-глюкопіранозид, 3,5,7,4'-тетрагідрокси-8-метоксифлавоон-3- β -глюкозид, у гідролізаті: кверцетин, кемпферол, сексангуларетин, ізорамнетин; (–)-епікатехін; проціанідин В₁, проціанідин В₂ [24, 25, 42, 94, 151, 152, 180].

У квітках горобини звичайної з флавоноїдів виявлені: кверцетин, сексангуларетин, кемпферол, ізорамнетин, глікозиди кверцетину та сексангуларетину з домінуючим ізокверцитрином (кверцетин-3-глюкозид), астрагалін, гіперозид, спіреозид, кверцетин-3- β -софорозид, 3,5,7,4'-

тетрагідроксиг-8-метокси-флавоно-3- β -глюкозид; катехіни, проантоціанідини. У ядровій деревині горобини звичайної є катехіни, лігнани: аукупарин, метоксіяукупарин; у корі – дубильні речовини [152, 174]. Фенольні сполуки деяких представників роду горобина наведені в табл. 1.1.

Як видно з аналізу джерел літератури, з флавоноїдів майже в усіх досліджуваних видах горобини переважають флавоноли – похідні кемпферолу і кверцетину, флавоноли – похідні апігеніну і лютеоліну переважають лише в листі горобини глоговини і горобини проміжної.

Ліпіди. В насінні плодів горобини звичайної міститься до 22 % жирної олії, в якій переважають олеїнова, лінолева, пальмітинова, ліноленова кислоти. Також виявлені фосфоліпіди (70,4 мг%): кефалін, лецитин; стероїди: β -ситостерин. У насінні плодів береки містяться жирні кислоти: міристинова, пальмітинова, пальмітолеїнова, стеаринова, олеїнова, лінолева, ліноленова [20, 42, 76 – 78].

Вітаміни. В плодах горобини звичайної виявлені: каротиноїди: α -каротин – 6,2 мг %, β -каротин – 3,8 мг%, нео- β -каротин – 3,3 мг%, полікопін – 1,4 мг% (у перерахунку на суху сировину), *цис*- і *транс*-криптоксантини, рубіксантин, віолаксантин, зеаксантин, 5,6-моноепоксид α -каротину, 5,6-моноепоксид β -каротину, мутатоксид, фітофлуїн, аутоксид, лютеїн, лікопін; аскорбінова кислота – 40 – 160 мг%, токоферолі – 0,8 – 5,1 мг%, філохінон – 0,4 мг%, фолієва кислота – 0,18 – 0,25 мг%, рибофлавін – 0,05 – 0,8 мг%, тіамін, нікотинова кислота. Плоди горобини з жовто-оранжевим забарвленням містять 42,9-54,7 мг% каротиноїдів (у перерахунку на β -каротин), а в плодах із темно-червоним забарвленням їх – 54,6-56,7 мг%. Динаміка накопичення аскорбінової кислоти у плодах горобини суттєво залежить від кліматичних і географічних факторів. Так, значне накопичення її у сировині спостерігається наприкінці вегетаційного періоду, переважно у дощове літо з середньостатистичною температурою – до 18 °С. Листя горобини звичайної містить 200-220 мг% аскорбінової кислоти і каротиноїди [4, 20, 66, 104, 157, 168].

Фенольні сполуки деяких представників роду горобина

Вид	Орган	Хімічний склад	Література
1	2	3	4
Г. домашня	Плоди	Флавоноїди: глікозиди кемпферолу і кверцетину. Фенолкарбонові кислоти.	[43, 77, 159, 169, 171, 172]
	Листя	Катехіни: (–)-епікатехін. Флавоноїди: кверцетин, рутин, кверцитрин, кверцетин-3-О-глюкозид; кверцетин 3-О-(2"-О-β-d-глюкопіранозил)-α-l-рамнопіранозид; кверцетин 3-О-(2"-О-β-d-ксилопіранозил)-α-l-рамнопіранозид. Фенолкарбонові кислоти: хлорогенова. Проціанідини.	
Г. глоговина	Плоди	Флавоноїди.	[76, 77]
	Листя	Флавоноїди: астрагалін, вітексин, кверцетин, кверцетин-3-β-софорозид, кемпферол-3-β-софорозид, апігенін-7-глюкозид, апігенін-7-О-софорозид, лютеолін-4'-О-глюкозид, лютеолін-7-глюкозид, лютеолін-7-О-диглюкозид, лютеолін-7-О-рамнозилглюкозид, гіперозид, ізокверцитрин. Фенолкарбонові кислоти: хлорогенова, <i>n</i> -кумарова, кофейна.	[76, 77]
Г. арія	Плоди	Фенолкарбонові кислоти: хлорогенова, неохлорогенова.	[168]
	Листя	Флавоноїди: ізорамнетин 3-О-β-глюкопіранозид, астрагалін, ізокверцитрин, гіперозид, кемпферол 3-О-β-глюкопіранозид-7-О-α-рамнопіранозид, кверцетин 3-О-β-глюкопіранозид-7-О-α-рамнопіранозид, рутин; у гідролізаті: кверцетин, сексангуларетин, кемпферол, ізорамнетин. Фенолкарбонові кислоти: хлорогенова, неохлорогенова.	[150, 152]

1	2	3	4
Г. змішана	Плоди	Флавоноїди: кверцетин, кверцетин-3-глюкозид, кверцетин-3-глюкозилксилозид, лютеолін-7-глюкозид, гіперозид, рутин, неосакуранін. Фенолкарбонові кислоти: хлорогенова, неохлорогенова.	[76, 77, 103, 179]
	Листя	Флавоноїди: гіперозид, ізокверцитрин, рутин, кверцетин 3-О-софорозид, сексангуларетин 3-О-β-D-глюкопіранозид. Фенолкарбонові кислоти: хлорогенова, ізохлорогенова, неохлорогенова.	[76, 77, 130, 151, 179, 182]
	Кора	Катехіни: катехін-7-О-β-D-ксилопіранозид, катехін-7-О-β-D-апіофуранозид. Лігнани: 3α-О-β-D-ксилопіранозид (–)-ліонірезінолу.	
Г. бузинолиста	Листя	Флавоноїди: астрагалін, кверцетин-3-β-софорозид, кемпферол-3-β-софорозид, гіперозид, ізокверцитрин. Фенолкарбонові кислоти: хлорогенова.	[43, 76, 77]
	Плоди	Флавоноїди.	
Г. двоколько- рова	Листя	Флавоноїди: астрагалін, кверцетин-3-β-софорозид, кемпферол-3-β-софорозид, гіперозид, ізокверцитрин.	[77]
Г. грецька	Листя	Флавоноїди: рутин, 4`-метоксикверцетин-3-О-софорозид. Фенолкарбонові кислоти: хлорогенова.	[43]
Г. проміжна	Плоди	Флавоноїди.	[77, 78, 147, 152]

Продовж. табл. 1.1

1	2	3	4
	Листя	Флавоноїди: астрагалін, вітексин, кверцетин-3- β -софорозид, кемпферол-3- β -софорозид, лютеолін-7-глюкозид, лютеолін-4'-О-глюкозид, лютеолін-7-О-диглюкозид, лютеолін-7-О-рамноглюкозид, гіперозид (?), ізокверцитрин (?). У гідролізаті: кверцетин, сексангуларетин, кемпферол, ізорамнетин. Катехіни. Фенолкарбонові кислоти та їх похідні: хлорогенова, ізохлорогенова.	
	Квітки	Флавоноїди: сексангуларетин, кверцетин, сексангуларетин 3-О- β -D-глюкопіранозид, ізорамнетин 3-О- β -D-глюкопіранозид, гіперозид, ізокверцитрин, авікулярин, рутин, кверцетин-3-О- β -софорозид.	
	Деревина	Лігнани: лігнанксилозид.	[77]
Г. тяньшанська	Плоди	Флавоноїди: гіперозид, кверцетин-3-О-глюкозид. Фенолкарбонові кислоти: хлорогенова.	[77, 114, 123]
	Листя	Фенолкарбонові кислоти: хлорогенова, ізохлорогенова. Катехіни. Флавоноїди: гіперозид, ізокверцитрин, астрагалін, кверцетин 3- β -софорозид, кемпферол 3- β -софорозид, кверцетин 3-О-(6"-О-манойл)- β -D-глюкозид, кемпферол 3-О-(6"-О-манойл)- β -D-глюкопіранозид, хірзутрин.	
	Гілки	Флавоноїди: гіперозид, хірзутрин. Фенолкарбонові кислоти.	

1	2	3	4
Г. кавказька	Плоди	Флавоноїди: кверцетин, ізокверцитрин. Фенолкарбонові кислоти: хлорогенова, кофейна.	[76]
Г. погуашанська	Листя	Флавоноїди: астрагалін, кверцетин-3- β -софорозид, кемпферол-3- β -софорозид.	[76]
Г. красива	Листя	Флавоноїди: гіперозид, ізокверцитрин, рутин, кверцетин 3-О-софорозид, сексангуларетин 3-О- β -D-глюкопіранозид. Фенолкарбонові кислоти: хлорогенова.	[151]
Г. вільхолиста	Плоди	Флавоноїди.	[77]
	Листя	Флавоноїди: кверцетин 3- β -софорозид, кемпферол 3- β -софорозид, гіперозид, ізокверцитрин.	
Г. сибірська	Плоди	Флавоноїди: кверцетин, кверцитрин, рутин. Феноли: пірогалол, пірокатехін.	[82]
	Листя	Флавоноїди: рутин, астрагалін. Фенолкарбонові кислоти: хлорогенова.	[43]

Визначено вміст каротиноїдів у ліпофільних екстрактах листя горобини звичайної, горобини арії та береки. Він становить (у перерахунку на β -каротин) 141,09 мг/г, 161,01 мг/г та 344,43 мг/г відповідно [1].

У плодах горобини бузинолистої, горобини сибірської, горобини проміжної, горобини грецької і горобини домашньої виявлені вітамін С і каротиноїди, у плодах горобини кавказької – α -каротин, β -каротин, γ -криптоксантин, лікопін, віолаксантин, рубіксантин [28, 77, 82, 171, 172].

Азотовмісні сполуки. Загальний вміст білків у свіжих плодах горобини звичайної досягає 1,4 %. У плодах горобини звичайної ідентифіковано до 18 амінокислот, зокрема такі, як лізин, гістидин, аргінін, треонін, цистеїн, гліцин, тирозин, α -аланін, аспарагінова кислота та ін. У плодах горобини звичайної міститься 2,3 – 10,3 мг/100 г амігдаліну (переважно у насінні). У плодах, листі, корі і коренях горобини змішаної, у листі і гілках горобини бузинолистої виявлені ціаногенні сполуки: пруназин і амігдалін [4, 20, 43, 159].

У листі горобини звичайної і горобини домашньої виявлено 15 амінокислот, у тому числі 9 незамінних. Сумарне співвідношення незамінних амінокислот становить 47,67 %, та 46,32 % від загальної кількості амінокислот. У листі обох видів горобини в значній кількості містяться глютамінова, аспарагінова кислоти, аланін, лейцин та валін. Вміст білка в листі горобини звичайної та горобини домашньої складає 14,73% та 12,36% (на суху вагу) відповідно [44].

Ізопреноїди. У квітках горобини звичайної виявлені α -амірин, урсолова кислота; β -ситостерин. У плодах горобини звичайної виявлені: лупеол, урсолова і олеанолова кислоти (1,58-1,91 %); β -ситостерин; сапоніни; у корі – лупеол, бетулін, 2,3-дигідроксибетулін [20, 42, 66, 71, 77, 78].

В ефірній олії та хлороформних екстрактах листя горобини звичайної горобини арії та береки виявлено від 26 до 70 компонентів, основними з яких є бензальдегід, сквален і фітол [49].

У корі горобини змішаної містяться тритерпеноїди: лупеол, лупенон, урсолова і 3β -ацетоксиурсолова кислоти; стероїди: β -ситостерин, β -ситостерил-3-О- β -глюкопіранозид; у корі горобини красивої – 23,28-дигідроксиурсан-12-ен- 3β -кофеїл, 23,28-дигідроксилупан-20(29)-ен- 3β -кофеїл, 3β , 23,28-тригідрокси-12-урсен [112].

У плодах горобини погушанської є тритерпеноїди: 3β -ацетокси-урс-12-ен-28-ова кислота, помолової кислоти 3β -ацетат, помолова кислота, урсоловий альдегід, еускафова кислота, 3β -ацетокси-урс-11-ен-28,13-олид, бетулінова кислота [161].

Плоди береки містять стероїди: холестерин, кампестерин, стигмастерин, ситостерин; гілки і листя – урсолову кислоту; плоди горобини тяньшанської – урсолову і 2- α -гідроксиурсолову кислоти [77, 114, 123].

Мінеральні речовини. Плоди горобини є важливим джерелом мікро- і макроелементів. У плодах горобини звичайної містяться: Mn – 10-15 мг, Cr – 0,03-0,05мг, Ba – 0,3-5 мг, Si – 0,3мг, Ti – 0,1- 0,5мг, Ca – 5-7мг, P – 7-12 мг, K, Na, Mg, Cu, Fe, J, Al, Si, Ni, Sr, Pb, Ag, Ba, Be, V, Li, Zr, Zn, Sn, Co, Mo [20, 66, 71, 76, 89, 97, 144].

1.3 Застосування в медицині та інших галузях

Горобина відома людству з давніх часів як харчова і лікарська рослина. Древні греки і римляни відмічали, що плоди горобини мають в'яжучі і дезінфікуючі властивості. Слов'яни ще за часів Київської Русі вживали квашені плоди горобини з медом і горобинову пасту, а плоди, зібрані після заморозків, додавали до хліба, щоб у нього був пікантний смак. Господині, щоб зберегти воду від псування, клали у посуд із нею гілочки горобини, після чого вода набувала приємного запаху і, завдяки антибактеріальним властивостям, могла зберігатися впродовж декількох місяців.

У традиційній медицині настій, відвар або сік плодів горобини звичайної застосовують при гепатиті, гепатохолециститі, утрудненому

жовчовиділенні, при розладах травлення, хронічному закріпі. Застосовують їх також при ЦД, подагрі, ожирінні і сольовому діатезі як засіб, що нормалізує обмін речовин [20, 64].

Настій плодів горобини звичайної застосовують як сечогінний засіб при утворенні каменів у нирках і сечових шляхах, при циститах і запальних захворюваннях сечового міхура. Сироп із соку свіжих плодів горобини використовують як діуретичний і гемостатичний засіб при гломерулонефритах. Сорбінова і парасорбінова кислоти, що містяться в горобині, мають антибіотичну дію, гальмують ріст мікроорганізмів і грибів.

Настій плодів горобини звичайної застосовують при захворюваннях серцево-судинної системи: аритмії, гіпертонії, серцевій недостатності, болях в серці, порушеннях коронарного кровообігу; при спазмах судин головного мозку. Застосовують горобину звичайну при ревматизмі, атеросклерозі, загальній слабкості.

Плоди горобини проявляють естрогенну дію. Є дані щодо застосування настою, відвару або соку плодів горобини як кровоспинного засобу при маткових кровотечах у клімактеричному періоді, при зупинці менструацій і, навіть, як протизаплідний засіб.

В індійській медицині плоди горобини застосовують при цинзі, геморої, хворобах печінки, в Польщі – при діабеті, в Болгарії – при ревматизмі і нефролітіазі, в Угорщині й Австрії ними лікують дизентерію, в Норвегії – водянку, а також використовують зовнішньо у вигляді припарок для лікування відкритих ран і переломів [20, 136].

В офіційній медицині плоди горобини застосовують як лікувальний і профілактичний засіб при станах, що супроводжуються вітамінною недостатністю, вони входять до складу вітамінного збору № 2 (шипшини плоди і горобини плоди 1:1), а також багатьох спеціальних харчових продуктів – дієтичних добавок, фіточаїв. Глазовіт (чорниці плоди, горобини плоди, кропиви листя, кульбаби корені) покращує адаптацію до темряви, стимулює синтез «білка нічного зору»; Фторовіт (люцерни трава, горобини

плоди) – має адаптогенну, кардіотонічну дію, сприяє нормалізації обмінних процесів. Ліпофільні комплекси з плодів горобини мають протизапальну, гастропротекторну, ранозагоювальну і радіопротекторну дії [19, 50, 61, 65, 81, 89, 96, 136].

Шляхом комплексної переробки плодів горобини звичайної харківськими науковцями (Носовська Т. Д., Прокопенко О. П. та ін.) були виділені гідрофільний і ліпофільний концентрати. На основі останнього розроблено Сорбілін – масляний каротиноїдвмісний препарат репаративної, протизапальної та гастропротекторної дії і супозиторії із сорбіолом (олією горобини звичайної). Науковцями Рязанського медичного інституту ім. акад. І. П. Павлова в експериментах на кролях вивчено дію олійного концентрату з плодів горобини звичайної, який є ефективним стимулятором репаративних процесів при опіках рогівки. АТ Галичфарм випускав сироп Фламідар полівітамінної, гепатопротекторної, сечогінної, тонізуючої дії, розроблений науковцями (Попович В. П. та ін.) Львівського національного медичного університету ім. Д. Галицького. Фламідар є сумарним поліекстрактом із плодів горобини звичайної, що містить каротиноїди, біофлавоноїди, есенціальні жирні кислоти, пектини та інші речовини. «Поліекстракт горобини» з плодів горобини звичайної рекомендовано вживати при атеросклерозі, ангіопатіях, ішемічній хворобі серця, захворюваннях шлунково-кишкового тракту та печінки [19, 21, 29, 42, 50, 61, 65, 72, 73, 75, 81, 96].

Настої листя та квіток горобини звичайної мають сечогінні та послаблюючі властивості [21, 64, 66, 75]. В експерименті екстракти з листя і плодів горобини звичайної мають антиоксидантну, протизапальну, противиразкову, антимікробну, протипухлинну активність [19, 70, 104, 120, 149, 153, 155, 165].

На базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом завідувача кафедри фармакології та фармакотерапії НФаУ, професора С. Ю. Штриголя визначено урикозуричну та діуретичну активності екстракту з плодів горобини

звичайної [68, 69]. Визначення протизапальної активності горобини звичайної листя екстракту густого водного проводили на базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом професора кафедри фармакології НФаУ С. М. Дроговоз. Встановлено, що на моделі некротичних виразок у щурів горобини звичайної листя екстракт густий виявляє більш виражену антиальтеративну дію на відміну від препаратів порівняння кверцетину в 2,4 рази та диклофенаку натрію в 2,6 рази. Новизну дослідження антиальтеративної дії екстракту захищено патентом України на винахід № 106894 «Застосування водного екстракту з листя горобини звичайної як засобу з антиальтеративною дією». На моделі ад'ювантного артриту у щурів доведено протизапальну дію горобини звичайної листя екстракту густого, який чинить нормалізуючий вплив на біохімічні показники крові, позитивно впливає на вільнорадикальне окиснення та антиоксидантну систему [31 – 35, 43, 91]. Також було проведено вивчення антимікробної активності хлороформного екстракту горобини звичайної листя [46].

Дослідження фітохімічних і фармакологічних властивостей різних видів горобини продовжується [108, 110 – 112, 114, 119, 130, 148, 153, 157, 161, 170, 173, 179, 182]. Екстракти з листя, суцвіть і плодів горобини звичайної, горобини глоговіна, горобини проміжної та горобини арії мають антиоксидантну активність [104, 138, 148, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 170, 171]. Екстракт із плодів горобини амурської має антистресову дію [74], із горобини змішаної – виражену вазорелаксантну активність [166], із квіток горобини звичайної – протизапальні властивості [174].

Екстракти з листя горобини парасолькоподібної виявляють антиоксидантну, антимікробну і цитотоксичну активність [135].

За даними етномедицини народів Північної Америки, серед ряду рослин досліджено горобину красиву, підтверджено протидіабетичну активність спиртового екстракту кори цієї рослини, здатного посилювати транспорт глюкози до міоцитів *in vitro* та чинити протидіабетичну дію *in vivo* на моделях із різним патогенезом [105, 112, 129].

Екстракти кори горобини змішаної запобігають розвитку атеросклерозу, мають протизапальну, гіпоглікемічну, гепатопротекторну дію [108, 110, 130, 141, 175].

Листя горобини домашньої мають діуретичні, протизапальні та протидіабетичні властивості, показані при лікуванні простатиту, нефриту, діабету та гіперхолестеринемії [169]. Польськими науковцями встановлена висока антиоксидантна активність екстрактів із листя горобини домашньої [169]. Науковці з Греції встановили, що екстракти з плодів горобини домашньої виразно пригнічують альдозоредуктазу як патогенетично важливу мішень у протидію ускладненням ЦД. Отримані дані вказують на те, що фракції діетилового етеру та етилацетату мають високу інгібуючу активність альдозоредуктази. Крім того, детальний фітохімічний аналіз таких екстрактів показав, що цю інгібуючу активність альдозоредуктази можна пояснити високим вмістом флавоноїдів та гідроксикоричних кислот. Тому споживання плодів горобини домашньої може бути перспективним способом зниження частоти довгострокових ускладнень цукрового діабету, особливо на ранніх стадіях [173].

Екстракти плодів горобини звичайної із високим вмістом поліфенолів виявляють високу інгібуючу активність щодо α -амілази за синергічного характеру взаємодії з акарбозою. Такі синергетичні взаємодії можуть мати наслідки для сучасного клінічного використання акарбози для постпрандіального контролю глікемії у хворих на ЦД типу 2. Слід також враховувати, що інгібування амілази у екстрактах горобини отримували у фракціях, збагачених проантоціанідинами [125].

Науковцями з Туреччини досліджено антидіабетичну активність водних екстрактів плодів горобини звичайної і горобини глоговини шляхом вимірювання інгібіторних потенціалів на активності α -амілази та глюкозидази і підшлунковій залозі, найважливіші травні ферменти. Загальний фенольний і флавоноїдний вміст плодів співвідносився з антидіабетичною дією. Висловлено припущення, що антидіабетичний ефект плодів може бути

зумовлений наявними в них фенольними сполуками. Тому плоди горобини звичайної та береки можуть бути потенційними джерелами фітозасобів антидіабетичної дії [126].

Плоди горобини звичайної протипоказані хворим із підвищеним зсіданням крові. Слід враховувати, що у деяких наукових інформаційних джерелах Західної Європи вказується на заборону використання лікарських засобів і харчових продуктів, виготовлених зі свіжих плодів горобини. Така заборона обумовлена наявністю у свіжих плодах парасорбінової кислоти, яка в токсикологічному аспекті є гастротропною і гепатотропною отрутою. В процесі заморожування і висушування плодів горобини парасорбінова кислота розпадається до малотоксичних метаболітів [19].

Плоди горобини їстівні, їх використовують у харчовій промисловості, лікєро-горілочному виробництві. Плоди застосовують для виготовлення соків, морсу, повидла, варення, цукатів [4, 76, 77, 168]. З плодів горобини роблять начинку для цукерок, а також виготовляють квас, настойку, горобинову горілку і коньяк. Перетерті з цукром плоди добре смакують разом із обліпихою, яблуками.

Горобина є медоносною і кормовою рослиною, дає бджолам багато нектару і пилок навесні, в період малого збору. Різні види горобини цінуються в садово-парковому будівництві, використовуються в снігозахисних, лісомеліоративних і вітростійких насадженнях. У містах часто висаджують горобину завдяки її стійкості до диму і газів. Міцна деревина горобини придатна для столярної, токарної, меблевої справи, для виготовлення музичних інструментів. Кора горобини забарвлює тканини в червоно-бурий колір, листя – в коричневий, а гілки – в чорний. Бруньки рослини мають інсектицидну і ратицидну дію [42, 76, 77].

Аналіз наукових першоджерел показав, що найбільше поширена і має значні запаси сировини в Україні горобина звичайна. Дослідження біологічно активних речовин вегетативних і генеративних органів рослини носить

несистематичний характер. Якість плодів горобини регламентується фармакопейною статтею ДФ СРСР XI вид., але вона носить лише рекомендуєчий характер та не відповідає сучасним вимогам ДФУ і ЄФ. На фармацевтичному ринку України є лікарські засоби з горобини плодів, тому виникла потреба у розробці монографії ДФУ на цю сировину. З літературних джерел також відомо, що екстракти з сировини горобини звичайної, горобини глоговини, горобини домашньої, горобини красивої і горобини американської мають різні види активності, в тому числі і гіпоглікемічну, а пошук нових фітозасобів гіпоглікемічної дії є актуальним, тому що ЦД є серйозною медико-соціальною проблемою у світі.

Зазначені факти, а також відсутність монографії на горобини плоди в ДФУ вказують на необхідність проведення комплексного фармакогностичного дослідження сировини горобини звичайної та перспективність розробки нових лікарських засобів на її основі.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ, ПРИЛАДИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкти дослідження

Об'єктами дослідження були листя, квітки, плоди і кора горобини звичайної. Кору рослини заготовляли у березні, квітки – у травні, листя – у травні – вересні, плоди – у вересні – жовтні 2016 – 2019 років у ботанічному саду НФаУ (м. Харків) та у Харківській області.

Для розробки проєкту національної монографії ДФУ «Горобини плоди^N» також використовували 7 зразків горобини плодів:

№ 1 – реєстраційний номер RS 911, ТОВ аптека «Лікарські рослини», м. Харків, 2016 р. (серія № 400717);

№ 2 – реєстраційний номер RS 912, ТОВ аптека «Лікарські рослини», м. Харків, 2016 р. (серія № 381116);

№ 3 – реєстраційний номер RS 913, плоди заготовлені у с. Графське Харківської області у вересні 2017 р.;

№ 4 – реєстраційний номер RS 914, плоди заготовлені у м. Рівне у вересні 2017 р.;

№ 5 – реєстраційний номер RS 915, плоди заготовлені на фармакопейній ділянці НФаУ у вересні 2017 р.;

№ 6 – реєстраційний номер RS 916, плоди заготовлені на фармакопейній ділянці НФаУ у вересні 2016 р.;

№ 7 – реєстраційний номер RS 917, ТМ «Знахар Карпат», 2017 р.

Розробку проєкту національної монографії «Горобини плоди^N» проводили у складі групи «Лікарська рослинна сировина» під керівництвом начальника відділу ДФУ д. фарм. н., с. н. с. Котова А. Г. та завідувача сектором «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» к. фарм. н., с. н. с. Котової Е. Е.

2.2 Короткі відомості про прилади, методи та реактиви

Морфологічні ознаки горобини плодів вивчали за допомогою лупи. Для вивчення *анатомічних ознак* порошку сировини за ДФУ використовували мікроскоп «Granum» при збільшенні в $\times 40$, $\times 100$, $\times 400$ разів. Фотознімки робили цифровими фотокамерами Sony DSC-W80 і Olympus FX 600 [14].

Дослідження якісного складу БАР сировини проводили методами ПХ, ТШХ, ВЕРХ, ГХ-МС.

Якісний аналіз методами планарної хроматографії (ПХ, ТШХ) проводили на хроматографічному папері «Filtrak» (FN 1, 3, 7), пластинках *Silicagel 60 F₂₅₄* Merck (на скляній підложці) і «Sorbfil» ПТСХ-П-В.

Водні та спиртові витяги для якісного аналізу одержували екстракцією сировини відповідно водою очищеною та 70 % етанолом.

Реактиви і титровані розчини, що використовували для аналізу, готували за рекомендаціями ДФУ 2.1 [11]. Для хроматографування використовували такі системи розчинників (співвідношення розчинників, що позначені цифрами, брали в об'ємних одиницях):

№ 1 – н-бутанол – піридин – вода Р (6 : 4 : 3);

№ 2 – етилацетат Р – кислота мурашина безводна Р – вода (3 : 1 : 1);

№ 3 – етилацетат Р – кислота мурашина безводна Р – кислота оцтова льодяна Р – вода Р (100 : 11 : 11 : 25);

№ 4 – циклогексан Р – етер Р (80:20);

№ 5 – мурашина кислота безводна Р – вода Р – метилетилкетон Р – етилацетат Р (10:10:30:50).

На хроматограмах речовини виявляли до і після обробки відповідними хромогенними реактивами за забарвленням при денному світлі та за флюоресценцією їх в УФ-світлі:

А – 4 % розчин кислоти сульфатної;

Б – анілін-фталатний реактив (0,33 г аніліну та 1,66 г кислоти фталевої у 100 мл н-бутанолу, що насичений водою);

В – реактив бромфенолового синього і метилового червоного (0,3 г бромфенолового синього і 0,1 г метилового червоного в 100 мл метанолу);

Г – 0,2 г/л розчин дихлорфеноліндофенолу натрієвої солі Р у 96 % етанолі Р;

Д – анісовий альдегід Р.

Е – розчин 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового етеру Р у метанолі Р;

Ж – розчин 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р.

Для зважування зразків використовували електронні аналітичні ваги Maxis ANG 100 C та ES225M-DR фірми «Preisa Gravimetrics AG» (Швейцарія).

Спектрофотометричне визначення вмісту основних груп БАР проводили на спектрофотометрах «Specord 200» та HP8453 фірми «Hewlett Packard» у кюветах з товщиною шару 10 мм.

Дослідження летких сполук квіток, кори горобини звичайної та екстрактів «Сорбафол» і «Феногор» проводили методом ГХ-МС на хроматографі Agilent Technologies 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N. Швидкість введення проби 1,2 мл/хв протягом 0,2 хв. Умови аналізу: хроматографічна колонка капілярна DB-5 (30 м × 0,25 мм); швидкість газу-носія (гелію) – 1,2 мл/хв; температура термостата програмована – від 50 до 320 °C зі швидкістю 4 °/хв; температура нагрівача вводу проби – 250 °C [40, 48, 98, 139, 164].

Дослідження фенольних сполук у горобини плодах [56] проводили методом ВЕРХ за допомогою рідинної хроматографічної системи Prominence LC-20 Shimadzu (Японія), що складається з наступних функціональних модулів: дегазатор DGU-20A3, насосний модуль LC-20AD, автосамплер-холодильник SIL-20AC, фотометричний детектор SPD-20AV, колонковий термостат CTO-20A, колонка Agilent Technologies Microsorb-MV-150 (зворотно-фазова, силікагель з пришитою групою C18 $-(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}_3$), довжина 150 мм, діаметр 4,6 мм, розмір зерен сорбенту 5 мкм). Умови

хроматографування: 1. Склад рухомої фази (елюенту): метанол і 0,9 % розчин фосфорної кислоти в деіонізованій воді (реактиви Sigma-Aldrich, Німеччина). 2. Режим хроматографування – градієнтний, розроблений для якісного розділення окремих фенольних кислот і флавоноїдів у рослинних екстрактах [3, 85]. Початкове співвідношення компонентів елюенту: 1:9. Вміст метанолу в елюенті в ході аналізу змінюється по наступній схемі: перші 13 хв. – підвищення з 10 до 40 %; з 13-ої до 20-ої хв. – підвищення від 40 до 53 %; з 20-ої до 26-ої хв. – підвищення від 53 до 55 %; з 26-ої до 40-ої хв. – утримання 55 %; з 40-ої до 41-ої хв. – зниження до 10 %; з 41-ої до 56-ої хв. – утримання 10 %. 3. Швидкість руху елюенту – 0,5 мл/хв. 4. Температура колонки – 40 °С. 5. Об'єм проби, що вводиться – 5 мкл.

Дослідження фенольних сполук кори горобини звичайної та екстрактів «Сорбафол» і «Феногор» проводили методом ВЕРХ на хроматографі рідинному Shimadzu LC20 Prominence в модульній системі, оснащений чотирьохканальним насосом LC20AD, термостатом колонок СТО20А, автоматичним пробовідбірником SIL20А, діодно-матричним детектором SPDM20А і ChemStation LC20 в таких умовах [124]: колонка Phenomenex Luna C18 (2), розміром 250 мм х 4,6 мм, розмір часток 5 мкм; температура колонки – 35 °С; довжина хвилі детектування – 330 нм (для гідроксикоричних кислот, глікозидів флавоноїдів), 370 нм (для агліконів флавоноїдів); швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв; об'єм проби, що вводився – 5 мкл. Рухома фаза: елюент А – 0,1 % розчин трифтороцтової кислоти у воді; елюент Б – 0,1 % розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі. Градієнтний режим елюювання:

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

Визначення амінокислотного складу зразків проводили методом ВЕРХ на рідинному хроматографі Agilent 1200 (Agilent technologies, USA). Колонка Zorbax AAA довжиною 150 мм і внутрішнім діаметром 4,6 мм, діаметр зерна сорбенту 3 мкм. Мобільна фаза А – 40 mM Na₂HPO₄ pH 7.8; В – ACN:MeOH:water (45:45:10, v/v/v). Режим розділення градієнтний із постійною швидкістю потоку 1,5 мл/хв. Температура термостату колонки 40 °С. Передколонкову дериватизацію проводили в автоматичному програмованому режимі з використанням FMOC реагенту (Agilent 5061-3337) та OPA реагенту (Agilent 5061-3335). Детекція дериватизованих амінокислот реалізовувалася за допомогою флуоресцентного детектора [132, 133, 162].

Дослідження карбонових кислот у сировині та отриманих субстанціях проводили на хроматографі Agilent Technology 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973 N. Швидкість введення проби: 1,2 мл/хв протягом 0,2 хв; хроматографічна колонка капілярна INNOWAX з внутрішнім діаметром 0,25 мм і 30 м завдовжки; швидкість газу-носія (гелію) 1,2 мл/хв; температура нагрівача введення проби – 250 °С; температура термостата – від 50 °С до 250 °С зі швидкістю 4 °/хв [27, 55, 113, 164].

Визначення вмісту аскорбінової кислоти в горобини плодах проводили методом ВЕРХ на хроматографі Shimadzu в такій комплектації: насос LC-20AD, спектрофотометричний детектор SPD-20AV, системний контролер CBM-20 ALITE; хроматографічна колонка розміром 250 x 4 мм, заповнена силікагелем октилсилільним (Symmetry C 8); рухома фаза: метанол-вода-кислота оцтова (5 : 95 : 1); довжина хвилі детектування: 243 нм; швидкість потоку рухомої фази: 1 мл/хв; час утримування – 2,5 хв. [41].

Дослідження моносахаридів у екстракті проводили методом ГХ-МС на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA) [67, 106]. Колонка капілярна HP-5ms (30 m×0,25 mm×0,25 mkm, Agilent technologies, USA); температура випаровувача 250 °С, температура інтерфейсу 280 °С. Розділення проводили в режимі програмування температури – початкову температуру 160 °С

витримували впродовж 8 хв, піднімали з градієнтом 5 °С/хв до 240 °С. Кінцеву температуру витримували впродовж 6 хв. Пробу об'ємом 1 мкл, вводили в режимі поділу потоку 1:50. Детектування проводили в режимі SCAN у діапазоні (38-400 m/z). Швидкість потоку газу носія через колонку 1,2 мл/хв.

Елементний склад зразків визначали методом АЕС [14, 54, 47, 102]. Випаровування проб проводили з кратерів графітових електродів у розряді дуги перемінного струму (джерело збудження спектрів типу ІВС-28) при силі струму 16 А та експозиції 60 с. Для одержання спектрів та їх реєстрації на фотопластинках використовували спектрограф ДФС-8 з дифракційною решіткою 600 штр/мм і трилінзовою системою висвітлення щілини. Вимір інтенсивностей ліній у спектрах аналізованих проб і градуувальник зразків проводили за допомогою мікрофотометру МФ-4. Умови фотографування спектрів: сила струму дуги перемінного струму – 16 А, фаза підпалювання – 60°, частота підпалювальних імпульсів – 100 розрядів за секунду; аналітичний проміжок – 2 мм; ширина щілини спектрографу – 0,015 мм; експозиція – 60 с. Область спектра – 250 – 350 нм. Фотометрували такі смуги у спектрах проб і градуйований зразок (нм): Al – 308,2; Hg – 253,6; Ni – 305,0; Mn – 280,1; Pb – 283,3; As – 286,0; Cd – 326,1; Mo – 317,0; Co – 345,3; Sr – 346,4; Zn – 328,2; Cu – 324,7. Для кількісного аналізу використовували градуйовані (стандартні) зразки, специфічні для кожного мікроелемента. Інтервал (визначеного вмісту мас. % до золи) складає: Mn від $2 \cdot 10^{-4}$ до 1; Cu від $1 \cdot 10^{-4}$ до $5 \cdot 10^{-2}$; Ni, Pb, Ca від $5 \cdot 10^{-4}$ до $1 \cdot 10^{-2}$; Cd від $5 \cdot 10^{-3}$ до $1 \cdot 10^{-2}$; Mo, Co від $2 \cdot 10^{-4}$ до $1 \cdot 10^{-2}$; Sr від $1 \cdot 10^{-2}$ до 1; Zn від $1 \cdot 10^{-2}$ до 2. Виміри виконували при кімнатній температурі.

Фармакологічні дослідження проводили *in vivo*.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили методом математичної статистики згідно з вимогами ДФУ за програмою Microsoft Excel 7.0 та пакетом прикладних програм «Statistica» [14].

2.3 Методики визначення БАР

1. *Визначення вмісту полісахаридів у сировині* проводили за методикою в монографії «Алтеї корені» ДФУ 2.0 [13].

2. *Визначення вмісту органічних кислот у горобини плодах* проводили за методикою в монографії «Шипшини плоди^N» ДФУ 2.1 [11, 59].

3. Для *визначення вільних амінокислот* наважку екстракту «Сорбафол» поміщали у віалу, додавали 2 мл водного розчину 0,1 N соляної кислоти та витримували на ультразвуковій бані при 50 °C впродовж 3 годин. Для *визначення загальних (зв'язаних і вільних) амінокислот* наважку екстракту поміщали у віалу, додавали 2 мл водного розчину 6 N соляної кислоти та поміщали в термостат при 110 °C. Гідроліз проводили впродовж 24 годин. 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.

4. *Визначення вмісту проціанідинів у горобини плодах* проводили за методикою, що наведена в монографії «Шипшини плоди^N» ДФУ 2.1 [11].

5. *Визначення вмісту поліфенолів у горобини плодах* проводили за методикою, що наведена в монографії ДФУ 2.2 «Чорниці пагони^N» [12].

6. *Дослідження карбонових кислот у сировині та отриманих субстанціях* [27, 55, 113, 137, 164] проводили за наступною методикою: до 50 мг здрібненої на порошок сировини у віалу на 2 мл додавали внутрішній стандарт (розчин 50 мкг тридекану в гексані) і 1 мл метилуючого агенту (14 % розчин BCl_3 в метанолі, Supelco 3-3033). Суміш витримували в герметично закритій віалі протягом 8 годин при 65 °C, потім відфільтровували і фільтрат розводили в 1 мл очищеної води. Далі доливали 0,2 мл хлористого метилену, акуратно струшували кілька разів протягом

години, а потім хроматографували отриманий екстракт метилових естерів кислот. Введення проби (2 мкл) у хроматографічну колонку проводили в режимі splitless – без поділу потоку, що дозволяло вводити пробу без втрати на поділ та істотно (в 10 – 20 разів) збільшувало чутливість даного методу.

Для ідентифікації компонентів використовували дані бібліотеки мас-спектрів NIST05 і WILEY 2007 із загальною кількістю спектрів понад 470000 в поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST. Для кількісних розрахунків використовували метод внутрішнього стандарту. Розрахунок вмісту компонентів (С, мг/кг) проводили за формулою:

$$C = K_1 \cdot K_2 \cdot 1000 \quad (2.1)$$

де $K_1 = \Pi_1/\Pi_2$ (Π_1 – площа піка досліджуваної речовини, Π_2 – площа піка стандарту);

$K_2 = 50/M$ (50 – маса наважки внутрішнього стандарту, який вводили в зразок, мкг; М – маса наважки сировини, мг).

7. *Визначення вмісту аскорбінової кислоти в горобини плодах* проводили згідно з методикою у статті «Горобини плоди» ДФ РБ [8].

8. *Визначення вмісту аскорбінової кислоти в горобини плодах* також проводили методом ВЕРХ [41]. Приготування розчину порівняння: 21,4 мг аскорбінової кислоти поміщали в мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняли в 70 мл води, доводили об'єм розчину водою до мітки та перемішували. 1 мл одержаного розчину поміщали в мірну колбу місткістю 50 мл, доводили об'єм розчину водою до мітки та перемішували.

Приготування випробовуваного розчину: близько 5,0 г здрібненої на порошок сировини поміщали в конічну колбу місткістю 100 мл, заливали 25 мл води, витримували 10 хв на ультразвуковій бані, фільтрували крізь паперовий фільтр «жовта стрічка» і центрифугували при 5000 об/хв. Надосадкову рідину використовували як випробовуваний розчин. По 20 мкл випробовуваного розчину і 20 мл розчину порівняння хроматографували на хроматографі Shimadzu.

Вміст аскорбінової кислоти (X) в сировині, у %, розраховували за формулою:

$$X = \frac{S \cdot a_0 \cdot 1 \cdot 25 \cdot (100 - W) \cdot 100}{S_0 \cdot a \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100} \quad (2.2)$$

де S – величина площі піку аскорбінової кислоти на хроматограмах випробовуваного розчину;

S_0 – величина площі піку аскорбінової кислоти на хроматограмах розчину порівняння;

a – маса наважки сировини, г;

a_0 – маса наважки стандартного зразка аскорбінової кислоти, г;

W – вміст води в стандартному зразку діоксидину, використаного для приготування розчину порівняння, %.

9. *Дослідження фенольних сполук у горобини плодах* [56] проводили за такою методикою: до наважки подрібненої на порошок сировини додавали розчин 60 % ізопропанолу у співвідношенні 1 г зразка на 20 мл розчину ізопропанолу. Екстракцію проводили в герметичних ємностях протягом 5 діб при кімнатній температурі при періодичному перемішуванні у відповідності з методом. Екстракцію проводили в темряві для запобігання трансформації під впливом світла речовин, що екстрагуються. Екстракти перед аналізом фільтрували з використанням шприцевого фільтра Supelco Iso-Disc Filters PTFE 25-4 (25 mm x 0,45 μ m). Ідентифікацію речовин в об'єкті дослідження проводили шляхом порівняння часу утримування і спектральних характеристик досліджуваних речовин із аналогічними характеристиками стандартів відповідно до способу [95] ідентифікації поліфенолів, для чого хроматографування проводили за довжини хвиль 225, 255, 286 і 350 нм.

Для точної ідентифікації або визначення приналежності досліджуваних речовин до конкретних груп поліфенолів використовували наступні стандарти: хлорогенова і кофейна кислоти, катехін, флавоноли кверцетин і рутин, флаванони нарингенін, нарингін і гесперетин, гесперидин, флаволи лютеолін і апігенін, антоціанін ціанідин (Sigma-Aldrich, Німеччина).

Ідентифікаційні характеристики перелічених стандартів отримували при описаних вище умовах хроматографування. Калібрувальні залежності «площа піку – вміст стандарту» мали лінійний вигляд з точністю не нижче $r^2 = 0,994$.

Визначення вмісту речовин із встановленою приналежністю до конкретних груп поліфенолів проводили з використанням стандартів, ступінь схожості з якими була найбільшою, з урахуванням хімічної форми речовини (аглікони, глікозиди). Речовини, ступінь схожості яких із стандартом була нижче 70 %, відносили до групи неідентифікованих речовин, а їх вміст визначали за стандартами, ступінь схожості з якими був найбільшим.

10. *Дослідження фенольних сполук кори горобини звичайної* проводили за такою методикою [124]: 0,5 г (точна наважка) подрібненої сировини вносили в колбу місткістю 100 мл, зі зворотним холодильником, додавали 25 мл 50 % етанолу та витримували протягом 45 хв на водяній бані. Після цього витяжку охолоджували до кімнатної температури та фільтрували крізь паперовий фільтр в мірну колбу на 25 мл. Об'єм витяжки доводили до позначки 50 % етанолом. При визначенні вмісту фенольних сполук в екстрактах «Сорбафол» і «Феногор» 0,2 г екстракту розчиняли у 50 % етанолі та доводили цим розчинником до позначки 25,0 мл.

Ідентифікацію фенольних сполук проводили за часом утримування та відповідно до УФ-спектрів речовин-стандартів.

Розрахунки проводили за формулою, %:

$$X = \frac{A_{pr} \times m_{st} \times V_{pr} \times P \times 100}{A_{st} \times V_{st} \times m_{pr} \times 100}, \quad (2.3)$$

де A_{pr} – площа піку речовини на хроматограмі досліджуваного розчину;

A_{st} – площа піку речовини на хроматограмі стандартного розчину;

m_{st} – маса стандартного зразка речовини в стандартному розчині, мг;

m_t – маса препарату, мг;

V_{pr} – розведення досліджуваного розчину, мл;

V_{st} – розведення стандартного розчину, мл;

P – активність стандарту, %.

11. *Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у сировині та екстракті «Сорбафол» визначали за методикою, що наведена в монографії «Кропиви листя» ДФУ 2.0 [13, 45]. Для аналізу використовували 1,0 г горобини плодів, 0,1 г екстракту «Сорбафол».*

12. *Кількісний вміст суми флавоноїдів у горобини плодах визначали за методикою, що наведена в монографії ДФУ 2.1 «Цмину пісового квітк^N» [11]. Для аналізу використовували 2,0 г здрібненої на порошок сировини, 1 мл розчину 5 г/л гексаметилентетраміну Р, 20 мл ацетону Р, 2 мл хлористоводневої кислоти Р1. Вміст суми флавоноїдів у горобини звичайної листі визначали методом спектрофотометрії за методикою, що наведена в статті «Трава звіробою» ДФ СРСР XI вид. [9, 45].*

13. *Для дослідження летких сполук наважку (1,0 г) здрібненої повітряно-сухої сировини поміщали у віалу «Agilent» на 20 мл та додавали до неї внутрішній стандарт (50 мкг тридекану) і 10 мл води. Леткі сполуки зразка відганяли з водяною парою протягом 2-х годин із використанням зворотнього холодильника з повітряним охолодженням. Речовини, які адсорбувалися на внутрішній поверхні зворотнього холодильника, після охолодження системи змивали в суху віалу на 10 мл повільним додаванням 3 мл особливо чистого пентану. Змив концентрували продувкою (100 мл/хв) особливо чистого азоту до залишкового об'єму екстракту 10 мкл, який повністю відбирали хроматографічним шприцем. Подальше концентрування проби проводили в шприці до об'єму 2 мкл. Введення проби в хроматографічну колонку проводили в режимі splitless, тобто без поділу потоку, що дозволяє ввести пробу без втрати на поділ і істотно (в 10 – 20 разів) збільшити чутливість методу хроматографування. Леткі сполуки в квітках горобини звичайної досліджували після екстракції свіжозібраної сировини 96 % етанолом. Із екстрактів «Сорбафол» і «Феногор» леткі речовини екстрагували хлористим метилом та аналізували витяги далі, як і сировину [40, 48, 98, 139, 164]*

Компонентний склад об'єктів дослідження ідентифікували порівнянням мас-спектрів отриманих речовин з даними бібліотеки мас-спектрів NIST05 і WILEY 2007 із загальною кількістю спектрів більш ніж 470000 у поєднанні з програмами для ідентифікування AMDIS і NIST. Розрахунок вмісту компонентів (С, мг/кг) проводили методом внутрішнього стандарту за формулою:

$$C = K_1 \cdot K_2, \quad (2.4)$$

де $K_1 = \Pi_1/\Pi_2$ (Π_1 – площа піку досліджуваної речовини, Π_2 – площа піку стандарту);

$K_2 = 50/M$ (50 – маса наважки внутрішнього стандарту, який вводили у зразок, мкг; M – маса наважки сировини, г).

14. *Визначення мінеральних речовин у сировині та досліджуваних екстрактах* [14, 54, 47, 102] проводили в ДНУ НТК «Інститут монокристалів» НАН України під керівництвом Гришиної О. В. Підготовка аналізованої проби складалася в обережному обвуглюванні зразка при нагріванні в муфельній печі за температури не більше 500 °С з попередньою обробкою проб розведеною сульфатною кислотою. Основою для виготовлення стандартних зразків була суміш оксидів і солей металів, що відповідає складу різнотрав'я. Для виготовлення 200 г основи використовували маси наважок таких речовин (г): SiO_2 – 36; CaCO_3 – 40; MgO – 10; KH_2PO_4 – 50; K_2SO_4 – 40; KCl – 14; Na_2SO_4 – 50. Ці речовини змішували та прокалювали у кварцових тиглях у муфельній печі при температурі 500 °С протягом 5 годин. Потім із них готували за методикою стандартні зразки. Проби для аналізу готували так: у кварцовий тигель вносили точну наважку сировини (3,0 г), змочували 10 мл 5 % розчином сульфатної кислоти, висушували в сушильній шафі при температурі 100 °С, а потім на електричній плитці – до видалення парів кислоти. Тиглі переносили у холодну муфельну піч. Температуру печі поступово доводили до 500 °С і прожарювали протягом 1 години. Потім зразки охолоджували та зважували. До отриманої золи додавали таку саму кількість (по масі) графітового порошку і ретельно перемішували у ступці з

органічного скла.

Для кожного елемента за результатами фотометрування розраховували різниці затемнення лінії та фону. Потім за градувальним графіком визначали вміст елемента у відсотках до основи.

Вміст елемента (X , %) у рослинній сировині знаходили за формулою:

$$X = \frac{a \times m}{M} \quad (2.5)$$

де a – вміст елемента в золі, знайдений за графіком, %;

m – маса золи, г;

M – маса сировини (сухого екстракту), г.

15. *Дослідження вмісту моносахаридів у густому екстракті «Сорбафол»* проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. Для визначення вільних моносахаридів наважку екстракту поміщали у віалу, додавали 5 мл розчину 80 % етанолу. Екстракцію проводили на ультразвуковій бані при 80 °С впродовж 4 годин. Відбирали 2 мл екстракту, упарювали досуха та ресуспендували додаванням 2 мл водного розчину внутрішнього стандарту із розрахунку 2,5 мг на пробу. В якості внутрішнього стандарту використовували розчин сорбітолу [67, 106].

Для визначення загального моносахаридного складу до наважки екстракту додавали 5 мл 2 М трифтороцтової кислоти. Гідроліз проводили при 100 °С впродовж 6 годин. Відбирали 2 мл гідролізату, упарювали та промивали водою до видалення трифтороцтової кислоти. Ресуспендували додаванням 2 мл водного розчину внутрішнього стандарту із розрахунку 2,5 мг на пробу. Для отримання альдонітрильних похідних моносахаридів відбирали 0,3 мл екстракту/гідролізату, упарювали досуха на роторному випаровувачі та додавали 0,3 мл дериватизуючого реактиву (32 мг/мл гідроксиламіну солянокислого в суміші піридин/метанол (4:1 v/v)). Розчинений екстракт витримували впродовж 25 хв. при 75 °С. Ацетилювання альдонітрильних похідних моносахаридів проводили впродовж 15 хв при 75

°C. До реакційної суміші додавали 1 мл дихлоретану, надлишок дериватизаційних реагентів видаляли подвійною екстракцією 1 N розчином соляної кислоти та води. Дихлоретановий шар висушували досуха та розчиняли в 300 мкл суміші гептан/етилацетат (1:1 v/v).

Ідентифікацію моносахаридів досліджуваного екстракту проводили шляхом порівняння часів утримування стандартних моносахаридів та з використання бібліотеки мас-спектрів NIST 02.

Розрахунок вмісту моносахаридів (X, мг/г) у екстракті проводили за формулою:

$$X = \frac{S_x \times m_{\text{внст}} \times V_{\text{роз}} \times 1000}{S_{\text{вст}} \times m \times V_{\text{екстр}}} , \quad (2.6)$$

де $m_{\text{внст}}$ – маса внутрішнього стандарту на пробу, мг;

m – маса наважки екстракту, мг;

$V_{\text{роз}}$ – об'єм розчинника для аналізу, мл;

$V_{\text{екстр}}$ – об'єм екстракту для аналізу, мл;

S_x – величина площі піку моносахариду;

$S_{\text{вст}}$ – величина площі піку внутрішнього стандарту.

2.4 Методики фармакологічних визначень

Визначення гострої токсичності та гіпоглікемічної активності екстрактів, одержаних із листя горобини звичайної, проводили на базі Навчально-наукового інституту прикладної фармації НФаУ під керівництвом завідувача кафедри фармакології та фармакотерапії НФаУ, професора С. Ю. Штриголя і доцента О. В. Товчиги [16, 17, 18, 52, 58]. Дослідження екстрактів проводили на статевозрілих рандомбредних білих щурах масою 150 – 200 г із дотриманням принципів Директиви 2010/63/EU Європейського Парламенту і Ради ЄС «Про захист тварин, що використовуються з науковою метою» (Брюссель, 2010), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477-IV від 21.02.2006 р. зі змінами та Наказу

МОНмолодьспорту України «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» № 249 від 01.03.2012 р. Щурів утримували в стандартних умовах віварію ЦНДЛ НФаУ згідно з комплексом Стандартних Операційних Процедур ЦНДЛ, яка атестована МОЗ на право проведення вимірювань, що знаходяться в сфері державного метрологічного нагляду України (у період проведення досліджень – посвідчення № 058/15 від 08.12.2015 р., чинне до 07.12.2019 р.).

Гостру токсичність екстрактів «Сорбафол» і «Феногор» визначали в експерименті на щурах-самцях масою 180–200 г та щурах-самках масою 150 – 180 г за внутрішньошлункового введення. Використовували максимальну дозу четвертого класу токсичності (малотоксичні речовини) з урахуванням шляху введення, що відповідає 5 г/кг маси тіла. Здійснювали розрахунок доз із урахуванням втрати в масі при висушуванні досліджуваних екстрактів. Густі екстракти розчиняли у воді, об'єм розчину був допустимим для внутрішньошлункового введення щурам (5 мл на 200 г маси тіла) [15]. Для визначення токсичності використовували 3 тварини кожної статі згідно з [101] для кожного екстракту.

Гіпоглікемічну активність екстрактів «Сорбафол» і «Феногор» визначали на рандомбредних щурах-самках масою 150 – 180 г. Згідно з чинними методичними рекомендаціями [15] при дослідженні потенційних гіпоглікемічних засобів визначали їх вплив на вміст глюкози в інтактних тварин натще та в умовах навантаження глюкозою, результати порівнювали з даними синхронного контролю, який одержував розчинник. Мінімальна чисельність тварин у групі становила 4. На першому етапі визначали вплив екстрактів на глікемію у нормоглікемічних щурів. Тваринам, що були попередньо позбавлені корму протягом 6–8 год, внутрішньошлунково одноразово вводили екстракти «Сорбафол» і «Феногор» (суспендовані в дистильованій воді) у дозах 100, 250, 500 мг/кг. Як референс-препарат використовували офіційнальний засіб – настій чорниці пагонів (чорниці пагони, ПрАТ «Ліктрави», Україна, 75 г), в дозі 10 мл/кг при співвідношенні

«сировина – екстрагент» 1:10, яка використовується в дослідях на щурах [16, 52, 58]. Об'єм рідини, що вводився щурам, в усіх групах становив 0,5 мл на 100 г маси тіла (чорниці пагонів настій випарювали за температури, що не перевищувала 95 °С, до об'єму, який відповідає використаному об'єму досліджуваних суспендованих екстрактів). Тваринам групи інтактного контролю внутрішньошлунково вводили еквівалентну кількість води. Вміст глюкози у пробах капілярної крові з судин кінчика хвоста визначали за допомогою глюкометра One Touch Ultra Easy (LifeScan, США) до введення препаратів та через 60 хв після того. Із метою визначення впливу екстрактів на утилізацію глюкози вимірювали також глікемію через 60 хв після введення розчину глюкози (в дозі 3 г/кг у вигляді 30 % розчину) [178]. Зміни базальної глікемії на тлі досліджуваних засобів оцінювали у порівнянні з вихідним показником, а зміни глікемії після введення навантаження глюкозою – відносно показника синхронного інтактного контролю (виражали у %).

На другому етапі досліджень оцінювали метаболічні ефекти екстракту, який виявив здатність до зменшення глікемії, у вищій дозі. Це важливо як із огляду на можливість виявлення побічних ефектів, так і для отримання додаткових даних щодо фармакодинаміки екстракту, оскільки його вплив на ліпідний обмін та обмін сечової кислоти, а також вміст метаболітів азотистого обміну в крові та їх ниркову екскрецію не вивчався. Щурів було рандомізовано на 2 групи, що одержували екстракт у дозі 500 мг/кг ($n=5$) та воду в еквівалентному об'ємі (інтактний контроль, $n=5$), які вводили внутрішньошлунково один раз на добу протягом 5 днів. Після введення шостої дози у щурів, попередньо позбавлених корму протягом 12 год, визначали видільну функцію нирок в умовах водного діурезу (водне навантаження 3 % маси тіла, попередньо тварин адаптували до умов експерименту). Надалі відбирали проби крові в умовах барбітурового наркозу, отримували плазму крові (антикоагулянт – гепарин *in vitro*), у якій вимірювали вміст глюкози глюкозооксидазним методом, сечової кислоти –

уриказним методом, тригліцеридів та загального ХС – ферментативними методами, ХС ЛПВЩ – після висадження ліпопротеїнів низької щільності та ліпопротеїнів дуже низької щільності 0,5 М розчином магнію хлориду в 4 % розчині фосфорно-вольфрамової кислоти [26]. Використовували стандартні набори НВП «Філісіт-Діагностика» і ТОВ «СпайнЛаб».

Розраховували коефіцієнт атерогенності за формулою:

$$K = (ХС_{\text{загальний}} - ХС_{\text{ЛПВЩ}}) / ХС_{\text{ЛПВЩ}}, \quad (2.7)$$

У пробах сечі та плазми крові визначали вміст сечовини – за реакцією з діацетилмонооксимом, креатиніну – за реакцією з пікриновою кислотою, у пробах сечі вимірювали вміст сечової кислоти за реакцією з фосфорно-вольфрамовим реактивом [26]. За загальновживаними формулами розраховували швидкість клубочкової фільтрації, відносну реабсорбцію води. При порівнянні біохімічних показників, отриманих на другому етапі досліджень, обраховано медіани, 25 % та 75 % процентиля, що рекомендовано для медико-біологічних досліджень, а також середні арифметичні та їхні стандартні помилки ($M \pm m$). Внутрішньогрупові відмінності за повторних вимірів глікемії аналізували за парним критерієм $\tilde{T}$ Вілкоксона, центральні тенденції незалежних виборок порівнювали за критерієм U Манна-Уїтні [6].

РОЗДІЛ 3

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У СИРОВИНІ ГОРОБИНИ ЗВИЧАЙНОЇ

3.1 Полісахариди

Визначення вмісту полісахаридів у горобини звичайної листках і плодах проводили згідно з методикою у монографії «Алтеї корені» ДФУ 2.0 [13]. Результати дослідження наведено в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Вміст полісахаридів у горобини звичайної листках і плодах

Сировина / місяць заготівлі	Вміст, %
Листя горобини звичайної / травень	$7,84 \pm 0,12$
Листя горобини звичайної / вересень	$9,15 \pm 0,27$
Плоди горобини звичайної / вересень	$3,47 \pm 0,09$

В результаті дослідження визначено, що вміст полісахаридів у листі горобини звичайної травневого збору склав $7,84 \pm 0,12$ %, вересневого – $9,15 \pm 0,27$ %. У плодах горобини звичайної міститься $3,47 \pm 0,09$ % полісахаридів.

Для подальшого аналізу полісахаридний комплекс, що одержали з плодів горобини звичайної, гідролізували розчином А (підрозділ 2.2) протягом 5 год на водяній бані. Продукти гідролізу досліджували методом ПХ у системі розчинників № 1 з достовірними зразками моносахаридів. Хроматограму висушували на повітрі, обробляли реактивом Б та нагрівали при температурі 100 – 105 °С. У результаті дослідження у полісахаридному комплексі з плодів горобини звичайної виявили глюкозу, арабінозу та галактозу.

3.2 Органічні кислоти

Ідентифікацію органічних кислот проводили у водних і спиртових витягах (підрозділ 2.2) плодів горобини звичайної методом висхідної ПХ у системах розчинників № 2 і № 3 з достовірними зразками органічних кислот. Як хромогенні проявники використовували реагенти В і Г. У результаті досліджень у сировині була підтверджена наявність не менше 7 органічних кислот, з яких ідентифіковано яблучну, лимонну, щавлеву кислоти і в слідовій кількості бурштинову кислоту [59].

Вміст органічних кислот визначали в 7 зразках горобини плодів титриметричним методом згідно з методикою в монографії ДФУ 2.1 «Шипшини плоди^N» [11].

Результати кількісного визначення органічних кислот у горобини плодах наведено в табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Вміст органічних кислот у горобини плодах

Група БАР	Вміст у зразках, %						
	1	2	3	4	5	6	7
Органічні кислоти	2,84 ±	2,60 ±	3,68 ±	3,31 ±	3,27 ±	2,45 ±	3,71 ±
	0,12	0,18	0,03	0,07	0,14	0,04	0,25

У результаті дослідження встановлено, що вміст органічних кислот у горобини плодах становить від $(2,45 \pm 0,04)$ до $(3,71 \pm 0,25)$ %, у перерахунку на яблучну кислоту і суху сировину. Одержані дані використано при розробці проекту монографії на сировину.

3.2.1 Карбонові кислоти

Дослідження карбонових кислот у листі вересневого збору і корі

горобини звичайної проводили методом ГХ-МС [55, 113, 164] на хроматографі Agilent Technology 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973 N згідно з підрозділами 2.2 і 2.3 (пункт 6).

Типову хроматограму метилових естерів карбонових кислот кори горобини звичайної наведено на рис. 3.1, результати дослідження – в табл. 3.3.

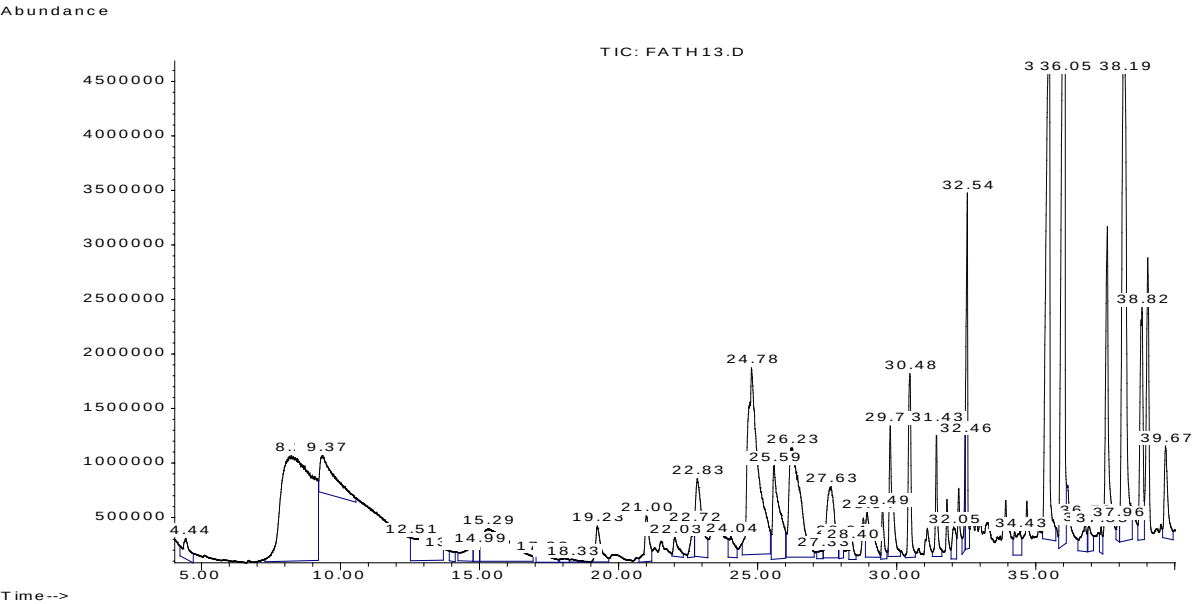


Рис. 3.1 Хроматограма метилових естерів карбонових кислот кори горобини звичайної

Таблиця 3.3

Карбонові кислоти листя і кори горобини звичайної

Кислота	Вміст, мг/кг	
	листя	кора
1	2	3
Двоосновні кислоти		
Щавлева	2184,5±24,1	185,0±8,4
Бурштинова	206,5±4,8	27,4±0,4
Малонова	190,3±5,3	188,8±7,2
Яблучна	3107,2±0,0	32,9±0,3

Продовж. табл. 3.3

1	2	3
Глутарова	—	39,1±0,2
Фумарова	34,1±0,2	17,7±0,1
Пімелінова	—	75,6±0,4
Азелаїнова	328,0±5,4	697,3±12,5
Ундекандіова	—	23,7±0,3
Тапсієва	—	903,0±11,7
Октадекандіова	—	249,4±7,8
Разом	6050,6	2439,9
Триосновні кислоти		
Лимонна	2915,7±36,1	96,6±0,9
Ароматичні кислоти та їх похідні		
Бензойна	512,1±9,4	317,0±4,6
<i>m</i> -Гідроксибензойна	—	34,7±0,7
Фенілоцтова	19,7±0,3	9,8±0,1
α -Гідроксифенілоцтова	—	232,3±2,8
Саліцилова	29,0±0,5	7,7±0,4
Гентизинова	—	18,2±0,6
Ванілінова	—	42,9±0,9
<i>m</i> -Кумарова	—	53,6±0,7
Бузкова	—	21,0±0,5
Ферулова	72,6±0,4	117,2±3,6
Разом	633,4	854,4
Жирні кислоти та їх похідні		
Капронова*	54,9±0,3	49,5±0,5
Левулінова*	—	48,0±0,4
Каприлова*	62,0±0,7	—
Пеларгонова*	33,5±0,4	—

Продовж. табл. 3.3

1	2	3
Лауринова*	103,4±4,7	68,4±0,5
Міристинова*	561,0±9,1	36,1±0,5
Пентадеканова*	—	42,3±0,6
Пальмітинова*	4107,3±48,3	444,6±6,5
Пальмітолеїнова	427,6±7,2	14,8±0,3
8-Гідроксинонанова*	—	198,1±4,3
Суберинова*	—	181,5±5,8
Маргарінова*	634,5±8,4	21,2±0,2
Стеаринова*	517,3±6,5	43,0±6,4
Олеїнова	607,4±5,1	152,2±3,6
Лінолева	159,2±9,0	173,3±4,7
Ліноленова	916,5±16,6	87,6±0,8
Арахідова*	194,8±5,6	214,9±5,0
Хенейкозанова*	23,6±0,7	—
Бегенова*	78,4±0,6	732,3±7,2
Трикозанова*	—	52,9±0,9
Лігноцеринова *	82,0±0,6	850,5±6,9
Церотинова*	11,7±0,2	—
Разом	8575,1	3411,2
Вміст насичених жирних кислот	6464,4	2983,3
Вміст ненасичених жирних кислот	2110,7	427,9
Загальний вміст кислот	18174,8	6802,1

Примітка. * – Насичена жирна кислота.

Як видно з результатів дослідження, в листі горобини звичайної вересневого збору визначено вміст 28 карбонових кислот, із яких 6 двоосновних, 1 триосновна, 4 ароматичних, 17 жирних (13 насичених,

4 ненасичені) кислот. Загальний вміст карбонових кислот у сировині становить 18174,8 мг/кг, із них двоосновних кислот – 33,3 %, триосновних – 16 %, ароматичних – 3,5 %, жирних – 47,2 % (вміст насичених кислот складає 75,4 % від суми жирних кислот). Домінуючими з двоосновних кислот є яблучна гідроксикислота і щавлева, з ароматичних – бензойна, з жирних – пальмітинова кислота. Із досліджуваної сировини тільки в листі горобини звичайної містяться каприлова, пеларгонова, хенейкозанова і церотинова кислоти.

У корі горобини звичайної визначено вміст 40 карбонових кислот, із яких 11 двоосновних, 1 триосновна, 10 ароматичних, 18 жирних (14 насичених, 4 ненасичені) кислот. Загальний вміст карбонових кислот у сировині становить 6802,1 мг/кг, із них двоосновних – 33,3 %, триосновних – 16 %, ароматичних – 3,5 %, жирних кислот – 47,2 % (вміст насичених кислот складає 87,5 % від суми жирних кислот). Домінуючими з двоосновних кислот є тапсієва і азелаїнова, з триосновних – лимонна гідроксикислота, з ароматичних – бензойна і α -гідроксифенілоцтова, з жирних – лігноцеринова, бегенова і пальмітинова кислоти. Із досліджуваної сировини тільки в корі горобини звичайної містяться глутарова, пімелінова, ундекандіова, тапсієва, октадекандіова, *n*-гідроксibenзойна, α -гідроксифенілоцтова, гентизинова, ванілінова, *n*-кумарова, бузкова, левулінова, пентадеканова, 8-гідроксинонанова, суберинова і трикозанова кислоти.

У листі горобини звичайної вересневого збору міститься карбонових кислот у 2,7 % більше, ніж у корі. Найбільше двоосновних, триосновних і жирних кислот накопичується в листі горобини звичайної, ароматичних кислот – у корі.

У корі горобини звичайної карбонові кислоти ідентифіковані вперше.

3.3 Аскорбінова кислота

Визначення вмісту аскорбінової кислоти в 7 зразках горобини плодів

проводили титриметричним методом згідно з методикою у статті «Горобини плоди» ДФ РБ [8]. Результати дослідження наведені в табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Вміст аскорбінової кислоти у горобини плодах

Група БАР	Вміст у зразках, %						
	1	2	3	4	5	6	7
Аскорбінова кислота	0,02 ±	0,01 ±	0,03 ±	0,02 ±	0,03 ±	0,02 ±	0,03 ±
	0,003	0,002	0,001	0,001	0,003	0,002	0,001

Як видно з результатів аналізу, в горобини плодах міститься від $0,01 \pm 0,002$ % до $0,03 \pm 0,001$ % аскорбінової кислоти, що відповідає вимогам ДФ РБ щодо вмісту вітаміну С (не менше 0,01 % аскорбінової кислоти, у перерахунку на суху сировину) [8, 53].

Визначення вмісту аскорбінової кислоти в горобини плодах також проводили методом ВЕРХ на хроматографі Shimadzu згідно з підрозділами 2.2 і 2.3 (пункт 8).

Хроматограма, що одержана при визначенні аскорбінової кислоти у горобини плодах, наведена на рис. 3.2.

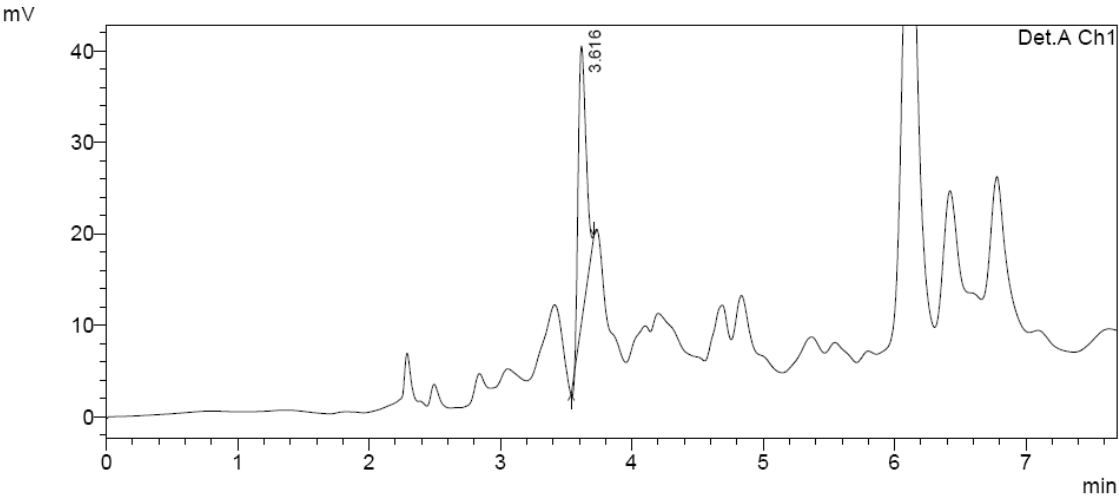


Рис. 3.2 Хроматограма, одержана методом ВЕРХ при визначенні аскорбінової кислоти у горобини плодах

У результаті дослідження в горобини плодах методом ВЕРХ визначено вміст аскорбінової кислоти, який складає 0,001 %, у перерахунку на суху сировину.

3.4 Каротиноїди

Ідентифікацію каротиноїдів у зразку № 3 горобини плодів проводили методом ТШХ за ДФУ 2.0 (2.2.27) згідно зі статтю в ДФ РБ «Горобини плоди» [8, 99, 100]. В якості розчинів порівняння використовували β -каротин, олію соняшникову нерафіновану і олію з насіння гарбуза; хроматографічну пластинку додатково обприскували реагентом Д.

Випробовуваний розчин. 1 г здрібненої на порошок сировини поміщали в конічну колбу зі шліфом місткістю 25 мл, додавали 5 мл хлороформу Р, закривали пробкою і перемішували протягом 1,5 год. Фільтрували крізь паперовий фільтр.

Розчини порівняння. 10 мг β -каротину Р розчиняли в 10 мл хлороформу Р; 2,5 мг олії з насіння гарбуза розчиняли в 5 мл хлороформу Р;) 10 мг олії соняшnikової розчиняли в 5 мл хлороформу Р.

Пластинка: ТШХ – пластинка із шаром силікагелю F₂₅₄ Р.

Рухома фаза: система розчинників № 4.

Нанесення: 10 мкл розчину порівняння β -каротину і по 40 мкл випробовуваного розчину та розчинів порівняння – олії соняшникової і олії з насіння гарбуза, смугами.

Відстань, що має пройти рухома фаза: не менше 9 см від лінії старту.

Висушування: на повітрі.

Виявлення: пластинку обприскували реагентом Д і висушували при температурі (100-105) °С; переглядали при денному світлі (рис. 3.3, 3.4).

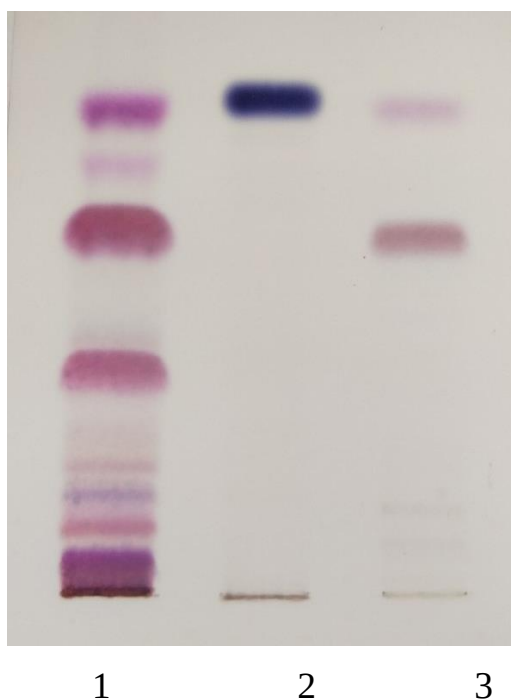


Рис. 3.3 Хроматограма, отримана при проведенні випробування при денному світлі випробовуваного розчину зразка № 3 горобини плодів (1) і розчинів порівняння β -каротину (2) і олії з насіння гарбуза (3)

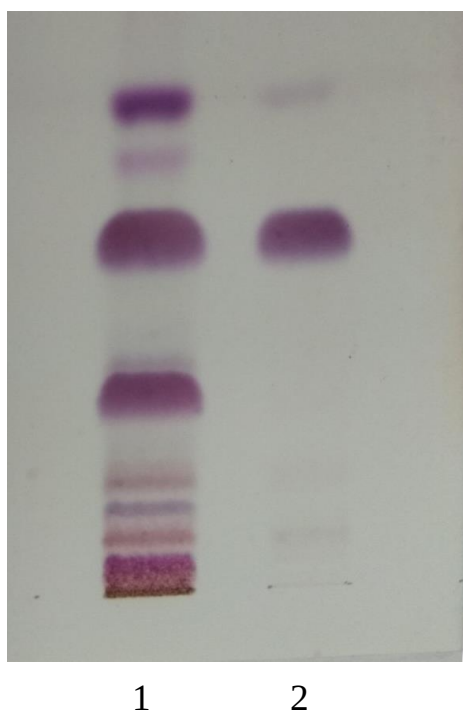


Рис. 3.4 Хроматограма, отримана при проведенні випробування при денному світлі випробовуваного розчину зразка № 3 горобини плодів (1) і розчину порівняння – олії соняшникової (2)

Результати: на хроматограмі випробовуваного розчину горобини плодів виявляється зона рожево-фіолетового кольору, що відповідає зоні фіолетового кольору (β -каротину) і зонам слабо рожевого кольору (олії з насіння гарбуза і олії соняшnikової) на хроматограмі розчинів порівняння. Також на хроматограмі випробовуваного розчину виявляється зона рожевого/рожево-фіолетового кольору, що відповідає зоні рожевого/рожево-фіолетового кольору на хроматограмі розчинів порівняння (олії з насіння гарбуза і олії соняшnikової). На хроматограмі випробовуваного розчину також можуть виявлятися інші флуоресціюючі зони рожевого і фіолетового кольору.

3.5 Фенольні сполуки

Хроматографічне дослідження фенольних сполук 7 зразків горобини плодів проводили згідно з монографією «Глоду плоди^N» [13]. До розчину порівняння також додавали ФСЗ ДФУ розмаринової кислоти.

Випробовуваний розчин. До 0,5 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додавали 10 мл метанолу Р, ставили на ультразвукову бані при температурі 50 °С протягом 5 хв при періодичному струшуванні, охолоджували до кімнатної температури та фільтрували.

Розчин порівняння. 1 мг ФСЗ ДФУ хлорогенової кислоти, 1 мг ФСЗ ДФУ кофейної кислоти, 2 мг ФСЗ ДФУ гіперозиду і 2 мг ФСЗ ДФУ рутину розчиняли в 10 мл метанолу Р, 5 мг ФСЗ ДФУ розмаринової кислоти розчиняли в 25 мл 50 % етанолу Р.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю F₂₅₄ Р.

Рухома фаза: система розчинників № 5.

Нанесення: 10 мкл, смугами.

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

Висушування: при температурі (100-105) °С.

Виявлення: гарячу пластинку обприскували розчином Е, потім

розчином Ж; висушували на повітрі протягом 30 хв та переглядали в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм (рис. 3.5).

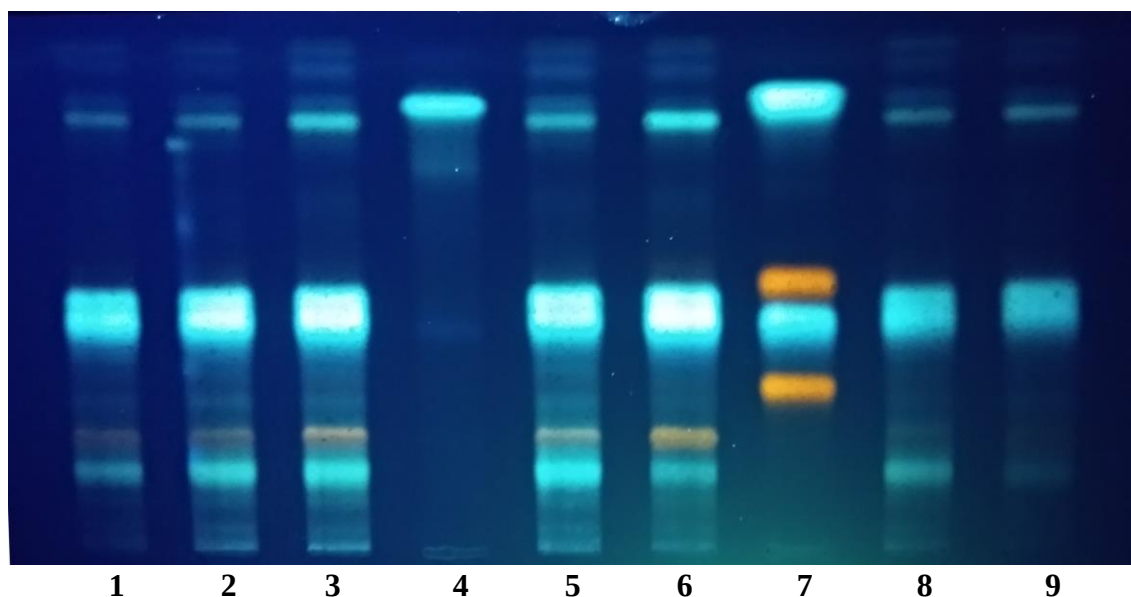


Рис. 3.5 Хроматограма, отримана при проведенні випробування при УФ-світлі випробовуваних розчинів зразків № 1 – 7 горобини плодів (1 – 3, 5, 6, 8, 9) і розчинів порівняння ФСЗ ДФУ розмаринової кислоти (4) та рутину, хлорогенової кислоти, гіперозиду і кофейної кислоти (7)

Результати: на хроматограмі розчину порівняння у нижній половині виявляються (у порядку зростання R_f): оранжева флуоресціююча зона (рутин), блакитна флуоресціююча зона (хлорогенова кислота) і оранжева флуоресціююча зона (гіперозид); у верхній третині виявляються блакитна флуоресціююча зона (розмаринова кислота) і блакитна флуоресціююча зона (кофейна кислота).

На хроматограмі випробовуваних розчинів виявляються зони, що відповідають зоні хлорогенової кислоти на хроматограмі розчину порівняння, і одна зона слабкої оранжевої флуоресценції, що знаходиться нижче зони рутину на хроматограмі розчину порівняння, нижче якої розташовані блакитна флуоресціююча зона та інші слабкі флуоресціюючі зони. Нижче зон, відповідних кофейній кислоті і розмариновій кислоті, на

всіх зразках виявляється інтенсивна блакитна флуоресціююча зона; вище зон цих кислот може виявлятися декілька слабих блакитних зон.

Одержані дані використано при розробці розділу «Ідентифікація С» для проєкту національної монографії «Горобини плоди^N».

Дослідження фенольних сполук у горобини плодах також проводили методом ВЕРХ [56] згідно з підрозділами 2.2 і 2.3 (пункт 9).

Хроматограму, що одержана при визначенні фенольних сполук горобини плодів, наведено на рис. 3.6, результати визначення вмісту фенольних сполук у досліджуваній сировині – в табл. 3.6.

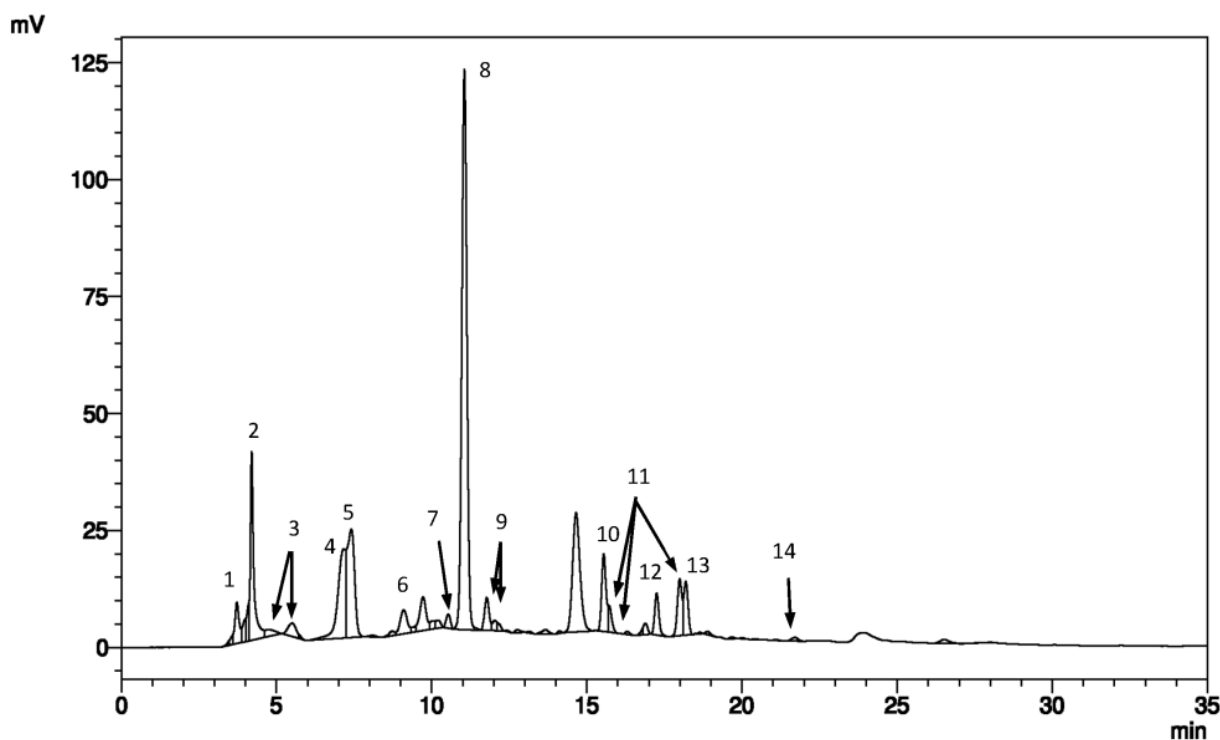


Рис. 3.6 Хроматограма, що одержана при визначенні фенольних сполук горобини плодів: 1, 2, 3 – катехіноподібні речовини, 4, 5, 7, 12 – фенольні кислоти, 6 – катехін, 8 – хлорогенова кислота, 9 – глікозиди флаванонів, 10, 11 – глікозиди флавонолів, 13 – рутин, 14 – кверцетин.

Таблиця 3.6

Фенольні сполуки горобини плодів

Група фенольних сполук	Вміст, мкг/г	Сполука	Час утр., хв	Вміст, мкг/г
Гідроксикоричні кислоти	3545,94	хлорогенова кислота	11,056	2329,74±15,04
		кофейна кислота	11,367	4,01±0,03
Катехіни	255,5	катехін	9,129	90,51±0,41
Катехіноподібні речовини*	933,94			
Флавоноли	530,64	рутин	18,197	128,8±1,64
		кверцетин	21,719	6,08±0,41
Флаванони	158,14	нарингін	17,442	1,50±0,07
Флаволи	2,03	глікозид апігеніну	21,127	2,03±0,38
Антоціани	3,20			
Неідентифіковані фенольні сполуки	288,35			
Сума фенольних сполук	5717,74			

Примітка: * – катехіноподібні – поліфеноли, піки яких розміщені поза областю піків катехінів, але зі спектральними характеристиками катехінів.

Методом ВЕРХ у горобини плодах визначено вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів (катехінів, антоціанів, флавонолів, флаванонів, флавононів) і катехіноподібних речовин. Всього ідентифіковано 6 фенольних сполук: із гідроксикоричних кислот – хлорогенову і кофейну кислоти; з флавоноїдів –

катехін, рутин, кверцетин і нарингін. Із гідроксикоричних кислот у сировині переважає хлорогенова кислота ($2329,74 \pm 15,04$ мкг/г), із флавоноїдів – рутин ($128,8 \pm 1,64$ мкг/г).

Сума фенольних сполук у горобини плодах становить $5717,74$ мкг/г, із них гідроксикоричних кислот – 62 %, флавоноїдів – 16,6 %.

Дослідження фенольних сполук кори горобини звичайної [164] проведено методом ВЕРХ на хроматографі рідинному Shimadzu LC20 Prominence згідно з підрозділами 2.2 і 2.3 (пункт 10).

Хроматограму, що одержана при визначенні фенольних сполук кори горобини звичайної, наведено на рис. 3.7, результати визначення вмісту фенольних сполук у досліджуваній сировині – у табл. 3.7.

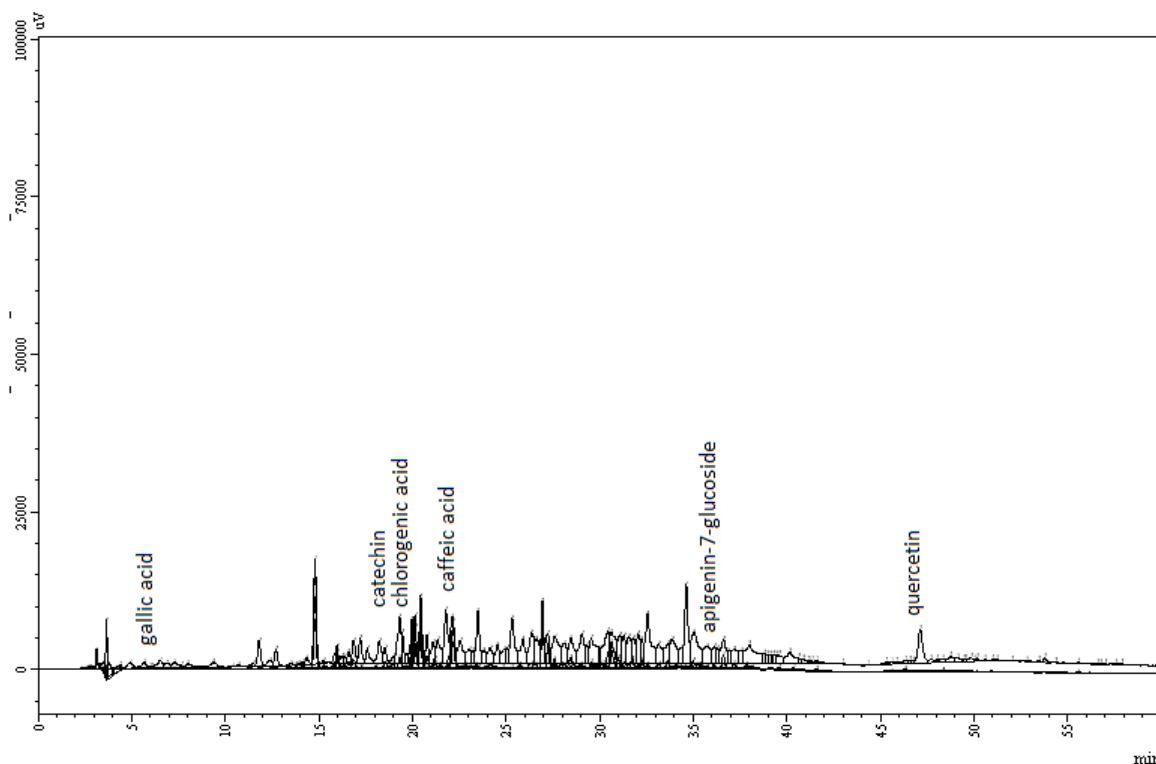


Рис. 3.7 Хроматограма, що одержана при визначенні фенольних сполук кори горобини звичайної

Таблиця 3.7

Фенольні сполуки горобини звичайної кори

№	Сполука	Час утр., хв	Вміст, мг/г
1	Галова кислота	6,8	0,019±0,01
2	Катехін	19,4	0,191±0,01
3	Хлорогенова кислота	20,4	0,056±0,01
4	Кофейна кислота	22,7	0,035±0,01
5	Апігенін-7-глюкозид	36,4	0,007±0,01
6	Кверцетин	48,0	0,003±0,01

Методом ВЕРХ у горобини звичайної корі ідентифіковано 6 фенольних сполук: 3 фенольні кислоти – хлорогенову, кофейну, галову і 3 флавоноїда – катехін, кверцетин і апігеніну-7-глюкозид. Із кислот у сировині превалює хлорогенова ($0,056 \pm 0,01$ мг/г), із флавоноїдів – катехін ($0,191 \pm 0,01$ мг/г). Апігенін-7-глюкозид у корі горобини звичайної виявлено вперше.

3.5.1 Гідроксикоричні кислоти

Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот у 7 зразках горобини плодів визначали згідно з підрозділами 2.2 і 2.3 (пункт 11). До 1.000 г здрібненої на порошок сировини додавали 80 мл етанолу (50 %) та продовжували дослідження за методикою, що наведена в монографії «Кропиви листя» ДФУ 2.0 [13, 45].

Результати дослідження наведено на рис. 3.8 і 3.9, та в табл. 3.7.

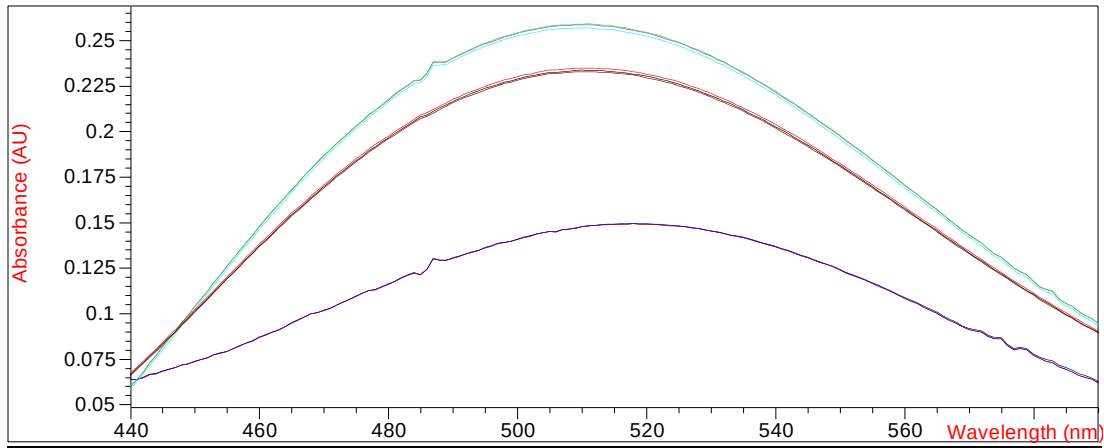


Рис. 3.8 Типові спектри поглинання випробуваних розчинів №№ 1, 3, 4 горобини плодів за довжини хвилі 525 нм, що одержані при визначенні вмісту гідроксикоричних кислот у сировині

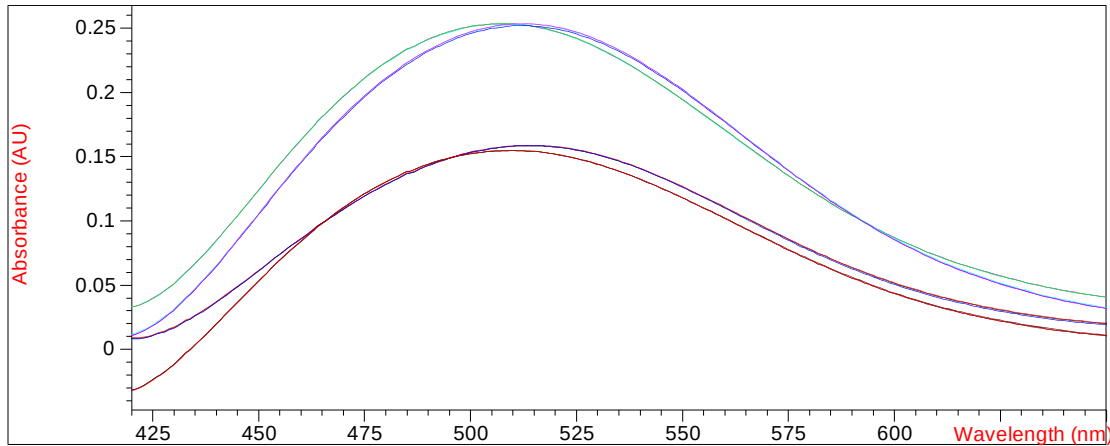


Рис. 3.9 Типові спектри поглинання випробуваних розчинів №№ 2, 5, 6, 7 горобини плодів за довжини хвилі 525 нм, що одержані при визначенні вмісту гідроксикоричних кислот у сировині

Таблиця 3.7

Вміст гідроксикоричних кислот у горобини плодах

Група БАР	Вміст у зразках, %						
	1	2	3	4	5	6	7
Гідроксикоричні кислоти	1,54 ± 0,08	1,58 ± 0,02	2,61 ± 0,05	2,39 ± 0,03	2,47 ± 0,03	1,53 ± 0,06	2,60 ± 0,05

У результаті дослідження встановлено, що вміст гідроксикоричних кислот у горобини плодах становить від $1,53 \pm 0,06$ % до $2,61 \pm 0,05$ %, у перерахунку на кислоту хлорогенову.

Одержані дані використано при розробці розділу «Кількісне визначення» для проєкту національної монографії «Горобини плоди^N».

Вміст суми гідроксикоричних кислот у листі горобини звичайної також визначали за методикою, наведеною в монографії «Кропиви листя» ДФУ 2.0 [13]. Результати дослідження наведено в табл. 3.8.

Таблиця 3.8

Вміст гідроксикоричних кислот у горобини звичайної листі

Сировина	Місяць заготівлі	Вміст, %
Листя горобини звичайної	травень	$1,75 \pm 0,01$
	липень	$1,90 \pm 0,01$
	вересень	$2,59 \pm 0,03$

Як видно з результатів дослідження, вміст гідроксикоричних кислот у горобини звичайної листі становить від $1,75 \pm 0,01$ % до $2,59 \pm 0,03$ %, у перерахунку на кислоту хлорогенову. Найбільший вміст гідроксикоричних кислот має вереснєве листя горобини звичайної, тобто вміст цієї групи БАР упродовж вегетаційного періоду в досліджуваній сировині збільшується.

3.5.2 Флавоноїди

Вміст суми флавоноїдів визначали методом абсорбційної спектрофотометрії у зразках № 3, № 5 і № 7 горобини плодів згідно з підрозділами 2.2 і 2.3 (пункт 12) за методикою, що наведена в монографії ДФУ 2.1 «Цмину піскового квітки^N» [11].

Результати дослідження наведено на рис. 3.10 і в табл. 3.9.

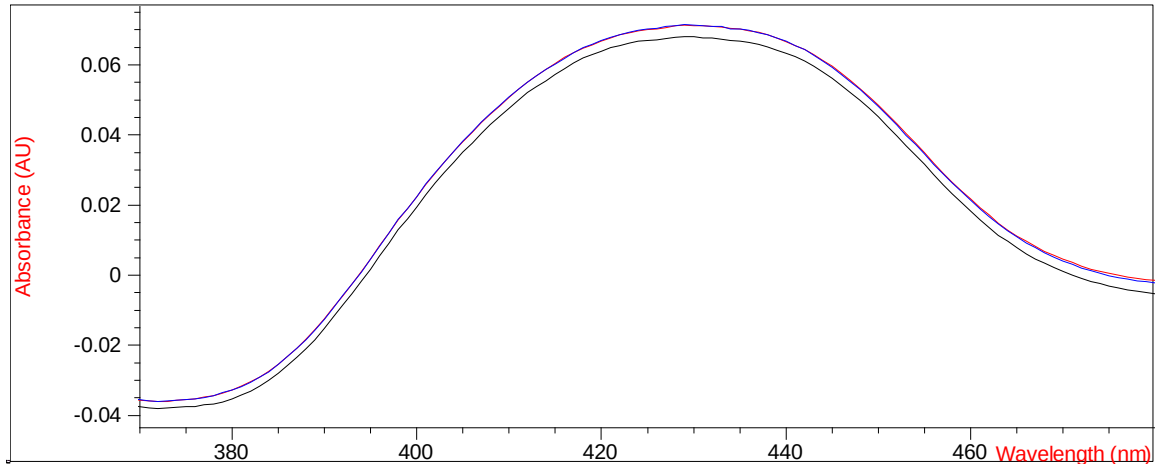


Рис. 3.10 Типові спектри поглинання випробуваного розчину № 3 горобини плодів за довжини хвилі 425 нм, що одержані при визначенні вмісту флавоноїдів у сировині

Таблиця 3.9

Вміст флавоноїдів у горобини плодах

Група БАР	Вміст у зразках, %		
	3	5	7
Флавоноїди	$0,04 \pm 0,01$	$0,04 \pm 0,01$	$0,04 \pm 0,004$

Так, у горобини плодах визначено вміст флавоноїдів, який становить $0,04 \pm 0,01$ %, у перерахунку на гіперозид.

Визначення вмісту суми флавоноїдів у горобини звичайної листі проводили спектрофотометричним методом за довжини хвилі 415 нм за методикою, що наведена в статті «Трава звіробою» ДФ СРСР XI вид. [9, 45]. Результати дослідження наведено в табл. 3.10.

Таблиця 3.10

Вміст флавоноїдів у горобини звичайної листі

Сировина	Місяць заготівлі	Вміст, %
Листя горобини звичайної	травень	$1,21 \pm 0,02$
	вересень	$1,29 \pm 0,01$

Як видно з результатів дослідження, вміст флавоноїдів у горобини звичайної листі становить від $1,21 \pm 0,02$ % до $1,29 \pm 0,01$ %, у перерахунку на рутин.

3.5.3 Проціанідини

Кількісне визначення проціанідинів у зразку № 3 горобини плодів проводили методом абсорбційної спектрофотометрії за методикою, що наведена в монографії «Шипшини плоди^N» ДФУ 2.1 [11].

У результаті проведених досліджень визначено, що вміст проціанідинів у горобини плодах становить $0,13 \pm 0,001$ %, у перерахунку на ціанідину хлорид і суху сировину [140].

3.5.4 Поліфенольні сполуки

Визначення вмісту поліфенолів у 7 зразках горобини плодів проводили методом абсорбційної спектрофотометрії за довжини хвилі 760 нм згідно з методикою, що наведена в монографії ДФУ 2.2 «Чорниці пагони^N» [12].

Типові спектри поглинання випробуваних розчинів № 1 – 7 горобини плодів за довжини хвилі 760 нм, що одержані при визначенні вмісту поліфенолів у сировині, наведено на рис. 3.12, результати дослідження – в табл. 3.12.

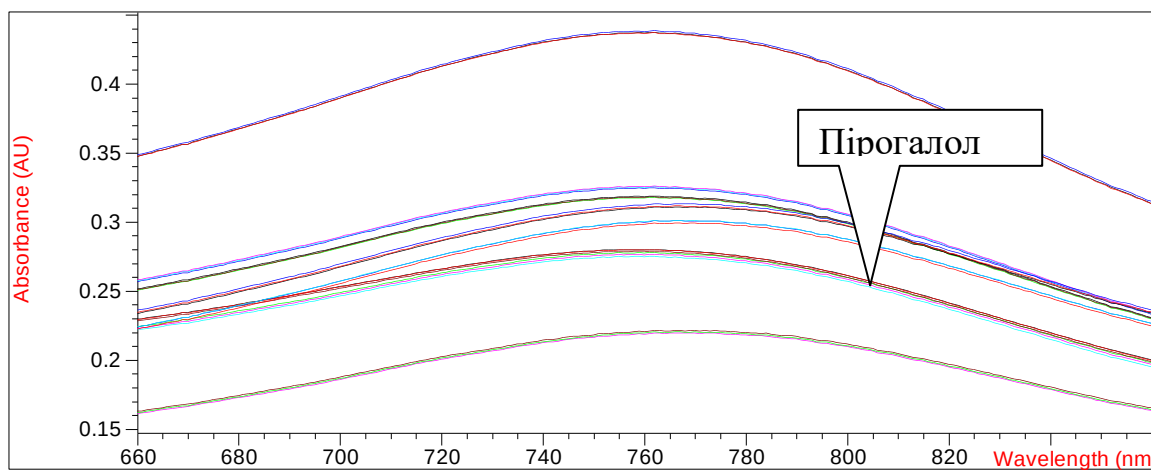


Рис. 3.12 Типові спектри поглинання випробуваних розчинів № 1 – 7 горобини плодів за довжини хвилі 760 нм, що одержані при визначенні вмісту поліфенолів у сировині

Таблиця 3.12

Вміст поліфенолів у горобини плодах

Група БАР	Вміст у зразках, %						
	1	2	3	4	5	6	7
Поліфеноли	$0,80 \pm$	$0,80 \pm$	$0,92 \pm$	$0,91 \pm$	$0,87 \pm$	$0,62 \pm$	$0,88 \pm$
	0,02	0,07	0,05	0,05	0,08	0,03	0,02

У результаті дослідження встановлено, що вміст поліфенолів у горобини плодах становить від $0,62 \pm 0,03$ % до $0,92 \pm 0,05$ %, у перерахунку на пірогалол.

3.6 Леткі сполуки

Леткі сполуки квіток і кори горобини звичайної досліджували методом ГХ-МС згідно з підрозділами 2.2 і 2.3 (пункт 13) [98, 139, 164].

На рис. 3.13 і 3.14 наведено хроматограми, що одержані при визначенні летких сполук квіток і кори горобини звичайної, у табл. 3.13 – результати дослідження.

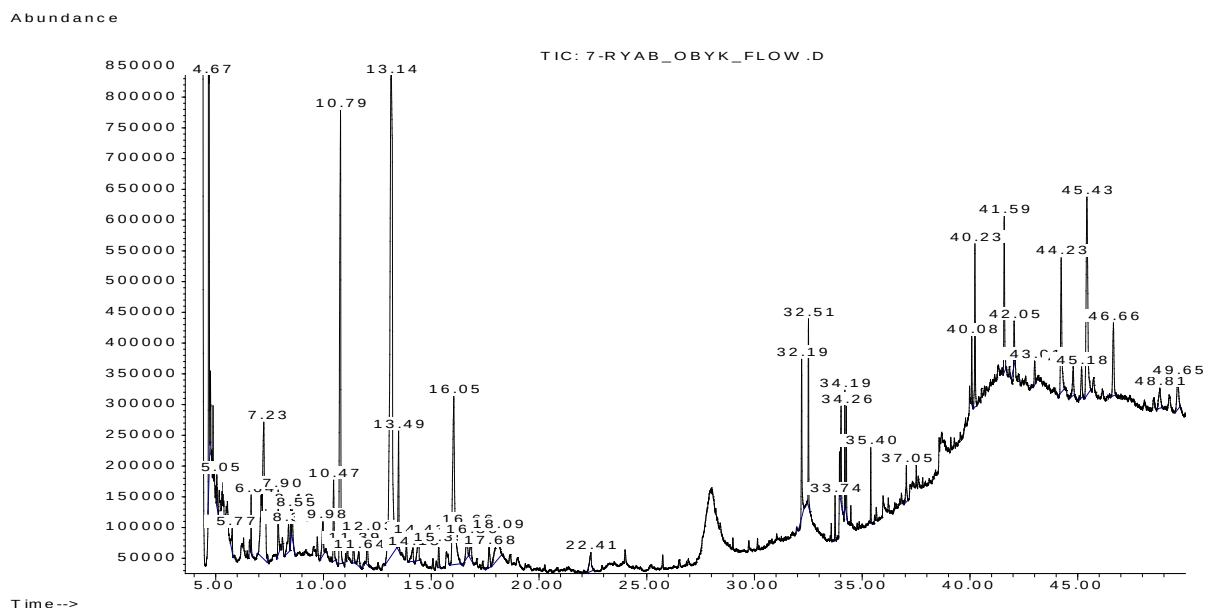


Рис. 3.13 Хроматограма, що одержана при визначенні летких сполук квіток горобини звичайної

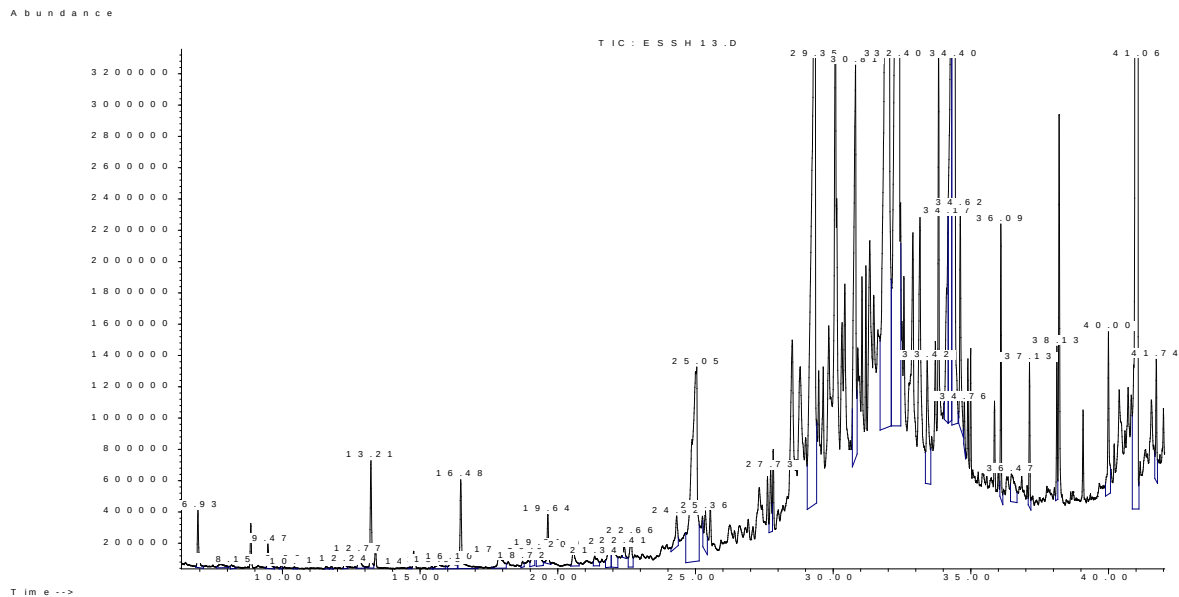


Рис. 3.14 Хроматограма, що одержана при визначенні летких сполук кори горобини звичайної

Таблиця 3.13

Леткі сполуки квіток і кори горобини звичайної

Речовина	Час утрим., хв	Вміст, мг/кг	
		квітки	кора
1	2	3	4
<i>Терпеноїди</i>			
Камфора	10,438	—	1,38±0,08
Геранілацетон	20,554	—	15,90±0,58
Сквален	41,056	—	1283,52±24,01
Фітол	33,74	0,42±0,02	—
γ-Сітостерол	44,23	2,99±0,06	—
<i>Ароматичні сполуки</i>			
Бензальдегід	7,22	7,28±0,09	—
β-Фенілетиловий спирт	12,02	0,58±0,02	—
Бензойна кислота	14,15	0,45±0,01	—
Анісовий спирт	17,68	0,54±0,03	—
Анісова кислота	22,40	0,73±0,03	—
<i>Гетероциклічні сполуки і їх похідні</i>			
2,4-Диокси-2,5-диметил-3(2H)-фуран-3-он	7,90	0,94±0,02	—
2,5-Диметил-4-оксі-3(2H)-фуранон	10,78	8,33±0,18	—
2,3-Дигідро-3,5-диокси-6-метил-4H-піран-4-он	13,14	17,49±0,23	—
Етилнікотинат	15,34	0,39±0,02	—
5-Гідроксиметилфурфурол	16,05	5,76±0,11	—
<i>Карбонові кислоти і їх похідні</i>			
Оцтова кислота	4,66	9,12±0,07	—
4-Гідрокси-2-пентенової кислоти лактон	6,64	0,51±0,03	—
Моноетилсукцинат	14,42	0,65±0,02	—
Пеларгонова кислота	16,098	—	12,19±0,26
Яблучна кислота	18,09	2,01±0,05	—

Продовж. табл. 3.13

1	2	3	4
Капринова кислота	19,305	—	20,25±0,18
Лауринова кислота	25,049	—	359,22±3,01
Міристинова кислота	29,352	—	732,56±5,40
Пентадеканова кислота	30,817	—	278,14±4,12
Пальмітолеїнова кислота	32,035	—	1273,83±19,04
Пальмітинова кислота	32,18 /32,397	1,79±0,04	1362,69±21,08
Етилпальмітат	32,50	1,67±0,03	—
Маргарінова кислота	33,415	—	96,96±0,73
Ліноленова кислота	34,01 /34,17	1,35±0,03	105,98±1,94
Лінолева кислота	34,302	—	372,93±3,05
Олеїнова кислота	34,402	—	731,23±4,48
Стеаринова кислота	34,618	—	90,87±0,69
Етиллінолеат	34,19	0,84±0,01	—
Етилліноленат	34,26	0,95±0,02	—
<i>Алкани, алкени і їх похідні</i>			
Декан	6,93	—	26,15±0,62
2-Етилгексанол	7,747	—	7,59±0,07
Гексаналь	8,148	—	3,86±0,11
Нонаналь	9,475	—	15,53±0,19
Ундекан	9,953	—	2,21±0,05
Дек-2-ен-1-ол	11,595	—	1,80±0,06
5-Метилундекан	11,772	—	1,35±0,05
Деканаль	12,775	—	13,36±0,14
Додекан	13,214	—	46,01±0,35
Ундеканаль	15,674	—	9,82±0,12
Ундек-2-еналь	17,871	—	22,57±0,38
3-Метилтридекан	18,719	—	3,35±0,04
Додекан-1-ол	21,865	—	25,86±0,42
Додекан-2-он	22,019	—	26,82±0,57
Додеканаль	22,412	—	7,30±0,07
Тридеканаль	25,358	—	31,97±0,24

Продовж. табл. 3.13

1	2	3	4
Тетрадеканаль	27,732	—	29,66±0,53
Тетрадекан	19,637	—	22,79±0,18
Ейкозан	35,40	0,65±0,03	—
Трикозан	36,09	—	77,06±0,60
Тетракозан	36,468	—	37,46±0,41
Нонадекан	37,04	0,57±0,02	—
Пентакозан	37,131	—	40,84±0,36
Гексакозан	38,126	—	43,54±0,59
Гептакозан	39,999	—	70,32±0,83
Нонакозан	41,734	—	44,35±0,37
Сума летких сполук		66,01	7349,22

У квітках горобини звичайної виявлено 23 компонента, з яких 2 терпеноїда, 5 ароматичних сполук, 5 гетероциклічних сполук і їх похідних, 9 карбонових кислот і їх похідних, 2 алкани. В сировині переважають 2,3-дигідро-3,5-дигідрокси-6-метил-4Н-піран-4-он, оцтова кислота, 2,5-диметил-4-гідрокси-3(2Н)-фуранон, бензальдегід, γ -ситостерин, яблучна кислота, пальмітинова кислота, ліноленова кислота, анісова кислота, анісовий спирт бензойна кислота.

В корі горобини звичайної ідентифіковано 39 летких компонентів, із яких 3 терпеноїда, 12 жирних кислот, 24 алкани, алкени і їх похідні. У сировині переважають попередник багатьох тритерпенів – сквален, пальмітинова і пальмітолеїнова кислоти. Більшість виявлених альдегідів, спиртів і кетонів є запашними речовинами, що надають запах рослинній сировині.

3.7 Мінеральні речовини

Мінеральні речовини в рослинах представлені макро- і

мікроелементами. До перших належать, наприклад, калій, натрій, магній, кальцій і фосфор, до других – силіцій, манган, купрум, цинк, ферум, кобальт, молібден. При недоліку або надлишку мікроелементів в організмі виникають важкі захворювання. Для корекції мікроелементної рівноваги часто використовують рослинні мінеральні комплекси, тому що в рослинах макро- і мікроелементи пов'язані з БАР органічної природи, отже, краще засвоюються організмом, ніж синтетичні препарати [84].

Визначення мінеральних речовин у листі, квітках, плодах і корі горобини звичайної [54] проводили згідно з підрозділами 2.2 і 2.3 (пункт 14) АЕС методом, оснований на випарюванні золи сировини у дуговому розряді, фотографічній реєстрації розкладеного в спектр випромінювання і вимірі інтенсивності спектральних ліній окремих елементів. Вміст елементів визначали у перерахунку на повітряно-суху сировину. Результати дослідження наведено в табл. 3.14.

Таблиця 3.14

**Вміст макро- і мікроелементів у листі, квітках, плодах і корі
горобини звичайної**

Еле- мент	Вміст елемента*, мг/100 г					
	Листя (жовтень)	Квітки	Плоди (зразок)			Кора
			1	3	7	
1	2	3	4	5	6	7
К	1325,0±29,0	1940,0±31,5	1980,0±18,2	1930,0±24,0	1750,0±16,1	710,0±9,3
Ca	770,0±11,3	530,0±6,5	540,0±8,2	520,0±9,3	365,0±6,8	460,0±8,6
Si	127,0±3,0	410,0±6,8	310,0±6,2	372,0±7,1	103,0±5,4	131,0±9,1
Mg	230,0±6,5	220,0±5,5	230,0±7,3	290,0±9,2	95,0±3,1	155,0±2,0
P	130,0±2,7	110,0±4,2	25,0±0,9	18,0±0,4	80,0±2,6	100,0±4,2
Na	33,0±0,7	90,0±2,6	90,0±1,9	140,0±8,5	100,0±4,7	26,0±0,9

Продовж. табл. 3.14

1	2	3	4	5	6	7
Fe	21,0±0,6	50,0±1,7	9,0±0,1	11,0±0,2	8,2±0,2	15,0±0,3
Al	14,0±0,2	30,0±0,6	47,0±3,2	42,0±0,7	10,0±0,6	9,2±0,3
Mn	5,0±0,1	20,0±0,5	5,0±0,08	4,0±0,1	6,5±0,08	2,3±0,05
Zn	1,5±0,04	2,0±0,09	3,0±0,06	2,0±0,03	5,0±0,04	1,8±0,03
Sr	2,0±0,06	0,9±0,06	0,9±0,07	0,7±0,05	1,0±0,08	2,5±0,09
Cu	0,4±0,02	0,7±0,06	0,3±0,04	0,5±0,02	0,36±0,07	1,0±0,09
Pb	<0,05	<0,03	<0,05	<0,05	<0,03	<0,05
Ni	<0,05	0,1±0,01	0,05±0,01	<0,05	0,06±0,01	<0,05
Mo	<0,06	0,03±0,01	0,05±0,01	0,05±0,01	0,10±0,01	<0,06

Примітка. * – Вміст Co < 0,03; Cd < 0,01; As < 0,01; Hg < 0,01.

У листі, квітках, плодах і корі горобини звичайної визначено вміст 19 елементів, із яких 6 макроелементів (K, Ca, Mg, Na, P, Si) і 13 мікроелементів (Fe, Mn, Cu, Zn, Al, Pb, Sr, Ni, Mo, Co, Cd, As, Hg). До життєво необхідних (есенціальних) елементів відносяться всі макро- і деякі мікроелементи: Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Mo, до умовно необхідних – Si, Sr, Cd, Ni, Hg.

У досліджуваній сировині переважають (у мг/100 г) калій (від 710 до 1980) і кальцій (від 365 до 770), також в значній кількості містяться магній (від 95 до 290), силіцій (від 103 до 410) і фосфор (від 18 до 130).

Виявлено таку закономірність накопичення елементів у досліджуваній сировині горобини звичайної: у листі – K > Ca > Mg > P > Si > Na > Fe > Al > Mn > Sr > Zn > Cu > Mo > Ni ≈ Pb; у квітках – K > Ca > Si > Mg > P > Na > Fe > Al > Mn > Zn > Sr > Cu > Ni > Mo > Pb; у плодах – K > Ca > Si > Mg > Na > P > Al > Fe > Mn > Zn > Sr > Cu > Mo > Ni > Pb; у корі – K > Ca > Mg > Si > P > Na > Fe > Al > Sr > Mn > Zn > Cu > Mo > Ni ≈ Pb. У сировині відсутні або знаходяться за межами можливостей визначення приладу мікроелементи кобальт, кадмій, арсен і ртуть. Вміст важких металів в усіх досліджуваних

зразках знаходиться за вимогами ДФУ в межах допустимої для ЛРС норми.

Висновки до розділу 3

1. Вперше проведено комплексне фітохімічне дослідження листя, плодів, квіток і кори горобини звичайної, у ході якого за допомогою якісного та кількісного аналізу в листі горобини звичайної виявлено полісахариди, карбонові кислоти, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, мінеральні речовини; в плодах – полісахариди, органічні кислоти, аскорбінову кислоту, каротиноїди, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, проціанідини, поліфеноли, мінеральні речовини; в квітках – компоненти ефірної олії (терпеноїди, ароматичні та гетероциклічні сполуки, карбонові кислоти), мінеральні речовини; в корі – карбонові кислоти, фенольні кислоти, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, терпеноїди, ароматичні та гетероциклічні сполуки, мінеральні речовини.

2. Гравіметричним методом визначено, що вміст полісахаридів у листі горобини звичайної становить від $7,84 \pm 0,12$ % до $9,15 \pm 0,27$ %, у плодах – $3,47 \pm 0,09$ %. В результаті хроматографічного дослідження у полісахаридному комплексі з горобини плодів після попереднього гідролізу виявлено глюкозу, арабінозу та галактозу.

3. Титриметричним методом визначено вміст органічних кислот у 7 зразках горобини плодів, який становить від $2,45 \pm 0,04$ % до $3,71 \pm 0,25$ %, у перерахунку на яблучну кислоту і суху сировину. Методом паперової хроматографії у горобини плодах ідентифіковано яблучну, лимонну, щавлеву кислоти та у слідовій кількості бурштинову кислоту.

4. Дослідження складу і вмісту карбонових кислот у сировині проводили методом ГХ-МС. У листі горобини звичайної вересневого збору визначено 28 карбонових кислот (6 двоосновних, 1 триосновну, 4 ароматичних, 17 жирних), у корі – 40 (11 двоосновних, 1 триосновну, 10 ароматичних, 18 жирних). Загальний вміст карбонових кислот у листі

горобини звичайної становить 18,2 г/кг, у корі – 6,8 г/кг, тобто у листі їх міститься у 2,7 % більше, ніж у корі. Найбільше двоосновних, триосновних і жирних кислот накопичується в листі горобини звичайної, ароматичних кислот – в корі. Домінуючими в листі горобини звичайної з двоосновних кислот є яблучна і щавлева, з триосновних – лимонна, з ароматичних – бензойна, з жирних – пальмітинова кислоти; у корі рослини домінуючими з двоосновних кислот є тапсієва і азелаїнова, з триосновних – лимонна, з ароматичних – бензойна і α -гідроксифенілоцтова, з жирних – лігноцеринова, бегенова і пальмітинова кислоти. У корі горобини звичайної карбонові кислоти ідентифіковані вперше.

5. Титриметричним методом у 7 зразках горобини плодів визначено вміст аскорбінової кислоти, який становить від $0,01 \pm 0,002$ % до $0,03 \pm 0,001$ %, у перерахунку на суху сировину. Методом ВЕРХ у горобини плодах визначено вміст аскорбінової кислоти, який складає 0,001 %, у перерахунку на суху сировину.

6. Методом ТШХ у горобини плодах визначені каротиноїди, гідроксикоричні кислоти і флавоноїди. Одержані дані використані при розробці проекту монографії на сировину.

7. Методом ВЕРХ у горобини плодах ідентифіковано 6 фенольних сполук: 2 гідроксикоричні кислоти (хлорогенову і кофейну) і 4 флавоноїда (катехін, рутин, кверцетин, нарингін). Із гідроксикоричних кислот у сировині переважає хлорогенова кислота ($2329,74 \pm 15,04$ мкг/г), із флавоноїдів – рутин ($128,8 \pm 1,64$ мкг/г). Сума фенольних сполук у горобини плодах становить 5717,74 мкг/г, із них гідроксикоричних кислот – 62 %, флавоноїдів – 16,6 %. У корі горобини звичайної ідентифіковано 6 фенольних сполук: 3 фенольні кислоти (хлорогенову, кофейну, галову) і 3 флавоноїда (катехін, кверцетин і апігенін-7-глюкозид). Із кислот у сировині превалює хлорогенова ($0,056 \pm 0,01$ мг/г), із флавоноїдів – катехін ($0,191 \pm 0,01$ мг/г). Апігенін-7-глюкозид у корі горобини звичайної виявлено вперше.

8. Методом абсорбційної спектрофотометрії визначено вміст гідроксикоричних кислот у плодах горобини звичайної, який становить від $1,53 \pm 0,06$ % до $2,61 \pm 0,05$ %, у перерахунку на кислоту хлорогенову, а також у листі рослини, який становить від $1,75 \pm 0,01$ % до $2,59 \pm 0,03$ %, у перерахунку на кислоту хлорогенову. Результати дослідження, що одержані при визначенні вмісту гідроксикоричних кислот у горобини плодах, використані при розробці проекту монографії на сировину.

9. Методом абсорбційної спектрофотометрії визначено вміст флавоноїдів у плодах горобини звичайної, який становить $0,04 \pm 0,01$ %, у перерахунку на гіперозид, і в листі рослини, який становить від $1,21 \pm 0,02$ % до $1,29 \pm 0,01$ %, у перерахунку на рутин.

10. Спектрофотометричним методом також визначено вміст проціанідинів і поліфенолів у горобини плодах, який, відповідно, становить $0,13 \pm 0,001$ %, у перерахунку на ціанідину хлорид і суху сировину, та від $0,62 \pm 0,03$ % до $0,92 \pm 0,05$ %, у перерахунку на пірогалол.

11. Вперше методом ГХ-МС вивчено леткі сполуки квіток і кори горобини звичайної. В квітках горобини звичайної виявлено 23 компонента: 2 терпеноїда, 5 ароматичних сполук, 5 гетероциклічних сполук і їх похідних, 9 карбонових кислот і їх похідних, 2 алкани; у корі – 39 компонентів: 3 терпеноїда, 12 жирних кислот, 24 алкани, алкени і їх похідні. Більшість виявлених альдегідів, спиртів і кетонів є запашними речовинами, що надають запах рослинній сировині.

12. Методом АЕС у листі, квітках, плодах і корі горобини звичайної визначено вміст 19 елементів, із яких 6 макроелементів і 13 мікроелементів. Найбільше елементів накопичується в квітках і плодах горобини звичайної, найменше – в корі. У досліджуваній сировині переважають (у мг/100 г) калій (від 710 до 1980) і кальцій (від 365 до 770), також в значній кількості містяться магній (від 95 до 290), силіцій (від 103 до 410) і фосфор (від 18 до 130). У сировині відсутні або знаходяться за межами можливостей визначення приладу мікроелементи кобальт, кадмій, арсен і меркурій. Вміст

важких металів в усіх досліджуваних зразках знаходиться в межах допустимої для ЛРС норми та відповідає вимогам ДФУ.

Результати експериментальних досліджень даного розділу знайшли відображення у таких публікаціях:

1. Криворучко О. В., Маркін О. М. Гідроксикоричні кислоти і флавоноїди горобини звичайної і горобини арії. *Зб. наук. прац. співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика*. К., 2017. Вип. 28. С. 67–73 (*Особистий внесок – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті*).
2. Research in the chemical composition of the bark of *Sorbus aucuparia* / E. Krivoruchko, A. Markin, V. Samoilova, T. Ilina, O. Koshovyi. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2018. Vol. 67 (3). P. 113–115 (*Особистий внесок – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті*).
3. Маркин А. Н., Криворучко Е. В., Самойлова В. А. Исследование карбоновых кислот почек и листьев *Sorbus aucuparia*. *Наука и инновация*. 2019. № 4. С. 122–125 (*Особистий внесок – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті*).
4. Маркін О. М., Криворучко О. В. Визначення фенольних сполук у горобини плодах. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 3 (85). С. 68–73. (*Особистий внесок – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті*).
5. Маркин А. Н., Криворучко Е. В. Содержание аскорбиновой кислоты в плодах рябины обыкновенной. *Перспективы развития биологии, медицины и фармации: материалы IV Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, г. Шымкент, Республика Казахстан, 9–10 декабря 2016 г. Вестник ЮКГФА*. 2016. № 4 (77), Т. 4. С. 114–115.

6. Markin O. M., Krivoruchko O. V. The content of procyanidins in fruits of mountain ash. *Topical Issues of New Drug Development: Abstracts of XXIV International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Student*, April 20, 2017: in 2 vol. Kh.: Publishing Office NUPh, 2017. Vol. 1. P. 97.
7. Маркін О. М., Криворучко О. В. Органічні кислоти плодів горобини звичайної і горобини домашньої. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій: тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича, 12-13 квітня 2018 р. Х.: НФаУ, 2018. С. 280.*
8. Markin A. N., Samoilova V. A., Krivoruchko O. V. Essential oil of flowers of *Sorbus aucuparia* and *Sorbus aria*. *Science and practice 2018: abstracts of 9th International Pharmaceutical Conference*, 9 November, 2018. Kaunas, 2018. P. 25.
9. Маркин А. Н., Криворучко Е. В. Элементный состав рябины обыкновенной. *Актуальные вопросы фармации: фармацевтическая опека в педиатрии. Дизайн, производство и контроль качества лекарственных средств: материалы факультетских чтений школы фармации, проводимых в рамках международной научно-практической конференции «Дни университета-2019: Педиатрия XXI века. Современные вызовы и тенденции».* Алматы, 2019. С. 81–82.

РОЗДІЛ 4

ОДЕРЖАННЯ З ГОРОБИНИ ЗВИЧАЙНОЇ ЛИСТЯ СУБСТАНЦІЙ ТА ЇХ ДОСЛІДЖЕННЯ

4.1 Одержання субстанцій з горобини звичайної листя

4.1.1 Одержання «Горобини звичайної листя екстракту густого «Сорбафол»

Вибір оптимального екстрагенту для одержання густого спиртового екстракту з горобини звичайної листя здійснено експериментальним шляхом. Визначення вмісту екстрактивних речовин у горобини звичайної листі проводили за методикою, що наведена у монографії «Полин гіркий^N» ДФУ 2.1 [11]. Враховуючи те, що дослідження горобини звичайної листя екстракту густого водного було проведено раніше [31 – 35, 43, 91], як екстрагенти використовували 40 %, 50 % і 60 % етанол. Так, при екстрагуванні сировини 40 % етанолом вміст екстрактивних речовин у екстракті склав $31,86 \pm 0,4$ %, 50 % етанолом – $33,52 \pm 0,35$ %, 60 % етанолом – $30,17 \pm 0,12$ %, тому доцільним було проводити екстракцією сировини 50 % етанолом.

Густий спиртовий екстракт з горобини звичайної листя одержували екстракцією сировини 50 % етанолом методом мацерації згідно з ДФУ 2.1 [11]. Технологія одержання екстракту наведена в патенті України на корисну модель «Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної» та патенті України на винахід «Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної» [52].

Горобини звичайної листя екстракт густий спиртовий одержували наступним чином: 1,0 кг повітряно-сухого листя горобини звичайної, подрібненого до розміру часток 2-3 мм, завантажували в екстрактор і заливали 8 л 50 % етанолу та екстрагували протягом 5 годин при температурі

20-25 °С. Зливали екстракт в приймач. Екстракцію проводили ще двічі за таких самих умов новими порціями екстрагенту по 5 л. Одержані екстракти об'єднували, фільтрували, концентрували за допомогою ротаційного вакуум-випарного апарату та випарювали в вакуум-сушильній шафі до значення втрати в масі при висушуванні 24,7 %. Вихід густого екстракту склав 33,2 %. Кінцевий продукт не містить спирту.

Горобини звичайної листя екстракт густий спиртовий отримав умовну назву «Сорбафол».

4.1.2 Комплексна переробка сировини. Одержання «Горобини звичайної листя екстракту густого «Феногор»

Одним із напрямів раціонального використання сировинних ресурсів і зниження собівартості лікарських засобів є технологія комплексної переробки ЛРС. При її використанні можна послідовно виділити основні фракції БАР й одержати повний спектр сполук від ліпофільних до гідрофільних [5].

З літературних джерел відомо, що етилацетатний екстракт з плодів горобини домашньої має високу протидіабетичну активність [173], тому при комплексній переробці сировини як екстрагент ми використовували етилацетат.

Спочатку здрібнене горобини звичайної листя вичерпно екстрагували хлороформом на апараті Сокслета, потім – сумішню етилацетат-96 % етанол (8:2). Хлороформний і етилацетатно-спиртовий витяги упарювали до отримання відповідно хлороформного і етилацетатно-спиртового густих екстрактів. Далі шрот екстрагували водою, водний витяг упарювали до отримання екстракту густого водного очищеного.

30 г здрібненої на порошок сировини вичерпно екстрагували хлороформом на апараті Сокслета. Хлороформний витяг упарювали до отримання густого екстракту, вихід якого склав 10 %. Далі шрот вичерпно

екстрагували на апараті Сокслета сумішшю етилацетат-96 % етанол (8:2). Етилацетатно-спиртовий витяг упарювали до отримання густого екстракту, вихід якого склав 9 %. Горобини звичайної листя екстракт густий етилацетатно-спиртовий отримав умовну назву «Феногор». Далі шрот висушували і переносили в екстрактор, потім ще двічі екстрагували гарячою водою. Об'єднані водні витяги упарювали до отримання горобини звичайної листя екстракту водного очищеного, вихід якого склав 16 %.

Було проведено фітохімічне [16, 27, 57, 102] і фармакологічне [16, 17, 52, 58] дослідження горобини звичайної листя екстрактів «Сорбафол» і «Феногор».

4.2 Фітохімічне дослідження одержаних субстанцій

4.2.1 Фенольні сполуки

Фенольні сполуки у горобини звичайної листя екстрактах густих «Сорбафол» і «Феногор» визначали методом ВЕРХ згідно з підрозділами 2.2 і 2.3 (пункт 10). Розрахунок вмісту фенольних сполук у екстрактах проводили для абсолютно сухих субстанцій. ВЕРХ-хроматограми фенольних сполук екстрактів «Сорбафол» і «Феногор» наведено на рис. 4.1 і 4.2, результати дослідження екстрактів – в табл. 4.1.

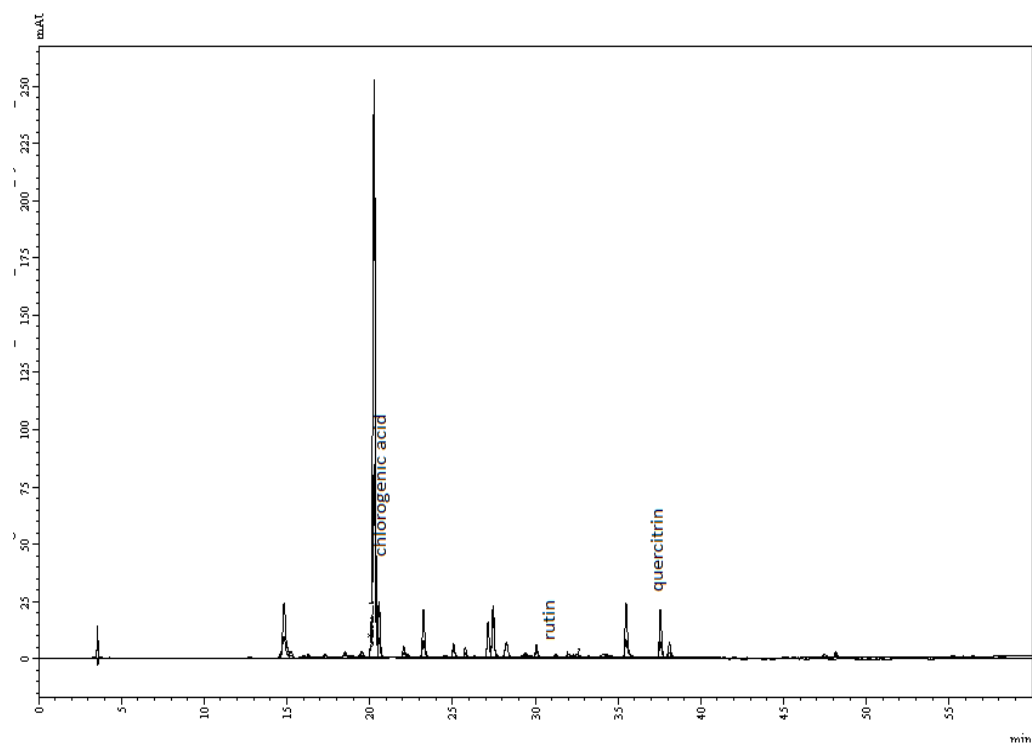


Рис. 4.1 Хроматограма фенольних сполук екстракту «Сорбафол»

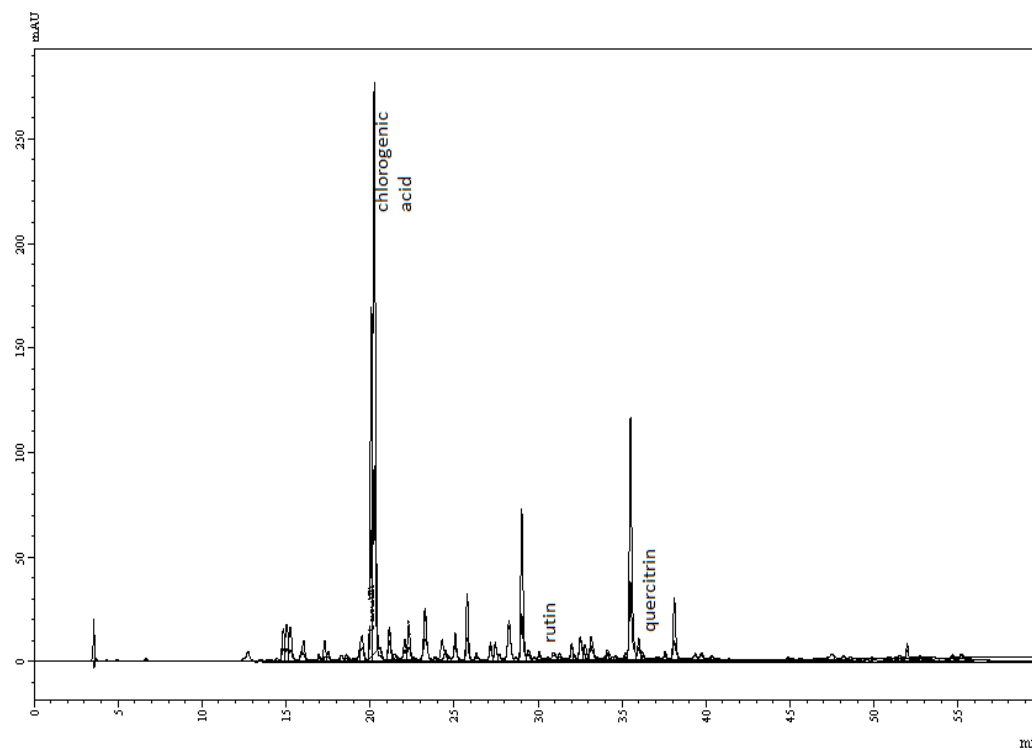


Рис. 4.2 Хроматограма фенольних сполук екстракту «Феногор»

Таблиця 4.1

Вміст фенольних сполук у екстрактах «Сорбафол» і «Феногор»

Сполука	Час утр., хв	Вміст, мг/г	
		«Сорбафол»	«Феногор»
Хлорогенова кислота	20,4	0,06±0,01	0,21±0,04
Рутин	31,0	3,57±0,14	0,37±0,03
Кверцитрин	35,9	0,54±0,06	11,61±0,27

Так, методом ВЕРХ у густих екстрактах із горобини звичайної листя «Сорбафол» і «Феногор» ідентифіковано хлорогенову кислоту та флавоноїди кверцитрин (кверцетин 3-О-рамнозид) і рутин. В екстракті «Сорбафол» переважає рутин (3,57±0,14 мг/г), в екстракті «Феногор» – кверцитрин (11,61±0,27 мг/г). Також в обох екстрактах в незначній кількості визначена наявність галової, неохлорогенової і кофейної кислот, катехіну і гіперозиду.

Визначення вмісту гідроксикоричних кислот у горобини звичайної листя екстракті густому «Сорбафол» проводили спектрофотометричним методом за методикою, що наведена в монографії ДФУ «Кропиви листя» [13].

Вміст гідроксикоричних кислот у горобини звичайної листя екстракті густому «Сорбафол» становить $3,41 \pm 0,04$ %, у перерахунку на кислоту хлорогенову. Результати дослідження використано при розробці МКЯ на субстанцію.

4.2.2 Карбонові кислоти

Дослідження карбонових кислот екстрактів «Сорбафол» і «Феногор» проводилося методом ГХ-МС згідно з підрозділами 2.2 і 2.3 (пункт 6) [27,

113]. Хроматограми метилових естерів карбонових кислот екстрактів наведено на рис. 4.3 і 4.4, результати дослідження – в табл. 4.3.

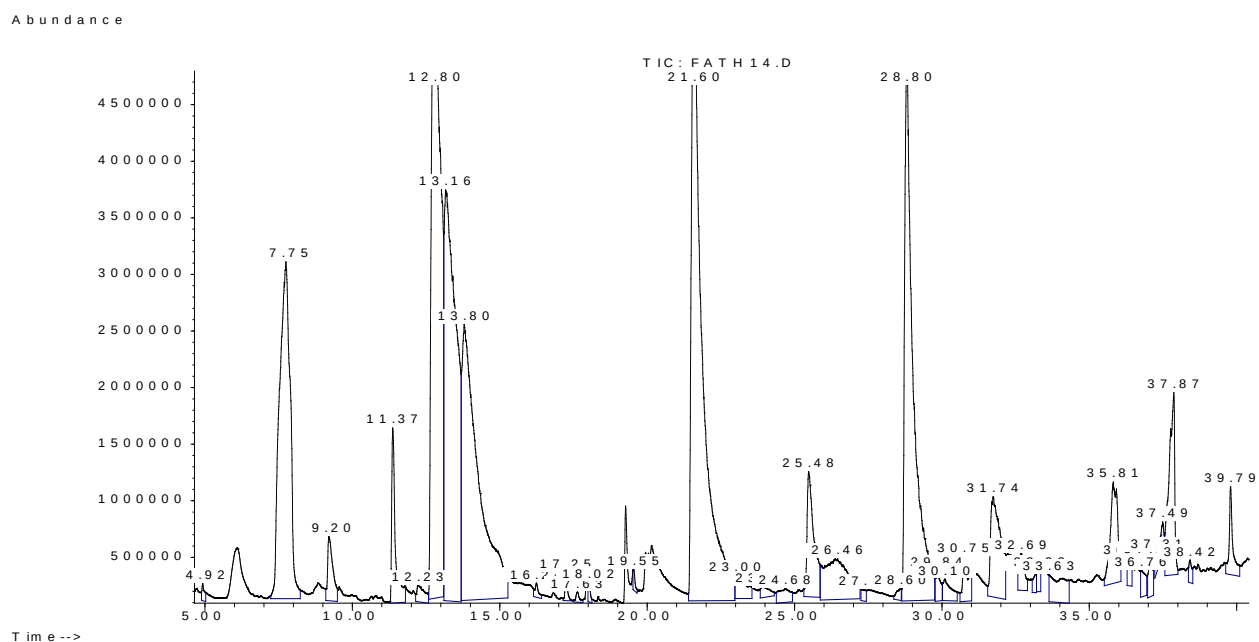


Рис. 4.3 Хроматограма метилових естерів карбонових кислот екстракту «Сорбафол»

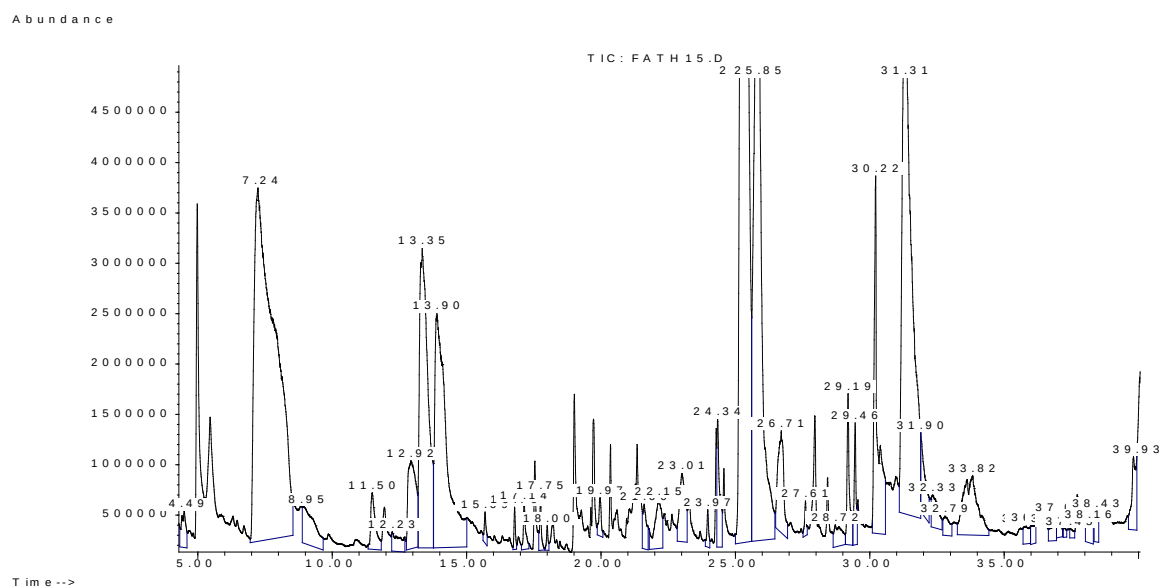


Рис. 4.4 Хроматограма метилових естерів карбонових кислот екстракту «Феногор»

Таблиця 4.3

Вміст карбонових кислот у екстрактах «Сорбафол» і «Феногор»

Кислота	Час утр., хв	Вміст в екстракті, мг/кг	
		«Сорбафол»	«Феногор»
1	2	3	4
Двоосновні кислоти			
Щавлева	9,195	335,8±2,5	467,6±3,2
Малонова	11,370	640,6±4,3	283,4±5,8
Фумарова	12,234	130,6±0,9	167,1±2,3
Бурштинова	13,160	4779,8±28,7	2573,6±17,6
Глутарова	16,238	50,5±0,8	64,0±0,7
Адипінова	17,995	—	39,7±0,4
2-Гідрокси-3-метилглутарова	19,545	40,3±0,5	97,3±0,8
Яблучна	21,598	6856,2±35,6	170,9±4,8
Азелаїнова	24,682	143,2±0,9	341,4±1,6
Тапсієва	36,371	100,8±0,8	83,9±0,7
Октадекандіова	37,866	1022,1±12,4	127,0±0,9
<i>Разом</i>		14099,9	4415,9
Триосновні кислоти			
Лимонна	28,803	4621,5±15,8	175,9±0,7
Ароматичні кислоти та їх похідні			
Бензойная	13,801	4493,1±26,3	2819,8±14,9
Фенілоцтова	17,248	65,7±0,7	60,9±0,5
Саліцилова	17,627	36,5±0,5	112,6±2,6
α-Гідроксифенілоцтова	25,479	849,7±5,8	7681,1±48,3
Ванілінова	32,690	215,4±3,3	329,4±2,9
n-Кумарова	33,633	397,8±4,1	887,0±6,3
n-Гідроксибензойна	37,063	157,6±2,9	85,5±1,0
Бузкова	37,308	36,7±0,3	26,0±0,7

Продовж. табл. 4.3

1	2	3	4
Гентизинова	37,486	35,2±0,5	35,4±0,6
Ферулова	39,795	314,8±3,8	337,7±4,1
<i>Разом</i>		6602,5	12375,4
Жирні кислоти та їх похідні			
Капронова*	4,923	39,9±0,8	163,3±1,8
Левулінова*	12,797	5763,8±34,8	715,9±5,0
Лауринова*	18,017	43,3±0,6	98,8±0,9
Міристинова*	22,998	234,3±4,0	380,1±2,7
9-Оксононанова*	23,014	—	395,7±3,9
Пентадеканова*	23,890	91,6±0,7	69,7±0,8
Пальмітинова*	26,461	1000,9±8,5	5095,5±35,6
Пальмітолеїнова	27,392	49,7±0,8	607,7±5,1
Маргарінова*	28,602	53,8±0,5	58,2±0,6
Стеаринова*	29,840	137,9±3,5	373,8±2,5
Олеїнова	30,103	174,5±2,3	243,8±1,8
Лінолева	30,744	251,3±2,8	1283,9±9,7
Ліноленова	31,737	1004,4±9,7	5096,3±36,2
2-Гідроксипальмітинова*	33,192	60,4±0,7	221,2±1,4
Арахінова*	33,326	74,2±0,8	124,2±0,9
Бегенова*	35,813	736,7±5,9	107,0±1,3
Трикозанова*	36,756	122,9±2,3	96,9±0,8
Лігноцеринова*	38,418	67,2±0,4	104,2±1,1
<i>Разом</i>		9906,8	15237,1
<i>Вміст насичених жирних кислот</i>		8426,9	8005,4
<i>Вміст ненасичених жирних кислот</i>		1479,9	7231,7
<i>Загальний вміст кислот</i>		35230,7	32204,3

Примітка. * – Насичена жирна кислота.

Як видно з результатів дослідження в екстракті «Сорбафол» визначено вміст 38 карбонових кислот, із яких 10 двоосновних, 1 триосновна, 10 ароматичних, 17 жирних (13 насичених, 4 ненасичені) кислот. Загальний вміст карбонових кислот в екстракті становить 35,2 г/кг, із них двоосновних – 40 %, триосновних – 13,1 %, ароматичних – 18,8 %, жирних кислот – 28,1 % (вміст насичених кислот складає 85 % від суми жирних кислот). Домінуючими з двоосновних кислот є яблучна гідроксикислота і бурштинова, із ароматичних – бензойна, із жирних – леулінова, ліноленова і пальмітинова кислоти.

В екстракті «Феногор» визначено вміст 40 карбонових кислот, із яких 11 двоосновних, 1 триосновна, 10 ароматичних, 18 жирних кислот і їх похідних (14 насичених, 4 ненасичені). Загальний вміст карбонових кислот становить 32,2 г/кг, із них двоосновних – 13,7 %, триосновних – 0,6 %, ароматичних – 38,4 %, жирних кислот – 47,3 % (вміст насичених кислот становить 52,5 % від суми жирних кислот). Домінуючими з двоосновних кислот є бурштинова, з ароматичних – α -гідроксифенілоцтова, бензойна і *n*-кумарова, з жирних – ліноленова, пальмітинова і ліолева кислоти.

В екстракті «Сорбафол» міститься більше карбонових кислот, ніж в екстракті «Феногор» у 1,1 рази. Двоосновних і триосновних кислот міститься більше в екстракті «Сорбафол», а ароматичних і жирних кислот – в екстракті «Феногор». Причому, адипінову і 9-оксононанову кислоти виявлено лише у екстракті «Феногор».

4.2.3 Амінокислоти

Визначення амінокислотного складу екстракту «Сорбафол» проводили методом ВЕРХ згідно з підрозділами 2.2 і 2.3 (пункт 3) [132, 133, 162]. Ідентифікацію амінокислот в екстракті проводили шляхом порівняння часів утримування з сумішню стандартів амінокислот (Agilent 5061-3334). Вміст зв'язаних амінокислот визначали шляхом віднімання вмісту вільних

амінокислот від їх загального вмісту.

Хроматограму загального амінокислотного складу екстракту «Сорбафол» наведено на рис. 4.5, результати дослідження вмісту амінокислот – в табл. 4.4.

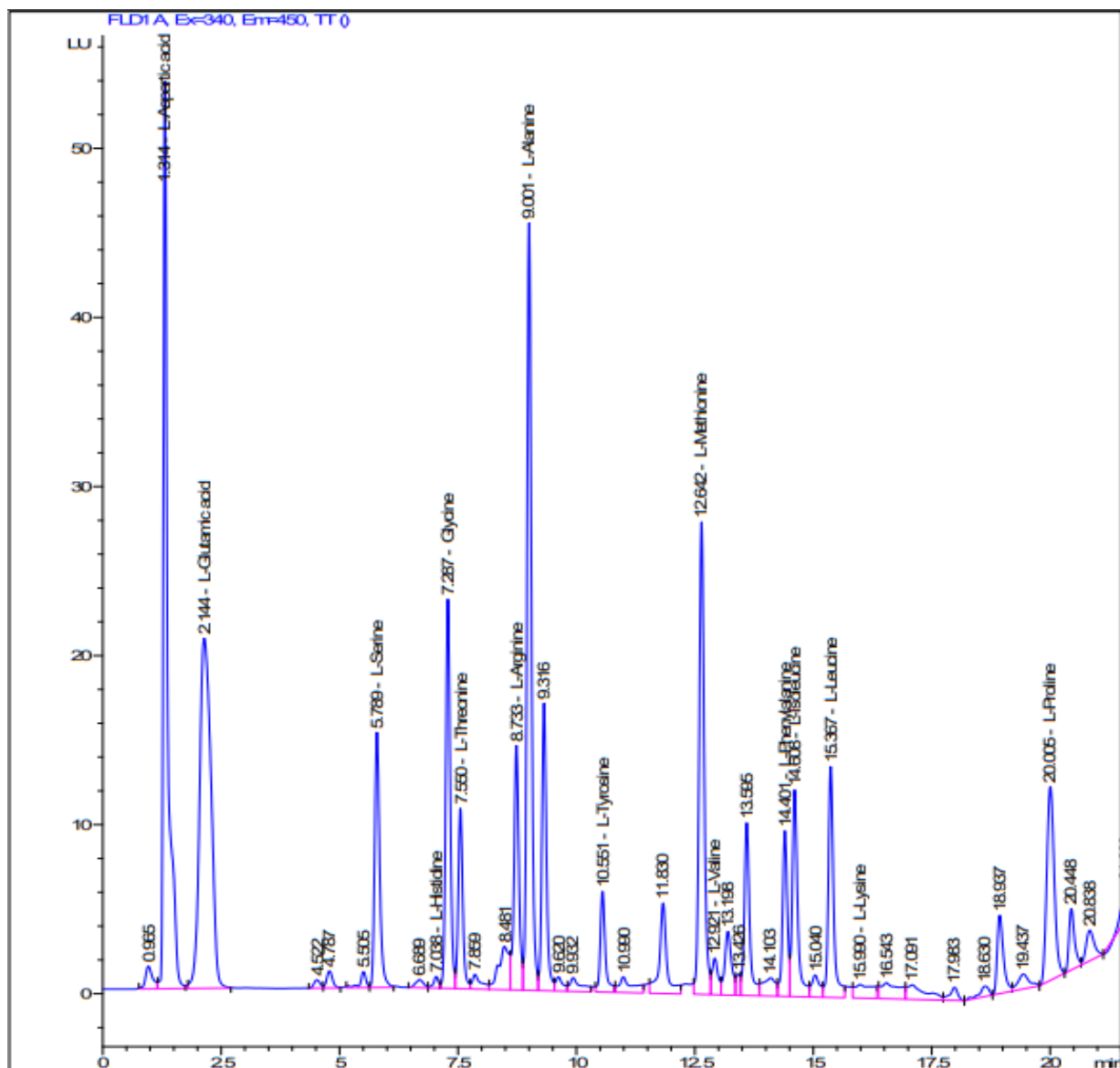


Рис. 4.5 Хроматограма загального амінокислотного складу екстракту «Сорбафол»

Вміст амінокислот у екстракті «Сорбафол»

Амінокислота	Загальний вміст амінокислот, мкг/мг	Вміст вільних амінокислот, мкг/мг	Вміст зв'язаних амінокислот, мкг/мг
Аспарагінова кислота	5,45±0,18	0,62±0,08	4,83
Глутамінова кислота	6,95±0,06	0,88±0,05	6,07
Серин	1,18±0,03	0,32±0,02	0,86
Гістидин*	0,18±0,08	0,05±0,04	0,13
Гліцин	1,16±0,11	0,10±0,03	1,06
Треонін*	0,86±0,07	0,20±0,06	0,66
Аргінін*	1,63±0,05	0,68±0,0	0,95
Аланін	2,64±0,09	0,94±0,12	1,70
Тирозин	0,79±0,15	0,16±0,05	0,63
Валін*	2,21±0,07	0,43±0,09	1,78
Метіонін*	0,20±0,03	0,01±0,07	0,19
Фенілаланін*	1,08±0,01	0,21±0,01	0,87
Ізолейцин*	1,06±0,04	0,19±0,03	0,87
Лейцин*	1,20±0,03	0,12±0,02	1,08
Лізин*	1,73±0,03	0,01±0,04	1,72
Пролін	1,35±0,07	1,23±0,09	0,12
Сума всіх амінокислот	29,67	6,15	23,52
Сума незамінних амінокислот	10,15	1,90	8,25
Вміст незамінних амінокислот від суми амінокислот, %	34,21	30,89	35,08

Примітка. * – незамінна амінокислота.

У результаті дослідження методом ВЕРХ у екстракті «Сорбафол» визначено кількісний вміст 16 вільних амінокислот, із яких переважають пролін ($1,23 \pm 0,09$ мкг/мг), аланін ($0,94 \pm 0,12$ мкг/мг) і глутамінова кислота ($0,88 \pm 0,05$ мкг/мг), а також 16 зв'язаних, із яких переважають глутамінова ($6,95 \pm 0,06$ мкг/мг) і аспарагінова ($5,45 \pm 0,18$ мкг/мг) кислоти. Із виявлених амінокислот 9 є незамінними. Сума всіх амінокислот у екстракті становить 29,67 мкг/мг. Вміст незамінних амінокислот від їх загальної суми становить 34,21 %, від суми вільних амінокислот – 30,89 %, від суми зв'язаних амінокислот – 35,08 %.

4.2.4 Моносахариди

Дослідження моносахаридів у густому екстракті «Сорбафол» проводили методом ГХ-МС згідно з підрозділами 2.2 і 2.3 (пункт 15) [67, 106].

Хроматограму загального моносахаридного складу екстракту «Сорбафол» наведено на рис. 4.6, вміст вільних моносахаридів і загальний вміст моносахаридів у екстракті – в табл. 4.5.

Таблиця 4.5

Вміст моносахаридів у екстракті «Сорбафол»

Моносахарид	Час утр., хв	Вміст вільного моносахариду, мг/г	Загальний вміст моносахариду, мг/г
Арабіноза	5,403	—	$0,30 \pm 0,01$
Маноза	11,901/11,867	$0,36 \pm 0,01$	$0,38 \pm 0,01$
Глюкоза	12,279/12,215	$1,48 \pm 0,03$	$6,17 \pm 0,05$
Галактоза	12,840/12,768	$0,22 \pm 0,01$	$1,45 \pm 0,02$
Фруктоза	18,646	$3,29 \pm 0,04$	—

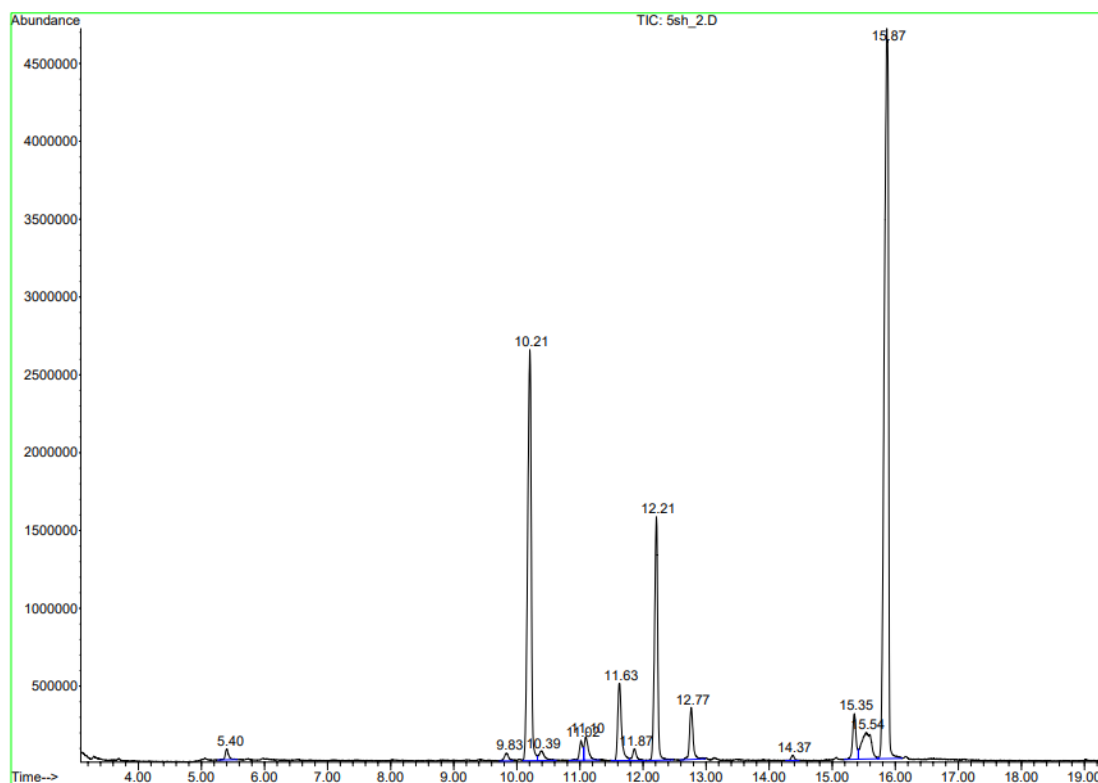


Рис. 4.6 Хроматограма загального моносахаридного складу екстракту «Сорбафол»

В екстракті «Сорбафол» ідентифіковано 4 вільних моносахариди: манозу, глюкозу, галактозу і фруктозу, з яких переважають фруктоза $3,29 \pm 0,04$ мг/г і глюкоза $1,48 \pm 0,03$ мг/г. Вміст ідентифікованих вільних моносахаридів в екстракті становить 5,35 мг/г. В екстракті «Сорбафол» загальний вміст ідентифікованих моносахаридів становить 8,3 мг/г, із яких домінуючим моносахаридом є глюкоза $6,17 \pm 0,05$ мг/г.

4.2.5 Мінеральні речовини

Важливе значення в розвитку та перебізі ЦД мають макро- і мікроелементи, оскільки багато з них бере участь у регулюванні вуглеводного обміну [109, 115]. Зокрема, цинк входить до структури інсуліну, збільшує тривалість його цукрознижувальної дії, а стійка гіперглікемія призводить до посилення екскреції цинку з організму. Цинк є

важливим у антиоксидантному захисті у пацієнтів із ЦД 2 типу, покращує окиснювальний стрес за рахунок зменшення хронічної гіперглікемії, сприяє фосфорилуванню рецепторів інсуліну за рахунок збільшення транспорту глюкози в клітини. Купрум, ферум і магній беруть участь у синтезі протеїнів та ензимів, що необхідні для нормального обміну речовин. Недостатність в організмі мангану може сприяти розвитку ЦД 2 типу. Гомеостаз кальцію відіграє важливу роль в інсулінорезистентності та секреції. При діабеті він порушується і сприяє порушенню регуляції клітин в еритроцитах, тромбоцитах, серцевих і скелетних м'язах [83, 115, 167, 176, 118].

Дослідження вмісту макро- і мікроелементів у густих екстрактах горобини звичайної листя [102] проводили згідно з підрозділами 2.2 і 2.3 (пункт 14). Результати дослідження наведено в табл. 4.6.

Таблиця 4.6

**Вміст макро- і мікроелементів у густих екстрактах горобини звичайної
листя**

Елемент	Вміст елемента в екстракті, мг/100 г			
	«Сорбафол»	хлоро- формному	«Феногор»	водному очищеному
1	2	3	4	5
K	3500,0±61,2	20,0±0,9	50,0±1,8	1600,0±31,5
Na	110,0±4,3	6,0±0,4	30,0±0,9	80,0±2,7
Ca	760,0±14,6	30,0±1,2	300,0±5,6	710,0±12,0
Mg	545,0±9,7	26,0±0,8	50,0±2,6	350,0±5,1
P	87,0±2,9	26,0±0,9	110,0±2,8	125,0±3,1
Fe	9,8±0,05	1,6±0,02	2,0±0,04	4,0±0,08
Si	55,0±2,7	3,4±0,04	70,0±2,0	53,0±1,9
Al	6,5±0,5	0,2±0,01	9,0±1,3	21,6±1,3

Продовж. табл. 4.6

1	2	3	4	5
Zn	8,7±0,7	3,4±0,2	60,0±1,8	0,9±0,01
Mn	43,0±2,6	10,7±0,7	3,0±0,2	6,7±0,3
Cu	2,5±0,04	0,3±0,02	1,0±0,01	0,27±0,01
Sr	0,2±0,01	0,1±0,01	1,0±0,02	2,0±0,5
Pb	0,05±0,01	0,06±0,01	< 0,03	< 0,03
Mo	0,22±0,01	< 0,03	0,22±0,01	0,10±0,01
Ni	0,14±0,01	0,01±0,01	0,10±0,01	0,10±0,01

Примітка. В усіх досліджуваних екстрактах містяться також (в мг/100 г):

Co < 0,03; Cd < 0,01; As < 0,01; Hg < 0,01.

Як видно з результатів дослідження, в екстрактах «Сорбафол», «Феногор», хлороформному та водному очищеному екстрактах із горобини звичайної листя визначено вміст 19 макро- і мікроелементів. У екстракті «Сорбафол» і горобини звичайної листя екстракті водному очищеному спостерігався високий вміст макроелементів: калію, кальцію, магнію, натрію і фосфору, а також мікроелементів силіцію, феруму і мангану. У екстракті «Феногор» і хлороформному екстракті в значній кількості містяться кальцій, фосфор і манган. У хлороформному екстракті досліджуваної сировини міститься найменша кількість макро- і мікроелементів. Треба відмітити, що вміст таких важливих елементів, як кальцій, магній, манган, ферум, цинк і купрум найбільшим є в екстракті «Сорбафол».

Виявлено таку закономірність накопичення елементів у досліджуваних екстрактах із листя горобини звичайної: у екстракті «Сорбафол» – K > Ca > Mg > Na > P > Si > Mn > Fe > Zn > Al > Cu > Mo > Sr > Ni > Pb; у хлороформному – Ca > Mg = P > K > Mn > Na > Si = Zn > Fe > Cu > Al > Sr > Pb > Ni > Mo; у екстракті «Феногор» – Ca > P > Si > Zn > K = Mg > Na > Al > Mn > Fe > Cu = Sr > Mo > Ni > Pb; у водному очищеному – K > Ca > Mg > P > Na > Si > Al > Mn > Fe > Sr > Zn > Cu > Mo = Ni > Pb. В усіх досліджуваних

екстрактах відсутні або знаходяться за межами можливостей визначення приладу мікроелементи кобальт, кадмій, арсен і ртуть.

4.3 Обговорення результатів фармакологічних досліджень одержаних субстанцій

Визначення *гострої токсичності* горобини звичайної листя екстрактів «Сорбафол» і «Феногор» здійснювали в експерименті згідно з підрозділом 2.4. Так, протягом 15-30 хв після введення розчинів екстрактів дещо знижувалась рухова активність тварин в усіх групах, що, ймовірно, обумовлено процедурою внутрішньошлункового введення. За станом щурів спостерігали впродовж двох наступних тижнів. Змін у зовнішньому вигляді, стані шкіряних покривів, слизових оболонок, динаміці маси тіла, поведінці не реєстрували.

Отже, за класифікацією Hodge H. C., Sterner J. H. [15] досліджувані густі екстракти «Сорбафол» і «Феногор» можуть бути віднесені до практично нетоксичних (V клас токсичності, $5000 < LD_{50} < 15000$ мг/кг).

4.3.1 Гіпоглікемічна активність

За останні три десятиліття в усьому світі кількість хворих на ЦД зросла в чотири рази, а ЦД є дев'ятою основною причиною смертності. Зараз приблизно 1 з 11 дорослих людей у світі страждає на ЦД, 90 % з яких страждають на цукровий діабет 2 типу [183]. В Україні близько 1,5 млн осіб страждають на ЦД і ще 3 – 4 млн схильні до нього [79]. За даними експертів Всесвітньої організації охорони здоров'я, до 2030 року очікується збільшення кількості хворих на ЦД у 1,5 рази [131].

Тому невпинно зростає інтерес до рослинних засобів зі сприятливими метаболічними ефектами. Особливе значення мають фітопрепарати для нормалізації обміну глюкози та ліпідів, оскільки ЦД 2 типу та метаболічний

синдром на сьогодні розглядаються як «метаболічна пандемія» – наслідок докорінних змін способу життя [183]. Багатокомпонентний склад рослинних засобів є передумовою їх полімодальної захисної дії, у тому числі при порушеннях вуглеводного обміну [2, 83, 86, 127, 134, 145]. У цьому аспекті активно досліджуються флавоноїди та гідроксикоричні кислоти. Для них встановлено механізми дії, які спрямовані на патогенетично важливі мішені та відповідають сучасним підходам до терапії ЦД і метаболічного синдрому [86, 122, 128, 163, 181].

Як показують дослідження *in vitro*, природні флавоноїди мають здатність запобігати діабету та його ускладненням. Флавоноїди покращують патогенез діабету та його ускладнень за рахунок регуляції метаболізму глюкози, діяльності печінкових ферментів та ліпідного профілю [122, 177]. Було доведено, що фенольні сполуки покращують інсулінорезистентність і пов'язані з нею ускладнення за рахунок пригнічення запальних сигнальних шляхів. Такі флавоноїди, як антоціани, геністеїн, кверцетин, посилюють функцію бета-клітин, призводять до толерантності до глюкози у тварин і людей та захищають від ЦД [93, 143, 146].

Механізми протидіабетичної дії субстанцій із плодів рослин роду горобина, в тому числі водного екстракту з плодів горобини звичайної, досліджено *in vitro*. Для зазначеного виду верифіковано значне інгібування α -глюкозидази та помірне пригнічення α -амілази, що асоційовано з загальним вмістом фенольних сполук та вмістом флавоноїдів [126]. Екстракти з плодів горобини звичайної виявляють високу інгібувальну активність щодо α -амілази (що значною мірою зумовлено проантоціанідинами) за синергічного характеру взаємодії з акарбозою [125]. Екстракти плодів горобини домашньої виразно пригнічують альдозоредуктазу, як патогенетично важливу мішень у протидії ускладненням ЦД, що також асоційовано з фенольними сполуками – флавоноїдами та похідними гідроксикоричних кислот [173]. Поліфеноли плодів горобини звичайної протидіють розвитку інсулінорезистентності, гіперглікемії, дисліпідемії, прооксидантним змінам та змінам гістоструктури

печінки у мишей Kunming із стрептозотоцин-індукованим діабетом на тлі високожирової дієти [160].

Із урахуванням протидіабетичної активності фенольних сполук, що розглянуто вище, є підстави очікувати сприятливий вплив екстрактів з листя горобини звичайної на обмін вуглеводів (таких даних наразі немає). Водночас, відомі їх властивості, що можуть сприятливо доповнювати такий вплив, наприклад, антиоксидантний ефект, який виявлено в екстрактах листя різних видів роду горобина. Його виразність в окремих тестах *in vitro* корелювала зі вмістом флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, проціанідинів [151]. Для екстрактів листя горобини звичайної за визначенням виразності антиоксидантної дії встановлено оптимальні терміни збору сировини, підтверджено доцільність її збору в літні місяці, що є доступним [149].

Також відома діуретична дія горобини звичайної [42, 51], проте ґрунтовно ренальні ефекти горобини не вивчалися, а для її БАР, особливо фенольних сполук, ці ефекти є очікуваними і можуть бути різноспрямованими.

Визначення гіпоглікемічної активності горобини звичайної листя екстрактів «Сорбафол» і «Феногор» здійснювали згідно з підрозділом 2.4. При обранні доз враховували дані, отримані в результаті дослідження фенольного складу екстрактів (пункт 4.2.1) [16, 58]. Так, у складі найвищої використаної дози екстракту «Феногор» вміст кверцитрину становить 5,8 мг/кг. Дози флавоноїдів, що є ефективними в експерименті, переважно вищі за зазначену, проте для окремих флавоноїдів відомий сприятливий вплив на обмін глюкози в діапазоні доз 4–10 мг/кг [122], і за таких умов можна очікувати виявлення активності, особливо зважаючи на те, що досліджувані екстракти є комплексами, в яких можна очікувати синергізм компонентів. Як референс-препарат використовували офіційний засіб – настій чорниці пагонів.

Дані, що отримали при визначенні вихідного стану обміну глюкози, свідчать про відсутність стресування тварин та адекватність використаного

харчового режиму: базальна глікемія за значенням Q_{50} , (Q_{25} ; Q_{75}) становила 5,4 (4,9; 5,7) ммоль/л без суттєвих міжгрупових відмінностей.

Встановлено, що екстракт «Феногор» в усіх використаних дозах не впливав як на базальну глікемію, так і на цей показник після введення розчину глюкози (табл. 4.7). Препарат порівняння за цих умов також не виявляв ефективності, що може бути пов'язано з одноразовим введенням. На противагу цим засобам, екстракт «Сорбафол» чинив гіпоглікемічну дію в дозах 250 та 500 мг/кг на тлі введення розчину глюкози та не змінював глікемію через 60 хв після введення екстракту. Регулювальний характер впливу останнього – виявлення впливу лише в умовах підвищеного рівня глюкози є позитивною ознакою і вказує на невисокий ризик розвитку гіпоглікемії. Такий вплив, вочевидь, пов'язаний із екстрапанкреатичним механізмом дії екстракту «Сорбафол» та непрямо вказує на відсутність стимуляції β -клітин в острівцях Лангерганса.

Таблиця 4.7

Вплив екстрактів «Сорбафол», «Феногор» та настою чорниці пагонів за одноразового введення на глікемію у щурів в умовах тесту толерантності до глюкози, % відносно показника контролю; n=7

Група	Глікемія через 60 хв після введення натще досліджуваних засобів, % відносно вихідного стану	Глікемія через 120 хв після введення розчину глюкози, % відносно показника синхронного інтактного контролю
1	2	3
Інтактний контроль	92,3	100
«Сорбафол», 500 мг/кг	96,6	84,6*
«Сорбафол», 250 мг/кг	102	87,3*
«Сорбафол», 100 мг/кг	100	119
«Феногор», 500 мг/кг	94,1	94,5

Продовж. табл. 4.7

1	2	3
«Феногор», 250 мг/кг	102	107
«Феногор», 100 мг/кг	97,7	113
Настій чорниці пагонів, 10 мл/кг	88,9	94,1

Примітка. * – статистично значущі відмінності з показниками інтактного контролю ($p < 0,05$), аналіз здійснено за критерієм Манна-Уїтні.

Таблиця 4.8

Вплив курсового введення екстракту «Сорбафол» у дозі 500 мг/кг на біохімічні показники плазми крові щурів, Q_{50} , (Q_{25} ; Q_{75}), $M \pm m$; $n=5$

Показник	Інтактний контроль	«Сорбафол», 500 мг/кг
1	2	3
Глікемія в наркоти- зованих тварин, ммоль/л	9,31 (9,27–9,31) 9,12 $\pm$ 0,17	7,69* (7,38–7,95) 7,64 $\pm$ 0,20
Сечовина, ммоль/л	3,70 (3,44–3,79) 3,53 $\pm$ 0,22	3,48 (3,26–3,77) 3,39 $\pm$ 0,20
Сечова кислота, мкмоль/л	60,5 (42,1–71,1) 58,4 $\pm$ 9,17	60,5 (52,6–94,7) 71,1 $\pm$ 11,0
Креатинін, мкмоль/л	51,4 (45,3–57,4) 50,2 $\pm$ 3,52	57,4 (57,4–57,4) 56,2 $\pm$ 4,83
Тригліцериди, ммоль/л	0,62 (0,56–0,75) 0,68 $\pm$ 0,11	0,61 (0,56–0,66) 0,61 $\pm$ 0,07
Загальний ХС, ммоль/л	1,83 (1,75–1,87) 1,79 $\pm$ 0,08	1,86 (1,84–2,35) 2,07 $\pm$ 0,14
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	0,92 (0,85–0,98) 0,90 $\pm$ 0,05	1,06 (0,98–1,08) 1,00 $\pm$ 0,05

Продовж. табл. 4.8

1	2	3
Коефіцієнт атерогенності	0,93 (0,83–1,11)	1,18 (0,90–1,26)
	1,00±0,12	1,08±0,11

Примітка. * – статистично значущі відмінності з показниками інтактного контролю ($p < 0,02$).

Як видно з даних табл. 4.8, високодостовірна гіпоглікемічна активність екстракту «Сорбафол» була наявною і в умовах барбітурового наркозу. Відомо, що його перебіг супроводжується підвищенням глікемії, яка асоційована з гідролізом глікогену печінки із надходженням глюкози до крові на тлі пригнічення аеробних процесів за відсутності зсувів із боку інсулінового каскаду [16, 121], а також із піковим підвищенням рівня глюкокортикоїдів на тлі наркозу як стресуючого чинника, при цьому дані гормони посилюють глюконеогенез та ефекти контрінсулярних гормонів [107]. Цим процесам здатні протидіяти БАР горобини, а саме гідроксикоричні кислоти і флавоноїди [122, 127, 145, 163].

Важливо, що екстракт «Сорбафол» навіть у вищій ефективній дозі 500 мг/кг не спричиняє негативної дії за курсового введення щурам. Як свідчать дані табл. 4.3, у цих тварин не виявлено зсувів азотистого обміну (за критерієм вмісту сечовини в крові), обміну пуринів (за критерієм концентрації сечової кислоти у крові [26]). Після введення екстракту не відбувалося змін ліпідного обміну за критеріями вмісту тригліцеридів, загального ХС та ХС ЛПВЩ у плазмі крові, а також коефіцієнту атерогенності (була наявною сприятлива тенденція до підвищення рівня антиатерогенного ХС ЛПВЩ).

Екстракт «Сорбафол» виявив нейтральність щодо видільної функції нирок: за незмінної креатинінемії (табл. 4.8) залишалася стабільною швидкість клубочкової фільтрації, не було достовірних змін реабсорбції води, отже, не відбувалося змін об'єму сечовиділення в навантажувальному

тесті (табл. 4.9). Помірне зменшення екскреції сечовини та тенденційне зниження її кліренсу не можна розглядати як ознаку пригнічення функції нирок, адже воно не супроводжувалося ані зростанням вмісту цього метаболіту в плазмі крові, ані змінами інших показників. Оскільки високі дози рослинних екстрактів, що багаті на фенольні сполуки, спроможні не лише чинити сприятливі ренальні ефекти, але й зменшувати діурез [51], нейтральність екстракту можна вважати сприятливою.

Таблиця 4.9

Вплив курсового введення екстракту «Сорбафол» у дозі 500 мг/кг на показники видільної функції нирок у щурів в умовах водного діурезу, Q_{50} , (Q_{25} ; Q_{75}), $M \pm m$; $n=5$

Показник	Інтактний контроль	«Сорбафол», 500 мг/кг
1	2	3
Діурез, мл/100 г за 2 год	2,16 (2,00–2,17) 2,10±0,22	2,14 (1,74–2,28) 2,04±0,18
Екскреція креатиніну, мкмоль/100 г за 2 год	2,73 (2,69–3,42) 2,98±0,24	3,44 (2,33–3,71) 3,03±0,40
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв на 100 г	496 (495–510) 495±14,5	499 (280–538) 480±100
Реабсорбція води, %	96,3 (96,2–96,4) 96,5±0,35	95,8 (95,2–97,3) 95,9±0,82
Екскреція сечовини, мкмоль/100 г за 2 год	149 (145–161) 160±14,5	114 (86,5–129)* 113±14,9
Кліренс сечовини, мкл/хв на 100 г	402 (333–428) 383±32,2	274 (191–401) 289±50,4

Продовж. табл. 4.9

1	2	3
Екскреція сечової кислоти, нмоль/100 г за 2 год	504 (491–639) 532±66,2	554 (479–616) 637±172

Примітка. * – статистично значущі відмінності з показниками інтактного контролю ($p < 0,05$).

Незмінна урикемія на тлі екстракту не супроводжувалася зсувами ниркової екскреції сечової кислоти. Отже, екстракт «Сорбафол» не чинив ані гіпоурикемічної, ані урикозуричної дії (хоча не можна виключити таких ефектів в умовах моделей порушень пуринового обміну, що відомо для інших фітопрепаратів [51, 88]).

Таким чином, виявлено достовірну гіпоглікемічну дію екстракту «Сорбафол», яка за виразністю перевищує дію офіційного препарату – настою чорниці пагонів. До переваг дослідженого екстракту можна віднести відсутність негативного впливу на метаболічні процеси в ефективній гіпоглікемічній дозі, можливість застосування як з метою лікування, так і з метою профілактики, зручність у використанні. Сировина для його одержання є доступною, а технологія – стандартною, що не потребує специфічних умов або обладнання. Впровадження нових засобів рослинного походження із доведеною здатністю до нормалізації широко розповсюджених порушень обміну вуглеводів, сприятиме розширенню можливостей їх корекції.

Новизну застосування горобини звичайної листя екстракту густого «Сорбафол» як лікувально-профілактичного засобу з гіпоглікемічною дією захищено патентом України на корисну модель «Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної» (№ 133831, Бюл. № 8 від 25.04.2019) та патентом України на винахід «Лікувально-

профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної» (№ 122521, Бюл. № 22 від 25.11.2020) [52].

Також було проведено попереднє дослідження протизапальної дії горобини звичайної листя екстракту водного очищеного [17].

Висновки до розділу 4

1. З листя горобини звичайної екстракцією сировини 50 % етанолом одержано горобини звичайної листя екстракт густий спиртовий, який отримав умовну назву «Сорбафол». Запропоновано комплексну переробку горобини звичайної листя шляхом послідовного отримання хлороформного, етилацетатно-спиртового і водного очищеного густих екстрактів. Горобини звичайної листя екстракт густий етилацетатно-спиртовий отримав умовну назву «Феногор».

2. У густих екстрактах із горобини звичайної листя «Сорбафол» і «Феногор» методом ВЕРХ ідентифіковано хлорогенову кислоту та флавоноїди кверцитрин і рутин. В екстракті «Сорбафол» переважає рутин ($3,57 \pm 0,14$ мг/г), в екстракті «Феногор» – кверцитрин ($11,61 \pm 0,27$ мг/г). Також в обох екстрактах визначена наявність галової, неохлорогенової і кофейної кислот, катехіну і гіперозиду. Результати дослідження використано при розробці МКЯ на «Горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол».

3. Методом спектрофотометрії визначено вміст гідроксикоричних кислот у горобини звичайної листя екстракті густому «Сорбафол», який становить $3,41 \pm 0,04$ %, у перерахунку на кислоту хлорогенову.

4. Методом ГХ-МС в екстракті «Сорбафол» визначено вміст 38 карбонових кислот, із яких 10 двоосновних, 1 триосновна, 10 ароматичних, 17 жирних кислот (13 насичених, 4 ненасичені) кислот. Загальний вміст карбонових кислот в екстракті становить 35,2 г/кг, із них двоосновних – 40 %, триосновних – 13,1 %, ароматичних – 18,8 %, жирних

кислот – 28,1 %. Домінуючими з двоосновних кислот є яблучна гідроксикислота і бурштинова, із триосновних – лимонна гідроксикислота, із ароматичних – бензойна, із жирних – леулінова, ліноленова і пальмітинова кислоти.

В екстракті «Феногор» визначено вміст 40 карбонових кислот, із яких 11 двоосновних, 1 триосновна, 10 ароматичних, 18 жирних кислот і їх похідних (14 насичених, 4 ненасичені). Загальний вміст карбонових кислот становить 32,2 г/кг, із них двоосновних – 13,7 %, триосновних – 0,6 %, ароматичних – 38,4 %, жирних кислот – 47,3 % (вміст насичених кислот становить 52,5 % від суми жирних кислот). Домінуючими з двоосновних кислот є бурштинова, із триосновних – лимонна гідроксикислота, із ароматичних – α -гідроксифенілоцтова, бензойна і *n*-кумарова, із жирних – ліноленова, пальмітинова і ліолева кислоти. В екстракті «Сорбафол» міститься більше карбонових кислот, ніж в екстракті «Феногор» у 1,1 рази. Двоосновних і триосновних кислот міститься більше в екстракті «Сорбафол», а ароматичних і жирних кислот – в екстракті «Феногор». Причому, адипінову і 9-оксононанову кислоти виявлено лише у екстракті «Феногор».

5. У екстракті «Сорбафол» методом ВЕРХ визначено вміст 16 вільних амінокислот, із яких переважають пролін ($1,23 \pm 0,09$ мкг/мг), аланін ($0,94 \pm 0,12$ мкг/мг) і глутамінова кислота ($0,88 \pm 0,05$ мкг/мг), а також 16 зв'язаних, із яких переважають глутамінова ($6,95 \pm 0,06$ мкг/мг) і аспарагінова ($5,45 \pm 0,18$ мкг/мг) кислоти. Із виявлених амінокислот 9 є незамінними. Сума всіх амінокислот у екстракті становить 29,67 мкг/мг. Вміст незамінних амінокислот від їх загальної суми становить 34,21 %, від суми вільних амінокислот – 30,89 %, від суми зв'язаних амінокислот – 35,08 %.

6. В екстракті «Сорбафол» методом ГХ-МС ідентифіковано 4 вільних моносахариди: манозу, глюкозу, галактозу і фруктозу, з яких переважають фруктоза і глюкоза. Вміст ідентифікованих вільних моносахаридів в екстракті становить 5,35 мг/г. Загальний вміст ідентифікованих

моносахаридів в екстракті становить 8,3 мг/г, із яких домінуючим моносахаридом є глюкоза.

7. Методом АЕС у досліджуваних екстрактах із горобини звичайної листя визначено вміст 19 макро- і мікроелементів. У екстракті «Сорбафол» і горобини звичайної листя екстракті водному очищеному спостерігався високий вміст макроелементів: калію, кальцію, магнію, натрію і фосфору, а також мікроелементів силіцію, феруму і мангану. У екстракті «Феногор» і хлороформному екстракті в значній кількості містяться кальцій, фосфор і манган. У хлороформному екстракті досліджуваної сировини міститься найменша кількість макро- і мікроелементів. В усіх досліджуваних екстрактах відсутні або знаходяться за межами можливостей визначення приладу мікроелементи кобальт, кадмій, арсен і меркурій.

8. Визначено гостру токсичність густих екстрактів «Сорбафол» і «Феногор». Досліджувані екстракти віднесені до практично нетоксичних (V клас токсичності, $5000 < LD_{50} < 15000$ мг/кг).

9. Вперше досліджено вплив густих екстрактів «Сорбафол» і «Феногор» на обмін глюкози і видільну функцію нирок у щурів. Встановлено, що екстракт «Сорбафол» виявляє достовірну гіпоглікемічну дію за одноразового введення в дозах 250 та 500 мг/кг, за виразністю якої перевищує офіційний препарат настій чорниці пагонів (10 мл/кг). Новизну застосування горобини звичайної листя екстракту густого «Сорбафол» як лікувально-профілактичного засобу з гіпоглікемічною дією захищено патентом України на корисну модель «Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної» (№ 133831, Бюл. № 8 від 25.04.2019) та патентом України на винахід «Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної» (№ 122521, Бюл. № 22 від 25.11.2020).

10. Горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол» є перспективним для створення на його основі нових гіпоглікемічних засобів.

До того ж, беззаперечною перевагою цього екстракту є достатня сировинна база та економічний спосіб його одержання.

Результати експериментальних досліджень даного розділу знайшли відображення у таких публікаціях:

1. Карбоновые кислоты экстрактов листьев рябины обыкновенной / А. Н. Маркин, Е. В. Криворучко, О. В. Товчига, В. А. Самойлова, А. А. Стремоухов. *Вестник фармации*. 2019. № 2 (84). С. 34–38 (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).
2. Дослідження хімічного складу екстрактів листя горобини звичайної та їх впливу на обмін глюкози і видільну функцію нирок у щурів / О. В. Товчига, О. М. Маркін, С. Ю. Штриголь, О. В. Криворучко. *Клінічна фармація*. 2020. Т. 24, № 1. С. 26–34 (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).
3. Товчига О. В., Штриголь С. Ю., Криворучко О. В., Маркін О. М., Баля О. А. Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної: пат. на кор. мод. 133831 України: МПК А61К 36/00, А61К 36/73, А61Р 3/10. № u201811026; заявл. 08.11.2018; опубл. 25.04.2019, Бюл. № 8 (*Особистий внесок* – брав участь у патентному пошуку, плануванні експерименту, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту).
4. Товчига О. В., Штриголь С. Ю., Криворучко О. В., Маркін О. М., Баля О. А. Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної: пат. на винахід 122521 України: МПК А61К 36/73, А61Р 3/10. № a201811027; заявл. 08.11.2018; опубл. 25.11.2020, Бюл. № 22 (*Особистий внесок* – брав участь у патентному пошуку,

плануванні експерименту, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту).

5. Маркін О. М., Криворучко О. В., Товчига О. В. Дослідження горобини звичайної листя екстракту густого, який має антигіперглікемічну дію. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 14-15 березня 2019 р.: у 2 т. Х.: НФаУ, 2019. Т. 2. С. 174.
6. Маркін О. М., Криворучко О. В. Леткі сполуки екстрактів листя горобини звичайної. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку*: матеріали наук.-практ. конф. з міжнародною участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р.: у 2 т. Харків: НФаУ, 2019. Т. 1. С. 261–262.
7. Элементный состав экстрактов рябины обыкновенной листьев / А. Н. Маркин, А. А. Баля, Е. В. Криворучко, О. В. Демешко. *Современные достижения фармацевтической науки и практики*: материалы Международной конференции, посвященной 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, 31 окт. 2019 г. Витебск: ВГМУ, 2019. С. 115–116.
8. Екстракти листя горобини звичайної як перспективні об'єкти для розробки нових лікарських засобів і дієтичних добавок / О. М. Маркін, І. Г. Капелька, О. В. Криворучко, О. В. Товчига. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження*: матеріали наук.-практ. дистанц. міжнар. конф., м. Івано-Франківськ, 19-20 трав. 2020 р. Івано-Франківськ: ІФНМУ, 2020. С. 167.

РОЗДІЛ 5

РОЗРОБКА НОРМАТИВНОЇ ДОКУМЕНТАЦІЇ НА ГОРОБИНИ ПЛОДИ ТА ГОРОБИНИ ЗВИЧАЙНОЇ ЛИСТЯ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ «СОРБАФОЛ»

Обов'язковими умовами для створення фітозасобів із лікарської рослинної сировини є її відповідна якість і доведена фармакологічна активність. Монографія в Державній Фармакопеї України є основним документом, що регламентує якість ЛРС в Україні [14, 36–39]. Тому розробка і введення до ДФУ монографій на ЛРС є актуальним завданням фармації.

За результатами досліджень, що наведені в розділах 3 – 4, розроблено проєкт національної монографії «Горобини плоди^N» та проєкт МКЯ «Горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол».

5.1 Проєкт монографії «Горобини плоди^N»

За статтею 39 «Плоди горобини» ДФ СРСР XI вид. [9], яка носить рекомендуєчий характер, офіційною рослинною сировиною є зібрані у період повного дозрівання і висушені плоди дикорослого та культивованого дерева (рідше чагарника) горобини звичайної – *Sorbus aucuparia* L. родини розові – *Rosaceae*. Проте розділи статті потребують гармонізації із сучасними вимогами ДФУ та ЄФ. Також на плоди горобини є ГОСТ 6714–74 [7] із застарілими методиками аналізу і стаття в ДФ РБ «Горобини плоди» [8]. Монографії в ДФУ на горобини плоди, яка б регламентувала якість української сировини, немає.

Аналіз основних показників якості горобини плодів за ДФ СРСР XI вид. і ДФ РБ наведений в табл. 5.1.

Таблиця 5.1

**Порівняльна характеристика основних показників якості горобини
плодів згідно з ДФ СРСР XI вид. і ДФ РБ**

Показник якості	Вимоги ДФ СРСР XI вид.	Вимоги ДФ РБ
Ідентифікація А	+	+
Ідентифікація В	Відсутня.	Мікроскопія непорошкової сировини.
Ідентифікація С, D	Відсутня.	Якісна реакція (аскорбінова кислота); ТШХ (каротиноїди).
Кількісне визначення	Відсутнє.	Визначення вмісту аскорбінової кислоти (<i>не менше 0,01 %</i>) і каротиноїдів (<i>не менше 0,003 %</i>).
Вологість / втрата в масі при висушуванні	Не більше 18,0 %.	Не більше 18,0 %.
Зола загальна	Не більше 5,0 %	Не більше 5,0 %.
Сторонні домішки	Почорнілих і пригорілих плодів не більше 3,0 %; недозрілих плодів (світло- жовтих, жовтих) не більше 2,0 %; інших частин рослини (плодоніжок, гілочок, листя) не більше 0, 5 %; плодів із плодоніжками не більше 3,0 %; органічної домішки не більше 0,5 %; мінеральної домішки не більше 0,2 %.	Почорнілих і пригорілих плодів не більше 3,0 %; недостиглих плоди (світло- жовті, жовті) не більше 2,0 %; плодоніжок, гілочок, листя не більше 0,5 %; плодів із плодоніжками не більше 3,0 %; органічної домішки не більше 0,5 %; мінеральної домішки не більше 0,2 %.

Для розробки проєкту національної монографії ДФУ «Горобини плоди^N» згідно з вимогами, що регламентуються настановою Фармакопейного комітету «Порядок розробки монографій для лікарської рослинної сировини для введення в ДФУ» [36 – 38], проведено дослідження 7 зразків горобини плодів, зібраних у різних областях України.

Ідентифікацію горобини плодів проводили за розділами *Ідентифікація А*, *Ідентифікація В* та *Ідентифікація С*.

Ідентифікація А. Дослідження макроскопічних ознак горобини плодів проводили згідно з розділом «Зовнішні ознаки» статті «Плоди горобини» ДФ СРСР XI вид. [9]. Результати дослідження наведені в табл. 5.2.

Таблиця 5.2

Макроскопічні ознаки горобини плодів

Вимоги ДФ СРСР XI вид.	Результати аналізу
Плоди яблукоподібні, червонувато- або жовтувато-оранжевого, бурувато-червоного кольору, без плодоніжок.	Відповідає.
Плоди 2-5-гнізді, округлі або овально-округлі, до 9 мм у діаметрі.	Відповідає.
Плоди блискучі, дуже зморшкуваті, на верхівці з залишками чашечки з 5 малопомітних зубчиків, що змикаються.	Відповідає.
У м'якоті плоду містяться від 2 до 7 злегка серпоподібно-зігнутих, видовжених, із гострими кінцями, гладеньких червонувато-бурих насінин.	Відповідає.

При проведенні дослідження в 7 зразках горобини плодів були встановлені характерні діагностичні ознаки. Запропоновано також внести до проєкту монографії на сировину такий показник, як плоди несправжні.

Ідентифікація В. При дослідженні мікроскопічних ознак горобини плодів використовували опис мікроскопії сировини (непорошкованої) в статті «Горобини плоди» ДФ РБ [8]. Порошок горобини плодів переглядали під мікроскопом, використовуючи розчин хлоральгідрату. Результати дослідження порошкової сировини наведені в таблиці 5.3 і на рис. 5.1 – 5.9.

Таблиця 5.3

Мікроскопічні ознаки горобини плодів

Мікроскопічні ознаки порошкової сировини	Результати аналізу
Порошок червонувато-оранжевого, жовтаво-оранжевого або бурувато-червоного кольору з білуватими вкрапленнями. У порошку виявляються: фрагменти епідерми плоду з клітин «вікончастого» типу, багатокутні, різного розміру з невиразною межею між сусідніми стінками, з численними краплями жовтої жирної олії (рис. 5.1);	Відповідає.
Фрагменти мезокарпію з тонкостінних паренхімних клітин, різноманітних за формою та величиною, з численними оранжево-жовтими хромопластами (з переважанням веретеноподібних), які містять кристали каротину (рис. 5.2);	Відповідає.
Фрагменти провідних пучків зі спіральними судинами та обкладкою з призматичними кристалами кальцію оксалату (рис. 5.3);	Відповідає.
Фрагменти ендокарпія (гнізда) із багатокутних, щільно розташованих товстостінних склерейд (рис. 5.4);	Відповідає.
Фрагменти ендокарпія з одноклітинними, довгими, товстостінними, більш-менш звивистими покривними волосками;	Ознак не виявлено.
Фрагменти епідерми насінної шкірки (вигляд зверху) зі щільно розташованих прямостінних багатокутних клітин із нерівномірно потовщеними внутрішніми оболонками.	Відповідає.

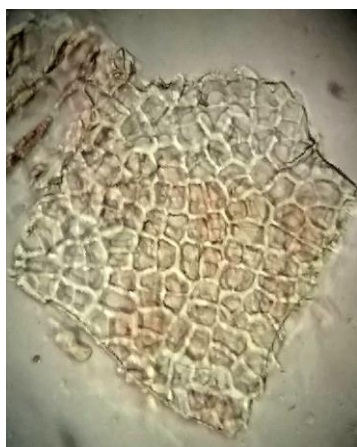


Рис. 5.1 Фрагмент епідерми горобини плоду



Рис. 5.2 Фрагмент мезокарпію горобини плоду

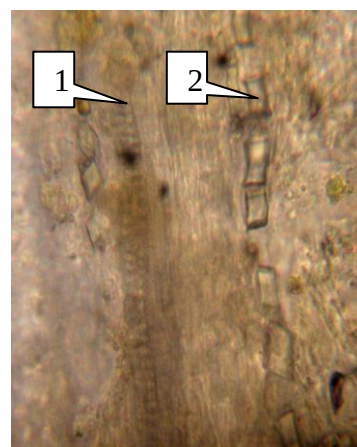


Рис. 5.3 Фрагмент провідного пучка зі спіральними судинами (1) та обкладкою з призматичними кристалами кальцію оксалату (2)



Рис. 5.4 Фрагмент ендокарпія горобини плоду



Рис. 5.5 Група склерейд



Рис. 5.6 Фрагмент ендосперму з краплями жирної олії



Рис. 5.7 Покривний волосок

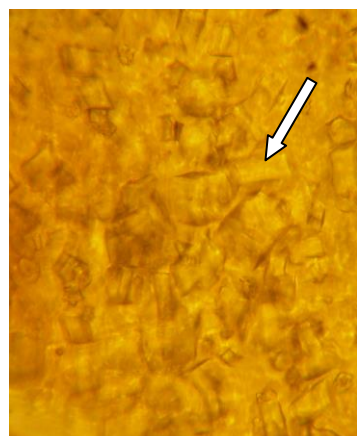


Рис. 5.8 Призматичні кристали кальцію оксалату



Рис. 5.9 Друза кальцію оксалату

При проведенні досліджень встановлено, що 7 зразків горобини плодів за мікроскопічними ознаками відповідають вимогам, що наведені в табл. 5.3, крім ознаки: «фрагменти ендокарпія з одноклітинними, довгими, товстостінними, більш-менш звивистими покривними волосками».

У ході мікроскопічного аналізу сировини також виявлено: поодинокі або у групах склереїди округлої або дещо видовженої форми зі внутрішніх шарів мезокарпію (рис. 5.5); фрагменти ендосперму з краплями жирної олії та алеїроновими зернами (рис. 5.6); ізольовані покривні волоски одноклітинні, довгі, товстостінні, більш-менш звивисті (рис. 5.7); призматичні кристали та друзи кальцію оксалату в клітинах мезокарпію або ізольовані (рис 5.8, 5.9). Запропоновано внести виявлені діагностичні мікроскопічні ознаки порошку горобини плодів до розділу *Ідентифікація В* проєкту монографії «Горобини плоди^N».

В результаті дослідження 7 зразків горобини плодів було розроблено розділи *Ідентифікація А* та *Ідентифікація В* для проєкту національної монографії «Горобини плоди^N» (акт про участь у розробці проєкту монографії № 11/1488-5 від 09.11.2020).

Ідентифікація С. В процесі розробки проєкту національної монографії на «Горобини плоди^N» відповідно до вимог ДФУ та ЄФ за результатами досліджень, що наведені у підрозділі 3.5, запропоновано методику ідентифікації фенольних сполук у горобини плодах методом тонкошарової хроматографії (акт про участь у розробці проєкту монографії № 11/1486-5 від 09.11.2020).

Випробування. Визначення вмісту загальної золи, втрати в масі при висушуванні та сторонніх домішок у 7 зразках горобини плодів проводили за методиками, що наведені в ДФУ 2.0 [14]. Результати дослідження наведені в табл. 5.4.

Таблиця 5.4

**Визначення вмісту загальної золи, втрати в масі при висушуванні та
сторонніх домішок у горобини плодах**

Показник якості (за ДФ СРСР XI вид.)	Результати аналізу зразків, %						
	1	2	3	4	5	6	7
Загальна зола – не більше 5 %	3,75 ± 0,03	3,95 ± 0,05	3,19 ± 0,03	3,51 ± 0,07	3,15 ± 0,04	3,48 ± 0,05	3,68 ± 0,09
Вологість (втрата в масі при висушуванні) – не більше 18 %	7,74 ± 0,03	6,60 ± 0,05	6,29 ± 0,05	8,12 ± 0,04	7,94 ± 0,07	8,30 ± 0,06	7,81 ± 0,03
Плодів почорнілих та підгорілих – не більше 3,0 %	0,91 ± 0,12	0,38 ± 0,16	0,24 ± 0,09	0	0	1,27 ± 0,14	0,75 ± 0,12
Плодів недозрілих (світло-жовтих, жовтих) – не більше 2 %	0	0	2,80 ± 0,15	0	0	1,31 ± 0,09	1,45 ± 0,12
Інших частин рослини (плодоніжок, гілочок, листків) – не більше 0,5 %	0,26 ± 0,07	0,17 ± 0,03	0	0	0,38 ± 0,12	0,06 ± 0,02	0,78 ± 0,24
Плодів із плодоніжками – не більше 3,0 %	14,21 ± 0,38	21,54 ± 0,19	23,04 ± 0,17	5,08 ± 0,09	27,63 ± 0,26	9,35 ± 0,12	22,40 ± 0,21
Органічних домішок – не більше 0,5 %	0,15 ± 0,02	0	0	0	0	0,18 ± 0,04	0,14 ± 0,02
Мінеральних домішок – не більше 0,2 %	0	0	0	0	0	0	0,11 ± 0,03

Сировина 7 зразків не відповідає вимогам ДФ СРСР XI вид. щодо вмісту плодів із плодоніжками, зразок № 3 не відповідає вимогам щодо вмісту плодів недозрілих, зразок № 7 не відповідає вимогам щодо вмісту інших частин рослини.

Тому до розділу «Випробування» до проєкту національної монографії «Горобини плоди^N» запропоновано внести наступні показники: загальна зола – не більше 5,0 %; втрата в масі при висушуванні – не більше 15,0 % (показник знижено, тому що в наших дослідженнях він був від 6,29 до 8,30 %); сторонні домішки: плодів підгорілих – не більше 3,0 %; плодів недозрілих (світло-жовтих, жовтих) – не більше 2,0 %; інших частин рослини (плодоніжок, гілочок, листків) – не більше 0,5 %; плодів із плодоніжками – не більше 3,0 %; органічних часток – не більше 0,5 %; мінеральних часток – не більше 0,2 % (акт про участь у розробці проєкту монографії № 11/1489-5 від 09.11.2020).

В результаті кількісного визначення гідроксикоричних кислот у 7 зразках горобини плодів, що наведене в пункті 3.5.1, розроблено розділ «Кількісне визначення» для проєкту національної монографії «Горобини плоди^N» (акт про участь у розробці проєкту монографії № 11/1487-5 від 09.11.2020 р.). До проєкту монографії на сировину рекомендуємо внести показники: не менше 1,5 % суми похідних гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту хлорогенову ($C_{16}H_{18}O_9$; М.м. 354.3) і суху сировину.

ГОРОБИНИ ПЛОДИ^N

Sorbi aucupariae fructus

Висушені зрілі плоди дикорослого й культивованого дерева горобини звичайної *Sorbus aucuparia* L.

Вміст: не менше 1,5 % суми похідних гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту хлорогенову ($C_{16}H_{18}O_9$; М.м. 354.3) і суху сировину.

ВЛАСТИВОСТІ

Сировина має слабкий, своєрідний запах.

Сировина має кислувато-гіркий смак.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Плоди яблукоподібні, несправжні, 2–5-гнізді, без плодоніжок, округлі або овально-округлі, до 9 мм у діаметрі, червонувато-оранжеві,

бурувато-червоні, жовтаво-оранжеві, блискучі, дуже зморшкуваті, на верхівці із залишками чашечки з 5 малопомітних зімкнутих зубчиків, у м'якуші плоду в гніздах містяться 2–7 серпоподібнозігнутих, видовжених, з гострими кінцями, гладеньких червонувато-бурих насінин.

В. Мікроскопічне дослідження (2.8.23). Порошок від червонувато- або жовтаво-оранжевого до буруваточервоного кольору з білуватими крапленнями. Переглядають під мікроскопом, використовуючи *хлоральгідрату розчин Р*. У порошку виявляються такі діагностичні структури: фрагменти епідерми плоду з багатокутних клітин із нерівномірно потовщеними пористими оболонками, з краплями жовтої жирної олії; фрагменти мезокарпію з тонкостінних паренхімних клітин, різноманітних за формою та величиною, з численними оранжево-жовтими хромопластами; фрагменти провідних пучків зі спіральними судинами й обкладкою з призматичними кристалами кальцію оксалату; фрагменти ендокарпія (гнізда) з багатокутних, щільно розташованих товстостінних склереїд; поодинокі або в групах склереїди округлої або дещо видовженої форми; фрагменти епідерми насінної шкірки (вигляд зверху) зі щільно розташованих прямоствінних багатокутних клітин із потовщеною внутрішньою оболонкою; ізольовані покривні волоски одноклітинні, довгі, товстостінні, більш-менш звивисті; численні краплі жирної олії; призматичні кристали й друзи кальцію оксалату в клітинах мезокарпію або ізольовані.

С. Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

Випробовуваний розчин. До 0,5 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 10 мл *метанолу Р*, обробляють ультразвуком за температури 50 °С протягом 5 хв, охолоджують і фільтрують.

Розчин порівняння. 1 мг *ФСЗДФУ* хлорогенової кислоти і 2 мг *ФСЗДФУ* рутину розчиняють у 10 мл *метанолу Р*.

Пластинка: ТШХ-пластинка із шаром силікагелю F_{254} *Р*.

Рухома фаза: мурашина кислота безводна *Р* – вода *Р* – метилетилкетон *Р* – етилацетат *Р* (10:10:30:50).

Нанесення: 10 мкл, смугами.

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

Висушування: за температури від 100 °С до 105 °С.

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

Результати: нижче наведено послідовність зон на хроматограмі розчину порівняння та випробовуваного розчину. На хроматограмі випробовуваного розчину також можуть виявлятися інші слабкі флуоресціюючі зони.

Верхня частина пластинки	
хлорогенова кислота: блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона
рутин: оранжева флуоресціююча зона	2 інтенсивні блакитні флуоресціюючі зони (хлорогенова кислота)
	слабка оранжева флуоресціююча зона
	блакитна флуоресціююча зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

ВИПРОБУВАННЯ

Сторонні домішки (2.8.2). Плодів підгорілих – не більше 3,0 %; плодів недозрілих (світло-жовтих, жовтих) – не більше 2,0 %; інших частин рослини

(плодоніжок, гілочок, листків) – не більше 0,5 %; плодів із плодоніжками – не більше 3 %; органічних часток – не більше 0,5 %; мінеральних часток – не більше 0,2 %.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 15,0 %. 1,000 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) сушать за температури 105 °С.

Загальна зола (2.4.16). Не більше 5,0 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Вихідний розчин. До 1.000 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 80 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*, нагрівають у водяній бані зі зворотним холодильником протягом 30 хв, охолоджують і фільтрують. Фільтр обполіскують 10 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*, фільтрат і промивні води об'єднують у мірній колбі й доводять об'єм розчину *етанолом (50 %, об/об) Р* до 100,0 мл.

Випробовуваний розчин. 1,0 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додають, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину кислоти хлористоводневої, 2 мл розчину, приготованого розчиненням 10 г *натрію нітриту Р* і 10 г *натрію молібдату Р* у 100 мл *води Р*, 2 мл *натрію гідроксиду розчину розведеного Р*, доводять об'єм розчину *водою Р* до 10,0 мл і перемішують.

Компенсаційний розчин. 1,0 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додають, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину кислоти хлористоводневої й 2 мл *натрію гідроксиду розчину розведеного Р*, доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки та перемішують.

Оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину вимірюють відразу за довжини хвилі 525 нм відносно компенсаційного розчину.

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

$$X = \frac{A \cdot 1000}{m \cdot 188}, \quad (5.1)$$

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

m – маса наважки випробовуваної сировини, у грамах.

Використовують питомий показник поглинання хлорогенової кислоти, що дорівнює 188.

5.2 Стандартизація «Горобини звичайної листя екстракту густого «Сорбафол»

На кафедрі фармакогнозії Криворучко О. В. раніше було розроблено проєкт МКЯ на «Горобини звичайної листя» [43], у якому запропоновано такі параметри стандартизації сировини: ідентифікацію за макро- та мікроскопічними ознаками; ідентифікацію методом ТШХ флавоноїдів (рутину); визначення сторонніх домішок – не більше 2,0 %, втрати в масі при висушуванні – не більше 11,0 %, загальної золи – не більше 9,0 %; визначення кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот (у перерахунку на кислоту хлорогенову і суху сировину) – не менше 1,5 %, суми флавоноїдів (у перерахунку на рутин і суху сировину) – не менше 1,0 %.

Для розробки проєкту МКЯ на «Горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол»» проводили визначення в ньому вмісту гідроксикоричних кислот (пункт 4.2.1), який становить $3,41 \pm 0,04$ %, у перерахунку на кислоту хлорогенову. Запропоновано в проєкт МКЯ «Горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол»» внести показники: не менше 3,0 % суми гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту хлорогенову ($C_{16}H_{18}O_9$; М.м. 354.3) і суху субстанцію.

Ідентифікацію A (тонкошарову хроматографію) проводили за тих же умов, що наведені у проєкті монографії «Горобини плоди^N» (Ідентифікації С), але попередньо 0,1 г екстракту розчиняли в 5 мл 50 % етанолу.

Визначення *сухого залишку* горобини звичайної листя екстракту густого «Сорбафол» проводили за методикою, загальної статті «Визначення сухого залишку екстрактів» ДФУ 2.0 [14]. У результаті дослідження встановлено, що сухий залишок екстракту становить $71,14 \pm 0,09$ %. Визначення *важких металів* в екстракті проводили за методикою загальної статті «Важкі метали» ДФУ 2.0 [14].

На підставі проведених досліджень розроблено проєкт МКЯ на «Горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол».

ГОРОБИНИ ЗВИЧАЙНОЇ ЛИСТЯ ЕКСТРАКТ ГУСТИЙ «СОРБАФОЛ»

Sorbi aucupariae foliorum extractum spissum «Сорбафол»

Вміст: гідроксикоричні кислоти: не менше 3,0 %, у перерахунку на кислоту хлорогенову ($C_{16}H_{18}O_9$; *М.м.* 354.3) і суху субстанцію.

ВИРОБНИЦТВО

Екстракт одержують з лікарської рослинної сировини (горобини звичайної листя) підхожим методом, використовуючи *етанол (50 %, об/об) Р*.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. В'язка маса темно-бурого кольору зі специфічним запахом.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

А. Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

Випробовуваний розчин. 0,1 г випробовуваного екстракту розчиняють у 5 мл 50 % *етанолу Р*.

Розчин порівняння. 1 мг *ФСЗ ДФУ хлорогенової кислоти* і 2 мг *ФСЗ ДФУ рутину* розчиняють у 10 мл *метанолу Р*.

Пластинка: ТШХ-пластинка із шаром *силікагелю F₂₅₄ Р*.

Рухома фаза: *мурашина кислота безводна Р* – *вода Р* – *метилетилкетон Р* – *етилацетат Р* (10:10:30:50).

Нанесення: 10 мкл, смугами.

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

Висушування: за температури від 100 °С до 105 °С.

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

Результати: на хроматограмі розчину порівняння виявляються (у порядку зростання R_f): оранжева флуоресціююча зона (рутин) і блакитна флуоресціююча зона (хлорогенова кислота). На хроматограмі випробовуваного розчину виявляються зони, що відповідають зонам рутину і хлорогенової кислоти на хроматограмі розчину порівняння. На хроматограмі випробовуваного розчину також можуть виявлятися інші флуоресціюючі зони.

ВИПРОБУВАННЯ

Сухий залишок (2.8.16). Не менше 70,0 %.

Важкі метали (2.4.8, метод А). Не більше 0,01 %.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

Гідроксикоричні кислоти.

Вихідний розчин 1. 0,1 г екстракту «Сорбафол» (точна наважка) поміщають в мірну колбу місткістю 25 мл, додають 50 % (об/об) етанол *P*, розчиняють при енергійному струшуванні, доводять тим же розчинником до позначки та перемішують.

Випробовуваний розчин. 1 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додають, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 *M* розчину кислоти хлористоводневої, 2 мл свіжоприготованого розчину 10 г натрію нітриту *P* і 10 г натрію молібдату *P* у 100 мл води *P*, 2 мл розчину натрію гідроксиду розведеного *P*, доводять об'єм розчину водою *P* до 10,0 мл і 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 *M* розчину кислоти хлористоводневої та 2 мл натрію

гідроксиду розчину розведеного Р, доводять об'єм розчину *водою Р* до позначки та перемішують.

Оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину вимірюють відразу за довжини хвилі 525 нм відносно компенсаційного розчину.

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

$$X = \frac{A \cdot 1000}{m \cdot 188}, \quad (5.1)$$

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

m – маса наважки випробовуваного екстракту, в грамах.

Використовують питомий показник поглинання кислоти хлорогенової, що дорівнює 188.

Висновки до розділу 5

1. В результаті дослідження 7 зразків горобини плодів згідно з вимогами, що регламентуються настановою Фармакопейного комітету «Порядок розробки монографій для лікарської рослинної сировини для введення в ДФУ», розроблено проєкт національної монографії «Горобини плоди^N», який рекомендовано ДП «Українським науковим фармакопейним центром якості лікарських засобів» до внесення в ДФУ 2.5 (акти про участь у розробці проєкту монографії № 11/1486-5 – 11/1489-5 від 09.11.2020). Запропоновано наступні параметри стандартизації горобини плодів: ідентифікацію за макро- та мікроскопічними ознаками, ідентифікацію методом ТШХ гідроксикоричних кислот і флавоноїдів, визначення сторонніх домішок (плодів підгорілих – не більше 3,0 %; плодів недозрілих (світло-жовтих, жовтих) – не більше 2 %; інших частин рослини (плодоніжок, гілочок, листків) – не більше 0,5 %; плодів із плодоніжками – не більше 3,0 %; органічних часток – не більше 0,5 %; мінеральних часток – не більше 0,2

%), втрати в масі при висушуванні – не більше 15,0 %, загальної золи – не більше 5,0 %; визначення вмісту суми похідних гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту хлорогенову і суху сировину – не менше 1,5 %.

2. Вперше за результатами досліджень розроблено проєкт МКЯ «Горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол».

Результати експериментальних досліджень даного розділу знайшли відображення у таких публікаціях:

1. Маркін О. М., Криворучко О. В. Визначення фенольних сполук у горобини плодах. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 3 (85). С. 68–73. (Особистий внесок – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведене експериментальне вирішення наукової задачі, яка полягає у фармакогностичному вивченні біологічно активних речовин листя, плодів, квіток і кори горобини звичайної, одержанні субстанцій гіпоглікемічної дії з горобини звичайної листя, та розробці нормативної документації на горобини плоди і горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол».

1. Вперше проведено комплексне фітохімічне дослідження горобини звичайної, у ході якого за допомогою якісного та кількісного аналізу в листі, плодах, квітках і корі рослини виявлено вуглеводи, органічні кислоти, аскорбінову кислоту, каротиноїди, карбонові кислоти, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, проціанідини, поліфеноли, терпеноїди, ароматичні та гетероциклічні сполуки, мінеральні речовини.

2. У листі, плодах, квітках і корі горобини звичайної за допомогою методів ПХ, ТШХ, АЕС, ГХ-МС, ВЕРХ виявлено та ідентифіковано понад 103 речовини, з яких 3 фенольні кислоти, 5 флавоноїдів; 50 карбонових кислот та їх похідних, 5 терпеноїдів, 5 ароматичних сполук, 5 гетероциклічних сполук, 3 вуглеводи, 26 алканів, алкенів і їх похідних, аскорбінову кислоту, а також макро- і мікроелементи. 3 флавоноїдів апігенін-7-глюкозид у корі горобини звичайної виявлено вперше.

3. У горобини плодах визначено вміст полісахаридів – 3,47 %, органічних кислот – від 2,45 % до 3,71 %, у перерахунку на яблучну кислоту і суху сировину, аскорбінової кислоти – від 0,01 % до 0,03 %, у перерахунку на суху сировину, гідроксикоричних кислот – від 1,53 % до 2,61 %, у перерахунку на кислоту хлорогенову, флавоноїдів – 0,04 %, у перерахунку на гіперозид, проціанідинів – 0,13 %, у перерахунку на ціанідину хлорид і суху сировину, поліфенолів – від 0,62 % до 0,92 %, у перерахунку на пірогалол; у листі горобини звичайної – полісахаридів – від 7,84 % до 9,15 %, гідроксикоричних кислот – від 1,75 % до 2,59 %, у перерахунку на кислоту

хлорогенову, флавоноїдів – від 1,21 % до 1,29 %, у перерахунку на рутин.

4. З листя горобини звичайної екстракцією сировини 50 % етанолом одержано горобини звичайної листя екстракт густий спиртовий, який отримав умовну назву «Сорбафол». Запропоновано схему комплексної переробки горобини звичайної листя шляхом послідовного отримання хлороформного, етилацетатно-спиртового і водного очищеного густих екстрактів. Горобини звичайної листя екстракт густий етилацетатно-спиртовий отримав умовну назву «Феногор».

5. У густих екстрактах із листя горобини звичайної «Сорбафол» і «Феногор» виявлено 4 фенольні кислоти, 4 флавоноїда, 40 карбонових кислот, із яких 11 двоосновних, 1 триосновна, 10 ароматичних, 18 жирних кислот і їх похідних; 16 амінокислот, 5 моносахаридів, 19 макро- і мікроелементів. У екстракті «Сорбафол» визначено вміст гідроксикоричних кислот, який становить 3,41 %, у перерахунку на кислоту хлорогенову.

6. Вперше визначено гостру токсичність густих екстрактів «Сорбафол» і «Феногор». Досліджувані екстракти віднесені до V класу токсичності – практично нетоксичних речовин. За результатами дослідження густих екстрактів «Сорбафол» і «Феногор» на обмін глюкози і видільну функцію нирок у щурів встановлено, що більш перспективним є екстракт «Сорбафол», який виявляє достовірну гіпоглікемічну дію за одноразового введення в дозах 250 та 500 мг/кг. За результатами досліджень розроблено проєкт МКЯ «Горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол».

7. В результаті дослідження 7 зразків горобини плодів згідно з вимогами, що регламентуються настановою Фармакопейного комітету «Порядок розробки монографій для лікарської рослинної сировини для введення в ДФУ», розроблено проєкт національної монографії «Горобини плоди^N».

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Андрущенко О. О., Криворучко О. В. Аналіз ліпофільних екстрактів листя *Sorbus aucuparia*, *Sorbus aria* та *Sorbus torminalis*. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2013. № 3 (13). С. 73–75.
2. Биологическая активность полифенолов растительного происхождения. Перспектива использования антоцианов в медицинской практике / Д. И. Писарев, О. О. Новиков, О. А. Селютина и др. *Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация*. 2012. № 10 (129). Вып. 18/2. С. 17–24.
3. Вертикова Е. К., Ходаков И. В., Левицкий А. П. Метод определения хлорогеновой кислоты. *Вісник стоматології. Спец. випуск*. 2010. Т. 73, № 5. С. 2–5.
4. Витковский В. Л. Плодовые растения мира. СПб.: Изд-во «Лань», 2003. 592 с.
5. Гарна С. В., Ветров П. П. Теоретичне обґрунтування комплексної технології переробки лікарської рослинної сировини. *Фармацевтичний журнал*. 2012. № 1. С. 80–85.
6. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: «Практика», 1998. 459 с.
7. ГОСТ 6714-74 Плоды рябины обыкновенной [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://gost.one/document/GOST_671474-56922 (дата звернення 11.09.2020). Назва з екрану.
8. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 3 т. Т. 2. Общие и частные фармакопейные статьи / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. Минск: Минский государственный ПТК полиграфии им. В. Хоружей, 2009. 471 с.
9. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. / МЗ СССР. 11-е изд., доп. М.:

Медицина, 1990. 400 с.

10. Дендрофлора України. Дикорослі й культивовані дерева і кущі. Покритонасінні. Частина II. Довідник / М. А. Кохно, Н. М. Трофименко, Л. І. Пархоменко та ін.; за ред. М. А. Кохна та Н. М. Трофименко. К.: Фітосоціоцентр, 2005. 716 с.

11. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доповнення 1. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.

12. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. Доповнення 2. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. 336 с.

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

14. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. – Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

15. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / За ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанов. К.: Авіцена, 2001. 528 с.

16. Дослідження хімічного складу екстрактів листя горобини звичайної та їх впливу на обмін глюкози і видільну функцію нирок у щурів / О. В. Товчига, О. М. Маркін, С. Ю. Штриголь, О. В. Криворучко. *Клінічна фармація*. 2020. Т. 24, № 1. С. 26–34.

17. Екстракти листя горобини звичайної як перспективні об'єкти для розробки нових лікарських засобів і дієтичних добавок / О. М. Маркін, І. Г. Капелька, О. В. Криворучко, О. В. Товчига. *Сучасні напрямки удосконалення*

фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження: матеріали наук.-практ. дистанц. міжнар. конф., м. Івано-Франківськ, 19-20 трав. 2020 р. Івано-Франківськ: ІФНМУ, 2020. С. 167.

18. Западнюк М. П., Западнюк В. И., Захария Е. А. Лабораторные животные. Использование в эксперименте. К.: Высшая школа, 1983. 383 с.

19. Зузук Б. М., Куцик Р. В. Горобина птахоприваблива або звичайна (*Sorbus aucuparia* L.) (Частина III). *Провізор*. 2008. № 16. С. 51–53.

20. Зузук Б. М., Куцик Р. В. Горобина птахоприваблива або звичайна (*Sorbus aucuparia* L.) (Частина II). *Провізор*. 2008. № 15. С. 35–40.

21. Зузук Б. М., Куцик Р. В. Горобина птахоприваблива або звичайна (*Sorbus aucuparia* L.) (Частина IV). *Провізор*. 2008. № 17. С. 44–46.

22. Зузук Б. М., Куцик Р. В. Горобина птахоприваблива або звичайна (*Sorbus aucuparia* L.) (Частина I). *Провізор*. 2008. № 13–14. С. 76–79.

23. Исследование фенольных соединений экстрактов плодов рябины обыкновенной / Н. В. Исайкина, Н. Э. Коломиец, Н. Ю. Абрамец и др. *Химия растительного сырья*. 2017. № 3. С. 131–139.

24. Исследование химического состава плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia*), произрастающей в Кемеровской области / Л. А. Остроумов, О. В. Кригер, К. В. Карчин и др. *Техника и технология пищевых производств*. 2014. № 4 (35). С. 38–42.

25. Інноваційні перспективи застосування густого екстракту листя горобини звичайної в якості протизапального засобу: інформ. лист № 81 / А. В. Кононенко, К. Г. Щокіна, О. В. Криворучко, С. М. Дроговоз. Київ, 2012. Вип. 8. З проблеми «Фармація». 4 с.

26. Камышников В. С. Справочник по клиническо-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. Минск.: «Беларусь», 2002. Т. 1. 495 с., Т. 2. 463 с.

27. Карбоновые кислоты экстрактов листьев рябины обыкновенной / А. Н. Маркин, Е. В. Криворучко, О. В. Товчига, В. А. Самойлова, А. А. Стремоухов. *Вестник фармации*. 2019. № 2 (84). С. 34–38.

28. Каротиноиды, хлорогеновые кислоты и другие природные соединения плодов рябины / И. А. Гостищев, В. И. Дейнека, И. П. Анисимович и др. *Научные ведомости БелГУ. Серия Естественные науки*. 2010. № 3 (74). Вып. 10. С. 83–92.

29. Кваченюк Г. Клінічна ефективність екстракту з плодів горобини звичайної. *Ліки України*. №. 9 (38). 2000. С. 63–64.

30. Киселева Т. Л., Смирнова Ю. А. Лекарственные растения в мировой медицинской практике: государственное регулирование номенклатуры и качества. М.: Изд-во Профессиональной ассоциации натуротерапевтов, 2009. 295 с.

31. Кононенко А. В., Дроговоз С. М., Криворучко О. В. Листя горобини звичайної – перспективна сировина для отримання препаратів з антиартритною дією. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2013. № 2 (33). С. 51–55.

32. Кононенко А. В., Дроговоз С. М., Щокіна К. Г., Криворучко О. В. Застосування водного екстракту з листя горобини звичайної як засобу з антиальтеративною дією: пат. на винахід 106894 Україна. № а 201205318; заявл. 28.04.2012; опубл. 27.10.2014, Бюл. № 20.

33. Кононенко А. В., Щокіна К. Г., Криворучко О. В. Вивчення антиексудативної активності екстракту листя горобини звичайної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2010. № 5 (10). С. 16–20.

34. Кононенко Г. В., Дроговоз С. М., Щокіна К. Г. Вивчення протизапальної активності густого екстракту горобини звичайної на моделі ад'ювантного артриту у щурів. *Вісник фармації*. 2013. № 1 (73). С. 70–73.

35. Кононенко Г. В., Дроговоз С. М., Криворучко О. В. Обґрунтування використання листя горобини звичайної як альтернативи її плодам. *Вісник фармації*. 2012. № 3 (71). С. 72–74.

36. Котов А. Г. Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослинну сировину до Державної Фармакопеї України. *Фармаком*. 2009. № 1. С. 5–19.
37. Котов А. Г. Правила викладання та порядок розробки монографій на лікарську рослинну сировину. Частина 1. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2011. № 6 (20). С. 16–21.
38. Котов А. Г. Правила викладання та порядок розробки монографій на лікарську рослинну сировину. Частина 2. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2012. № 1 (21). С. 4–9.
39. Котов А. Г., Котова Е. Е. Систематизація досвіду введення монографії на лікарську рослинну сировину до Державної Фармакопеї України 2.1–2.2. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2018. № 3 (55). С. 11–19.
40. Криворучко Е. В., Андрущенко О. А., Кононенко А. В. Исследование летучих веществ листьев рябины арии. *Рецепт*. 2014. № 1 (93). С. 88–92.
41. Криворучко О. В. Визначення вмісту аскорбінової кислоти в плодах шипшини. *Фітотерапія. Часопис*. 2014. № 1. С. 64–67.
42. Криворучко О. В. Горобина. *Фармацевтична енциклопедія* / гол. ред. ради та автор передмови В. П. Черних. 3-тє вид., переробл. і доповн. К.: «МОРІОН», 2016. С. 430–431.
43. Криворучко О. В. Фармакогностичне дослідження представників родин розові та деренові як джерел одержання лікарських засобів: автореф. дис. ... д-ра фармац. наук : 15.00.02/НФаУ. Х., 2016. 40 с.
44. Криворучко О. В., Кононенко А. В., Андрущенко О. О. Амінокислотний склад листя *Sorbus aucuparia* та *Sorbus domestica*. *Фармацевтичний часопис*. 2012. № 4 (24). С. 27–30.
45. Криворучко О. В., Маркін О. М. Гідроксикоричні кислоти і флавоноїди горобини звичайної і горобини арії. *Зб. наук. прац. співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика*. К., 2017. Вип. 28. С. 67–73.

46. Криворучко О. В., Шевельова Н. Ю., Івачов І. О. Вивчення антимікробної активності листя горобини звичайної та черемхи звичайної. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: тези доп. III наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 1–2 жовт. 2009 р. Тернопіль: ТДМУ, Укрмедкнига, 2009. С. 121.

47. Криворучко О. В. Макро- і мікроелементний склад листя кизилу. *Медична хімія*. 2008. Т. 10, № 4. С. 81–84.

48. Криворучко О. В. Хромато-мас-спектрометричне дослідження летких речовин листя і плодів аронії чорноплідної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2010. № 1 (6). С. 53 – 58.

49. Криворучко О. В. Хромато-мас-спектрометричний аналіз запашних речовин листя *Sorbus aucuparia*, *Sorbus aria* та *Sorbus torminalis*. *Медична хімія*. 2010. Т. 12, № 2. С. 102–106.

50. Лекарственные препараты Украины: справочник / А. Н. Беловол, В. А. Георгиянц, О. М. Гладченко (и др.); под ред. В. П. Черных, И. А. Зупанца; МОЗ Украины, Нац. Фармац. ун-т. Х.: НФаУ: Золотые страницы, 2005. 511 с.

51. Лекарственные растения, почки и обмен мочевой кислоты: монография / С. Ю. Штрыголь, О. В. Товчига, О. О. Койро и др. Харьков: «Титул», 2014. 424 с.

52. Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної: пат. 122521 України: МПК А61К 36/73, А61Р 3/10. № а201811027; заявл. 08.11.2018; опубл. 25.11.2020, Бюл. № 22.

53. Маркин А. Н., Криворучко Е. В. Содержание аскорбиновой кислоты в плодах рябины обыкновенной. *Перспективы развития биологии, медицины и фармации*: материалы IV Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, г. Шымкент, Республика Казахстан, 9–10 декабря 2016 г. *Вестник ЮКГФА*. 2016. № 4 (77), Т. 4. С. 114–115.

54. Маркин А. Н., Криворучко Е. В. Элементный состав рябины обыкновенной. *Актуальные вопросы фармации: фармацевтическая опека в*

педиатрии. *Дизайн, производство и контроль качества лекарственных средств*: материалы факультетских чтений школы фармации, проводимых в рамках международной научно-практической конференции «Дни университета-2019: Педиатрия XXI века. Современные вызовы и тенденции». Алматы, 2019. С. 81–82.

55. Маркин А. Н., Криворучко Е. В., Самойлова В. А. Исследование карбоновых кислот почек и листьев *Sorbus aucuparia*. *Наука и инновация*. 2019. № 4. С. 122–125.

56. Маркін О. М., Криворучко О. В. Визначення фенольних сполук у горобини плодах. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 3 (85). С. 68–73.

57. Маркін О. М., Криворучко О. В. Леткі сполуки екстрактів листя горобини звичайної. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку*: матеріали наук.-практ. конф. з міжнародною участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р.: у 2 т. Харків: НФаУ, 2019. Т. 1. С. 261–262.

58. Маркін О. М., Криворучко О. В., Товчига О. В. Дослідження горобини звичайної листя екстракту густого, який має антигіперглікемічну дію. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 14-15 березня 2019 р.: у 2 т. Х.: НФаУ, 2019. Т. 2. С. 174.

59. Маркін О. М., Криворучко О. В. Органічні кислоти плодів горобини звичайної і горобини домашньої. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій*: тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича, 12-13 квітня 2018 р. Х.: НФаУ, 2018. С. 280.

60. Матющенко Н. В., Степанова Т. А. Стандартизация плодов рябины. *Фармація*. 2003. № 5. С. 16–18.

61. Машковский М. Д. Лекарственные средства. 16-е изд., перераб., испр. и доп. М.: Новая волна, 2012. 1216 с.

62. Мельниченко Н. В. Критико-систематичний аналіз роду *Sorbus* L. *Науковий часопис НПУ імені М. П. Драгоманова. Серія 20, Біологія: збірник*. Київ: НПУ, 2008. Вип. 2. С. 11–15.
63. Мінарченко В. М. Лікарські харчові рослини українських Карпат: їх використання, ресурси та збереження. *Фітотерапія*. 2013. № 3. С. 72–76.
64. Морозова Е. И. Лекарственные средства и применение рябины, аронии, вишни, черемухи: научно-популярная литература. Донецк: БАО, 2006. 239 с.
65. Новые каротиноидсодержащие фитопрепараты / П. П. Ветров, Г. В. Оболенцева, Т. Д. Носовская и др. *Провизор*. 2008. № 16. С. 80–81.
66. Носовская Т. Д. Лечебные свойства рябины обыкновенной. *Провизор*. 2000. № 6. С. 37–39.
67. Оленников Д. Н., Танхаева Л. М. Методика количественного определения группового состава углеводного комплекса растительных объектов. *Химия растительного сырья*. 2006. № 4. С. 29–33.
68. Панова О. М., Штриголь С. Ю., Криворучко О. В. Урикозурична активність і вплив на видільну функцію нирок водних екстрактів плодів аронії, горобини та черемхи. *Фітотерапія. Часопис*. 2012. № 2. С. 35–38.
69. Панова О. М., Штриголь С. Ю., Криворучко О. В., Ковальов В. М. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з урикозуричною дією: пат. на винахід 98175 Україна. № а 201007339; заявл. 14.06.2010; опубл. 25.04.2012, Бюл. № 8.
70. Пектиновые полисахариды рябины обыкновенной *Sorbus aucuparia* L. / А. А. Злобин, Е. А. Мартинсон, С. Г. Литвинец и др. *Химия растительного сырья*. 2011. № 1. С. 39–44.
71. Петрова В. П. Биохимия дикорастущих плодово-ягодных растений. К.: Вища шк. Головное изд-во, 1986. 287 с.
72. Попович В. П. Фармацевтична опіка при використанні поліекстракту з плодів горобини звичайної. *Запорожский медицинский*

журнал. 2012. № 4 (73). С. 71–73.

73. Попович В. П., Громовик Б. П., Сятиня В. А. Гепатопротекторный потенциал рослин: монографія. К.: ТОВ «НВП «Інтерсервіс», 2012. 188 с.

74. Профилактика стрессовых нарушений углеводного и липидного обмена печени экстрактом из отжима плодов рябины / Н. Ф. Кушнерова, Т. В. Момот, С. Е. Фоменко, В. Г. Спрыгин. *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2014. № 2 (56). С. 36–38.

75. Разработка комплексных технологий получения фитопрепаратов / П. П. Ветров, Т. Д. Носовская, С. В. Гарна и др. *Фармаком*. 2001. № 1. С. 15–17.

76. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Том 2. Семейства Actinidiaceae – Malvaceae, Euphorbiaceae – Haloragaceae / Отв. ред. А. Л. Буданцев. СПб., М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. 513 с.

77. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Сем. Hydrangeaceae – Haloragaceae. Л.: Изд-во Наука, 1987. 326 с.

78. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейство Rosaceae. СПб: Наука, 1993. 352 с.

79. Результати дослідження «Цукровий діабет у практиці лікаря» [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://accemedin.com/material/15/1120> (дата звернення 25.05.2020). Назва з екрану.

80. Ренгартен Г. А., Сорокопудов В. Н. Интродукция и селекция *Sorbus* (Rosaceae) в качестве пищевого растения в странах мира. *Экосистемы*. 2019. № 18 (48). С. 89–96.

81. Романова Н. Г. Плоды боярышника и рябины – перспективный сырьевой источник для создания продуктов функционального питания. *Достижения науки и техники АПК*. 2008. № 9. С. 59–62.

82. Рыжова Г. Л., Матасова С. А., Башуров С. Г. Получение сухого

экстракта из плодов рябины сибирской и изучение его химического состава. *Химия растительного сырья*. 1997. № 2. С. 37–41.

83. Савич А. О., Марчишин С. М. Аналіз мінерального складу рослинних антидіабетичних зборів. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22 (2). С. 81–86.

84. Скальный А. В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. М.: Издательский дом «ОНИКС 21 век»: Мир, 2004. 216 с.

85. Сортовые особенности сои украинской селекции по содержанию полифенолов в листьях / И. В. Ходаков, О. А. Макаренко, А. П. Левицкий, В. И. Сичкарь. *Физиология растений и генетика*. 2014. Т. 46, № 1. С. 27–36.

86. Сучасні аспекти пероральної фармакотерапії цукрового діабету 2 типу. Досягнення НФаУ. Монографія / В. П. Черних, Л. М. Малоштан, Н. І. Горбенко та ін. Х.: БУРУН і К, 2010. 208 с.

87. Тахтаджян А. Систематика магнолиофитов. Л., 1987. 439 с.

88. Товчига О. В. Антидіабетична та органотропна дія засобів із яглиці звичайної (*Aegoropodium podagraria* L.) та їх комбінацій із антигіперглікемічними, діуретичними та гіпоурикемічними препаратами: автореф. дис. ... д-ра фармацевт. наук: 14.03.05 / НФаУ. Х., 2019. 44 с.

89. Фармацевтична енциклопедія / НАН України, НАМН України, НФаУ; ред. рада: В. П. Черних (голова), І. М. Перцев; ред.–упоряд.: С. В. Андрущенко, С. А. Нежуріна, Д. В. Литкін. Вид. 3–тє, доп. К.: МОРІОН, 2016. 1952 с.

90. Федорончук М. М. Види судинних рослин, описаних з території України, їх типіфікація та критичний аналіз: родина Rosaceae Juss. (роди *Amygdalus* L., *Cerasus* Mill., *Cotoneaster* Medik., *Prunus* L., *Pyrus* L., *Sorbus* L., *Spiraea* L.). *Український ботанічний журнал*. 2007. Т. 64, № 4. С. 520–525.

91. Фітохімічне обґрунтування протизапальної активності біологічно активних речовин листя горобини звичайної / А. В. Кононенко, С. М. Дроговоз, О. В. Криворучко, Д. Б. Лобанова. *Клінічна фармація*. 2012. Т. 16, № 2. С. 51–54.

92. Флора Восточной Европы, том XI / Коллектив авторов. Отв. ред. и ред. тома Н. Н. Цвелев. М.; СПб.: Тов-во научн.изд-ий КМК, 2004. 536 с.
93. Фракционный состав антоциановых красителей из растительных экстрактов и контроль над ним методом ВЭЖХ / О. Б. Рудаков, А. Д. Хайрутдинова, А. П. Один, В. М. Болотов. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2004. № 1. С. 85–93.
94. Химическое изучение биологически активных полифенолов некоторых сортов рябины обыкновенной – *Sorbus aucuparia* / Д. И. Писарев, О. О. Новиков, В. Н. Сорокопудов и др. *Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация*. 2010. Т. 22, № 12/2. С. 123–128.
95. Ходаков И. В. Способ идентификации полифенолов в растительных экстрактах при помощи ВЭЖХ. Определение состава изофлавонов сои. *Методы и объекты химического анализа*. 2013. Т. 8, № 3. С. 132–142.
96. Чахирова А. А., Верещагина В. В. Биофармацевтическое исследование лекарственных форм с маслом рябины обыкновенной. *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции*: сб. научн. трудов. Вып. 61. Пятигорск. гос. фармац. акад. Пятигорск, 2006. С. 145–147.
97. Чахирова А. А., Ковтун Е. В., Охременко О. С. Изучение микроэлементного состава плодов рябины обыкновенной, травы душицы обыкновенной и плодов софоры японской. *Научн. обозрение*. 2006. № 2. С. 34–36.
98. Черногород Л. Б., Виноградов Б. А. Эфирные масла некоторых видов рода *Achillea* (Asteraceae), содержащие фразгранол. *Растительные ресурсы*. 2006. Т. 42, № 2. С. 61–68.
99. Чечета О. В., Сафонова Е. Ф., Сливкин А. И. Методика определения каротиноидов методом хроматографии в тонком слое сорбента. *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2008. Т. 8, Вып. 2. С. 320–326.

100. Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии: в 2-х ч. М.: Мир, 1980. Ч. 1. 296 с., Ч. 2. 238 с.
101. Экспрес-метод определения среднесмертельных доз химических веществ / Т. В. Пастушенко, Л. Б. Маруший, А. А. Жуков, Ю. А. Пилипенко. *Гигиена и санитария*. 1985. № 6. С. 46–48.
102. Элементный состав экстрактов рябины обыкновенной листьев / А. Н. Маркин, А. А. Баля, Е. В. Криворучко, О. В. Демешко. *Современные достижения фармацевтической науки и практики: материалы Международной конференции, посвященной 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»*, Витебск, 31 окт. 2019 г. Витебск: ВГМУ, 2019. С. 115–116.
103. A chalcone glycoside from the fruits of *Sorbus commixta* Hedl. / L. R. Bhatt, M. S. Bae, B. M. Kim et al. *Molecules*. 2009. Vol. 14, № 12. P. 5323–5327.
104. Aladedunye F., Matthäus B. Phenolic extracts from *Sorbus aucuparia* (L.) and *Malus baccata* (L.) berries: antioxidant activity and performance in rapeseed oil during frying and storage. *Food Chem*. 2014. Vol. 159. P. 273–281.
105. An HPLC-ELSD Method for the Determination of Triterpenes in *Sorbus decora* and *Sorbus americana* Bark Used by the Eeyou Istchee Cree First Nation / A. Saleem, R. Liu, J. A. Guerrero-Analco et al. *Planta Med*. 2016. Vol. 82, № 14. P. 1302–1307.
106. Analysis of the monosaccharide composition of purified polysaccharides in *Ganoderma atrum* by capillary gas chromatography / Y. Chen, M. Y. Xie, Y. X. Wang et al. *Phytochem. Anal*. 2009. Vol. 20, № 6. P. 503–510.
107. Anesthetic-induced transient hyperglycemia and insulin resistance do not depend on the sympathoadrenal axis / J. C. De Oliveira, R. Ludemann Camargo, L. F. Barella et al. *Minerva Endocrinol*. 2013. Vol. 38, № 4. P. 379–388.
108. Anti-atherogenic effects of the methanol extract of *Sorbus* cortex in

atherogenic-diet rats / E. J. Sohn, D. G. Kang, Y. J. Mun et al. *Biol. Pharm. Bull.* 2005. Vol. 28, № 8. P. 1444–1449.

109. Anti-diabetic effect of a preparation of vitamins, minerals and trace elements in diabetic rats: a gender difference / M. S arközy, V. Fekete, G. Szűcs et al. *BMC Endocrine Disorders*. 2014. Vol. 14 (1). Art. 72.

110. Anti-inflammatory activity of *Sorbus commixta* water extract and its molecular inhibitory mechanism / T. Yu, Y. J. Lee, H. J. Jang et al. *J. Ethnopharmacol.* 2011. Vol. 134, № 2. P. 493–500.

111. Assessment of the content of phenolics and antioxidant action of inflorescences and leaves of selected species from the genus *Sorbus sensu stricto* / M. A. Olszewska, S. Nowak, P. Michel et al. *Molecules*. 2010. Vol. 15, № 12. P. 8769–8783.

112. Bioassay-guided isolation of the antidiabetic principle from *Sorbus decora* (Rosaceae) used traditionally by the Eeyou Istchee Cree First Nations / J A. Guerrero-Analco, L. Martineau, A. Saleem et al. *J. Nat. Prod.* 2010. Vol. 73, № 9. P. 1519–1523.

113. Carrapiso Al., Garcia C. Development in lipid analysis: some new extraction techniques and in situ transesterification. *Lipids*. 2000. Vol. 35, № 11. P. 1167–1177.

114. Chang J., Yang L., Rena K. Studies on chemical constituents from EtOAc fraction of *Sorbus tianschanica*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2009. Vol. 34, № 2. P. 175–176.

115. Cruz K. J., de Oliveira A. R., Marreiro D. Antioxidant role of zinc in diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*. 2015. Vol. 6 (2). P. 333–337.

116. Czerepanov S. K. Vascular plants of Russia and adjacent states (the former USSR). Cambridge & New York: Cambridge University Press, 2007. 516 p.

117. Dłużewska J., Ślesak I., Kruk J. Molecular analysis of *Sorbus* sp. from the Pieniny mts. and its relation to other *Sorbus* species. *Acta biologica cracoviensia*. 2013. Vol. 55, № 1. P. 86–92.

118. Dubey P., Thakur V., Chattopadhyay M. Role of minerals and trace elements in diabetes and insulin resistance. *Nutrients*. 2020. Vol. 12 (6). Art. 1864.
119. Dulger B., Gonuz A. Antimicrobial activity of some Turkish medicinal plants. *Pak. J. Biol. Sci.* 2004. Vol. 7 (9). P. 1559–1562.
120. Effect of fruit juices and pomace extracts on the growth of Gram-positive and Gram-negative bacteria / J. Krisch, L. Galgoczy, M. Tolgyesi et al. *Acta Biol. Szeged*. 2008. Vol. 52, № 2. P. 267–270.
121. Effect of thiopental, pentobarbital and diethyl ether on early steps of insulin action in liver and muscle of the intact rat / A. R. Cardoso, C. R. Carvalho, L. A. Velloso et al. *Life Sci*. 2005. Vol. 76, № 20. P. 2287–2297.
122. Flavonoids and their anti-diabetic effects: cellular mechanisms and effects to improve blood sugar levels / R. K. Al-Ishaq, M. Abotaleb, P. Kubatka et al. *Biomolecules*. 2019. Vol. 9, № 9. Art. 430.
123. Flavonoids from the leaves of *Sorbus tianschanica* / Ch. Yu, H. Tang, Y. Zheng et al. *Chemistry of Natural Compounds*. 2013. Vol. 49, № 1. P. 115–116.
124. Golembiovskaja O. I. Simultaneous determination of flavonoids and phenolic acids in different parts of *Prunella vulgaris* L. by high-performance liquid chromatography with photodiode array detection. *Int. J. Pharmacog. Phytochem*. 2014. Vol. 29 (1). P. 1248–1255.
125. Grussu D., Stewart D., McDougall G. J. Berry polyphenols inhibit amylase in vitro: identifying active components in rowanberry and raspberry. *J. Agric. Food Chem*. 2011. Vol. 59 (6). P. 2324–2331.
126. Hasbal G., Ozden T. Y., Can A. In vitro antidiabetic activities of two *Sorbus* species. *Eur. J. Biol*. 2017. Vol. 76, № 2. P. 57–60.
127. Herbal medicine in the treatment of patients with type 2 diabetes mellitus / G. M. Pang, F. X. Li, Y. Yan et al. *Chin. Med. J. (Engl)*. 2019. Vol. 132, № 1. P. 78–85.
128. Hydroxycinnamic acid derivatives: a potential class of natural compounds for the management of lipid metabolism and obesity / M. A. Alam, N. Subhan, H. Hossain et al. *Nutrition & Metabolism*. 2016; № 13. Art. 27.

129. In vivo anti-diabetic activity of the ethanolic crude extract of *Sorbus decora* C. K. Schneid. (Rosaceae): a medicinal plant used by Canadian James Bay Cree nations to treat symptoms related to diabetes / R. Vianna, A. Brault, L. C. Martineau et al. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2011. Vol. 2011. Art. 237941.
130. Inhibition of protein tyrosine phosphatase 1B by lupeol and lupenone isolated from *Sorbus commixta* / M. Na, B. Y. Kim, H. Osada et al. *J. Enzyme. Inhib. Med. Chem.* 2009. Vol. 24, № 4. P. 1056–1059.
131. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 9th edition 2019. [Електронний ресурс]. Режим доступу: <https://www.diabetesatlas.org/en/> (дата звернення 25.09.2020). Назва з екрану.
132. 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. Vol. 1216. P. 3064–3077.
133. 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. Vol. 1216. P. 6218–6223.
134. Jung H. S., Lim Y., Kim E. K. Therapeutic phytochemical compounds for obesity and diabetes. *Int. J. Mol. Sci.* 2014. Vol. 15, №11. P. 21505–21537.
135. Kavak D. D., Akdeniz B. *Sorbus umbellata* (Desf.) Fritsch var. *umbellata* Leaves: Optimization of Extraction Conditions and Investigation Antimicrobial, Cytotoxic, and β -Glucuronidase Inhibitory Potential. *Plant Foods Hum Nutr.* 2019. Vol. 74, № 3. P. 364–369.
136. Khare C. P. *Indian Medicinal Plants. An Illustrated Dictionary.* Springer India, 2007. P. 618–619.
137. Krivoruchko E. V., Andrushchenko O. A., Kononenko A. V. Carboxylic acids from *Sorbus aucuparia* and *Sorbus aria*. *Chemistry of Natural Compounds.* 2013. Vol. 49, № 4. P. 742–743.

138. Kultiir S. Medicinal plants used in Kirklareli Province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*. 2007. Vol. 111. P. 341–364.
139. Markin A. N., Samoilova V. A., Krivoruchko O. V. Essential oil of flowers of *Sorbus aucuparia* and *Sorbus aria*. *Science and practice 2018: abstracts of 9th International Pharmaceutical Conference*, 9 November, 2018. Kaunas, 2018. P. 25.
140. Markin O. M., Krivoruchko O. V. The content of procyanidins in fruits of mountain ash. *Topical Issues of New Drug Development: Abstracts of XXIV International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Student*, April 20, 2017: in 2 vol. Kh.: Publishing Office NUPh, 2017. Vol. 1. P. 97.
141. Methanol extract of *Sorbus commixta* cortex prevents vascular inflammation in rats with a high fructose-induced metabolic syndrome / D. G. Kang, E. J. Sohn, A. S. Lee et al. *Am. J. Chin. Med.* 2007. Vol. 35, № 2. P. 265–277.
142. Ming Y., Xian L. Review on research of the chemical constituents and pharmacological activities of *Sorbus* L. *Journal of Liaoning college of TCM*. 2004. Vol. 6, № 5. P. 364–366.
143. Natural phytoactive compounds for the treatment of type 2 diabetes: Inflammation as a target / S. Gothai, P. Ganesan, S. Y. Park et al. *Nutrients*. – 2016. Vol. 8 (8). Art. 461.
144. Nelson-Jones B., Briggs D., Smith G. The origin of intermediate species of the genus *Sorbus*. *Theor Appl Genet*. 2002. Vol. 105, № 6–7. P. 953–963.
145. Network pharmacology studies on the bioactive compounds and action mechanisms of natural products for the treatment of diabetes mellitus: a review / W. Li, G. Yuan, Y. Pan et al. *Frontiers in Pharmacology*. 2017. Vol. 8. Art. 74.
146. Oh Y. S., Jun H. S. Role of bioactive food components in diabetes prevention: effects on Betacell function and preservation. *Nutrition and Metabolic*

Insights. 2014. Vol. 7. P. 51–59.

147. Olszewska M. A. Flavonoid profile of *Sorbus intermedia*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2009. Vol. 45, № 5. P. 722–724.

148. Olszewska M. A. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of the inflorescences, leaves and fruits of *Sorbus torminalis* (L.) Crantz. *Acta Pol. Pharm.* 2011. Vol. 68, № 6. P. 945–953.

149. Olszewska M. A. Variation in the phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Sorbus aucuparia* leaf extracts during vegetation. *Acta Pol. Pharm.* 2011. Vol. 68, № 6. P. 937–944.

150. Olszewska M. A., Michel P. Activity-guided isolation and identification of free radical-scavenging components from various leaf extracts of *Sorbus aria* (L.) Crantz. *Nat. Prod. Res.* 2012. Vol. 26, № 3. P. 243–254.

151. Olszewska M. A., Presler A., Michel P. Profiling of phenolic compounds and antioxidant activity of dry extracts from the selected *Sorbus* species. *Molecules*. 2012. Vol. 17, № 3. P. 3093–3113.

152. Olszewska M. Separation of quercetin, sexangularetin, kaempferol and isorhamnetin for simultaneous HPLC determination of flavonoid aglycones in inflorescences, leaves and fruits of three *Sorbus* species. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2008. Vol. 48, № 3. P. 629–635.

153. Olszewska M., Michel P. Antioxidant activity of inflorescences, leaves and fruits of three *Sorbus* species in relation to their polyphenolic composition. *Natural Product Research*. 2009. Vol. 23, № 16. P. 1507–1521.

154. Pectic polysaccharides in the stem calli of the rowan tree *Sorbus aucuparia* L / A. A. Zlobin, E. A. Martinson, S.G. Litvinets et al. *Bioorg Khim.* – 2014. Vol. 40, № 2. P. 211–216.

155. Phenolic and antioxidant profiles of rowan (*Sorbus* L.) fruits / R. Raudonis, L. Raudone, K. Gaivelyte et al. *Nat. Prod. Res.* 2014. Vol. 28, № 16. P. 1231–1240.

156. Phylogeny and classification of Rosaceae / D. Potter, T. Eriksson, R. C. Evans et al. *Plant Systematics and Evolution*. 2007. Vol. 266. P. 5–43.

157. Phytochemical and antioxidant profiles of leaves from different *Sorbus* L. species / L. Raudone, R. Raudonis, K. Gaivelyte et al. *Nat. Prod. Res.* 2015. Vol. 29, № 3. P. 281–285.
158. Phytochemical Profiling of Fruit Powders of Twenty *Sorbus* L. Cultivars / K. Zymone, L. Raudone, R. Raudonis et al. *Molecules*. 2018. Vol. 23, № 10. Art. 2593.
159. Polyphenols and antioxidant capacity of *Sorbus domestica* L. fruits / C. Olschager, J. Milde, H. Schmepp et al. *J. Appl. Bot. and Food*. 2004. Vol. 8, № 2. P. 112–116.
160. Polyphenols from *Sorbus aucuparia* ameliorate insulin resistance and metabolic disorders in diabetic mice / J. Wei, G. Zhang, X. Zhang et al. *Curr. Topics Nutr. Res.* 2016. Vol. 14, № 3. P. 227–234.
161. Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activities of ursane- and lupane-type triterpenes from *Sorbus pohuashanensis* / D. Li, W. Li, K. Higai et al. *J. Nat. Med.* 2014. Vol. 68, № 2. P. 427–431.
162. Rapid, Accurate, Sensitive, and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids Amino Acid Analysis Using Zorbax Eclipse-AAA Columns and the Agilent 1100 HPLC / J. W. Henderson, R. D. Ricker, B. A. Bidlingmeyer et al. *Agilent Technical Note*. 1999. 5980–1193E.
163. Rasouli H., Khodarahmi R., Hosseini-Ghazvini S. M.-B. Therapeutic potentials of the most studied flavonoids: Highlighting anti-bacterial and anti-diabetic functionalities. In: *Studies in natural products chemistry (Bioactive natural products)* / ed. Prof. Atta-ur-Rahman. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 2018. P. 85–122.
164. Research in the chemical composition of the bark of *Sorbus aucuparia* / E. Krivoruchko, A. Markin, V. Samoilova, T. Ilina, O. Koshovyi. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2018. Vol. 67 (3). P. 113–115.
165. Sak K., Jürisoo K., Raal A. Estonian folk traditional experiences on natural anticancer remedies: from past to the future. *Pharm. Biol.* 2014. Vol. 52, № 7. P. 855–866.

166. Screening of vasorelaxant activity of some medicinal plants used in Oriental medicines / M. H. Yin, D. G. Kang, D. H. Choi et al. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005. Vol. 99 (1). P. 113–117.
167. Siddiqui K., Bawazeer N., Joy S. S. Variation in macro and trace elements in progression of type 2 diabetes. *ScientificWorldJournal*. 2014. Art. 461591.
168. Sorbus aucuparia and Sorbus aria as a source of antioxidant phenolics, tocopherols, and pigments / K. P. Šavikin, G. M. Zdunić, D. B. Krstić-Milošević et al. *Chem Biodivers*. 2017. Vol. 14, № 12. Art. 10.
169. Sorbus domestica leaf extracts and their activity markers: Antioxidant potential and synergy effects in scavenging assays of multiple oxidants / M. Rutkowska, M. A. Olszewska, J. Kolodziejczyk-Czepas et al. *Molecules*. 2019. Vol. 24, № 12. Art. 2289.
170. Termentzi A., Kefalas P., Kokkalou E. Antioxidant activities of various extracts and fractions of Sorbus domestica fruits at different maturity stages. *Food Chem*. 2006. Vol. 98. P. 599–608.
171. Termentzi A., Kefalas P., Kokkalou E. LC–DAD–MS (ESI+) analysis of the phenolic content of Sorbus domestica fruits in relation to their maturity stage. *Food Chem*. – 2008. – Vol. 106, № 3. – P. 1234–1245.
172. Termentzi A., Zervou M., Kokkalou E. Isolation and structure elucidation of novel phenolic constituents from Sorbus domestica fruits. *Food Chem*. 2009. Vol. 116, № 1. P. 371–381.
173. The aldose reductase inhibitory capacity of Sorbus domestica fruit extracts depends on their phenolic content and may be useful for the control of diabetic complications / A. Termentzi, P. Alexiou, V. J. Demopoulos et al. *Pharmazie*. 2008. Vol. 63, № 9. P. 693–696.
174. The Effect of Standardised Flower Extracts of Sorbus aucuparia L. on Proinflammatory Enzymes, Multiple Oxidants, and Oxidative/Nitrative Damage of Human Plasma Components In Vitro / M. A. Olszewska, J. Kolodziejczyk-Czepas, M. Rutkowska et al. *Oxid Med Cell Longev*. 2019. Art. 9746358.

175. The pharmacological potential of *Sorbus commixta* cortex on blood alcohol concentration and hepatic lipid peroxidation in acute alcohol-treated rats / S. O. Lee, H. W. Lee, I. S. Lee et al. *J. Pharm. Pharmacol.* 2006. Vol. 58, № 5. P. 685–693.
176. The relationship between dietary, serum and hair levels of minerals (Fe, Zn, Cu) and glucose metabolism indices in obese type 2 diabetic patients / E. Król, P. Bogdański, J. Suliburska et al. *Biological Trace Element Research.* 2019. Vol. 189, № 1. P. 34–44.
177. The role of medicinal plants in the treatment of diabetes: a systematic review / W. Kooti, M. Farokhipour, Z. Asadzadeh et. al. *Electronic Physician.* 2016. Vol. 8, № 1. P. 1832–1842.
178. Tovchiga O. V. The effects of goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) preparations on glycemia in intact rats and against the background of metformin. *Вісник фармації.* 2017. № 2 (90). С. 54–62.
179. Variation in the contents of neochlorogenic acid, chlorogenic acid and three quercetin glycosides in leaves and fruits of Rowan (*Sorbus*) species and varieties from collections in Lithuania / K. Gaivelyte, V. Jakstas, A. Razukas et al. *Nat. Prod. Commun.* 2013. Vol. 8, № 8. P. 1105–1110.
180. Variation of quantitative composition of phenolic compounds in rowan (*Sorbus aucuparia* L.) leaves during the growth season / K. Gaivelyte, V. Jakstas, A. Razukas et al. *Nat. Prod. Res.* 2014. Vol. 28, № 13. P. 1018–1020.
181. Vinayagam R., Xu B. Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review. *Nutr. Metab.* 2015. Vol. 12. Art. 60.
182. Yang G., An H. J. β -sitosterol-3-O- β -glucopyranoside isolated from the bark of *Sorbus commixta* ameliorates pro-inflammatory mediators in RAW 264.7 macrophages. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2014. Vol. 36, № 1. P. 70–77.
183. Zheng Y., Ley S. H., Hu F. B. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2018. Vol. 14, № 2. P. 88–98.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Криворучко О. В., Маркін О. М. Гідроксикоричні кислоти і флавоноїди горобини звичайної і горобини арії. *Зб. наук. прац. співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика*. К., 2017. Вип. 28. С. 67–73 (Особистий внесок – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).
2. Research in the chemical composition of the bark of *Sorbus aucuparia* / E. Krivoruchko, A. Markin, V. Samoilova, T. Ilina, O. Koshovyi. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2018. Vol. 67 (3). P. 113–115 (Особистий внесок – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).
3. Карбоновые кислоты экстрактов листьев рябины обыкновенной / А. Н. Маркин, Е. В. Криворучко, О. В. Товчига, В. А. Самойлова, А. А. Стремоухов. *Вестник фармации*. 2019. № 2 (84). С. 34–38 (Особистий внесок – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).
4. Маркин А. Н., Криворучко Е. В., Самойлова В. А. Исследование карбоновых кислот почек и листьев *Sorbus aucuparia*. *Наука и инновация*. 2019. № 4. С. 122–125 (Особистий внесок – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).
5. Дослідження хімічного складу екстрактів листя горобини звичайної та їх впливу на обмін глюкози і видільну функцію нирок у щурів / О. В. Товчига, О. М. Маркін, С. Ю. Штриголь, О. В. Криворучко. *Клінічна фармація*. 2020. Т. 24, № 1. С. 26–34 (Особистий внесок – брав участь у плануванні експерименту,

- проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).
6. Маркін О. М., Криворучко О. В. Визначення фенольних сполук у горобини плодах. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 3 (85). С. 68–73. (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).
 7. Товчига О. В., Штриголь С. Ю., Криворучко О. В., Маркін О. М., Баля О. А. Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної: пат. на кор. мод. 133831 України: МПК А61К 36/00, А61К 36/73, А61Р 3/10. № u201811026; заявл. 08.11.2018; опубл. 25.04.2019, Бюл. № 8 (*Особистий внесок* – брав участь у патентному пошуку, плануванні експерименту, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту).
 8. Товчига О. В., Штриголь С. Ю., Криворучко О. В., Маркін О. М., Баля О. А. Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної: пат. на винахід 122521 України: МПК А61К 36/73, А61Р 3/10. № a201811027; заявл. 08.11.2018; опубл. 25.11.2020, Бюл. № 22 (*Особистий внесок* – брав участь у патентному пошуку, плануванні експерименту, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту).
 9. Маркин А. Н., Криворучко Е. В. Содержание аскорбиновой кислоты в плодах рябины обыкновенной. *Перспективы развития биологии, медицины и фармации: материалы IV Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, г. Шымкент, Республика Казахстан, 9–10 декабря 2016 г. Вестник ЮКГФА*. 2016. № 4 (77), Т. 4. С. 114–115.
 10. Markin O. M., Krivoruchko O. V. The content of procyanidins in fruits of mountain ash. *Topical Issues of New Drug Development: Abstracts of XXIV International Scientific and Practical Conference of Young*

Scientists and Student, April 20, 2017: in 2 vol. Kh.: Publishing Office NUPh, 2017. Vol. 1. P. 97.

11. Маркін О. М., Криворучко О. В. Органічні кислоти плодів горобини звичайної і горобини домашньої. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій: тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича, 12-13 квітня 2018 р. Х.: НФаУ, 2018. С. 280.*
12. Markin A. N., Samoilova V. A., Krivoruchko O. V. Essential oil of flowers of *Sorbus aucuparia* and *Sorbus aria*. *Science and practice 2018: abstracts of 9th International Pharmaceutical Conference, 9 November, 2018. Kaunas, 2018. P. 25.*
13. Маркін О. М., Криворучко О. В., Товчига О. В. Дослідження горобини звичайної листя екстракту густого, який має антигіперглікемічну дію. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 14-15 березня 2019 р.: у 2 т. Х.: НФаУ, 2019. Т. 2. С. 174.*
14. Маркін О. М., Криворучко О. В. Леткі сполуки екстрактів листя горобини звичайної. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку: матеріали наук.-практ. конф. з міжнародною участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р.: у 2 т. Харків: НФаУ, 2019. Т. 1. С. 261–262.*
15. Элементный состав экстрактов рябины обыкновенной листьев / А. Н. Маркин, А. А. Баля, Е. В. Криворучко, О. В. Демешко. *Современные достижения фармацевтической науки и практики: материалы Международной конференции, посвященной 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования*

«Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, 31 окт. 2019 г. Витебск: ВГМУ, 2019. С. 115–116.

16. Маркин А. Н., Криворучко Е. В. Элементный состав рябины обыкновенной. *Актуальные вопросы фармации: фармацевтическая опека в педиатрии. Дизайн, производство и контроль качества лекарственных средств: материалы факультетских чтений школы фармации, проводимых в рамках международной научно-практической конференции «Дни университета-2019: Педиатрия XXI века. Современные вызовы и тенденции».* Алматы, 2019. С. 81–82.
17. Екстракти листя горобини звичайної як перспективні об'єкти для розробки нових лікарських засобів і дієтичних добавок /О. М. Маркін, І. Г. Капелька, О. В. Криворучко, О. В. Товчига. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження: матеріали наук.-практ. дистанц. міжнар. конф., м. Івано-Франківськ, 19-20 трав. 2020 р. Івано-Франківськ: ІФНМУ, 2020. С. 167.*

Продовж. дод. А

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. IV Международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Шымкент, Республика Казахстан, 9–10 декабря 2016 г., форма участия – публикация тезисов);
2. XXIV International Scientific and Practical Conference Of Young Scientists and Student «Topical Issues of New Drug Development» (Kharkiv, April 20, 2017, форма участі – публікація тез);
3. Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (Харків, 12-13 квітня 2018 р., форма участі – публікація тез);
4. 9th International Pharmaceutical Conference «Science and practice 2018» (Kaunas, 9 November 2018, форма участі – публікація тез);
5. III Міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 14-15 березня 2019 р., форма участі – публікація тез);
6. Науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку» (Харків, 19-20 вересня 2019 р., форма участі – публікація тез);
7. Международной конференции, посвященной 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» «Современные достижения фармацевтической науки и

практики» (г. Витебск, 31 окт. 2019 г., форма участия – публикация тезисов);

8. Факультетских чтениях школы фармации, проводимых в рамках международной научно-практической конференции «Дни университета-2019: Педиатрия XXI века. Современные вызовы и тенденции» «Актуальные вопросы фармации: фармацевтическая опека в педиатрии. Дизайн, производство и контроль качества лекарственных средств» (Алматы, 2019 г., форма участия – публикация тезисов);
9. Науково-практичній дистанційній міжнародній конференції «Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження» (Івано-Франківськ, 19-20 травня 2020 р., форма участі – публікація тез).

Додаток Б.1

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



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

61085, м. Харків, вул. Астрономічна, 33.

[http:// www.sphu.org](http://www.sphu.org),

E-mail: phukr@phukr.kharkov.ua

Тел. +38 099 2932583 ФСЗ, +38 050 4056222 ППТ, +38 099 1800602 ЛФА, +38 099 1800603 гр. біол. методів,
+38 099 1800601 бухгалтерія, +38 099 1800604 відділ кадрів

Від 09.11.2020 № 11/1486-5
На _____ № _____

Акт про участь Маркіна О. М., Криворучко О. В. у розробці проекту монографії
«Горобини плоди^N»

Маркін О. М. і Криворучко О. В. у складі групи «Лікарська рослинна сировина» під керівництвом начальника відділу ДФУ д.фарм.н., с.н.с. Котова А. Г. та зав. сектора «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» к.фарм.н., с.н.с. Котової Е. Е. брали участь в експериментальних дослідженнях щодо розробки методики ідентифікації методом тонкошарової хроматографії у лікарській рослинній сировині в процесі розробки національної монографії на «Горобини плоди^N» у відповідності до вимог ДФУ та ЄФ.

В результаті був розроблений проект розділу Ідентифікація С (тонкошарова хроматографія) для проекту національної монографії «Горобини плоди^N».

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



О. І. Гризодуб

Додаток Б.2

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



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

61085, м. Харків, вул. Астрономічна, 33.

[http:// www.sphu.org](http://www.sphu.org),

E-mail: phukr@phukr.kharkov.ua

Тел. +38 099 2932583 ФСЗ, +38 050 4056222 ППТ, +38 099 1800602 ЛФА, +38 099 1800603 гр. біол. методів,
+38 099 1800601 бухгалтерія, +38 099 1800604 відділ кадрів

Від 09.11.2020 № 11/1487-5
На _____ № _____

Акт про участь Маркіна О. М, Криворучко О. В. у розробці проекту монографії
«Горобини плоди^N»

Маркін О. М. і Криворучко О. В. у складі групи «Лікарська рослинна сировина» під керівництвом начальника відділу ДФУ д.фарм.н., с.н.с. Котова А. Г. та зав. сектора «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» к.фарм.н., с.н.с. Котової Е. Е. брали участь в експериментальних дослідженнях по розробці визначення кількісного вмісту (з використання методу СФ) лікарської рослинної сировини в процесі розробки національної монографії на «Горобини плоди^N» у відповідності до вимог ДФУ та ЄФ.

В результаті був розроблений проект розділу Кількісне визначення (метод СФ) для проекту національної монографії «Горобини плоди^N».

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



О. І. Гризодуб

Додаток Б.3

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



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

61085, м. Харків, вул. Астрономічна, 33.

[http:// www.sphu.org](http://www.sphu.org),

E-mail: phukr@phukr.kharkov.ua

Тел. +38 099 2932583 ФСЗ, +38 050 4056222 ППТ, +38 099 1800602 ЛФА, +38 099 1800603 гр. біол. методів,
+38 099 1800601 бухгалтерія, +38 099 1800604 відділ кадрів

Від 09.11.2020 № 11/1488-5
На _____ № _____

Акт про участь Маркіна О. М., Криворучко О. В. у розробці проекту монографії
«Горобини плоди^Н»

Маркін О. М. і Криворучко О. В. у складі групи «Лікарська рослинна сировина» під керівництвом начальника відділу ДФУ д.фарм.н., с.н.с. Котова А. Г. та зав. сектора «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» к.фарм.н., с.н.с. Котової Е. Е. брали участь в експериментальних дослідженнях по вивченню макроскопічних та мікроскопічних ознак ЛРС в процесі розробки національної монографії на «Горобини плоди^Н» у відповідності до вимог ДФУ та ЄФ.

В результаті був розроблений проект розділу Ідентифікація А та В (макроскопія, мікроскопія) для проекту національної монографії «Горобини плоди^Н»

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



О. І. Гризодуб

Додаток Б.4

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



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

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

Від 09.11.2020 № 19/1489-5
На _____ № _____

Акт про участь Маркіна О. М., Криворучко О. В. у розробці проекту монографії
«Горобини плоди^N»

Маркін О. М. і Криворучко О. В. у складі групи «Лікарська рослинна сировина» під керівництвом начальника відділу ДФУ д.фарм.н., с.н.с. Котова А. Г. та зав. сектора «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» к.фарм.н., с.н.с. Котової Е. Е. брали участь в експериментальних дослідженнях щодо вивчення наступних випробувань: сторонні домішки; втрата в масі при висушуванні; загальна зола; зола, нерозчинна у хлористоводневій кислоті у лікарській рослинній сировині в процесі розробки національної монографії на «Горобини плоди^N» у відповідності до вимог ДФУ та ЄФ.

В результаті був розроблений проект розділу Випробування для проекту національної монографії «Горобини плоди^N».

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



О. І. Гризодуб

Додаток В

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботи

Національного фармацевтичного
університету, професор

Інна ВЛАДИМИРОВА



«21» листопада 2020 р.

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ
(ПРОЕКТ)

Sorbi aucupariae foliorum extractum spissum «Сорбафол»

Горобини звичайної листя екстракт густий «Сорбафол»

Лікарський рослинний засіб у флаконах із темного скла

Термін введення встановлено з

«___» _____ 2020 р.

Продовж. дод. В

3

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Розробники:

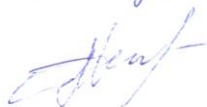
доктор фармацевтичних наук,

професор кафедри фармакогнозії НФаУ



Олена КРИВОРУЧКО

аспірант кафедри фармакогнозії



Олександр МАРКІН

Додаток Г.1

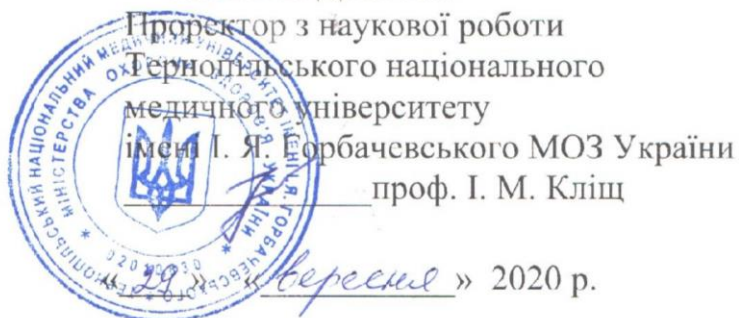


Додаток Г.2



Додаток Д.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати вивчення фенольних сполук горобини звичайної.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, аспірант – Маркін О. М.
3. **Джерела інформації:**
 1. Криворучко О. В. Гідроксикоричні кислоти і флавоноїди горобини звичайної і горобини арії / О. В. Криворучко, О. М. Маркін // Зб. наук. прац. співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика. – К., 2017. – Вип. 28. – 560 с. – С. 67–73.
 2. Дослідження хімічного складу екстрактів листя горобини звичайної та їх впливу на обмін глюкози і видільну функцію нирок у щурів / О. В. Товчига, О. М. Маркін, С. Ю. Штриголь, О. В. Криворучко // Клінічна фармація. – 2020. – Т. 24, № 1. – С. 26–34.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу горобини звичайної.
7. **Строки впровадження:** 2019-2020 навчальний рік.

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

С. М. Марчишин

Додаток Д.3

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи Івано-
Франківського національного
медичного університету
д. мед. н., професор

Вакалюк І.П.

« 15 » 09 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: результати вивчення хімічного складу горобини звичайної та впливу певних груп БАР на фармакологічну активність екстрактів, що одержані з листя горобини звичайної.

2. Установа, автор: Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, аспірант Маркін О. М.

3. Джерела інформації:

1. Криворучко О. В. Гідроксикоричні кислоти і флавоноїди горобини звичайної і горобини арії / О. В. Криворучко, О. М. Маркін // 36. наук. прац. співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика. – К., 2017. – Вип. 28. – 560 с. – С. 67–73.

2. Карбоновые кислоты экстрактов листьев рябины обыкновенной / А. Н. Маркин, Е. В. Криворучко, О. В. Товчига, В. А. Самойлова, А. А. Стремоухов // Вестник фармации. – 2019. – № 2 (84). – С. 34–38.

3. Дослідження хімічного складу екстрактів листя горобини звичайної та їх впливу на обмін глюкози і видільну функцію нирок у щурів / О. В. Товчига, О. М. Маркін, С. Ю. Штриголь, О. В. Криворучко // Клінічна фармація. – 2020. – Т. 24, № 1. – С. 26–34.

4. Де впроваджено: кафедра фармації Івано-Франківського національного медичного університету.

5. Форма впровадження: науково-дослідна робота, навчальний процес, у лекційному курсі.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань аспірантів та студентів з питань хімічного складу та фармакологічної активності горобини звичайної.

7. Строки впровадження: 2019-2020 навчальний рік.

Відповідальний за впровадження:

Зав. кафедрою фармації ІФНМУ,
д.фарм.н, професор



А. Р. Грицик

Додаток Д.4

“ЗАТВЕРДЖУЮ”



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** результати дослідження хімічного складу горобини звичайної та фармакологічної активності субстанції, одержаної із листя цієї рослини.
- 2. Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, аспірант – Маркін О. М.
- 3. Джерела інформації:**
 1. Research in the chemical composition of the bark of *Sorbus aucuparia* / E. Krivoruchko, A. Markin, V. Samoilova, T. Ilina, O. Koshovyi // Ceska a Slovenska Farmacie. – 2018. – Vol. 67 (3). – P. 113–115.
 2. Маркин А. Н. Исследование карбоновых кислот почек и листьев *Sorbus aucuparia* / А. Н. Маркин, Е. В. Криворучко, В. А. Самойлова // Наука и инновация. – 2019. – № 4. – С. 122–125.
 3. Пат. на корисну модель 133831 Україна, МПК (2019.01) А61К 36/00, А61К 36/73 (2006.01), А61Р 3/10 (2006.01). Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної / О. В. Товчига, С. Ю. Штриголь, О. В. Криворучко, О. М. Маркін, О. А. Баля; заявник і патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № u201811026 ; заявл. 08.11.2018 ; опубл. 25.04.2019, Бюл. № 8.
- 4. Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.
- 5. Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу та фармакологічної активності горобини звичайної.
- 7. Строки впровадження:** січень 2019 р. – вересень 2020 р.

Відповідальний за впровадження:

Зав. кафедрою фармакогнозії,
фармакології та ботаніки
Запорізького державного
медичного університету,
д.біол.н, професор

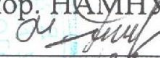
A stylized signature in blue ink, likely belonging to S. D. Trzecieński.

С. Д. Тржецинський

Додаток Д.5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи Львівського національного медичного університету ім. Д. Галицького, член-кор. НАМНУ, д. мед. н., професор

 Гжегоцький М.Р.

« 11 » « 11 » 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати вивчення хімічного складу перспективних сировинних органів горобини звичайної.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, кафедра фармакогнозії, Маркін О. М., Криворучко О.В.
3. **Джерела інформації:**
 1. Криворучко О. В. Гідроксикоричні кислоти і флавоноїди горобини звичайної і горобини арії / О. В. Криворучко, О. М. Маркін // 36. наукових праць співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика. – К., 2017. – Вип. 28. – 560 с. – С. 67–73.
 2. Research in the chemical composition of the bark of *Sorbus aucuparia* / E. Krivoruchko, A. Markin, V. Samoilova, T. Ilina, O. Koshovyi // Ceska a Slovenska Farmacie. – 2018. – Vol. 67 (3). – P. 113–115.
 3. Маркин А. Н. Исследование карбоновых кислот почек и листьев *Sorbus aucuparia* / А. Н. Маркин, Е. В. Криворучко, В. А. Самойлова // Наука и инновация. – 2019. – № 4. – С. 122–125.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес (лекційний курс та практичні заняття), наукові дослідження кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу сировинних органів горобини звичайної в плані отримання на їх основі нових біологічно активних субстанцій.
7. **Термін впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакогнозії і ботаніки, протокол № 3 від 12.10. 2020 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакогнозії і ботаніки
ЛНМУ імені Д. Галицького



доцент Шаповалова Н.В.