

## АНОТАЦІЯ

*Поліщук І. М.* Фітохімічне вивчення малини звичайної та створення на її основі нових лікарських засобів. – 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.

У дисертаційній роботі наведено вирішення наукових завдань щодо фітохімічного вивчення плодів малини звичайної та створення на їх основі нових лікарських засобів.

Виходячи з вимог ДСТУ 7179:2010 «Малина свіжа. Технічні умови», частина плодів не може бути віднесена до першого або другого товарного сорту і придатна тільки для переробки. Розроблено схему переробки плодів малини які не відповідають вимогам ДСТУ. В результаті одержані продукти переробки - сік та вичавки плодів малини.

Досліджуючи динаміку екстракції БАР з вичавок плодів малини етанолом різної концентрації, з'ясовано, що оптимальна кратність спиртової екстракції БАР у процесі одержання екстракту зі вичавок плодів малини становить 2 рази.

У результаті кількісного визначення основних груп фенольних сполук методом спектрофотометрії з'ясовано, що 96 % етанол є оптимальним екстрагентом для одержання лікарських засобів на основі гідроксикоричних кислот, для екстракції інших груп фенольних сполук краще використовувати 70 % розчин етанолу.

У результаті проведеного дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ в екстракті вичавок плодів малини виявлено, що сума ідентифікованих флавонолів становить 8,11 мг/л : рутин – 4,32 мг/л; мірицитин – 0,69 мг/л і його глікозиди – 1,99 мг/л. Флаванолі та їх олігополімери, похідні флавані-3-олів (катехінів) і флавані-3,4 діолів (антоціанів) предствалені катехіном – 5,14 мг/л та його

похідними – 80,42 мг/л. Катехіноподобні речовини належать до поліфенолів, піки яких розташовані поза зоною піків катехінів, вміст яких становить 541,5 мг/л. Із антоціанів встановлені: ціанідин-3-софорозид – 43,7 мг/л; ціанідин-3-глюкозирутинозид – 15,27 мг/л; ціанідин-3-глюкозид – 15,27 мг/л; пеларгодин-3-софорозид – 0,40 мг/л; ціанідин-3-ксилозилрутинозид – 4,7 мг/л; 6 речовин із 23 антоціанів – 95,91 % від загальної маси антоціанів. Загальний вміст флавандіолів і їх похідних становить 0,17 % від сухого залишку досліджуваного екстракту.

Разом виявлено 94 речовини фенольної природи в масі 3929,53 мг/л екстракту.

У результаті проведеного дослідження фенольних сполук сока плодів малини, методом ВЕРХ, виявлено що загальна сума поліфенолів склала 687,82 мг/л. Сума поліфенолів представлена похідними фенілпропаноїдів, дифенілпропаноїдами, а саме мономерами, димерами й олігомерними сполуками у вигляді агліконів і глікозидів. Гідроксикорчні кислоти в нативному стані представлені кофейною кислотою – 7,58 мг/л. Катехіноподобні речовини зі спектральними характеристиками катехінів представлені в кількості 357,08 мг/л, Другими за кількістю є 15 антоціанів з вмістом 174,44 мг п'ять з них були ідентифіковані як: ціанідин-3-софорозид – 55,44 мг/л; ціанідин-3-глюкозилрутинозид – 41,06 мг/л; ціанідин-3-глюкозид – 9,34 мг/л; ціанідин-3-ксилозилрутинозид – 1,76 мг/л; ціанідин-3-рутинозид – 5,43 мг/л. Флаваноїди в соці малини представлені флаванолами – 6,37 мг/л і флаванонами – 21,03 мг/л. Представниками флаванолів, ідентифікованими в соці, є глікозид кверцетину рутин – 2,43 мг/л, а також мірицетин – 0,17 мг/л і його глікозид – 1,60 мг/л. Сума флаванолів похідних кверцетину і мірицетин, виявлених у зразку, склала 6,36 мг/л. Флаванони предствлені геспередином – 1,5 мг/л і гесперитином – 0,15 мг/л; загальна кількість флаванонів – 21,03 мг/л; загальна сума флаваноїдів становить 148,68 мг/л.

Вміст полімерних фенольних сполук гідролізованого ряду у соці був незначний – майже 80 % склав ціанідин-3-О-софорозид, інші сполуки знаходились у мінорній кількості. Також слід відзначити появу ціанідин-3-О-рутинозиду, який не ідентифіковано в екстракті вичавок.

В соці виявлено 76 речовини фенольної природи в масі 687,82 мг/л.

Використовуючи метод ВЕРХ з спектрофотометричним детектором в УФ спектрі у екстракті було виявлено 4 сапоніни, вміст яких становив 46,41 мг/л (0,084 %), три з них ідентифіковані як еускапова кислота – 15 мг/л (0,03 %) та торментилова кислота – 9,43 мг/л (0,017 %), які належать до групи урсану похідних  $\alpha$ -амірину, та лупеол – 17 мг/л (0,031 %), який також належить до пентациклічних тритерпенових сапонінів групи лупану.

За проведенням аналізом даних дослідження соку плодів малини методом ВЕРХ та його гідролізату виявлено п'ять сапонінів у мінорній кількості

В результаті дослідження карбонових кислот, методом ГХ-МС, соку плодів малини було ідентифіковано 35 органічних кислот, що становить 6,82 %. Вісім кислот належать до фенолкарбонових; до похідних бензойної кислоти належать шість речовин, до похідних фенілоцтової – одна, до фенілпропанової кислоти – одна, їх сума у соці становить 0,34 %. Дикарбонові кислоти представлені сімома речовинами, їх сума становить 0,8 %. Фенолкарбонові кислоти, які визначаються методом газорідинної хроматографії, складають 4,13 % від сухого залишку соку і 5,08 % від суми органічних кислот; вони представлені бензойною кислотою – 3,88 %, фенілоцтовою кислотою – 0,19 %, саліциловою кислотою – 0,16 %, ваніліною кислотою – 0,08 %, *p*-оксибензойною кислотою – 0,42 %, бузковою кислотою – 0,07 %, гентизиною кислотою – 0,06 %, феруловою – 0,22 % від суми всіх органічних кислот.

Похідні бензойної кислоти, як бензойна, *n*-оксибензойна, саліцилова, ванілінова, гентизинова, бузкова, мають антимікробну і протигрибкову дію, їх загальна концентрація дорівнює 4,67 % від суми кислот, що становить 0,32 % у

соку. Така концентрація є робочою для бензойної кислоти та її похідних. А сама бензойна кислота становить 76 % від усіх фенолокислот. Вміст саліцилової кислоти становить 3,15 %, її ізомер *n*-оксибензойна – 8,27 % від суми похідних бензойної кислоти. Фенілоцтова кислота знаходиться в концентрації 3,74 % (від суми фенолокислот).

Дикарбонові кислоти, складають 9,51 % від сухого залишку й 11,70 % від суми органічних кислот. Вони представлені щавлевою – 0,59 %, малоною – 1,01 %, фумаровою – 0,39 %, бурштиною – 2,67 %, 2-окси-3-метилглутаровою – 0,31 %, яблучною – 6,48 %, азелаїною – 0,26 % кислотами. Три дикарбонові кислоти (яблучна – 55,38 %, бурштинова – 22,65 %, малонова – 8,69 %) у сумі дають 86,6 % від усіх фруктових кислот.

Сума трикарбонних кислот – 3,23 % у екстракті і 47,32 % від суми органічних кислот. Вони представлені сумою органічних кислот, а саме лимонної – 45,67 % та ізолімонної – 1,65 % від суми кислот.

Жирні кислоти мають 18 представників, 2,45 % від сухого залишку і 35,90 % від суми органічних кислот. Вони представлені граничними і не граничними жирними кислотами. До монокарбонних аліфатичних і кетокислот належать левулінова – 26,57 % від сухого залишку або 32,69 % від суми органічних кислот, що становить 91,05 % від усіх жирних кислот.

В результаті дослідження карбонних кислот, екстракту вичавок плодів малини Ідентифіковано 38 індивідуальних речовин. Вісім речовин належать до фенолокислот, вміст яких у спиртовому екстракті вичавок плодів становить 0,34 %, це похідні бензойної, фенілоцтової і фенілпропаноїдної кислот. Мажорними сполуками серед них є бензойна кислота – 0,25 %, що становить 76,26 % від суми фенолокислот.

Дикарбонних кислот було ідентифіковано сім. Їх вміст становить менше 0,70 % в екстракті, явними лідерами серед них є яблучна – 0,36 % і бурштинова – 0,25 %, а загальна сума становить 87,94 % від дикарбонних кислот.

У трикарбонних кислотах переважають лимонна та ізіолмонна кислоты із вмістом 2,83 %, що становить 94,33 %.

В екстракті вичавок малини було встановлено 18 жирних кислот, які представлені граничними і неграничними жирними кислотами. Основними сполуками серед них є кетокислота левулінова – 2,43 % (або 88,36 % від усіх жирних кислот).

В результаті дослідження карбонних кислот соку, можна зробити висновок, що трикарбонні і жирні кислоты є переважними (3,23 і 2,45 % відповідно), що становить 93 % від суми всіх органічних кислот.

В екстракті плодів малини методом ВЕРХ визначені 22 амінокислоти в кількості 164,1 мг на 100 г (або 1,9 % від сухого залишку). 46,07 % від загальної суми амінокислот складають три амінокислоти: аспарагінова – 23,1 мг/100 г (або 14,07 %); аланін – 25,5 мг/100 г (або 15,54 %); цистеїн – 27,0 мг/100 г (або 16,45 %).

В соці малини методом ВЕРХ визначені 22 амінокислоти. Серед амінокислот соку малини 78,8 % амінокислот знаходяться у вільному вигляді, на відміну від екстракту, а 4-гідроксипролін у вільному вигляді відсутній. Домінантними сполуками є аланін, глутамінова та аспарагінова кислоты.

Таким чином, ідентифіковано якісно і кількісно 83 біологічно активних речовини, що належать до фенольних, тритерпенових сполук, ди-, трикарбонних жирних кислот і амінокислот, 72 із них раніше не були виявлені в плодах малини звичайної.

Глікозиди мірицетину, лютеоліну, апегініну, мірицетин, гесперидин, гесперетин, ціанідин-3-ксилозілрутинозид, сангуїн Н-10 ізомер 1, сангуїн Н-10 ізомер 2, ламбертин С без елагового фрагмента, ізо-ламбертин С, ламбертин С, капронова, щавлева, малінова, фумарова, левулінова, бурштинова, бензойна, фенілоцтова, 2-окси-3-метилглутарова, яблучна, азелаїнова, пальметинова, ізіолмонна, 2-оксипальметинова, хенейкозанова, бегінова, трикозанова, бузкова,

тетракозанова, гамма-аміномасляна, еускапова, торментинова кислоти, 4-гідроксипролін, аспарагін, глютамін, цистин, 2-етаноламін, лупіол ідентифіковано вперше для усіх вегетативних та генеративних органів малини звичайної.

Фармакологічними дослідженнями уперше виявили, що сік плодів малини звичайної є носієм імунологічної дії, впливаючи на лімфоцити і диференціюючи їх на лімфобласти. що свідчить про високу імуномодулювальну активність соку малини, а отже – про доцільність комплексної переробки ЛРС для отримання засобів різної фармакологічної активності. Уперше визначено що Екстракт малини інактивує аденовірус 5 типу та вірус грипу А(Н1N1)pdm. Уперше визначено, що екстракт вичавок плодів малини звичайної чинить антимікробну дію як на музейні штами АТСС так і клінічні штами бактерій. Уперше встановлено, що екстракт вичавок плодів малини звичайної характеризується протигрибковою дією.

Розроблено проект МКЯ на екстракт та згідно з його вимогами проведено дослідження 3 серій екстрактів. Проекти МКЯ на рідкий екстракт з вичавок плодів малини розроблено за такими показниками: опис, розчинність, ідентифікація: якісна реакція на фенольні сполуки та метод тонкошарової хроматографії левулінова кислота, сухий залишок (не менше – 8 %), вміст етанолу (не менше 90%) , важкі метали (не більше – 100 ppm), мікробіологічна чистота, вміст органічних кислот (не менше 6%) суми фенольних (не менше 3 %). Усі екстракти відповідали вимогам розробленої документації.

На основі екстракту отримано спрей. Одержаний засіб володіє антибактеріальною, протигрибковою та вірулоцидною дією. На одержаний спрей розроблено проект МКЯ та згідно з його вимогами проведено дослідження 3 серій засобу. Усі серії відповідали вимогам розробленої документації.

На основі соку малини розроблено Розчин для внутрішнього вживання з імуномодулюючею дією. На одержаний розчин розроблено проект МКЯ та згідно

з його вимогами проведено дослідження 3 серій засобу. Усі серії відповідали вимогам розробленої документації.

Розроблені проекти МКЯ на екстракт, спрей та розчин оральний відновлюються в умовах ТОВ «УКРДЕЗ» про що свідчать акти впровадження.

*Ключові слова:* малина звичайна, плоди, сік, вичавки, рідкий екстракт, фітохімічне вивчення, біологічно активні речовини, фармакологічна активність.

*Список публікацій здобувача*

1. Polischuk I., Koshovyi O., Osolodchenko T., Komissarenko M. The study of phenolic compounds and the antimicrobial action of the alcoholic extract from the cake of the red raspberry fruit . *Visnik farmacii*. 2018. № 3 (95). P. 30–33. (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті).

2. Polischuk I. M., Komisarenko M. A., Golik M. Yu., Upyr T. V. The study of saponins of the raspberry cake alcoholic extract by HPLC. *Visnik farmacii*. 2018. № 4 (95). P. 24–27. (*Особистий внесок* – брав участь в обробці, узагальненні результатів та підготовці статті).

3. Study of Rubus Idaeus Juice Ellagitannins and Its Antimicrobial Activity / I. Polischuk, M. Komisarenko, T. Upyr, A. Kovaleva, A. Komisarenko. *International Journal of Pharmacy and Chemistry*. 2019. Vol. 5, № 6. P. 68–71. (*Особистий внесок* – брав участь в обробці, узагальненні результатів та підготовці статті).

4. Изучение фенольных соединений экстракта жмыха малины обыкновенной методом ВЭЖХ / Полищук И. Н., Комисаренко Н. А., Комиссаренко А. Н., Упыр Т.В., Ильина Т. В. *Наука и инновация*. 2020. № 1. С. 67-71. (*Особистий внесок* – брав участь в обробці, узагальненні результатів та підготовці статті).

5. Поліщук І.М.; Комісаренко М. А.; Комісаренко А. М.; Ленчик Л.В.; Упир Т.В.; Кошовий О.М.,Ковальова А.М.; Осолодченко Т.П.; Ільїна Т.В.; Пономаренко С.В. Патент на корисну модель: Спосіб одержання засобу

імуномодулюючої дії з плодів малини звичайної: пат. 145703 України. № u 2020 05174 заявл. 11.08.2020 опубл. 28.12.2020 Бюл. № 24. 4 с. (*Особистий внесок – брав участь в патентному пошуку, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту*).

6. Перспективи створення нового антимікробного засобу зі жмиху плодів малини звичайної / Поліщук І.М., Комісаренко М.А, Ковальова А.М., Голік М.Ю. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27-28 верес. 2018 р. Тернопіль : ТДМУ, 2018. С. 34–35.

7. Перспектива створення противугривого засобу на основі водного екстракту плодів малини / Поліщук І.М., Комісаренко М.А., Ільїна Т.В., Ковальова А.М. *Сучасні методи корекції вузрової хвороби та інших проблем шкіри у практиці косметолога* : зб. наук.-пр. Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 19 жовт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018 С. 149–150.

8. Дослідження антибактеріальної та протигрибкової дії екстракту «РУБІБАКТ» / Поліщук І.М., Ільїна Т.В., Комісаренко М.А., Голік М.Ю. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали III міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26-28 листоп. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 174.

9. Polischuk I. M., Koshovyi O. M., Komisarenko M. A., Uryg T. V. Investigation of saponins of raspberry fruit cake alcohol extract by the HPLC method. *The 9th International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy*, Kaunas, 9 November 2018. Kaunas : LSMU, 2018. P. 25.

10. Kolisnyk O. V., Polischuk I. M., Ilyina T. V., Komissarenko A. M., Kolisnyk Iu. S. The study of the antibacterial and antifungal activity of “Malibact” extract. *The 9th International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy*



*Practice, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy*, Kaunas, 9 November 2018. Kaunas : LSMU, 2018. P. 98.

11. Поліщук І. М., Комісаренко М. А. Дослідження біологічно активних речовин плодів *Rubus Idaeus* // Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 14-15 берез. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 2. С. 211.

12. Изучение органических кислот экстракта жмыха малины обыкновенной методом ГХ-МС / Полищук И. Н., Комиссаренко А. Н., Ильина Т. В., Комиссаренко Н. А. *Ліки - людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали IV Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 12-13 берез. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. Т. 1. С. 415–419.