

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Поліщук Іван Миколайович

УДК 615.451.1:582.635.5:543.632.233

ДИСЕРТАЦІЯ

Фітохімічне вивчення малини звичайної та створення на її основі нових лікарських засобів

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

_____ І. М. Поліщук

Науковий керівник Комісаренко Андрій Миколайович, доктор фармацевтичних наук, професор

Харків – 2020

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.

За вимогами ДСТУ 7179:2010 «Малина свіжа. Технічні умови», частина плодів не може бути віднесена до першого або другого товарного сорту і придатна тільки для переробки. Тому було розроблено схему переробки плодів малини, які не відповідають вимогам ДСТУ, у результаті чого одержані продукти переробки – сік та вичавки плодів малини.

Дослідженням динаміки екстракції БАР із вичавок плодів малини етанолом різної концентрації з'ясовано, що оптимальна кратність дорівнює 2.

За допосогою 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. Флаваноли та їх олігополімери, похідні флавани-3-олів (катехінів) і флавани-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 установлені: 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 та 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 соку плодів малини методом ВЕРХ виявлено, що загальна сума поліфенолів становить 687,82 мг/л і 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 із 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, мірицетин – 0,17 мг/л і його глікозид – 1,60 мг/л. Сума флаванолів похідних кверцетину і мірицетину, 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 – 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 наявність ціанідин-3-О-рутинозиду, якого немає в екстракті вичавок.

У соці виявлено 76 речовин фенольної природи в кількості 687,82 мг/л.

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

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

У 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 – 3,88 %, фенілоцтовою – 0,19 %, саліциловою – 0,16 %, ваніліною – 0,08 %, *p*-оксибензойною – 0,42 %, бузковою – 0,07 %, гентизиновою – 0,06 %, феруловою – 0,22 % кислотами від суми всіх органічних кислот.

Такі похідні бензойної кислоти, як *n*-оксибензойна, саліцилова, ванілінова, гентизинова, бузкова, мають антимікробну і протигрибкову дію, їх загальна концентрація становить 4,67 % від суми кислот, зокрема 0,32 % у соці. Така концентрація є робочою для бензойної кислоти та її похідних. А сама бензойна кислота становить 76 % від усіх фенолокіслот. Вміст саліцилової кислоти становить 3,15 %, її ізомеру *n*-оксибензойної – 8,27 % від суми похідних бензойної кислоти. Фенілоцтова кислота знаходиться в концентрації 3,74 % (від суми фенолокіслот).

Дикарбонові кислоти складають 9,51 % від сухого залишку й 11,70 % від суми органічних кислот. Вони представлені шавлевою – 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 %, маленова – 8,69 %) у сумі дають 86,6 % від усіх фруктових кислот.

Сума трикарбонних кислот – 3,23 % в екстракті і 47,32 % від суми органічних кислот. Вони представлені лимонною – 45,67 % та ізо-лимонною – 1,65 % від суми кислот.

Жирні кислоти мають 18 представників – 2,45 % від сухого залишку і 35,90 % від суми органічних кислот. До них належать граничні і неграничні жирні кислоти. 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.

У 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 ізо-лимонна кислоти із вмістом 2,83 %, що становить 94,33 % від суми всіх кислот.

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).

За результатами дослідження карбонових кислот соку можна зробити висновок, що трикарбовоні і жирні кислоти 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/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 %).

У соці малини методом ВЕРХ визначені 22 амінокислоти, з них 78,8 % знаходяться у вільному вигляді, на відміну від екстракту, а 4-гідроксипролін у вільному вигляді відсутній. Домінантними сполуками є аланін, глютамінова та аспарагінова кислоти.

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

Глікозиди мірицетину, лютеоліну, апегініну, мірицетин, гесперидин, гесперетин, ціанідин-3-ксилозилрутинозид, сангуїн Н-10 ізомер 1, сангуїн Н-10 ізомер 2, ламбертин С без елагового фрагмента, ізо-ламбертин С, ламбертин С, капронова, щавлева, маленова, фумарова, левулінова, бурштинова, бензойна, фенілоцтова, 2-окси-3-метилглютарова, яблучна, азелаїнова, пальметинова, ізо-лимонна, 2-оксипальметинова, хенейкозанова, бегенова, трикозанова, бузкова, тетракозанова, гамма-аміномасляна, еускапова, торментинова кислоти, 4-гідроксипролін, аспарагін, глютамін, цистин, 2-етаноламін, лупіол ідентифіковані вперше для усіх вегетативних та генеративних органів малини звичайної.

Фармакологічними дослідженнями уперше було виявлено, що сік плодів малини звичайної виявляє імунологічну дію, впливаючи на лімфоцити і диференціюючи їх на лімфобласти, що свідчить про його високу імуномодулювальну активність, а отже, про доцільність комплексної переробки ЛРС для отримання

засобів різної фармакологічної активності. Уперше встановлено, що екстракт малини інактивує аденовірус 5 типу та вірус грипу A(H1N1)pdm, екстракт вичавок плодів малини звичайної чинить антимікробну дію як на музейні штами АТСС, так і на клінічні штами бактерій. Також уперше встановлено, що екстракт вичавок плодів малини звичайної характеризується протигрибковою дією.

Розроблено проєкт МКЯ на екстракт і згідно з його вимогами проведено дослідження трьох серій екстрактів. Проєкти МКЯ на рідкий екстракт з вичавок плодів малини розроблено за такими показниками: опис, розчинність, ідентифікація: якісна реакція на фенольні сполуки та метод тонкошарової хроматографії левулінової кислоти, сухого залишку (не менше – 8 %), вміст етанолу (не менше 90%), важких металів (не більше – 100 ppm), а також мікробіологічна чистота, вміст органічних кислот (не менше 6%), суми фенольних сполук (не менше 3 %). Усі екстракти відповідали вимогам розробленої документації.

На основі екстракту отримано спрей, який володіє антибактеріальною, протигрибковою та вірулоцидною дією. На нього розроблено проєкт МКЯ і згідно з його вимогами проведено дослідження трьох серій засобу. Усі серії відповідали вимогам розробленої документації.

На основі соку малини розроблено розчин для внутрішнього вживання з імуномодулювальною дією. На нього розроблено проєкт МКЯ і згідно з його вимогами проведено дослідження трьох серій засобу. Усі серії відповідали вимогам розробленої документації.

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

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 farmaciï*. 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 farmaciï*. 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 / И. Н. Полищук, Н. А. Комисаренко, А. Н. Комиссаренко, Т. В. Упырь, Т. В. Ильина *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 у патентному пошуку, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту).

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

7. Перспектива створення противугрового засобу на основі водного екстракту плодів малини / І. М. Поліщук, М. А. Комісаренко, Т. В. Ільїна,

А. М. Ковальова *Сучасні методи корекції вугрової хвороби та інших проблем шкіри у практиці косметолога* : збірник 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» / І. М. Поліщук, Т. В. Ільїна, М. А. Комісаренко, М. Ю. Голік. *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., Upyr 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 / И. Н. Полищук, А. Н. Комиссаренко, Т. В. Ильина, Н. А. Комиссаренко. *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.

ANNOTATION

Polischuk I. M. Phytochemical study of raspberries and the creation of new drugs based on it . - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

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

In the dissertation work, solutions of scientific problems on the phytochemical study of the raspberries fruits and the creation of new medicines on their basis are given.

Based on the requirements of DSTU 7179: 2010 "Fresh raspberries. Technical conditions ", part of the fruit can not be classified as the first or second commodity grade and is suitable only for processing. For raspberries that do not meet the requirements of DSTU scheme for processing has been developed. As a result, the products of processing are obtained - juice and raspberry pomace.

Exploring the dynamics of the extraction of BAS (biologically active substances) from raspberry pomace with ethanol of different concentrations, it was found that the optimal multiplicity of alcohol extraction of BAS in the process of obtaining extract from raspberry pomace is 2 times.

Quantitative determination of the main groups of phenolic compounds by spectrophotometry showed that 96% ethanol is the optimal extractant for the preparation of drugs based on hydroxycinnamic acids, for the extraction of other groups of phenolic compounds it is better to use 70% ethanol solution.

As a result of the study of phenolic compounds by HPLC in the extract of raspberry fruit pomace , it was found that the amount of identified flavonols was 8.11 mg / l : rutin - 4.32 mg / l; myricitin - 0 , 69 mg / l and its glycosides - 1,99 mg / l . Flavonols and their oligopolymers, derivatives of flavan-3-ol (catechins) and flavan-3,4 diols (anthocyanins) were represented by catechin - 5.14 mg / l and its derivatives - 80.42 mg / l. Catechin-like substances belong to polyphenols, the peaks of which are located be-

yond the peak zone of catechins, the content of which was 541.5 mg / l. Of the anthocyanins were found: cyanidin-3-sophoroside - 43.7 mg / l; cyanidin-3-glucosurutinoside - 15.27 mg / l; pelargonidin-3-sophoroside - 0.40 mg / l; cyanidin-3-xylosylrutinoside - 4.7 mg / l. 6 substances out of 23 anthocyanins had 95.91% of the total weight of anthocyanins. The total content of flavandiols and their derivatives was 0.17% of the dry residue of the studied extract. Together, 94 substances of phenolic nature were identified, which amounted to 3929.53 mg / l of the extract.

As a result of the study of phenolic compounds of raspberry juice, by HPLC, it was found that the total amount of polyphenols was 687.82 mg / l. The amount of polyphenols was represented by phenylpropanoid derivatives and diphenylpropanoids, namely monomers, dimers and oligomeric compounds in the form of aglycones and glycosides. Hydroxycinnamic acids in the native state were represented by caffeic acid - 7.58 mg / l. Catechin-like substances with spectral characteristics of catechins were presented in the amount of 357.08 mg / l. The second largest were 15 anthocyanins with a content of 174.44 mg, five of them were identified as: cyanidin-3-sophoroside - 55.44 mg / l; cyanidin-3-glucosyl rutinoside - 41.06 mg / l; cyanidin-3-glucoside - 9.34 mg / l; cyanidin-3-xylosylrutinoside - 1.76 mg / l; cyanidin-3-rutinoside - 5.43 mg / l. Flavonoids in raspberry juice were represented by flavanols - 6.37 mg / l and flavanones - 21.03 mg / l.

Representatives of flavonols identified in the juice were the glycoside of quercetin rutin - 2.43 mg / l, as well as myricetin - 0.17 mg / l and its glycoside - 1.60 mg / l. The sum of flavonols derivatives of quercetin and myricetin detected in the sample was 6.36 mg / l. Flavanones were represented by hesperidin - 1.5 mg / l and hesperitin - 0.15 mg / l; the total amount of flavanones was 21.03 mg / l; the total amount of flavonoids was 148.68 mg / l.

The content of polymeric phenolic compounds of the hydrolyzed series in the juice was insignificant and cyanidin-3-O-sophoroside had almost 80%, other compounds were in minor amounts. It should also be noted the presence of cyanidin-3-O-rutinoside, which was not identified in the extract of the raspberry pomace.

76 substances of phenolic nature were found in the juice, which was 687.82 mg/l.

In the extract 4 saponins were detected by HPLC with a spectrophotometric detector in the UV spectrum, the content of determined saponins was 46.41 mg / l (0.084%). Three saponins were identified as euscaptic acid - 15 mg / l (0.03%) and tormentyl acid - 9.43 mg / l (0.017%), which belong to the group of ursan derivatives of α -amyrin, and lupeol - 17 mg / l (0.031%), which also belongs to the pentacyclic triterpene saponins of the lupan group.

According to the results of HPLC study of raspberry juice and its hydrolyzate, five saponins in a minor amount were also found.

As a result of the GC-MS study of raspberry juice, 35 organic acids were identified, which was 6.82%. Among them, eight acids belong to phenolic acids; six substances belong to derivatives of benzoic acid, to derivatives of phenylacetic - one, to phenylpropanoic acid - one, their sum in juice made 0,34%. Dicarboxylic acids were represented by seven substances, their sum was 0.8%. The amount of phenolic carboxylic acids determined by gas-liquid chromatography was 4.13% of the dry juice residue and 5.08% of the sum of organic acids; they were represented by benzoic acid - 3.88%, phenylacetic acid - 0.19%, salicylic acid - 0.16%, vanillic acid - 0.08%, *p*-oxybenzoic acid - 0.42%, syringic acid - 0.07 %, gentisic acid - 0.06%, ferulic - 0.22% of the sum of all organic acids. Derivatives of benzoic acid, such as benzoic, *p*-oxybenzoic, salicylic, vanillic, gentisic, syringic, have antimicrobial and antifungal action, their total concentration was 4.67% of the sum of acids, which was 0.32% in the juice. This concentration is working for benzoic acid and its derivatives. And content of benzoic acid itself, become 76% of all phenolic acids. The content of salicylic acid was 3.15%, its isomer of *p*-oxybenzoic acid was 8.27% of the sum of benzoic acid

derivatives. Phenylacetic acid was in a concentration of 3.74% (of the sum of phenolic acids).

Dicarboxylic acids made up 9.51% of the dry residue and 11.70% of the amount of organic acids. They were represented by oxalic - 0.59%, malonic - 1.01%, fumaric - 0.39%, succinic - 2.67%, 2-oxy-3-methylglutaric - 0.31%, malic - 6.48%, azelaic - 0.26% acids. Three dicarboxylic acids (malic - 55.38%, succinic - 22.65%, malonic - 8.69%) in total gave 86.6% of all fruit acids. Total amount of tricarboxylic acids was 3.23% in the extract, that was 47.32% of the sum of organic acids. Tricarboxylic acids were represented by the sum of citric - 45.67% and iso-citric - 1.65% of the sum of acids.

18 fatty acids were identified, their content was 2.45% of the dry residue and 35.90% of the sum of organic acids. They are represented by saturated and unsaturated fatty acids. Monocarboxylic aliphatic and keto acids include levulinic. Its content was 26.57% of the dry residue or 32.69% of the amount of organic acids, which was 91.05% of all fatty acids. As a result of the study of carboxylic acids of raspberry fruit extract, 38 individual substances were identified. Eight substances belonged to phenolic acids, the content of which in the alcoholic extract of raspberry pomace was 0.34%, they were derivatives of benzoic, phenylacetic and phenylpropanoic acids. Major compounds among them were benzoic acid - 0.25%, which was 76.26% of the sum of phenolic acids.

Seven dicarboxylic acids were identified. Their content was less than 0.70% in the extract, the leaders among them were malic - 0.36% and succinic - 0.25%, and the total amount was 87.94% of the amount of dicarboxylic acids.

Of the tricarboxylic acids, citric and iso-citric acids predominated with a content of 2.83%, which is 94.33%.

It was found 18 fatty acids in the extract of raspberry pomace, which were represented by saturated and non-saturated fatty acids. The main compounds among them were levulinic keto acid - 2.43% (or 88.36% of all fatty acids).

As a result of the study of carboxylic acids of the juice, it was found that tricarboxylic and fatty acids were dominated (3.23 and 2.45%, respectively), which was 93% of the sum of all organic acids.

It was identified 22 amino acids in the amount of 164.1 mg / 100 g (or 1.9% of the dry residue) by HPLC in the extract of raspberry fruit. Three amino acids accounted for 46.07% of the total amino acids: aspartic - 23.1 mg / 100 g (or 14.07%); alanine - 25.5 mg / 100 g (or 15.54%); cysteine - 27.0 mg / 100 g (or 16.45%).

22 amino acids were detected in raspberry juice by HPLC. Among the amino acids of raspberry juice, 78.8% were in free form, in contrast to the extract, and 4-hydroxyproline was absent in free form. The dominant compounds were alanine, glutamic and aspartic acids.

83 biologically active substances belonging to phenolic, triterpene compounds, di-, tricarboxylic fatty acids and amino acids were identified qualitatively and quantitatively in raspberry fruits. 72 of them were not previously found in raspberry fruits.

Glycosides of myricetin, luteolin, aeginin, myricetin, hesperidin, hesperetin, cyanidin-3-xylosylrutinoside, sanguine H-10 isomer 1, sanguine H-10 isomer 2, lambertin C without ellagic fragment, iso-lambertin C, malonic, fumaric, levulinic, succinic, benzoic, phenylacetic, 2-oxy-3-methylglutaric, malic, azelaic, palmetic, iso-citric, 2-oxy-palmethine, heneicosan, behenic, tricosylic, syringic, tetracosylic, gamma-aminobutyric, euscopic, tormentinic acids, 4-hydroxyproline, asparagine, glutamine, cystine, 2-ethanolamine, lupiol were identified for the first time for all vegetative and generative organs of raspberries.

Pharmacological studies have shown for the first time that the juice of raspberries is a carrier of immunological action, affecting lymphocytes and differentiating them into lymphoblasts, which indicates high immunomodulatory activity of raspberry juice, and therefore - the feasibility of complex processing of medicinal plant material to obtain different pharmacological activity. It was first determined that raspberry extract

inactivates type 5 adenovirus and influenza A (H1N1) pdm virus. It was first determined that the extract of raspberry fruit pomace has an antimicrobial effect on both museum strains of ATCC and clinical strains of bacteria. It was first established that the extract of raspberry fruit pomace was characterized by antifungal action.

The project of MQC (Methods of quality control) on an extract was developed and research of 3 series of extracts was carried out according to its requirements. MQC project for liquid extract of raspberry fruit pomace were developed according to the following indicators: description, solubility, identification: qualitative reaction on phenolic compounds and thin layer chromatography method levulinic acid, dry residue (not less than 8%), ethanol content (not less than 90%) , heavy metals (not more than - 100 ppm), microbiological purity, content of organic acids (not less than 6%) the sum of phenolic (not less than 3%). All extracts met the requirements of the developed documentation.

A spray was obtained on the basis of the extract. The resulting remedies had antibacterial, antifungal and virucidal action. The MQC project was developed for the received spray and according to its requirements research of 3 series of spray was carried out. All series met the requirements of the developed documentation.

A solution for internal use with immunomodulatory action was developed on the basis of raspberry juice. The project of MQC was developed for the received solution and according to its requirements research of 3 series of remedies was carried out. All series met the requirements of the developed documentation.

The developed MQC projects for extract, spray and oral solution were tested in the conditions of UKRDEZ LLC, as evidenced by the implementation acts.

Key words: raspberry , fruit , juice, pomace , liquid extract , phytochemical study, biologically active substances , pharmacological activity .

ЗМІСТ

| | |
|---|----|
| Перелік умовних позначень | 19 |
| Вступ | 21 |
| Розділ 1. Малина звичайна (<i>Rubus idaeus</i>) як джерело одержання біологічно активних речовин та лікарських препаратів. Огляд літератури | 26 |
| 1.1 Ботанічна характеристика Малини звичайної (<i>Rubus idaeus</i>). Короткий опис найбільш відомих видів малини | 26 |
| 1.2 Географічне поширення малини..... | 30 |
| 1.3 Збір і заготівля лікарської сировини малини звичайної..... | 31 |
| 1.4 Застосування малини в офіційній та народній медицині | 32 |
| 1.5 Хімічний склад малини звичайної..... | 61 |
| 1.6 Напрямок розвитку культивування малини у світі | 70 |
| Висновки до розділу | 71 |
| Розділ 2. Відомості про об'єкти, прилади, матеріали, методики і реактиви | 72 |
| 2.1 Визначення сухого залишку | 73 |
| 2.2 Визначення кількісного вмісту похідних гідроксикоричних кислот | 74 |
| 2.3 Визначення кількісного вмісту суми фенольних сполук спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту..... | 75 |
| 2.4 Визначення кількісного вмісту антоціанів спектрофотометричним методом у перерахунку на ціанідин-3,5-диглікозид..... | 76 |
| 2.5 Дослідження на мікробіологічну чистоту | 77 |
| 2.6 Дослідження на антибактеріальну активність | 80 |
| 2.7 Дослідження на противірусну активність | 81 |
| 2.8 Методика аналізу складу і вмісту поліфенолів у зразках екстрактів малини..... | 84 |

| | |
|---|-----|
| 2.9 Дослідження сапонінів спиртового екстракту з вичавок плодів малини звичайної методом ВЕРХ..... | 91 |
| 2.10 Дослідження складу органічних кислот..... | 109 |
| 2.11 Вивчення імуномодулювальної дії..... | 111 |
| Розділ 3. Фітохімічне та фармакологічне дослідження екстрактів та соку із плодів малини звичайної..... | |
| 3.1 Попередні дослідження екстрактів із плодів малини..... | 112 |
| 3.1.1 Відповідність плодів вимогам нормативної документації..... | 112 |
| 3.1.2 Дослідження динаміки екстракції біологічно активних речовин сухих вичавок плодів малини..... | 115 |
| 3.1.3 Попередні дослідження якісного складу плодів малини..... | 117 |
| 3.1.4 Кількісне визначення фенольних сполук спектрофотометричним методом..... | 119 |
| 3.1.5 Фармакологічний скринінг антимікробної дії отриманих субстанцій..... | 120 |
| 3.2 Фітохімічне дослідження фітосубстанцій із плодів малини звичайної..... | 124 |
| 3.2.1 Дослідження фенольного складу соку та рідкого екстракту вичавок плодів малини (метод ВЕРХ)..... | 125 |
| 3.2.2 Дослідження тритерпеноїдів соку та рідкого екстракту вичавок плодів малини (метод ВЕРХ)..... | 141 |
| 3.2.3 Дослідження карбонових кислот соку та рідкого екстракту вичавок плодів малини (метод ГХ-МС)..... | 144 |
| 3.2.4 Дослідження амінокислот соку та рідкого екстракту вичавок плодів малини (метод ВЕРХ)..... | 150 |
| 3.2.5 Дослідження фенольного складу гідролізованого ряду соку та рідкого екстракту вичавок плодів малини (метод ВЕРХ)..... | 155 |

| | |
|---|-----|
| 3.3 Фармакологічне дослідження фітосубстанцій із плодів малини звичайної..... | 159 |
| 3.3.1 Дослідження чутливості клінічних штамів до одержаних екстрактів | 160 |
| 3.3.2 Дослідження імуномодулювальної властивості соку малини | 161 |
| 3.3.3 Дослідження противірусної дії екстракту вичавок плодів малини | 163 |
| Висновки до розділу 3 | 168 |
| Розділ 4. Стандартизація продуктів переробки плодів малини звичайної та лікарських засобів на їх основі..... | 171 |
| 4.1 Обґрунтування й особливості технологічних аспектів розробки препарату на основі плодів малини звичайної | 171 |
| 4.2 Стандартизація рідкого екстракту вичавок плодів малини | 173 |
| 4.3 Стандартизація спрею на основі рідкого екстракту вичавок плодів малини..... | 182 |
| 4.4 Стандартизація соку плодів малини..... | 190 |
| Висновки до розділу 4..... | 198 |
| Загальні висновки..... | 201 |
| Список використаних джерел..... | 203 |
| Додатки | 231 |

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АМН – Академія медичних наук
АФК – активні форми кисню
БАР – біологічно активні речовини
ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія
ГРВІ – гостра респіраторна вірусна інфекція
ГФ – Государственная фармакопея ССРСР
ДСЗ – державний стандартний зразок
ДФУ – Державна фармакопея України
ЄФ – Європейська фармакопея
ІР – інсулінорезистентність
ЛЗ – лікарський засіб
ЛР – лікарська рослина
ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності
ЛРС – лікарська рослинна сировина
МКЯ – методики контролю якості
МОЗ – Міністерство охорони здоров'я
НАДФ – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат
НД – нормативна документація
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
ПХ – паперова хроматографія
ССЗ – серцево-судинні захворювання
РСВІ – респіраторно-синцитіальна вірусна інфекція
РБТЛ – реакція бластної трансформації лімфоцитів
РСЗ – рідкий стандартний зразок
СФ – спектрофотометрія

ТУ – технічні умови

ТШХ – тонкошарова хроматографія

УФ–спектр – ультрафіолетовий спектр

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок

ЦД 2 – цукровий діабет 2-го типу

ВСТУП

Обґрунтування теми дослідження

Головною метою вітчизняної медицини і фармації є створення ефективних лікарських засобів, технологій із достатньою сировинною базою для їх отримання.

Особливу увагу дослідників привертає стандартизована сировина плодово-ягідних культур родини розових. Плоди малини звичайної в Україні вирощують у кількості 31920 тонн на рік, що в перерахунку на людину складає 0,735 кг. З усього обсягу плодів 80 % придатні тільки для соку і заморожування і лише 20 % десертні. Виробництво малини в країнах Європи збільшується на 8 % на рік. Ягоди малини не містять отруйних речовин і широко використовуються в народній медицині при інфекційних захворюваннях і як імуномодулювальний, проти-запальний і жарознижувальний засіб. Вони мають приємний смак і запах.

Ягоди асоціюються з бабусею, дитинством, безтурботністю, ефективністю, доступністю, яку використовували для лікування застуди і грипу. У медицині раніше використовувався сироп малини як коригент смаку для дітей, забутий нами засіб.

Дані про хімічний склад продуктів переробки плодів малини звичайної і використання в медицині як протимікробного, протигрибкового, імуномодулювального засобу в літературі дуже обмежені, практично відсутні.

Отже, фітохімічне дослідження екстрактів, отриманих із плодів малини, поширеної і культивованої в Україні рослини, і створення на їх основі фітотерапевтичних фармакологічно активних субстанцій є актуальним завданням.

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

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

Метою роботи було фітохімічне вивчення плодів малини звичайної та створення на їх основі нових лікарських засобів.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- провести аналіз та узагальнення сучасних літературних даних з питань ботанічної характеристики, географічного розповсюдження, хімічного складу і застосування малини звичайної в медичній та фармацевтичній практиці; окреслити коло невирішених питань;
- провести попереднє дослідження якісного складу та кількісного вмісту БАР у плодах малини звичайної;
- провести фармакологічний скринінг антимікробної дії в екстрактах плодів малини для визначення найбільш перспективної субстанції для створення засобу антимікробної дії;
- визначити якісний склад і кількісний вміст фенольних сполук, органічних кислот, амінокислот, тритерпенових сполук в екстракті та соці плодів малини звичайної;
- розробити схеми одержання екстракту з плодів малини;
- провести дослідження антимікробної активності отриманих екстрактів плодів малини;
- провести дослідження вірулоцидної активності отриманих екстрактів плодів малини;
- провести дослідження імуномодулювальної активності соку малини;
- розробити схему одержання лікарських форм і екстракту та соку плодів малини і провести їх стандартизацію.

Об'єкт дослідження: комплексне фітохімічне вивчення екстрактів та соку малини звичайної.

Предмет дослідження: одержання екстрактів, ідентифікація та визначення вмісту БАР в екстракті та соці малини звичайної; вивчення їх антимікробної, імуномодулювальної, вірулоцидної активності; стандартизація отриманих екстрактів.

Методи дослідження

Якісний склад і кількісний вміст БАР визначали такими методами: якісні реакції, тонкошарова (ТШХ), паперова (ПХ) хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), хромато-мас-спектрометрія (ГХ-МС) та спектрофотометрія. Дослідження фармакологічної активності проводили *in vitro* та *in vivo*. Статистичну обробку результатів експериментальних досліджень проводили відповідно до вимог ДФУ з використанням програми Microsoft Excel 2013 та пакета прикладних програм «Statistika».

Наукова новизна отриманих результатів

Проведено фітохімічне вивчення плодів малини звичайної та запропоновано параметри стандартизації продуктів переробки на їх основі згідно з ДФУ. Результати досліджень підтвердили перспективність використання плодів малини звичайної та можливість створення на їх основі нових лікарських засобів.

Уперше визначено, що екстракт вичавок плодів малини звичайної має антимікробну дію щодо штамів АТСС і клінічних штамів грампозитивних та грамнегативних бактерій.

Уперше встановлено, що екстракт вичавок плодів малини звичайної характеризується протигрибковою дією.

Уперше встановлено, що сік плодів малини звичайної виявляє імуностимулювальну дію, впливаючи на лімфоцити і диференціюючи їх у лімфобласти.

Уперше встановлено, що рідкий екстракт вичавок плодів малини звичайної має протівірусну дію щодо аденовірусу п'ятого типу та вірусу грипу H1N1.

Розроблено технологічну схему комплексної переробки плодів малини звичайної. Визначено кратність екстракції сировини, розчинник для рідкого екстракту вичавок плодів малини звичайної, який володіє протигрибковою, антимікробною і протівірусною дією.

Уперше для отриманих екстрактів проведено визначення гострої токсичності.

Уперше для вегетативних та генеративних органів малини звичайної і продуктів, отриманих з неї, ідентифіковано: глікозиди мірицитину, лютеоліну,

апегініну, мірицитин, гесперидин, гесперетин, ціанідин-3-ксилозилрутинозид, сангуїн Н-10 ізомер 1, сангуїн Н-10 ізомер 2, Ламбертіанін С без елагового фрагмента, ізо Ламбертіанін С, Ламбертіанін С; капронову, щавлеву, малонову, фумарову, леулінову, бурштинову, бензойну, фенілоцтову, 2-окси-3-метилглутарову, яблучну, азелаїнову, пальметинову, ізо-лимонну, 2-оксипальметинову, хенейказанову, бегенову, трикозанову, бузкову, тетроказанову, гамма-аміномасляну, еускапову, торментинову кислоти; 4-гідроксипролін, аспарагін, глютамін, цистин, 2-етаноламін, лупіол.

Уперше розроблено схеми одержання на препарати під умовними назвами «Екстракт малини» та «Сік малини», «Спрей Малина». Уперше розроблено проекти МКЯ на «Екстракт малини», «Сік малини», «Спрей Малина».

Практичне значення отриманих результатів

Проведено фітохімічне дослідження плодів малини звичайної, одержано екстракт та сік з антимікробною, протигрибковою, вірулоцидною, імуностимулювальною дією і розроблено проекти їх МКЯ.

Схеми одержання екстрактів та готових форм апробовано на ТОВ «УКРДЕЗ».

Результати досліджень упроваджено у науково-дослідну роботу кафедри фармацевтичної хімії і фармакогнозії Київського медичного університету, кафедри фармакогнозії Одеського національного медичного університету, кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету, кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача

Здобувачем самостійно вивчено, проаналізовано та узагальнено дані наукових першоджерел із питань, що стосуються теми дисертації, виконано експериментальну частину дисертаційної роботи, проведено статистичну обробку

одержаних результатів, написано всі розділи дисертаційної роботи та сформульовано висновки. Постанову мети та завдань, обговорення результатів проведено разом із науковим керівником.

Співавторами наукових праць є науковий керівник А. М. Комісаренко та науковці, спільно з якими проведені дослідження: М. А. Комісаренко, Л. В. Ленчик, Т. В. Упир, О. М. Кошовий, А. М. Ковальова, Т. П. Осолодченко, Т. В. Ільїна, С. В. Пономаренко, М. Ю. Голік, Ю. С. Колісник, О. В. Колісник. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Апробація результатів дисертації

Основний зміст дисертаційної роботи викладено та обговорено на таких науково-практичних конференціях різного рівня: VII науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2018 р.); Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні методи корекції вугрової хвороби та інших проблем шкіри у практиці косметолога» (Харків, 2018 р.); The 9th International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy (Каунас, 2018 р.); III Міжнародна науково-практична конференція «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2019 р.); IV Міжнародна науково-практична конференція «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2020 р.).

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційну роботу викладено на 256 сторінках машинописного тексту. Вона складається з анотації, вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 4 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 151 сторінку друкованого тексту. Роботу ілюстровано 46 таблицями та 15 рисунками. Список використаних джерел містить 285 найменувань, із них 80 кирилицею та 205 латиницею.

РОЗДІЛ 1. МАЛИНА ЗВИЧАЙНА (*RUBUS IDAEUS*) ЯК ДЖЕРЕЛО ОДЕРЖАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ТА ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Ботанічна характеристика Малини звичайної (*Rubus idaeus*). Короткий опис найбільш відомих видів малини

Малина звичайна (*Rubus idaeus*) являє собою напівчагарник, який має багаторічні зависті, схожі на батіг, дерев'янисті червоно-буруваті корені, мочкувату кореневу систему, що стелиться горизонтально по землі та розвиває додаткові бруньки, з яких потім зростають надземні пагони [37, 40].

Пагони малини звичайної (*Rubus idaeus*) пряmostоячі, дворічні, більш-менш густо засаджені тонкими шипами. За морфологічною будовою пагони малини звичайної на першому році життя суттєво відрізняються від пагонів наступних років [37, 40] (рис. 1.1).

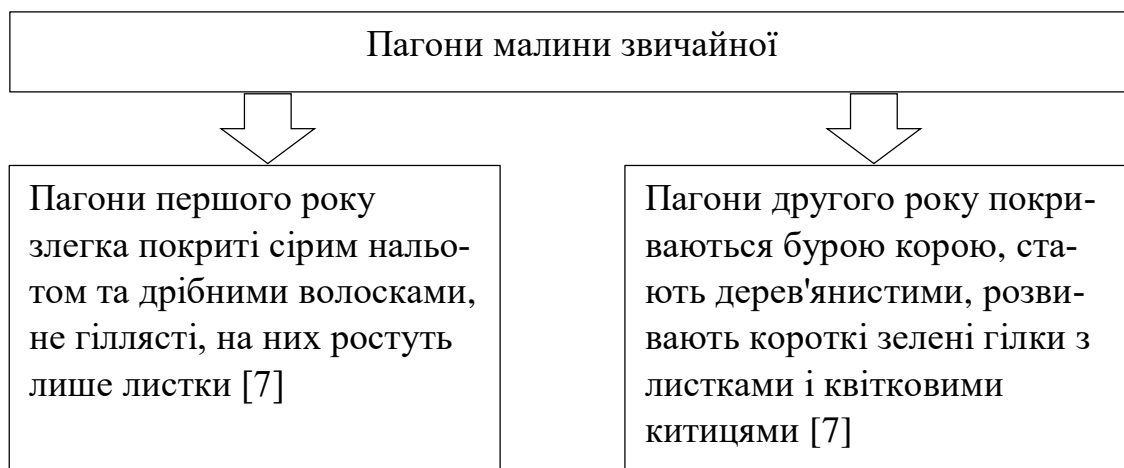


Рис. 1.1. Відмінності пагонів малини звичайної на першому і наступних роках

Листки непарноперистоскладні у вигляді зібрання листочків яйцеподібної, загостреної форми з нерівномірнопильчастим краєм, злегка опушені. Колір листків зверху та знизу відрізняється: зверху – темно-зелений, знизу – сірувато-білий [43].

Квітколоже майже пласке, з невеликим конічним піднесенням посередині, знизу дрібноволосисте. Чашечка п'ятилиста, неопадна, чашолистки ланцетоподібні, довгозагострені, по обидва боки злегка волосисті, на початку розгорнуті, а при плодах відігнуті. Пелюсток п'ять, які виходять із краю квітколожа, вузькі, оберненояйцеподібні, коротші за чашолистки, білі, на початку прямостоячі, потім розпростерті, після цвітіння опадають. Тичинки численні, розташовані в 1-2 кола по краю квітколожа, коротші за пелюстки.

Плідники численні, сидячі всередині квітки на конічному квітколожі; кожен плідник має довгуюватояйцеподібну, покриту пушком зав'язь і голий ниткоподібний стовпчик, що закінчується голівчастим рильцем.

Плоди зібрані – складні кістянки округлої або конусоподібної форми, що складаються з великої кількості (30-60) окремо зрощених між собою кістянок. Вони утворюють порожнистий конус з округлою верхівкою діаметром від 7,5 до 12 мм, кістянки однонасінні, оберненояйцеподібні, оксамитові, червоні, у деяких культурних сортів жовті або білі. Кісточка тверда, довгастояйцеподібна, з одного боку злегка вдавнена, зародок злегка зігнутий. Запах специфічний, приємний. Цвіте в травні і червні, плоди дозрівають в липні і серпні [47].

Однією з характерних особливостей малини є велика кількість додаткових бруньок і пагонів на додаткових коренях. У результаті цього утворюється маса підземних пагонів (кореневих нащадків), розташованих на різній відстані від батьківського куща. Відновлення кореневими нащадками у малини проходить надзвичайно легко. При цьому бруньки утворюються переважно на коренях, розташованих біля гумусового горизонту ґрунту.

Характеристика деяких видів малини [48]

| Різновид рослини | Характеристика |
|--|--|
| 1 | 2 |
| Малина глідолиста (<i>Rubus crataegifolius</i>) | Дикорослий кущ, який досягає висоти 1-2 м. Цвіте літом із середини червня до серпня. Пагони темно-пурпурові або коричнюво-червонуваті, борознисті, розгалужені у верхній частині, покриті шипами й опушені. Кущ виглядає декоративно, оскільки пагони аркоподібно згинаються, особливо у верхній частині. Листки, на відміну від більшості видів малини, прості, три- або п'ятилопатеві, темно-зелені, опушені з обох боків, великопильчасті по краю, до 12 см завдовжки. Квітки до 2 см у діаметрі, білі, зібрані у верхівкові пониклі суцвіття. Плоди – темно-червоні, блискучі, кисло-солодкі, соковиті складні кістянки, що зрослися основами, дозрівають на початку серпня. Цвіте і плодоносить через 5 років |
| Малина сахалінська (<i>Rubus sachalinensis</i> L.) | Відрізняється густощетинистими і ряснозалозистими квітконосами і квітконіжками, а також завжди трійчастим листям. Зростає на більшій частині території Далекого Сходу, Східного та Середнього Сибіру. У західній частині ареалу представлена особливим підвидом – <i>R. sachalinensis</i> subsp. <i>sibiricus</i> (Kom.) Sinjkova. |
| Малина Комарова (<i>Rubus komarovii</i> Nakai) | Близька до малини сахалінської, відрізняється від неї дрібнішими листками, опушеними тільки знизу по жилках. Зростає на гольцях Примор'я, Приамур'я, Сахаліну і Забайкалля. Останні три види практично використовуються населенням замість малини звичайної, але в технічній документації це не передбачено |

| 1 | 2 |
|---|--|
| Малина прекрасна (<i>Rubus deliciosus</i>) | Ширококорозлогий листопадний чагарник до 3 м заввишки, поширений у західних районах Північної Америки. Кора на пагонах темно-сіра, поздовжньо відшаровується. Молоді пагони м'якоопушені. Листки прості, брунько- або яйцеподібні, до 7 см завдовжки, 3-5-лопатові, нерівнозубчасті, трохи нагадують листки винограду, але дрібніші і ніжніші, темно-зелені, блискучі. Квітки чисто-білі, великі, до 5 см у діаметрі, поодинокі, з приємним тонким ароматом. Цвітіння дуже рясне, барвисте, тривалістю до 20 днів. Плоди напівкулеподібні, до 1,5 см, темно-пурпурові, сухуваті, позбавлені смаку |
| Малина запашна (<i>Rubus odoratus</i>) | Зростає на кам'янистих лісових схилах східної частини Північної Америки. Листопадний чагарник до 3 м заввишки (в умовах культури не вище 1,5), з блискучими коричневими пагонами, відшаровується корою. Молоді пагони волосисті і залозисті, блискучо-коричневі, без шипів. Листки прості, великі, до 20 см, 3-5-лопатові, з гострими, яйцеподібнотрикутними лопатями, схожі на кленові (за таку подібність деякі автори цей вид виділяють в окремий рід і називають «малиноклен»). Листкова пластинка світло-зелена, з обох боків оточена, залозиста, на довгому черешку. Великі, до 5 см у діаметрі, рожево-пурпурові квітки (відомий і білий сорт) з приємним ароматом, поодинокі або зібрані в коротке волотисте суцвіття, густо засаджені довгими залозистими волосками; зацвітають у першій половині червня, прикрашаючи рослину протягом всього літа. Плоди до 1 см, напівсферичні, сплюснуті, світло-червоні, кислі, їстівні, але їх зовсім небагато |

1.2 Географічне поширення малини

Малина росте переважно в зоні змішаних і хвойних лісів, у сирих місцях у тіні, в ярах та по берегах річок європейської частини Росії, на Кавказі, у Західному і Східному Сибіру, в Україні, переважно в південній її частині, в гірських районах Середньої Азії [5]. Росте на багатих на корисні речовини вологих ґрунтах, погано переносить посуху, оскільки для продуктивного зростання і родючості потрібен добрий запас вологи в ґрунті, але добре почувається на сонячних схилах переважно біля лісів та на вирубках, не належить до зимостійких рослин.

У горах ця рослина найчастіше піднімається до верхньої межі лісу [5]. У Південному Сибіру промислова заготівля можлива по всій рівнинній тайговій зоні і в горах. Рясні врожаї малини зазвичай спостерігаються в середній смузі європейської частини Росії через кожні 3–4 роки. Така сама закономірність відзначена і в інших районах країни, наприклад, у Республіці Комі і Північно-Східному Алтаї. Найбільш висока продуктивність (до 3000-3200 кг/га свіжих плодів) спостерігається на молодих згарищах і вирубках [4].

Малина звичайна – євросибірський вид, має розірваний ареал, його основна частина охоплює лісову та прилеглі райони лісостепової зони європейської частини світу та Західного Сибіру, а також поширений у лісах на гірських схилах Кавказу. З півночі ареал малини починається на Кольському півострові та проходить у широтному напрямку по півночі європейської частини світу.

Східна межа ареалу проходить по правому берегу Єнісею, зміщуючись на схід по берегах Нижньої Тунгуски і Ангари, потім, перетинаючи Ангару (на 100° сх. д.), межа різко повертає на південний захід і проходить по Саянах до витоків Єнісею. На Алтаї межа знову значно переміщується на південь, де близько 50° с. ш. відомі найпівденніше місцезнаходження малини в Сибіру. На самому сході місцезнаходження *Rubus idaeus* – гирло ріки Киренги притоку Лени ($107^{\circ} 30'$ сх. д.). Південна межа ареалу в Сибіру проходить уздовж державного

кордону РФ і остепнених соснових лісів Прииртиштя. Від Семипалатинська межа відхиляється на північ, проходячи на південь від Омська, перетинаючи середню течію Ішиму і Тоболу. Від Челябінська межа опускається до 52 ° с. ш. і приблизно на цій же широті перетинає Урал, Волгу і Дон, досягає Харкова, проходить південніше Дніпропетровська на Кишинів і далі до Європи. Окремі місцезнаходження відомі в горах Криму, поблизу Донецька, в низинах Дону і Волги, в горах Центрального Казахстану, Тарбагатаю і Алайського хребта [4].

1.3 Збір і заготівля лікарської сировини малини звичайної

Потрібно враховувати деякі фактори під час збору і заготівлі сировини малини звичайної. Передусім збором сировини рекомендується займатися в суху погоду, оскільки ягоди малини дуже м'які і ніжні, зривати їх потрібно, відокремлюючи від квітколожа акуратно, щоб не пом'яти. Бажано заздалегідь підготувати суху і чисту тару, щоб уникнути контакту малини з вологою і зайвим сміттям, бо мити цю ягоду не рекомендується, вода вкрай негативно впливає на збереження малини, вона швидко псується, що істотно скорочує термін зберігання [35].

Заготовляють вже повністю дозрілі ягоди із середини липня до кінця серпня. Збирають і складають їх тонким шаром, дуже обережно, не мнучи, оскільки ягоди легко чавляться, у спеціальні ємності або у невеликі кошики і транспортують до місця сушіння. Сушать якнайшвидше на сонці або в печах за температури не вище 60 °С, розклавши тонким шаром, іноді перевертають. Вихід сухої сировини варіюється у межах 17–20 %. За ГОСТ 3525 – 75: вологості має бути не більше 15 %; побурілих та почорнілих плодів – не більше 8 %; злиплих плодів діаметром до 2 см – не більше 4 %; плодів із квітконіжками і квітколожами – не більше 2 %; подрібнених частин, які проходять крізь сито з діаметром отворів 2 мм, – не більше 4 %; інших частин (листя, гілочок, плодоніжок тощо) – не більше 5 %;

органічної домішки (інших ягід та їх частин) – не більше 0,5 %; мінеральної (землі, піску, камінчиків) – не більше 0,5 %. Висушені ягоди малини пакують у чисті подвійні мішки або у спеціально підготовлені та вистелені на дні папером ящики по 50 кг. Для приготування вітамінного чаю використовують листя та верхню частину (до 20 см) пагонів малини [33, 34].

1.4 Застосування малини в офіційній та народній медицині

На сьогоднішній день в офіційній медицині як фармакопейну сировину використовують плоди малини звичайної (*Fructus Rubi idaei*) у свіжому та висушеному вигляді як жарознижувальний та потогінний засіб при застудних захворюваннях, а також для поліпшення смаку та запаху ліків [68].

Свіжі ягоди вживають натщесерце 120–150 г на день при атеросклерозі, гіпертонічній хворобі, гастритах, колітах, недокрив'ї [41]. Вони мають специфічний приємний смак і аромат, втамовують спрагу і покращують травлення. Включення до дієтичних раціонів ягід малини або продуктів з них значно прискорює лікування різних захворювань шлунково-кишкового тракту, оскільки вони мають протиблювотні, протизапальні і знеболювальні властивості. Склянка соку малини знижує жар, використовується як цілющий напій у разі гарячки, як смакова добавка до гірких ліків і освіжувальний напій [12, 41]. Сушені ягоди входять до складу багатьох лікарських зборів. Так, для лікування кашлю малину беруть у рівних кількостях із насінням анісу, листям мати-й-мачухи, липовим цвітом (по 2 столові ложки), 1 чайну ложку цієї суміші заливають склянкою окропу, заварюють як чай, вживають по 3–4 склянки на день [61]. Сухі плоди малини, заварені у вигляді чаю, мають жарознижувальні і потогінні властивості. Чай із малини традиційно призначають при різних простудних захворюваннях (лікувальний ефект в основному залежить від наявності в плодах саліцилової кислоти). Плоди використовують при застуді та запаленні легенів як доповнення до

протимікробних препаратів. Вони істотно прискорюють процес одужання у разі захворювання шлунково-кишкового тракту, що супроводжується блювотою, запаленням, болем, кровотечею [61]. Свіжозаморожені плоди і сушену малину застосовують як протисклеротичний засіб завдяки наявності в рослині жирних кислот і 3-ситостерину. Ягоди малини протипоказані при нефриті і подагрі, оскільки в плодах міститься багато пуринових основ [62]. У народній медицині ягоди вживають для поліпшення травлення, у разі цинги, недокрів'я, шлункових болів, настої і відвари – у разі бешихових запалень шкіри і вугрів на обличчі [70]. Крім того, в народній медицині ягоди малини вважають «протверезним» засобом. Листя малини має в'язучі, протизапальні, антитоксичні, кровоспинні властивості. [50]. Настій або відвар листя рекомендують при шлункових і гемороїдальних кровотечах, бронхітах, пневмонії, а також у разі висипів і вугрів. Листя малини використовують для лікування запалень слизової оболонки порожнини рота, для полоскання горла при ангінах. Як усі засоби, що містять дубильні речовини, його використовують також проти проносу. Проте в сучасній медицині листю малини приділяють мало уваги. Відвари і настої з листя або стебел малини в народній медицині широко застосовують для лікування простудних захворювань, бронхітів, ларингіту, кашлю як відхаркувальний засіб; настої з листя і квіток – для лікування геморою [49], настої квіток – зовнішньо для промивання очей при кон'юнктивітах і блефаритах. Верхівки гілок малини з листками настоюють як чай («малиновий чай») у разі гострих респіраторних захворювань і бешихового запалення шкіри. Корені і здерев'янілі гілки малини застосовують при неврастенії та гострих і хронічних інфекційних захворюваннях. Є повідомлення про лікування бронхіальної астми відварами коренів малини. Р. Г. Шулейком розроблені супозиторії з олією малини, що ефективні в лікуванні запальних захворювань придатків матки. У тибетській медицині малина використовується при гострих простудних захворюваннях [55]. У гомеопатії використовуються плоди і листя малини. В Англії водний настій листя малини застосовують для зменшення менструальних болів. У Британській фармакопеї описані сироп і сік

плодів малини як коригенти смаку, що надають приємного запаху лікарському засобу (ЛЗ). У Франції і Німеччині листя малини використовують як протизапальний засіб і у лікуванні гінекологічних захворювань.

Квітки і листки малини звичайної в тибетській медицині використовують у разі укусів комах, змій, дерматозів. У народній медицині Болгарії кореневища малини використовують у разі асцитів і бронхіальної астми.

Пагони з листками, квітками і недозрілими плодами використовуються у народній медицині Бурятії в лікуванні респіраторних захворювань, викликаних різними вірусами. Пагони і листя в медицині Тибету використовують в лікуванні захворювань верхніх дихальних шляхів, зокрема кашлю; листя і насіння – як антиоксидантний засіб. Листя використовується при інфекційних та інфекційно-запальних захворюваннях рота, верхніх дихальних шляхів, викликаних різними патогенними збудниками, грампозитивними і грамнегативними мікроорганізмами, грибками і вірусами.

У народній медицині України використовуються квітки малини звичайної як протизапальний і антиоксидантний засіб. Пагони малини застосовують для лікування грипу, гострих респіраторних захворювань, як жарознижувальний і кровоспинний засіб.

Польська і тайванська народні медицини використовують листя для лікування захворювань ротової порожнини, наприклад, стоматитів (табл. 1.2).

Використання малини звичайної в народній медицині інших країн

| | Листя | Насіння | Пагони | Пагони з листочками, квітками і недостиглими плодами | Кореневища | Квітки |
|---------------------------|------------------------------------|---------|--------|--|--------------------|--------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Інфекційні захворювання | [47], [60] | | | | | |
| Неврастенія | [47], [60] | | | | | |
| Бешихове запалення | [47], [60] | | | | | |
| Коліт | [47], [60] | | | | | |
| Кашель | [47], [60] | | [60] | | | |
| Шкірні захворювання | [47], [60] | | | | | |
| Ангіна | [47], [60] | | | | | |
| Стоматити | [60], [61] (Польща, Тайвань) | | | | | |
| Антиоксидант | [253] | [23] | | | | |
| Респіраторні захворювання | [62], [80] | | | [62], [80] (Бурятія) | | |
| Бронхіальна астма | | | | | [40] | |
| Асцит | | | | | [60] (Болгарія) | |
| Укуси комах і змій | | | | | | [60], [105], [41] |
| Дерматози | | | | | | [60], [105], [188] |

Найбільш використовуваними органами малини звичайної є листки: при шлунково-кишкових захворюваннях як в'яжучий, протизапальний, антитоксичний, антиоксидантний, кровоспинний засіб, при ентероколитах і діареї, а також при інфекційних захворюваннях ротової порожнини, викликаних грибами, бактеріями, вірусами (стоматити, фарингіти, ангіни). Сік листків і плодів використовують як потогінний і зовнішній засіб для лікування таких захворювань шкіри, як вугри, екзема. Плоди малини використовують для лікування метаболічних захворювань, цукрового діабету, захворювань серцево-судинної системи, атеросклерозу, гіпертонічної хвороби, анемії (табл. 1.3, 1.4).

Кетони малини – це унікальні сполуки, які надають малині характерного аромату. Нещодавно дослідники визначили, що, як і багато інших фруктів, малина містить низку біологічно активних, природних компонентів, що сприяють гарному здоров'ю, включаючи цей специфічний кетон, унікальний для малини – 4-(4-гідроксифеніл)-2-бутанон. На основі цієї сполуки було розроблено засіб косметичного призначення – олія косметична для тіла «Харчування і пружність» з кетоном малини («Flora Secret», Україна) [51].

Таблиця 1.3

**Використання вегетативних та генеративних органів
малини звичайної в народній медицині**

| Дія/ захворювання | Квітки | Настій плодів | Пагони | Листя | Сік листків | Плоди |
|----------------------|--------|------------------|--------|--|-------------|-------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| В'яжуча | | | | [55], [96], [98], [271], [274], [278] | | |
| Протизапальна | [46] | [46] | | [55], [96], [98], [271], [274], [278] | | |
| Антитоксична | [46] | | | [55], [96], [98], [271], [274], [278] | | |

Продовження табл. 1.1

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---|------|------|---------------------------------------|--------------------------|---|
| Антиоксидантна | | | | [55], [96], [98], [271], [274], [278] | | |
| Жарознижувальна | | | [46] | [55], [96], [98], [271], [274], [278] | | |
| Кровоспинна | | [46] | [46] | [55], [96], [98], [271], [274], [278] | | |
| Захворювання зовнішніх дихальних шляхів | | | | [201], [229] | | |
| Діарея | | | | [201], [229] | | |
| Ентероколіт | | | | [201], [229] | | |
| Вугровий висип | | | | | [11], [28], [105], [272] | |
| Екзема | | | | | [11], [28], [105], [272] | |
| Стоматити | | | | [114], [115], [116], [223] | | |
| Фарингіти | | | | [114], [115], [116], [223] | | |

Таблиця 1.4

Препарати та біологічно активні добавки на основі малини звичайної

| Препарат/ Виробник | Форма випуску | Склад | Фармакологічна дія |
|--|--|---|--|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| Алфіт Шкільний-9 від кашлю, ТОВ «Фармацевтичний завод «Гален»», РФ [2] | 25 фільтр-пакетів по 2,5 г, упакованих у картонну коробку вагою 62,5 г [2] | Корені алтею, плоди і листя малини , листя подорожника великого, чебрець повзучий, шипшина корична, яблуко [2] | Листя малини виявляє потогінну і жарознижувальну дію, трава чебрецю разом з коренями алтею – відхаркувальну, , розріджують мокротиння; плоди шипшини коричнеї використовуються як загальнозміцнювальний засіб і багате джерело вітамінів [2] |

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|--|---|
| Фітол-4 Фіто-Капілар з дигідрокверцетину, ТОВ «Фармацевтичний завод «Гален»», РФ [7] | Капсула в упаковці з желатину масою 450 мг, по 10 капсул у блістері [7] | Екстракти трави комірника, листя малини , трави хвоща польового, дигідрокверцетин, вітаміни С, Р [7] | Виявляє протизапальну, капіляропротективну, дезінтоксикаційну, сечогінну, протинабрякову й антиоксидантну дію, сприяє нормалізації функціонування судин і зміцненню стінок капілярів, знижує рівень холестерину [7] |
| «Харчування і пружність», олія косметична з кетонами малини для тіла [51], компанія «Flora Secret», Україна | Флакон з дозатором, 60 мл [51] | Олії мигдальна, з персикових кісточок, журавельника, грейпфрута, помаранча, циклометикон, кетон малини , ефірні олії ялівцю, м'яти перцевої, екстракти імбиря, абрикоса, акації [51] | Усуває запалення, почервоніння, свербіж і лущення шкіри, виявляє антицелюлітну дію, сприяє усуненню розтяжок, пом'якшує огрубілу шкіру [51] |
| Гідролат малини Naturalissimo Raspberries Hydrolat [13], компанія «FLOYA» та фірма «AGOR», Україна | Прозора запашна рідина у вигляді спрею, 100 мл [13] | Гідролат (глюкоза, фруктоза, пентоза, сліди ефірної олії, пектини, білки, органічні кислоти, кетони, антоціани, ціанін, катехіни (d-катехін, l-епігалокатехін), дубильні речовини, комплекс вітамінів: А, В, В ₂ , С, Е, РР) [13] | Виявляє антиоксидантну, бактерицидну, в'яжучу, вибілювальну, регенераційну, тонізувальну, зволожувальну, заспокійливу дію [13] |
| Агор, тонік гідролат, Україна [70] | Прозора запашна рідина у вигляді спрею в пластиковій баночці, 100 мл [70] | Гідролати ягід полуниці, малини, колоїдне срібло [70] | Очищує, зволожує і тонізує шкіру; має антисептичні властивості; як профілактика висипкам; звужує пори, зменшує пігментацію, висвітлює шкіру, підтягує овал обличчя [70] |

Продовження табл. 1.4

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|--|---|---|---|
| Деліпаста Fabbri Малина, 50 г, FABBRI, Італія [18] | Пластиковий кон- тейнер з пастою, 1,5 кг [18] | Цукор, малина (38 %), лимонна кислота, рос- линний концентрат, ароматизатори нату- ральні, стабілізатор [18] | Для приготування молоч- них коктейлів, кремів, мо- розива, мусів; як начинка для тістечок, еклерів, круасанів, тортів [18] |
| «Алтай – Бал- тай» (з мали- ною), фітозбір № 22, РФ [1] | Фітозбір | Листя суниці, ожини, хаменерію, листя, ягоди малини, сморо- дини, плоди шипшини | Сприяє зміцненню імуні- тету, надає бадьорості і покращує настрій; для профілактики застуди та грипу |
| Яблопект № 7 Вітамінний, «Біолік», Україна [52] | Таблетки шипучі | Натуральний яблуч- ний пектин, сухі екс- тракти смородини чо- рної, шипшини, кро- пиви, стевії, плоди і листя малини, додат- кові інгредієнти | Як дієтична добавка за- гальнозміцнювальної дії; додаткове джерело віта- мінів С, Е, групи В, β-ка- ротину, що позитивно впливає на функцію імун- ної системи; має сорбівні властивості – сприяє виве- денню з організму людини ендо- та екзотоксинів і радіонуклідів |
| Весняний, фіто- чай, «Біолік», Україна [52] | Сухі подрібнені лікарські рослини, 50 г | Корінь солодки, квітки бузини, гінкго- білоба, липи, трава материнки, плоди шипшини, листя ма- лини, вишні, ожини | Для профілактики сезон- ної алергії, загострення виразкової хвороби та ін- ших хронічних запальних захворювань шлунково- кишкового тракту, а також інсультів, підвищення стійкості до застуди, при гіповітамінозі |
| Фіточай очи- щувальний, «Біолік», Україна [52] | Сухі подрібнені лікарські рослини, 75 г | Кора жостеру, листя берези, малини, трава м'яти, бобівника, квітки бузини, корені солодки, валеріани | Підсилює перистальтику кишечника, виявляє об- волікальну та протиза- пальну дію, спазмолітич- ний ефект щодо товстого кишечника, стимулює ро- боту травних залоз |

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|--|---|--|---|
| «Сонячний», фіточай печінковий, «Біолік», Україна [52] | Сухі подрібнені лікарські рослини, 50 г | Квітки цмину, рильця кукурудзи, корінь дягелю, цикорій, плоди шипшини, трава деревію, листя малини, ожини | Виявляє жовчогінну, антимікробну, протизапальну дію, стимулює секрецію травних залоз, прискорює моторику шлунково-кишкового тракту, нормалізує випорожнення, вуглеводний обмін, знижує рівень холестерину |
| «Царський», фіточай (чоловічий), «Біолік», Україна [52] | Сухі подрібнені лікарські рослини, 75 г | Листя ліщини, ожини, вишні, малини, трава звіробою, трава чебрецю, бобівника, корінь лопуха, імбиру, женьшеню | Сприяє зменшенню гіпертрофії передміхурової залози, чинить протизапальну дію на чоловічу сексостатеву систему, підвищує чоловічу потенцію; виявляє спазмолітичну, антиоксидантну, тонізувальну дію |
| «Зимовий», фіточай, «Біолік», Україна [52] | Сухі подрібнені лікарські рослини, 50 г | Хвоя сосни, цедра лимона, корінь імбиру, кориця, плоди горобини червоної, квітки ехінацеї, листя малини, вишні, смородини чорної | Для профілактики загострень бронхолегеневих захворювань, профілактики та лікування гострих респіраторних захворювань, гіповітамінозу |
| «Рівновага», фіточай заспокійливий, «Біолік», Україна [52] | Сухі подрібнені лікарські рослини, 50 г | Супліддя хмелю, трава материнки, м'яти перцевої, корінь валеріани, квітки ромашки, листя ожини, малини, вишні | Чинить заспокійливу дію на центральну нервову систему, має спазмолітичну, гіпотензивну дію, покращує якість сну, розширює кровоносні судини, вітамінізує |

Запашні води можна використовувати як сировину для виробництва косметичних виробів і для гігієнічних процедур у косметологічних салонах, санаторно-курортних закладах та бальнеологічних лікарнях. За ГОСТ 29188.0 та ДСТУ 4771:2007. Води запашні натуральні, запашні води — це прозорі або злегка кала-

мутні рідини, що містять у розчиненому або емульгованому стані незначну кількість ефірних олій [15, 25]. Широко відомо, що малина володіє чудовим ніжним ароматом завдяки високому вмісту терпеноїдів, тому компанією «FLOYA» та фірмою «AGOR» (Україна) була отримана ароматна вода, яка має назву «Гідролат малини» [13].

Гідролат малини отримують шляхом парової дистиляції високоякісної рослинної сировини без додавання хімічних компонентів. Він цінується у виготовленні косметичних засобів у домашніх умовах антиоксидант [13].

Компанією «FABBRI» (Італія) була розроблена кондитерська паста «Деліпаста Fabbri Малина», 50 г, яка надає випічці більш насиченого смаку і гарного кольору. Крім того, деліпаста термостабільна і морозостійка, ідеально розчиняється в будь-яких температурних умовах [17,18].

Вважається, що римляни поширили культивування малини по всій Європі [175, 241]. У середньовічній Європі лісові ягоди використовувалися з лікувальною метою, а їх соки – для картин та висвітлення рукописів. Сьогодні ми насолоджуємося цими фруктами як делікатесами природи. Понад 32 млн кілограмів на рік вирощуються в провідних регіонах-виробниках США: Вашингтоні, Орегоні і Каліфорнії [280]. Червона малина становить 3-4 % від загального виробництва ягід і 6-7 % від використання [209, 280], вживається у сирому і в обробленому (заморожена, протерта) вигляді в багатьох стравах, соусах, салатах і напоях. Ягоди червоної малини підвищують харчову цінність раціону. Вони є одними з найбагатших харчових волокон, забезпечуючи 6,5 г/100 г свіжої ваги, що в перерахунку на калорійність становить 12,5 г/100 ккал, містять вітаміни С і К, магній і безліч інших поживних речовин, таких, як калій, кальцій і залізо [211]. Червона малина також містить фітохімічні компоненти з документально підтвердженою біологічною активністю, багато з яких спочатку були досліджені *in vitro* за їх антиоксидантними властивостями. Деякі з цих сполук тепер відомі своєю здатністю впливати на сигнальні шляхи клітин, які впливають на рецептори, переносники,

експресію генів тощо. Набір поживних речовин і біоактивних компонентів у складі червоної малини відіграє важливу захисну роль у здоров'ї людини.

Поліфеноли є однією з найбільших складових фітохімічних речовин, які виконують багато функцій у рослинах, але також корисні для людей і тварин. Вони підрозділяються на кілька різних груп залежно від структури і варіюються від простих фенольних кислот (гідроксибензойна і гідроксикоричні) до складних поліфенолів (гідролізованих і конденсованих танінів) [8, 9]. Колір і смак фруктів і овочів частково пояснюються їх фітохімічними/поліфенольними компонентами (наприклад, лікопін у томатах, β -каротин у моркві і солодкій картоплі, антоціани в ягодах) [270]. Багато з цих поліфенолів пов'язані зі зниженням ризику хронічних захворювань, включаючи рак, серцево-судинні захворювання, цукровий діабет і ожиріння [101, 184, 282]. Червона малина володіє унікальним поліфенольним профілем, який характеризується передусім вмістом антоціанів і елаготанінів. Ціанідин-3-софорозид, ціанідин-3,5-диглюкозид, ціанідин-3-(2G-глюкозилрутинозид), ціанідин-3-глюкозид, ціанідин-3-рутинозид, пеларгонідин-3-софорозид, пеларгонідин-3-(2G-глюкозилглюкозид), пеларгонідин-3-глюкозид і пеларгонідин-3-рутинозид є основними антоціанами червоної малини [107, 156, 181, 195, 207]. Хоча всі ягоди містять антоціани на основі ціанідину, не всі вони мають однакові глікозидні одиниці. Софорозид являє собою унікальний глікозид ціанідину, що міститься в червоній малині. Тільки полуниця і червона малина містять антоціани на основі пеларгонідину [87, 139], а сполуки софорозидів унікальні для малини [268]. Червона малина містить $(92,16 \pm 19,7)$ мг антоціанів/100 г свіжих фруктів. Антиоксидантна активність антоціанів у червоній малині становить 25 % їх загальної антиоксидантної здатності [99]. Загальний вміст антоціанів за допомогою ВЕРХ варіюється в різних дослідженнях через різноманітність фруктів, сезонних відмінностей, стадії розвитку і відмінностей у методах, використовуваних для кількісного визначення сполук [99, 125, 127, 237], у співвідношенні 32:1 антоціанів на основі ціанідину і пеларгонідину [125].

Елаготаніни – ще одна з основних груп поліфенолів червоної малини. Вони належать до гідролізованих танінів і являють собою складні ефіри гексагідроксидифеноїльної групи, що складається з ядра глюкози або хінної кислоти. Крім того, до молекули глюкози можуть бути приєднані галоїльні групи [123, 264]. Елаготаніни утворюють молекулу гексагідроксидифеноїлу при кислотному гідролізі, яка перебудовується з утворенням елагової кислоти. Вони містяться лише в кількох рослинних продуктах, включаючи полуницю, ожину, малину, морошку, гранат, мускатний виноград і деякі горіхи [191]. Червоні ягоди відомі своїм вмістом сангвіїну Н-6, що є основним елаготаніном, виявленим у червоній малині, далі – ламбертіанін С [178, 181, 207, 231], сангвіїн Н-10 [84, 178], казуаритин / потенцилін [95, 178], касталагін / вескалагін, педункулалагін і корилагін [178], що були попередньо виявлені в червоній малині.

Через складну структуру елаготанінів їх вміст у червоній малині зазвичай визначається за допомогою ВЕРХ після гідролізу до елагової кислоти. Як і антоціани, вміст елаготаніну варіюється залежно від сорту, сезону та кількісних підходів. Mullen et al. [84] вказали, що у сорті Glen Ample вміст сангвіїну Н-6 і ламбертіаніну С становив 76 і 31 мг/100 г сирової маси в еквівалентах галоїльної кислоти відповідно. Серед 14 сортів малини розбіжність кількості елаготанінів становила 3 рази [99]. Сезонні розбіжності можуть бути 2-кратними [127, 231]. Крім антоціанів і елаготанінів, інші фенольні сполуки, такі, як гідроксикоричні кислоти (кавова, п-кумарова і ферулова) [160], гідроксибензойні кислоти (елагова і п-гідроксибензойна), флавоноли у вільній і кон'югованій формах (кверцетин і кемпферол) і конденсовані таніни [126], також присутні в невеликих кількостях у червоній малині. Крім генетичних чинників і чинників навколишнього середовища, які впливають на фенольний склад червоної малини, на вміст поліфенолів також можуть впливати умови зберігання й обробки [104, 106, 143].

Біодоступність поліфенолів червоної малини вивчалася в різних модельних системах *in vivo* та *in vitro* [102, 145, 263, 283], на тваринних моделях [259] і в

інтервенційних випробуваннях на людях [166, 179, 232]. Як правило, поліфенольні компоненти зазнають структурної модифікації перед всмоктуванням у кров. Виняток становлять антоціани, які можуть абсорбуватися в незміненому вигляді у глікольованій формі [90]. Структури, які не абсорбуються з тонкої кишки, потрапляють у товсту кишку, де вони перетворюються на фенольні кислоти мікроорганізмами нижнього відділу кишечника, після чого вони виводяться з калом або долучаються до брижової циркуляції. Продукти метаболізму з товстої кишки й окремі фенольні сполуки і структури аглікону з верхніх відділів травного тракту переходять у I і II фази метаболізму в тонкій кишці, печінці та/або нирках, у результаті чого утворюються метильовані, глюкуронізовані і сульфокон'юговані метаболіти [158, 284]. Утворені метаболіти циркулюють у крові і транспортуються в різні тканини й органи. Хоча деякі метаболіти можуть ніколи не потрапити до загальної циркуляції через їх відтік назад у просвіт кишечника після початкового поглинання ентероцитів або через ентерогепатичну рециркуляцію, більшість метаболітів виводиться нирками [197].

Гонсалес-Барріо та ін. [111] вивчали частки антоціанів елагової кислоти й елаготанінів після того, як здорові люди-добровольці і люди з ілеостомією споживали 300 г червоної малини. Результати цього дослідження показали, що 40 % антоціанів, виявлених у клубовій рідині добровольців після ілеостомії, досягають товстої кишки. Ці дані свідчать про те, що 60 % антоціанів абсорбуються, розкладаються або іншим чином втрачаються для виявлення в тонкій кишці. Аналогічно 23 % від очікуваної кількості елаготанінів було виявлено в клубовій рідині, проте значна кількість елаготанінів гідролізовані до елагової кислоти (24,1 % від надходження). У товстому кишечнику елагова кислота й елаготаніни в основному перетворюються на метаболіти уролітину (уролітин А і В). Уролітини переходять у II фазу метаболізму в стінці товстого кишечника і печінці, тобто відбувається вироблення глюкуронідів уролітину [166]. Синтез уролітинів опосередковується мікрофлорою кишечника і дуже специфічними штамми бактерій (*Gordonibacter*

urolithinfaciens sp. Nov.) [167]. Таким чином було виявлено високу індивідуальну варіабельність виробництва уролітину [111, 166]. Передбачається, що мікробні метаболіти антоціану утворюються в результаті поділу С-кільця, яке вивільнює різні фенольні кислоти з кілець А і В антоціану. Vitaglione та ін. [235] повідомили, що протокатехова кислота (3,4-дигідроксибензойна кислота) є основним катаболітом ціанідин-3-О-глюкозиду в людей. Ці дані про біодоступність поліфенолів малини корелюють з іншими результатами, за якими біологічна доступність цих компонентів здається дуже низькою. Різні фактори відіграють роль, включаючи харчову матрицю, дозу, індивідуальні відмінності, час прийому, складні взаємодії поліфенолів з іншими сполуками під час усмоктування і травлення, а також проблеми з інструментарієм та методологією. Проте все більше даних свідчать про те, що поліфеноли мають біологічну активність. Продовження досліджень у цій сфері, безсумнівно, виявить взаємозв'язок між вмістом фруктів, споживанням, структурою основних поліфенолів у червоній малині: антоціанідинів і антоціанів, елагової кислоти, сангіїну Н 6 і ламбертіаніну С. Далі були розглянуті дослідження, опубліковані за останні кілька десятиліть, в яких, по-перше, вивчалися дані про випадки ризику для здоров'я захворювань, пов'язаних з метаболічними порушеннями; по-друге, основна увага приділялася біологічній активності плодів/екстрактів червоної малини або їх переважних фенольних компонентів.

Серцево-судинні захворювання (ССЗ) є причиною 17,5 млн смертей на рік у всьому світі [118]. Традиційно фактори ризику добре описані [103, 234]. Таким факторам, як гемостатичність, запалення, інсулінорезистентність і окиснення ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), надається все більшого значення у зниженні захворюваності і смертності від ССЗ. Багато ранніх досліджень ягід, включаючи дослідження червоної малини, були мотивовані відкриттям їх антиоксидантних властивостей і потенційної користі для здоров'я [83, 107, 109].

Окисний стрес і запалення, що розвиваються з часом, мають першорядне значення в процесі розвитку ССЗ і, можливо, багатьох інших хронічних захворювань, наприклад, діабету і хвороби Альцгеймера.

Ендотелій – одна з тканин, найбільш вразливих до окисного стресу і його наслідків. Роль дисліпідемії в розвитку і прогресуванні ССЗ залишається головною метою втручання і контролю в осіб з групи ризику [81].

Окисний стрес характеризується дисбалансом між активними формами кисню (АФК) й антиоксидантним захистом [249, 250]. Він збільшує ризик окисного пошкодження таких клітинних компонентів, як ДНК, білки та ліпіди, що призводить до порушення клітинної функції, мутації і/або загибелі клітин. Посилення окисного стресу викликає ініціювання, прогресування й ускладнення ССЗ [206, 216, 251, 285]. Усередині стінки судини різні окисники можуть утворюватися з клітинних і позаклітинних джерел, а також з ферментативних і неферментативних джерел [254]. Синглетний кисень ($1O_2$), супероксид ($2O_2$), пероксильні (ROO_2) і гідроксильні (OH_2) радикали і пероксинітрит ($ONOO_2$) є прикладами вироблених АФК, які можуть чинити руйнівний вплив на організм людини [140, 163]. Джерела в стінці судини включають надмірну стимуляцію нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ) гідроксидази і ксантинооксидази, витік продуктів мітохондріального ланцюга, перенесення електронів і незв'язаної ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) [136, 140, 180, 208, 273, 276]. Іншим джерелом окиснення є мієлопероксидаза, яка секретується такими фагоцитарними імунними клітинами, як нейтрофіли, моноцити і макрофаги, виявлені в стінках судин, унаслідок чого розвиваються атероми [173]. У сукупності некеровані АФК можуть призвести до появи кількох модифікованих продуктів, деякі з них мають відношення до окиснення ЛПНЩ [173, 245], які беруть участь в утворенні пінистих клітин і бляшок і до стимуляції окисно-відновних процесів, які підвищують експресію прозапальних генів. Тобто запалення і окисний стрес тісно пов'язані.

NF- κ B є центральним фактором запалення. Це фактор транскрипції, який стимулює кодування декількох генів, зокрема і тих, що відповідають за продукцію

цитокінів, хемокінів, імунорецепторів, молекул клітинної адгезії і білків гострої фази [219]. Активація NF- κ B є редоксчутливою, тобто окисний стрес активує запальну реакцію через NF- κ B. Інші важливі медіатори запалення включають рецептори розпізнавання образів (toll-подібні рецептори) і кінази (MAPK і N-кінцеві кінази c-Jun). Відповідь на запалення може бути викликана різними стимулами, включаючи компоненти клітинної стінки бактерій (наприклад, LPS), віруси і зміни концентрацій ROS, жирних кислот, цитокінів, факторів росту і канцерогенів. У стінці судини окиснені ЛПНЩ викликають запалення судин і низку проатерогенних подій, які призводять до атеросклерозу [110].

Було висловлено припущення, що антоціани можуть діяти як прооксиданти (за рахунок збільшення кількості таких електрофільних сполук, як $2O_2$ і H_2O_2), які змінюють клітинний окисно-відновний статус [189], що призводить до різних сигнальних відповідей чутливих до окиснення клітин, включаючи стимуляцію систем ендогенного антиоксидантного захисту. Фактор транскрипції, ядерний фактор, фактор 2, пов'язаний з еритроїдом 2 (Nrf2), є редоксчутливими. У базових умовах Nrf2 секвеструється в основному в цитоплазмі. Під впливом змін в окисно-відновному статусі Nrf2 може посилювати синтез глутатіону, переміщуючись до ядра і сприяючи експресії, обмежує швидкість ферментів, відповідальних за синтез глутатіону й індукує транскрипцію механізмів антиоксидантного захисту, що залежать від елемента антиоксидантної відповіді (ARE). Кишкові мікробні метаболіти антоціанів, наприклад альдегід флороглюцинолу з кільця A, можуть безпосередньо стимулювати передачу сигналів Nrf2/ARE [205].

Для оцінки можливого впливу екстрактів/фракцій червоної малини і очищених сполук на індикатори окисного стресу і запалення було використано кілька досліджень клітинних культур *in vitro*, хімічного аналізу та досліджень активності ферментів. У сукупності дані вказують на антиоксидантну та протизапальну дію [197]. Burton-Freeman et al. [95, 200, 230] досліджували активність *in vitro* за зменшеним *ex vivo* окисненням ЛПНЩ, перекисним окисненням ліпідів (ПОЛ) [95],

пошкодженням ДНК [98, 159, 283] і генерацією активних форм кисню (АФК) [95, 98], а також збільшенням активності таких антиоксидантних ферментів, як каталаза і супероксиддисмутаза [151]. Дослідження запалення включали зниження продукції цитокінів (базальне і стимульоване) [89, 93, 262, 269, 277], активність N-кінцевих кіназ NF-κB і MAPK/c-Jun [89, 151], активацію TLR2 і 4 [92], активність циклооксигенази [89, 130] і продукування PGE2 [230].

Виявлення потенційних переваг червоної малини для кінцевих точок окиснення або запалення стало результатом дослідження моделей на тваринах *in vivo*. Серед досліджень, в яких тестувалися екстракти малини [93, 146] або ліофілізовані фрукти в раціоні [161], два показали зниження окисного стресу, що вимірюється зниженням пошкодження ліпідів і білків, і зменшення запалення через 1 міс. лікування малиною [93, 122]. На моделі запалення у щурів з індукованим колагеном артритом екстракт червоної малини (15 мг/кг) значно зменшував розвиток його клінічних ознак і помітно знижував ступінь резорбції кісток, набряку м'яких тканин і утворення остеофітів, запобігаючи руйнуванню суглобів [122]. На моделі гастриту у тварин, які отримували елаготаніни, первинні гідролізовані таніни в малині, спостерігалось зниження запалення і підвищення ендогенних ферментів антиоксидантного захисту, включаючи підвищення активності антиоксидантних ферментів каталази і супероксиддисмутази [151]. У трьох інших дослідженнях елагова кислота (гідролізований продукт елаготанінів) була протестована на моделі імунної функції [256], моделі гастриту *ex vivo* [142] і моделі хвороби Крона [234]. На моделі імунної функції 0,5-2,0 мг елагової кислоти/кг показали дозозалежне пригнічення специфічних відповідей антитіл імуноглобуліну М (2,0 мг/кг) і пригнічення функції цитотоксичних Т-лімфоцитів (групи 0,5 і 1,0 мг елагової кислоти/кг), тоді як всі інші імунологічні параметри, включаючи масу органів, були в межах норми [256]. На моделях гастриту *ex vivo* і хвороби Крона *in vivo* елагова кислота (0,1-10 г/л і 10-20 мг/кг відповідно) знижувала ПОЛ шлунка [142], інфільтрацію нейтрофілами і гіперпродукцію iN OS і COX-2 в організмі

людини, тканини кишечника [142, 234]. Дієта у дозі 100 мг ціанідин-3-глюкозиду/кг вивчалася на моделі тварин з дефіцитом вітаміну E, що не викликало зміни ПОЛ і біомаркерів окиснення ДНК (8-оксодезоксигуанозину) [88, 137]. Однак у недавньому дослідженні, в якому вивчалися грубі фракції червоної малини на моделі гострого коліту в мишей, фракція, багата на антоціани, зменшувала симптоми коліту в них, що узгоджується з результатами для LPS-активованих. Макрофаги RAW264.7 показали пригнічену запальну передачу сигналів (наприклад, NF- κ B, активаторний білок 1), включаючи експресію нижчих генів фракцією, багатою на антоціани [89]. У літературі було виявлено кілька досліджень, присвячених впливу червоної малини на маркери окисного стресу і запалення, в жодному з них не вивчалась окремо червона малина. У двох рандомізованих контрольованих випробуваннях, які були ідентифіковані, перевірялися дієтичні добавки із сумішшю ягід, включаючи малину [218, 260]. Після 2 тижнів вживання змішаних ягід, приготованих у вигляді концентрованих соків у 200-грамовому десерті (з антиоксидантною здатністю, еквівалентною 10 порціям фруктів і овочів), показники окисного стресу не змінилися у літніх чоловіків і жінок, які перебували у лікувальних установах [218]. У другому дослідженні вживання змішаного ягідного соку тренуваними велосипедистами з використанням моделі вправ для індукції окисного стресу не показало впливу на ПОЛ; проте від вживання ягід спостерігалося менше пошкодження ДНК і білків порівняно з контролем [260]. Хоча не можна зробити жодних висновків щодо малини, випробування показують, що ягоди можуть бути найбільш корисними для відновлення гомеостазу або захисту клітин / клітинних компонентів від пошкодження під час стресових ситуацій.

Ендотелій судин є критичним регулятором гомеостазу судин, він виконує безліч функцій, наприклад, регулювання тромбозу і фібринолізу, ангіогенезу і тонуусу розширення судин [155, 199, 243]. NO синтезується з L-аргініну через eNOS і є центральним медіатором цих функцій. Відповідно, ключовим механізмом, що лежить в основі ендотеліальної дисфункції, є нестача біодоступного NO [155,

265]. Надлишок АФК, який призводить до окисної деградації NO, є одним з найбільш поширених механізмів, які беруть участь у зміні сигнального шляху eNOS/NO, що викликає порушення функції ендотелію. Зниження біоактивності NO спричиняє звуження судин і потенційно може призвести до ішемії. Крім того, він може викликати запалення судин, адгезію лейкоцитів і утворення пінистих клітин – попередників атеросклеротичної бляшки. Тобто зменшення утворення ROS і/або забезпечення захисту від пошкодження ROS/деградації NO в ендотеліальних клітинах має важливе значення для підтримки рівноваги і функції ендотелію.

Дослідження на моделях *in vitro* та *in vivo* у тварин були спрямовані на перевірку впливу поліфенольних компонентів червоної малини або плодів / екстрактів червоної малини на показники, важливі для ендотеліальної функції. Елагова кислота була кращим компонентом малини серед моделей *in vivo*. Yu et al. [147] показали, що 0-50 мМ елагової кислоти дозозалежно знижують продукцію ROS в ендотеліальних клітинах пупкової вени людини. Крім того, елагова кислота інгібувала індуквану IL-1 β ядерну транслокацію NF- κ B і тим самим пригнічувала експресію молекули-1 адгезії судинних клітин і E-селектину, що приводило до зниження адгезії моноцитів. Інші експерименти *in vitro* показали, що елагова кислота значною мірою сприяє пригніченню індукованої окисненням ЛПНЩ і тромбоцитарним фактором росту ВВ проліферації первинних культур клітин гладких м'язів аорти, інактивує кіназу, що регулюється позаклітинними сигналами [148, 150]. Метанольні екстракти червоної малини показали антикоагулянтну і фібринолітичну активність у низці систем аналізу *in vitro* [100].

За аналізом досліджень на тваринах виявлено, що у двох дослідженнях використовувалася *ex vivo* модель функції ендотелію [153, 242], а у восьми оцінювалися множинні кінцеві точки факторів ризику / маркерів після інтервенцій від 5 до 16 тижнів [91, 141, 148, 190, 220, 239, 242, 258]. Про збільшення вазодилатації повідомлялося у разі прийому елагової кислоти [133] й екстрактів малини,

особливо у відповідь на фракції, багаті на елаготанін [153]. Ці результати, принаймні частково, можна пояснити зниженням окиснювального стресу і запалення в серцевій або судинній тканинах [121, 133, 148, 190, 220, 239, 242]. Ding et al. [133] припустили, що ефекти елагової кислоти можуть частково пояснюватися активацією Nrf2 і підвищеною активністю eNOS. У сукупності дані припускають поліпшення функції ендотелію, ефект, який також має знизити ризик розвитку гіпертонії й атеросклерозу. В одному дослідженні вивчалася зниження артеріального тиску екстрактами червоної малини в дозі 0,100 або 200 мг/(кг/доб) у нормальних і спонтанно-гіпертонічних щурів. Через 5 тижнів екстракти червоної малини продемонстрували дозозалежний антигіпертензивний ефект у щурів зі спонтанною гіпертензією, ефекти, які збігалися з підвищеною активацією NO, зниженням вазоконстрикторного ендотеліну-1, дозозалежними антиоксидантними діями і поліпшенням дисфункції ендотелію судин [258].

Розвиток атеросклерозу був протестований на моделі хом'яка і кролика, що виявило зниження рівня тригліцеридів після вживання різних сортів малинового соку протягом 12 тижнів, проте підвищення рівня холестерину ЛПВЩ було специфічним для малини сорту Cardinal [239]. У білих кролів, що отримували дієту з високим вмістом холестерину й елагової кислоти (1 % раціону), значно знижувався рівень ліпідів плазми й аорти і значно зменшувалося атеросклеротичне ураження грудної аорти порівняно з групою контрольних тварин [242]. Ці ефекти збігалися зі зниженням АФК в аорті і окисного пошкодження ліпідів і ДНК і корелювали з результатами дослідження, проведеного на щурах з індукованим стрептозотоцином діабетом, де вивчалася елагова кислота в кількості 2 % від раціону [148]. Аналогічним чином [220] показано, що елагова кислота послаблює характерні зміни метаболізму, структури серця і печінки, а також їх відповідних функцій, викликаних раціоном з високим вмістом вуглеводів і жирів, що можна, принаймні частково, пояснити пригніченням окисного стресу і запалення.

П'ятитижневий прийом добавок олії насіння малини (0,8 % від раціону) не вплинув на ліпіди крові щурів, але підвищив активність антиоксидантних ферментів в еритроцитах (супероксиддисмутазу і глутатіонпероксидазу) [141].

Freese et al. і Puurponen-Pimiä [144, 162] повідомили, про те, що малина у двох рандомізованих контрольованих випробуваннях на людях впливала на фактори ризику ССЗ. У першому дослідженні заморожена малина була включена до 4 різних експериментальних раціонів, які відрізнялися за вмістом фруктів і овочів і типом харчових ліпідів. Один із них містив червону малину як частину ягідної суміші (300 г ягід, 100 г із них червона малина), яку давали пацієнтам із симптомами метаболічного синдрому [162]. В обох дослідженнях не було виявлено відмінностей за ліпідами крові, артеріальним тиском і функцією тромбоцитів. У цілому дані досліджень *in vitro* на тваринах свідчать, що малина впливає на виниклі (наприклад, окисний стрес, запалення й ендотеліальна функція) і традиційні (наприклад, вибір ліпідів і ліпопротеїнів і артеріальний тиск) фактори ризику ССЗ, а елагова кислота є основним фактором ризику. Внесок антоціанів не дуже добре описаний на цих моделях.

Останні статистичні дані [210] свідчать, що 29,1 млн осіб (9,3 % населення США) страждають на діабет. Більше того, 86 млн (37 %) дорослих віком понад 20 років страждають на переддіабет, близько половини з яких знаходяться у віці 65 років. Крім того, 347 млн людей у всьому світі наразі страждають на діабет, за прогнозами, до 2030 р. він стане сьомою головною причиною смертності [131].

Діабет – головний фактор ризику ССЗ. За даними 2010 р., госпіталізації з приводу серцевих нападів та інсультів були в 1,8 і 1,5 разу вище серед дорослих із діагностованим діабетом, ніж серед дорослих без діагностованого діабету відповідно. [172]. Гіпотеза «загальної підстави» передбачає, що ССЗ і цукровий діабет 2-го типу (ЦД2) мають загальні генетичні та екологічні передумови [120]. Інсулінорезистентність (ІР) вважається одним із найбільш важливих факторів, що

зв'язують ЦД2 і ССЗ, а останнім часом – ще й хвороба Альцгеймера [212]. ІР найбільш відома своїм зв'язком із ЦД2. ЦД2 переує тривалий період ІР, протягом якого рівень глюкози в крові підтримується на близькому до нормального рівні за рахунок компенсаторної гіперінсулінемії [120]. Коли клітини більше не можуть компенсувати ІР за рахунок адекватного збільшення вироблення інсуліну, виникає порушення толерантності до глюкози, що характеризується надмірними концентраціями глюкози в крові і є результатом циркуляції вільних жирних кислот [120, 225]. Вважається, що супутнє збільшення вироблення мітохондріальних АФК і внутрішньоклітинний окисний стрес унаслідок надмірного припливу енергетичного субстрату є головними причинами ІР і прогресування до явного діабету та ССЗ [185, 233].

АФК можуть безпосередньо пошкоджувати клітинні макромолекули, а також інактивувати або модулювати функцію рецептора інсуліну і субстрату рецептора інсуліну [120, 185, 233]. Крім того, вони також можуть побічно викликати пошкодження тканин, активуючи низку клітинних, чутливих до стресу шляхів, що пов'язані із запаленням і включають NF- κ B і p38 MAPK [217], що спричиняє прогресування й ускладнення атеросклерозу, а тепер і діабету.

Наріжним каменем профілактики і лікування діабету є оптимізація способу життя, включаючи зниження надмірної ваги при ожирінні, регулярну фізичну активність і режим харчування, призначеного для контролю гіперглікемії і зниження таких факторів ризику ССЗ, як високий кров'яний тиск і дисліпідемія [124, 132]. Ключовою дієтичною рекомендацією Американської асоціації клінічних ендокринологів є дотримання рослинної дієти з високим вмістом клітковини і фітохімічних речовин/антиоксидантів і низьким вмістом калорій і вуглеводів [124]. Через профіль поживних речовин червоної малини та її поліфенольних компонентів (тобто антоціанів і елаготанінів/метаболітів) їх слід регулярно включати до дієт, спрямованих на зниження ризику діабету.

Більшість звітів, в яких оцінювалися поліфенольні компоненти червоної малини або фруктів/екстрактів щодо діабету або пов'язаних з ним змін, стосуються досліджень на тваринах *in vitro* та *in vivo* [86, 91, 128, 129, 135, 168, 182, 202, 220] з обмеженими дослідженнями на людях [108, 257].

Передбачуваний механізм зниження рівня глюкози після прийому їжі полягає в обмеженні абсорбції глюкози шляхом пригнічення активності α -амілази й α -глюкозидази. Екстракти червоної малини, порівняно з іншими екстрактами ягід, були найбільш ефективними в інгібуванні α -амілази [135, 168], тоді як інгібувальні ефекти α -глюкозидази були проміжними. Фракціонування екстракту малини показало, що незв'язана фракція, збагачена антоціанами, була більш ефективною, ніж α -глюкозидаза у вихідному екстракті, тоді як інгібітори α -амілази були сконцентровані у зв'язаній фракції. ЖХ-МС-МС ідентифікували такі інгібувальні компоненти, як елаготаніни [135]. Grusso et al. [168] припустили, що проантоціанідини були важливими інгібіторами активності α -амілази. Загалом дослідження свідчать, що різні поліфенольні компоненти червоної малини можуть впливати на різні етапи перетравлення крохмалю і мати потенційні наслідки для постпрандіального глікемічного контролю.

Моделі клітинних культур припускають, що антоціани й антоціанідини (тобто аглікони), виявлені в червоній малині, можуть потенційно стимулювати опосередковану глюкозою секрецію інсуліну b-клітинами підшлункової залози [182] для подолання дефіциту секреції інсуліну з метою регулювання рівня глюкози в крові. Антоціани також підвищують чутливість жирових клітин до інсуліну за рахунок сприятливої зміни профілів експресії адипоцитокінових генів (наприклад, підвищена регуляція адипонектину і знижена регуляція запальних цитокінів) і фосфоактивації АМР-активованої протеїнкінази (індикатора рівня палива) з метою моніторингу енергетичного статусу клітин і терапії ЦД2 та ожиріння [86, 202].

Дослідження на моделях діабету у тварин (генетичні або викликані харчуванням) підтверджують результати *in vitro*, які показали, що 5-тижневе годування ціанідин-3-глюкозидом (0,2 % від раціону) знижує рівень глюкози натще і покращує чутливість до інсуліну, що вимірюється тестом на толерантність до інсуліну або глюкози порівняно з контрольними групами. Ефект на метаболічні індекси супроводжувався зниженням експресії генів запальних цитокінів у білій жировій тканині і підвищенням регуляції транспортера глюкози 4, але не адипонектину [128, 129].

У доповнення до досліджень на тваринах, в яких вивчали ціанідин-3-глюкозид, поширений антоціан в ягодах, інші дослідження з використанням моделей діабету і метаболічного синдрому перевіряли ефекти елагової кислоти, гідролізованого продукту елаготанінів, які більш унікальні для червоної малини. Додатки елагової кислоти, що забезпечуються 2 і 5 % раціону протягом 12 тижнів, підвищували рівень інсуліну і знижували рівень глюкози натще, гемоглобін А1с і глікозильованого сечового альбуміну, тим самим поліпшуючи неконтрольований діабетичний статус мишей [91, 131]. Також покращилися оцінки запалення і окисного стресу. Аналогічно у щурів, які отримували раціон з високим вмістом жирів і вуглеводів для індукції симптомів метаболічного синдрому, 0,8 г елагової кислоти / (кг/доб.) протягом 16 тижнів послаблювали порушення толерантності до глюкози і запобігали викликаному раціоном збільшенню NF-kB, концентрації білка в печінці і зниженню концентрації білка Nrf2 в серці і печінці [220]. Дані досліджень на тваринах *in vitro* та *in vivo*, в яких тестувалися окремі сполуки й екстракти червоної малини, підтверджують потенційну дію червоної малини на глікемічний контроль у людей. На сьогоднішній день опубліковані два дослідження на людях, в яких оцінювалася дія червоної малини на гострий глікемічний контроль [108, 257]. В обох дослідженнях оцінювали двогодинну реакцію на інсулін і глюкозу у високовуглеводній їжі з червоною малиною і без неї у відно-

сно здорових людей. У результаті не було виявлено відмінностей між малиновими і контрольними умовами щодо постпрандіальної відповіді глюкози або інсуліну [108, 257].

Сукупні дані свідчать про те, що компоненти червоної малини виявляють біологічну активність, яка може мати клінічне значення для запобігання або контролю діабету. Дослідження *in vitro* та *in vivo* на тваринах продемонстрували антиоксидантну, протизапальну і сенсibiliзуювальну дію щодо інсуліну в ключових тканинах, особливо в жировій, що приводить до зниження глікемії і глікозилованих білків [92, 124, 131, 217]. Підвищення секреції інсуліну В-клітинами підшлункової залози є ще одним важливим механізмом контролю глюкози й уповільнення прогресування захворювання. Як антоціани, так і елагова кислота, очевидно, мають потенціал секреції інсуліну, що було продемонстровано на культурі клітин (антоціани [182]), у тварин з діабетом (елагова кислота [121, 131]) з використанням лігандних рецепторів на моделях стикування *in situ* (елагова кислота / АТФ-чутливий калієвий канал) для порівняння природних сполук з відомими ліками, що секретують інсулін (елагова кислота [203]). Понад дві третини дорослого населення США мають надлишкову вагу або страждають на ожиріння. Серед молодих людей віком до 20 років 31,8 % також мають надлишкову вагу або страждають на ожиріння. Із 1980 р. ожиріння у людей у всьому світі збільшилося більш ніж удвічі, наразі 1,9 млрд дорослих мають надмірну вагу, 600 млн з яких страждають на ожиріння [214]. Надмірна вага й ожиріння є основними факторами ризику розвитку ЦД2, ССЗ, остеоартриту, неалкогольної хвороби печінки і деяких видів раку [138]. На сьогодні визнано, що ожиріння несе в собі надмірне запальне навантаження, що лежить в основі патофізіології цих захворювань. Відповідно, досягнення і підтримка здорової маси тіла є головною стратегією втручання у спосіб життя для зниження ризику хронічних захворювань.

Кетони малини зараз привертають увагу основних засобів масової інформації завдяки своєму потенціалу для схуднення. Були проведені дослідження на

гризунах, які свідчать про зниження ваги після 5 і 10 тижнів прийому добавок кетонів малини (2 % від раціону) у харчуванні з високим вмістом жирів [94]. Автори зазначили, що імпульс досліджень був отриманий завдяки визнанню структурної подібності з капсаїцином і синефрином, сполуками, що, як відомо, змінюють метаболізм ліпідів. У дослідженні повідомлялося, що додавання кетонів малини запобігає викликаному раціоном підвищенню маси тіла і маси печінки та вісцеральної жирової тканини (придатка яєчка, естроперитонеальної і мезентеріальної) з високим вмістом жирів. Крім того, вміст тріацилгліцерину в печінці був знижений, тоді як ліполіз, викликаний норепінефрином, був значно збільшений у жирових клітинах придатка яєчка щура. Автори дійшли висновку, що кетони малини запобігають ожирінню печінки шляхом зміни ліпідного обміну, зокрема і за рахунок збільшення індукованого норепінефрином ліполізу в білих адипоцитах. Подальші дослідження адипоцитів (клітини 3T3-L1) підтвердили вплив кетонів малини на метаболізм ліпідів адипоцитів, включаючи посилення ліполізу, окиснення жирних кислот і пригнічення накопичення ліпідів [221, 222]. Належить визначити, чи будуть додаткові випробування на тваринах або людях підтримувати або спростовувати ефекти кетонів малини. Природний вміст кетонів малини невеликий, тому досягнути концентрацій, зазначених у цих дослідженнях, складно. Вивчення зміни маси тіла у відповідь на червону малину (фрукти) представлено лише одним дослідженням на сирійських хом'яках [239]. Хом'яки отримували атерогенний раціон протягом 12 тижнів разом з водою або з одним із трьох соків, приготованих з малини сортів Cardinal, Glen Ample і Tulameen, у добовій дозі, відповідній прийому 275 мл людиною вагою 70 кг. Через 12 тижнів сік сорту Cardinal значно знижував масу тіла. У різних дослідженнях вивчали зниження ваги за допомогою втручань, не пов'язаних з ягодами малини, й очищеними антоціанами, на моделях ожиріння, викликаного раціоном [134, 236, 282]. Проте результати не є однозначними, оскільки вони свідчать про відсутність ефе-

кту або про збільшення ваги [282]. Відмінності в складі ягід, екстрактів або тестованих сполук, дозі та матриці впливали на результати. Червона малина має унікальний склад поліфенолів, що також є відмінним джерелом харчових волокон, пов'язаних із відчуттям насичення, зниженням споживання їжі, і стратегією контролю ваги [117].

Хвороба Альцгеймера, найбільш поширений тип деменції, становить приблизно 60-80 % випадків [82]. Клінічно це виявляється втратою пам'яті, що прогресує, поступовим зниженням когнітивної функції і, в кінцевому підсумку, передчасною смертю [238]. До невропатологічних особливостей хвороби Альцгеймера належать наявність позаклітинних бляшок, що містять білок амілоїд- β , внутрішньоклітинних нейрофібрилярних клубків, що складаються в основному з аномально фосфорильованого τ -білка, а також різке пошкодження і втрата нейронів і синапсів, особливо в гіпокампі і корі головного мозку [112, 247]. Вважається, що хвороба є наслідком накопичення білка амілоїд- β , так звана «гіпотеза амілоїдного каскаду». Швидкість розвитку і прогресування хвороби у різних людей різні.

Фактори ризику хвороби Альцгеймера аналогічні іншим поширеним хронічним захворюванням. За винятком рідкісних випадків, викликаних відомими генетичними мутаціями, хвороба Альцгеймера внаслідок багатьох факторів протягом багатьох років. Похилий вік є найбільшим фактором ризику, але хвороба Альцгеймера не є частиною нормального старіння. Іншими факторами ризику є сімейний анамнез, генотип апоЕ, помірні когнітивні та кардіометаболічні порушення [82].

Метаболічний синдром – це сукупність кардіометаболічних факторів ризику, які включають абдомінальне ожиріння, підвищений артеріальний тиск, порушення метаболізму глюкози та інсуліну, дисліпідемію і підвищене системне запалення і пов'язані з розвитком ССЗ та діабету. У людини з метаболічним синдромом вдвічі вища ймовірність розвитку ССЗ і в п'ять разів вища ймовірність розвитку діабету, ніж у людини без метаболічного синдрому [281]. Метаболічний

синдром також пов'язаний із когнітивними порушеннями, деменцією і розвитком хвороби Альцгеймера [192, 204]. Хоча механізми, що лежать в основі взаємозв'язку між кардіометаболічними аномаліями і порушеннями метаболізму, ще належить повністю охарактеризувати. Зміни периферичної передачі сигналів інсуліну і запалення, вірогідно, роблять основний внесок у патологію Альцгеймера. Обидва пов'язані з прискореним відкладенням амілоїду- β та/або зменшенням кліренсу і підвищеним фосфорилуванням і накопиченням t-амілоїду [193, 252]. Тому способом зниження ризику хвороби Альцгеймера є зменшення периферичного запалення і відновлення чутливості до інсуліну. Через вікове збільшення окисного стресу і запалення, ймовірно, також будуть корисні для зниження нормальних вікових когнітивних еклінів [248, 261].

Дослідження, присвячені зв'язку між червоною малиною або її поліфенольними компонентами і поліпшенням окисного стресу, запалення і передачі сигналів інсуліну, слід розглядати як перспективні з метою зниження ризику хвороби Альцгеймера й уповільнення процесу старіння. Важливо відзначити, що поліпшення цих біомаркерів має збігатися з клінічно значущим поліпшенням когнітивної поведінки і зниженням патології (наприклад, кліренс білка амілоїду- β або зниження відкладення). Хоча у дослідженнях на моделях хвороби Альцгеймера не було виявлено статей окремо про червону малину або її основні поліфенольні компоненти, в одній з них оцінювався вплив елагової кислоти на клітини SH-SY5Y і повідомлялося, що елагова кислота пригнічує утворення олігомеру білка амілоїду- β і пов'язану з нею нейротоксичність [162]. У двох інших дослідженнях оцінювався вплив екстрактів червоної малини (екстракт етанолу або екстрагований ціанідин-3-глюкозид з червоної малини) на їх потенційні нейрозахисні властивості на моделях нейродегенерації: в одному дослідженні використовувалася лінія клітин нейробластоми людини SKN-MC [162], у другому – модель пошкодження спинного мозку у щурів [162]. Результати показали підвищену виживаність клітин, зниження втрат нейронів, зниження окисного стресу і

поліпшення функціонального відновлення з екстрактом малини порівняно з контролем. Farbood et al. [158] повідомили, що споживання щурами 100 мг елагової кислоти / (кг/добу) за 7 днів до черепно-мозкової травми значно запобігало погіршенню пам'яті і тривалій потенціації гіпокампу, а також знижувало викликане травматичним пошкодженням головного мозку підвищення рівня IL-1b, IL-6 у головному мозку.

Нові дослідження виявили зв'язок між сучасними хронічними периферичними (ССЗ, ожиріння і ЦД2) і центральними (хвороба Альцгеймера) захворюваннями. Хоча вплив червоної малини або її компонентів на хворобу Альцгеймера обмежений, наявні дані свідчать про доцільність додаткових досліджень ролі червоної малини у збереженні здоров'я мозку.

Червона малина вносить у раціон цінні поживні речовини й інші біологічно активні компоненти. Серед їстівних рослинних продуктів вона забезпечує майже найбільшу кількість харчових волокон на 100 ккал і є джерелом елаготанінів і антоціанів. Дослідження *in vitro* надають корисну інформацію щодо розуміння потенційних наслідків біоактивності рослин для здоров'я людини через їх мішені і механізми дії. Однак слід виявляти обережність в інтерпретації результатів досліджень *in vitro*, оскільки часто застосовуються вихідні сполуки (замість суміші вихідних речовин і метаболітів, як очікується *in vivo*) і в концентраціях, які набагато перевищують фізіологічні концентрації. Проте дані *in vivo* на тваринах підтвердили багато висновків *in vitro* стосовно того, що плоди червоної малини, включаючи різні екстракти й окремі компоненти, володіють протизапальною, антиоксидантною та метаболічностабілізуювальною активністю. Крім того, ці ефекти були пов'язані з поліпшенням таких відповідних кінцевих точок, як зниження артеріального тиску, поліпшення ліпідних профілів, зниження розвитку атеросклерозу, поліпшення функції судин, стабілізація неконтрольованих діабетичних симптомів (наприклад, глікемії) і поліпшення функціонального відновлення на

моделях пошкоджень головного мозку. Дійсно, доклінічна робота домінує в поточних дослідженнях. Тим не менше, дослідження дає важливі дані про ефективність і механізм, які припускають ключову роль червоної малини в зниженні ризику метаболічних хронічних захворювань, особливо ССЗ, ЦД2 і хвороби Альцгеймера, що вимагає подальших досліджень на людях.

1.5 Хімічний склад малини звичайної

Проаналізувавши літературні дані щодо хімічного складу малини звичайної, з'ясували що основним об'єктом її хімічного вивчення є листя. Зі 120 речовин, виявлених у всіх органах, 71 речовина виявлена в листі, здебільшого фенольної природи.

Із плодів малини ідентифіковано 66 речовин: в основному вуглеводи, цукри, поліцукри, органічні і жирні кислоти, антоціани та ін. Пагони і корені досліджені епізодично.

Зведені дані щодо хімічного складу малини звичайної наведено у табл. 1.13.

Таблиця 1.13

Хімічний склад вегетативних і регенеративних органів малини звичайної

| Об'єкт Речовина | Плоди | Листя | Стебла | Корені |
|------------------------------|-------------|-------|--------|--------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Тетратерпеноїди | | | | |
| Каротин | [46] | | | |
| Стероїди | | | | |
| Фітостерини сума | | | | [50] (0,7 %) |
| β-ситостерин | [60], [183] | [50] | [50] | [50] |
| Стигмастерин | [60], [183] | | | |
| Кампестерин | [60], [183] | | | |
| Леткі речовини (ефірна олія) | | | | |
| Терпени | | | | |
| α-пінен | [60] | | | |
| α-філандрен | [60] | | | |

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------------------------------------|------|--------------------------|---------------|---------------|
| Лимонен | [60] | | | |
| Сабінен | [60] | | | |
| Гумулен | [60] | | | |
| 1-гексенол | [60] | | | |
| Ліналоол | [60] | | | |
| Гераніол | [60] | | | |
| Етанол | [60] | | | |
| Ізоаміловий спирт | [60] | | | |
| Фенілетиловий спирт | [60] | | | |
| Цимол | [60] | | | |
| Євгенол | [60] | | | |
| Альдегіди | | | | |
| Бензальдегід | [60] | | | |
| Гексеналь | [60] | | | |
| Бензилацетат | [60] | | | |
| Кетони | | | | |
| Ацетон | [60] | | | |
| Іюнон | [60] | | | |
| Терпени | | | | |
| Тритерпени | | | | |
| Сапоніни | | [275] | | |
| Урсолова кислота | | [50] | [50] | [50] |
| Олеанолова кислота | | [50] | [50] | [50] |
| Ароматичні тритерпени (токофероли) | | | | |
| α_1 -токоферол | | [50] | [50] | [50] |
| α_2 -токоферол | | [50] | [50] | [50] |
| γ -токоферол | | [50] | [50] | [50] |
| Δ -токоферол | | [50] | [50] | [50] |
| β -ситостерин | | | | [50] |
| Полісахариди, цукри | | | | |
| Спирторозчинні полісахариди | | [50] (11,9 %) | [50] (6,0 %) | [50] (3,6 %) |
| Водорозчинні полісахариди | | [50] (7,7 %) | [50] (1,0 %) | [50] (1,3 %) |
| Пектини | | [50] (6,5 %) | [50] (2,5 %) | [50] (1,9 %) |
| Геміцелюлоза | | [50] (37,9 %) | [50] (35,3 %) | [50] (19,7 %) |
| Аскорбінова кислота | [46] | [46], [60] (300 мг %) | | |

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--------------------------|--------------------------|----------------------------|---|---|
| Глюкоза | [44], [61] (до 4,3 %) | | | |
| Фруктоза | [44], [61] (до 8 %) | | | |
| Сахароза | [44], [61] (до 6,5 %) | | | |
| Пектинові речовини | [46], [55] | | | |
| Органічні кислоти | | | | |
| Сума органічних кислот | [46], [55] (1,36-2,09 %) | | | |
| Лимонна | [46], [55] | | | |
| Яблучна | [46], [55] | | | |
| Саліцилова | [46], [55] | | | |
| Винна | [46], [55] | | | |
| Молочна | | [46], [60] | | |
| Бурштинова | | [46], [60] | | |
| Мурашина | [46], [55] | | | |
| Капронова | [46], [55] | | | |
| Оцтова | [60] | | | |
| Пропіонова | [60] | | | |
| Гексанова | [60] | | | |
| Октанова | [60] | | | |
| Деканова | [60] | | | |
| Δ-гексалактон | [60] | | | |
| γ-окталактон | [60] | | | |
| δ-декалактон | [60] | | | |
| Поліфеноли | | | | |
| Галотаніни | [60], [183] | | | |
| Елаготаніни | [60], [183] | | | |
| Катехіни | [60] | [153], [201], [169], [176] | | |
| Епікатехін | [60] | [153], [201], [169], [176] | | |
| Педункулагін | | [245] | | |
| Сангвінін Н ₂ | | [245] | | |
| Сангвінін Н ₆ | | [245] | | |
| Ламбертіанін С | | [245] | | |
| Ламбертіанін D | | [245] | | |
| 1-β-О-галоїлпедункулагін | | [245] | | |

| Проціанідини олігомери (конденсуванням) | | | | |
|--|----------------------------------|--------------------------------------|------|------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| B ₄ | | [245] | | |
| B ₅ | | [245] | | |
| B ₈ | | [245] | | |
| G | | [245] | | |
| Антоціани | | | | |
| Ціанідин-3-глюкозид | [153] | | | |
| Ціанідин-3-софорозид | [153] | | | |
| Ціанідин-3-рутинозид | [153] | | | |
| Ціанідин-3- α - глюкозилрутинозид | [153] | | | |
| Пеларгонідин-3- глюкозид | [153] | | | |
| Пеларгонідин-3 α - глюкозилрутинозид | [153] | | | |
| Жирні кислоти | | | | |
| Монодеканова (с10) | | [50] | [50] | [50] |
| Лауринова (с12) | | [50] | [50] | [50] |
| Міристинова (с14) | | [50] | [50] | [50] |
| Пальмітинова (с 16) | | [50] | [50] | [50] |
| Гептадеканова (с17) | | [50] | [50] | [50] |
| Стеаринова (с 18) | | [50] | [50] | [50] |
| Олеїнова (с 18/1) | | [50] | [50] | [50] |
| Лінолева (с 18/2) | | [50] | [50] | [50] |
| Ліноленова (с18/3) | | [50] | [50] | [50] |
| Фенолкарбонові кислоти с6-с3 | | | | |
| Неохлорогенова | | [50] | [50] | |
| Хлорогенова | | [50] | [50] | [50] |
| Кофейна | [23], [44], [46], [183], [50] | [23], [60], [253], [245], [50] | [50] | [50] |
| <i>n</i> -кумарова | [23], [44], [46], [183], [50] | [23], [60], [253], [245] | | |
| Ферулова | [23], [44], [46], [183], [50] | [50] | [50] | |
| Гентизинова | [23], [44], [46], [183], [50] | [23], [60], [253], [245] | | |

| Фенолкарбонові кислоти с6-с1 | | | | |
|------------------------------|----------------------------------|--|------|------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| <i>n</i> -гідроксибензойна | [23], [44], [46], [183], [50] | | | |
| Прокротехова | [23], [44], [46], [183], [50] | | | |
| Галова | | [23], [60], [253], [245], [50] (0,065 %) | [50] | [50] |
| Елагова | | [23], [50] (5 %) [201] (2,07-4,11 %) | [50] | [50] |
| Ванілінова | | [23], [60], [253], [245] | | |
| Флаваноїди | | | | |
| Гіперозид | [55], [194] | [50], [153], [169], [201], [176] | | |
| Ізокверцетин | [55], [194] | [50], [153], [169], [201], [176] | | |
| Астрагалін | [55], [194] | [50], [153], [169], [201], [176] | [50] | |
| Кемпферол | [55], [194] | [50], [153], [169], [201], [176] (0,18-0,3 %) | | |
| Кверцетин | [55], [194] | [50], [153], [169], [201], [176] (0,2-0,32 %) | | |
| Гілірозид | [55], [194] | [50], [153], [169], [201], [176] | | |
| Рамнозид кемпферолу | | [50], [153], [169], [201], [176] | | |
| Глюкозид кверцетину | [23], [170], [194] | | | |

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-----------------------|--------------------|------|------|------|
| Глюкоронід кверцетину | [23], [170], [194] | | | |
| Рутин | | [50] | [50] | [50] |
| Кверцетрин | | [50] | | |
| Амінокислоти | | | | |
| Аспарагін | | [50] | [50] | [50] |
| Треонін | | [50] | [50] | [50] |
| Серин | | [50] | [50] | [50] |
| Глутамінова кислота | | [50] | [50] | [50] |
| Пролін | | [50] | [50] | [50] |
| Гліцин | | [50] | [50] | [50] |
| Аланін | | [50] | [50] | [50] |
| Валін | | [50] | [50] | [50] |
| Метіонін | | [50] | [50] | [50] |
| Ізолейцин | | [50] | [50] | [50] |
| Лейцин | | [50] | [50] | [50] |
| Тирозин | | [50] | [50] | [50] |
| Фенілаланін | | [50] | [50] | [50] |
| Гістидин | | [50] | [50] | [50] |
| Цистин | | [50] | [50] | [50] |
| Лізін | | [50] | [50] | [50] |
| Аргінін | | [50] | [50] | [50] |

Каротиноїди, тетратерпени представлені в плодах β -каротином (± 12 мкг/100 г), α -каротином (16 мкг/100 г), лютеїн із зеаксантином (136 мкг/100 г), які відповідають за захист плодів від окиснення.

Вітамін Е, токофероли представлені в чотирьох формах в листі ($\alpha 1$ -, $A 2$ -, γ -, δ -токофероли) і два в плодах ($\alpha 1$ -, $A 2$ -токоферол) у кількості 0,87 мг/100 г. Ароматичні тритерпени володіють вазорелаксувальними й антиоксидантними властивостями, інгібують протеїнкази, впливають на імунну систему. З ароматичних терпенів слід відзначити наявність у плодах вітаміну К – філохінону (7,8 мкг/100 г).

У листі виявлено два сапоніни, урсолову й олеанолову кислоти, що належать до пентациклічних тритерпенів, підсилюють функції В-клітин підшлункової залози, пригнічують НК-кВ, контролюють експресію генів імунної відповіді, виявляючи таким чином протипухлинну і противірусну дію.

Фітостерини (β -ситостерин, стигмастерин, стероїдні спирти) є структурними компонентами клітинної мембрани плодів. Стерини можуть знижувати концентрацію холестерину в крові людини, оборотно пригнічувати сперматогенез.

Леткі речовини плодів малини звичайної представлені 18 сполуками (вуглеводними і фенольними), що мають різні ступені окиснення (спирти, альдегіди, кетони).

Ациклічні монотерпени: ліналоол, геранеол.

Циклічні монотерпени: феландрел, лімонен.

Біциклічні монотерпени: α -пінен, сабіна.

Моноциклічні: гілеулон.

Ароматичні монотерпени: цимол.

Фенольні сполуки представлені похідними (С6-С1, С6-С2, С6-С3): фенілметану бензальдегід, фенілетану бензилацетат і фенілетиловий спирт, фенілпропілену евгенол.

Аліфатичні: етанол, ізоаміловий спирт, гексенал, бензилацетат, ацетон.

Шестиатомний спирт інозитол виявлений у листі малини.

Листя, стебла і корені вивчалися на вміст спирторозчинних полісахаридів (11,9, 6,0, 3,6 % відповідно), водорозчинних полісахаридів (7,7, 1, 1,3 % відповідно), гемацелюлози (37,9, 35,3, 19,7 % відповідно), пектинів (6,5, 2,5, 1,9 % відповідно), що додатково досліджувалися в плодах.

Мажорними цукрами плодів малини стали глюкоза – до 4,3 %, фруктоза – до 8 %, сахароза – 6,5.

Органічні кислоти плодів представлені у вигляді ефірів моно-, ди, трикарбонних кислот. Лактони (γ - і δ -гексалактон, γ -оксалактон, δ -декалактон) і аскорбінова кислота ідентифіковані в ягодах малини.

До трикарбонних кислот належить лимонна; до дикарбонних – яблучна, винна, бурштинова, гідроксикарбонна, молочна; до монокарбонних – мурашина й оцтова і жирні кислоти: капронова (гексанова), октанова (каприлова), деканова (капринова). У листі, стеблах, коренях були ідентифіковані жирні кислоти: деканова, лауринова, міристинова, пальмітинова, гептадеканова, лінолева, ліноленова.

Азотовмісні речовини виявлені в малині звичайній: четвертинні аміни, амідни, похідні піперидину й амінокислот, разом 20 сполук.

Із листя малини був виділений холін (Віт. В₄), що є ліпотропним і гепатопротекторним засобом, регулятором рівня інсуліну в крові. Пантотенова кислота (В₅), амід пантотенової кислоти й аланіну, входить до складу КоА, використовують у медицині для усунення атонії шлунково-кишкового тракту та порушення обміну речовин. Рибофлавін (В₂, лактоферин), похідні піперидину, ізоалоксазину з рибітом використовують у медицині при діабеті, гепатиті і різних дерматитах.

У листі, стеблах і коренях було ідентифіковано 17 амінокислот: серин, глутамінова кислота, аспарагін, треонін, пролін, гліцин, аланін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, тирозин, фенілаланін, гістидин, цистеїн, лізин, аргенін.

Фенольні сполуки в малині звичайній представлені простими фенолами та їх полімерами (дубильними речовинами): галотаніни й елаготаніни, гідроксикоричні кислоти і фенілпропаноїдні похідні антоціанів, катехинів і флавоноїдів. Ці сполуки вивчалися в плодах, листках і коренях. Загалом було ідентифіковано три десятки сполук у різних органах малини звичайної, найбільш вивченим, що привернуло увагу дослідників, стало листя малини.

Катехін і епікатехін отримані як з плодів, так і з листя. Елаго- і галотаніни, педункулагін, сангвінін Н₂, сангвінін Н₅, ламбертіанін С, ламбертіанін Д, 1- β -о-гало- і педункулагін виявлені в листі малини.

Антоціани ідентифіковані в плодах: ціанідин-3-глюкозид, ціанідин-3-софорозид, ціанідин-3-рутинозид, ціанідин-3-а-глюкозилрутинозид, пеларгонідин-3-глюкозид, пеларгонідин-3-а-глюкозирутинозид.

Володіючи оригінальним поліфенольним комплексом, особливістю якого є вміст антоціанів, елаготанінів і флавоноїдів, антоціани відповідають за червоний колір малини. Вони підрозділяються на антоціани, в основі яких лежить ціанідин і пеларгонідин. Вміст антоціанів коливається у межах ($92,1 \pm 19,7$ мг/100 г) свіжих ягід у співвідношенні 32 : 1 ціанідину до пеларгонідину. Антиоксидантна активність ягід на 25 % залежить від антоціанів.

n-Гідроксибензойна і протокатехова кислоти виявлені в плодах. Інші похідні бензойної кислоти (галова, ванілінова) виявлені в листі, галоїди – додатково в стеблах і коренях малини.

Після гідролізу в листі і плодах малини були ідентифіковані похідні фенілпропанової кислоти (ферулова, кофейна, *p*-кумарова, гентизинова). Кофейна додатково була ідентифікована в стеблах і коренях, а ферулова – в стеблах.

Флавоноїди представлені у вегетативних та генеративних органах у вигляді флаваноїдів і флавонолів.

Кверцетин, тилірозид, глюкозид кверцетину, глюкоронід кверцетину, гіперозид, ізокверцетин, кемпферол, астрагалін були виявлені в плодах малини звичайної.

Листя малини містить 9 речовин флавонолової природи: кверцетин, тилірозид, рамнозид кемпферолу, кверцетрин гіперозид, ізокверцетин, кемпферол.

Астрагалін і рутин ідентифіковані не тільки в листі, але й у стеблах, а рутин – ще і в коренях.

Останнім часом в літературних джерелах з'являється все більше даних, що свідчать про фармакологічну активність фенольних сполук. Дослідження в галузі фармакогнозії і фармакології дозволяють визначити зв'язок «структури – дія» біологічно активних речовин плодів малини звичайної.

1.6 Напрямок розвитку культивування малини у світі

Вітчизняний продукт відносно недавно вийшов на світовий ринок (ягідному бізнесу в Україні не більше 8 років) і поступово почав займати свою нішу. За статистикою, українські компанії виготовляють близько 130 тис. тонн ягідних плодів на рік, що становить 1,5 % від реалізованої у світі ягідної продукції. Це, небагато, проте, якщо врахувати початкову стадію розвитку цього типу виробництва, результат більш ніж хороший. Тим більше, що конкуренцію українському продукту на світовому ринку складають ягоди, вирощені в Китаї, США і країнах ЄС [3].

Ученими було проведено дослідження, яке показало, що динаміка ринку свіжих ягід в Україні носить двоїстий характер. Із одного боку, проходить активна інформаційна кампанія, що спрямована на популяризацію як використання свіжої здорової їжі, так і управління ягідного бізнесу, в результаті чого ринок активно розвивається. Розвитку ягідного ринку також може сприяти зростаючий ринок переробки ягід як продукції з високою доданою вартістю і можливістю експорту [3]. З іншого боку, внаслідок економічної кризи значно знизився рівень реальних доходів і купівельної спроможності населення, відбувається девальвація гривні, криза кредитування і сезонний характер бізнесу, все це негативно відбивається на потенціалі інвестицій у галузь. Крім того, на окремі сегменти ринку впливають ще деякі тенденції, характерні для них. Сегмент продуктів ягідної переробки розвивався різноспрямовано. Це пов'язано з тим, що вони являють собою напівфабрикати для подальшого виробництва продуктів. Замороження плодів здійснюється для переробки в осінньо-весняний період, коли немає доступу до потрібних ресурсів, виробництво пюре прив'язане до виробництва різних наповнювачів, дитячого харчування тощо, а концентрати в основному використовуються для виробництва соків [3].

Висновки до розділу 1

1. Аналіз літературних джерел показав, що малина звичайна належить до найпоширеніших у світі видів і культивується майже в усьому світі, зокрема й в Україні, а отже, має велику сировинну базу. Проаналізувавши доступну нам літературу, дійшли таких висновків: що плоди малини звичайної, її екстракти та їх компоненти, досліджені як *in vivo*, так і *in vitro*, володіють протизапальною, антиоксидантною, метаболічною активністю. Вони можуть використовуватися для зниження розвитку атеросклерозу, гіпертонії, поліпшення ліпідних профілів, у лікуванні діабету 2 типу, для профілактики хвороби Альцгеймера. У народній медицині України плоди застосовують для лікування респіраторних захворювань, тонзилітів, ангіни, стоматитів різної етіології. На сучасному фармацевтичному ринку з малини звичайної випускається низка продуктів, але в основному це комплексні чаї та косметичні засоби.

2. На основі аналізу наукових першоджерел можна зробити висновок, що дані про хімічний склад продуктів переробки плодів малини звичайної і використання в медицині як протимікробного, протигрибкового, імуномодулювального засобу в науковій літературі практично відсутні. Назріла необхідність проведення поглибленого фітохімічного та фармакологічного дослідження продуктів переробки плодів малини звичайної. У Національному фармацевтичному університеті були досліджені фармакологічна дія та склад листя малини, плоди не вичалися.

3. Фітохімічне дослідження екстрактів, отриманих із плодів малини, поширеної і культивованої в Україні рослини, і створення на їх основі фітотерапевтичних фармакологічно активних субстанцій є актуальним завданням.

РОЗДІЛ 2. ВІДОМОСТІ ПРО ОБ'ЄКТИ, ПРИЛАДИ, МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИКИ І РЕАКТИВИ

Об'єктами дослідження були зразки плодів малини звичайної (*Rubus idaeus* L.), заготовлені протягом 2016-2017 рр. Сировина заготовлялась на території Харківської (с. Чемужовка Зміївського району та с. Тернова Харківського району) та Донецької областей. Досліджувались сорти Феномен, Фенікс та безсортіві зразки сировини.

Для хроматографування застосовували різні марки паперу Filtrak (FN 1, 3, 7, 14), а також пластинки Silufol UV-254, Silufol UV-366 та Sorbfil – ПТСХ-А-УФ, Merck Silica gel F₂₅₄.

У хроматографічних дослідженнях використовували методи висхідної і низхідної одномірної, двомірної і багаторазової хроматографії на папері та хроматографії в тонкому шарі сорбенту. Результати досліджень і значення R_f на хроматограмах є середніми величинами 5 визначень.

Упарювання екстракту проводили за допомогою роторного випарювача RV 10 CONTROL V.

Сировину зважували на аналітичних вагах Radwag AS 220.R2 і вагах лабораторних ТВЕ-1-0,01

Для екстракції сировини використовували метод мацерації.

Коефіцієнт поглинання розраховували згідно з настановою «Вимоги до виготовлення нестерильних лікарських засобів в умовах аптек» СТ-Н МОЗУ 42-4.5:2015.

Розчинники для приготування хроматографічних систем використовували кваліфікації ч.д.а. або х.ч.; співвідношення розчинників, позначені цифрами, взяті в об'ємних одиницях. Для хроматографування використовували такі системи розчинників:

№ 1 – 2 % кислота оцтова;

№ 2 – н-бутанол – оцтова кислота – вода (4 : 1 : 2);

№ 3 – 15 % кислота оцтова;

№ 4 – ацетон – н-бутанол – оцтова кислота – вода (7 : 2 : 2 : 2).

На хроматограмах речовини виявляли до і після обробки різними реактивами за забарвленням у денному світлі та за флуоресценцією в УФ–світлі за довжини хвилі 365 і 254 нм:

А – парами аміаку;

Б – 10 % спиртовим розчином калію гідроксиду;

В – 2 % спиртовим розчином алюмінію хлориду;

Г – бутанольним розчином анілінфталату;

Д – 1 % розчином заліза (III) хлориду;

Е – 0,1 % розчином нінгідрину в етанолі.

2.1 Визначення сухого залишку

Визначення сухих залишків в екстрактах з висушених плодів малини звичайної проводили згідно з ДФУ 2.8.16 [21].

5,0 мл рідкого екстракту поміщали у зважений бюкс, випаровували на водяній бані та сушили за температури від 100 до 105 °С протягом 3 год. Бюкс охолоджували в ексикаторі за кімнатної температури протягом 30 хв та зважували.

Вміст сухого залишку (%) у зразках рідких екстрактів, одержаних при певному співвідношенні «сировина : екстракт», обчислювали за формулою 2.1:

$$\omega = \frac{m_3 \cdot 100}{V_a}, \quad (2.1)$$

де m_3 – маса сухого залишку після висушування аліквоти зразка рідкого екстракту, г;

V_a – об'єм аліквоти зразка рідкого екстракту, мл.

Вихід екстрактивних речовин D (%) з екстрагованої рослинної сировини на стадії обчислювали за формулою:

$$D = \frac{\omega \cdot V}{m_c}, \quad (2.2)$$

де V – загальний об'єм одержаного екстракту, мл;

ω – сухий залишок в одержаному екстракті, %;

m_c – маса рослинної сировини, використаної для екстрагування, г.

2.2 Визначення кількісного вмісту похідних гідроксикоричних кислот

Вміст похідних гідроксикоричних кислот визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на хлорогенову кислоту [36]. Максимум поглинання РСЗ хлорогенової кислоти виявляється за довжини хвилі 327 нм, тому вимірювання проводили за цієї довжини.

1,0 мл екстракту (точна наважка) поміщали у мірну колбу місткістю 25,0 мл, доводили об'єм розчину етанолом (20 %, об/об) до позначки та перемішували. 1,0 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 10,0 мл, доводили об'єм розчину етанолом (20 %, об/об) до позначки та фільтрували.

Вимірювали оптичну густину одержаного розчину. Паралельно 0,05 г (точна наважка) хлорогенової кислоти поміщали у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняли в етанолі (20 %, об/об), доводили об'єм розчину тим самим розчинником до позначки. 1,0 мл одержаного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 50,0 мл, доводили об'єм етанолом (20 %, об/об) до позначки, перемішували та вимірювали оптичну густину одержаного розчину в таких самих умовах, що і досліджуваного розчину. Розчином порівняння був етанол (20 %, об/об).

Вміст суми похідних гідроксикоричної кислоти в екстракті у перерахунку на хлорогенову кислоту (у відсотках) обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a_1 \cdot 100 \cdot 1 \cdot 50 \cdot (100 - w)}, \quad (2.3)$$

де A_1 – оптична густина досліджуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину ДСЗ кислоти хлорогенової;

a_1 – наважка сировини (екстракту), г;

a_0 – наважка ДСЗ кислоти хлорогенової, г;

w – втрата в масі при висушуванні, %.

Примітка. Приготування розчину ДСЗ кислоти хлорогенової. Близько 0,05 г (точна наважка) кислоти хлорогенової (ДСТ 6-09-14-66) вносять у мірну колбу ємністю 100 мл, розчиняють у розчині 20 % спирту етилового, доводять об'єм розчину тим же розчинником до мітки і перемішують.

2.3 Визначення кількісного вмісту суми фенольних сполук спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту

Вміст суми фенольних сполук визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту, оскільки вона є їх основним компонентом [36]. Максимум поглинання РСЗ галової кислоти відбувається за довжини хвилі 214 та 270 нм. Виміри доцільніше проводити за довжини хвилі 270 нм, оскільки при цьому вплив супутніх речовин на результати вимірювання менший.

1,0 мл екстракту поміщали у мірну колбу ємністю 25,0 мл, доводили об'єм 40 % етиловим спиртом до мітки та перемішували. 1,0 мл отриманого розчину вносили у мірну колбу ємністю 10,0 мл та доводили об'єм тим же розчинником до мітки. Перед виміром оптичної густини розчини фільтрували. Як розчин порівняння використовували 40 % спирт етиловий.

Вміст суми фенольних сполук (X) у перерахунку на кислоту галову, обчислювали (у відсотках) за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 25 \cdot 50 \cdot w}{540 \cdot 1 \cdot 4}, \quad (2.4)$$

де A – оптична густина випробовуваного розчину;

540 – коефіцієнт питомого поглинання розчину кислоти галової у 40 % спирті за довжини хвилі 270 нм;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

2.4 Визначення кількісного вмісту антоціанів спектрофотометричним методом у перерахунку на ціанідин-3,5-диглікозид

1 мл екстракту (точна наважка) поміщали у колбу місткістю 250 мл, додавали 100 мл 1 % розчину соляної кислоти, колбу витримували на водяній бані за температури 40-45 °С протягом 15 хв. Витяжку фільтрували крізь вату в мірну колбу місткістю 250 мл. Вату знову поміщали в колбу, додавали 100 мл 1 % розчину соляної кислоти, попередньо змиваючи з лійки в колбу, і повторювали екстрагування зазначеним вище способом. Потім вміст колби фільтрували крізь вату в ту саму мірну колбу. Після охолодження фільтрату доводили об'єм витяжки 1 % розчином хлористоводневої кислоти до мітки. Отриману витяжку фільтрували крізь паперовий фільтр у колбу місткістю 250 мл, відкидаючи перші 10 мл фільтрату, і вимірювали оптичну густина фільтрату на спектрофотометрі за довжини хвилі 510 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Як розчин порівняння використовували 1 % розчин соляної кислоти.

$$x = \frac{A_1 \cdot 1,5 \cdot 25 \cdot 100}{453 \cdot w \cdot 100}, \quad (2.5)$$

де A_1 – оптична густина досліджуваного розчину;

w – втрата в масі при висушуванні екстракту, %.

2.5 Дослідження на мікробіологічну чистоту

Для дослідження на мікробіологічну чистоту використовували такі поживні середовища:

1. Соєво-казеїновий бульйон («Himedia Laboratorles Pvt. Ltd India»).
2. Соєво-казеїновий агар («Himedia Laboratorles Pvt. Ltd India»).
3. Тіогліколеве середовище для контролю стерильності («Himedia Laboratorles Pvt. Ltd India»).

Для *Candida albicans* використовували Сабуро-декстрозний агар «Himedia Laboratorles Pvt. Ltd India».

Середовища готували відповідно до вимог виробника (кількість порошку на літр, рН середовища, умови автоклавування тощо) Кожна серія, яка використовувалася в експерименті, перевірялася на ростові якості відповідно до нормативних документів. Для проведення випробувань препаратів на мікробіологічну чистоту використовували такі середовища: середовище Чистовича, кров'яний агар на основі соєво-казеїнового агару, середовище Ендо.

Перед дослідженням на мікробіологічну чистоту проводили випробування на відповідність ростових властивостей живильних середовищ. Живильні середовища інокулювали невеликою кількістю відповідних тест-штамів мікроорганізмів (10 - 10^2 колонієутворювальних одиниць на мл середовища – КУО/мл).

На Сабуро-декстрозний агар засівали дріжджоподібні гриби роду *Candida*, на соєво-казеїновий агар – *Pseudomonas aeruginosa* і *Bacillus subtilis*, на середовище Чистовича – *Staphylococcus aureus*, на середовище Ендо – *Escherichia coli*. Живильні бульйони (соєво-казеїновий і тіогліколевий) витримували в термостаті за температури 35 °C протягом трьох діб. Вимоги до середовищ наведені в табл. 2.1.

За даними табл. 2.1, усі культури мікроорганізмів відповідали таксономічному позначенню штаму, а морфологія колоній у разі культивування на середовищах і морфологія клітин у разі мікроскопії були типовими. Живильні бульйони

(соєво-казеїнове і тіогліколеве середовище) відповідали вимогам на стерильність: ріст мікроорганізмів був відсутній, середовище прозоре.

Таблиця 2.1

Вимоги до середовищ

| Тест-штами | Живильні середовища | Умови культивування | | Висновок |
|--|---|---------------------|--------------------------|------------------------------------|
| | | температура | експозиція культивування | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | Чистовича | 35 °С | 24-72 год | Морфологія колоній і клітин типова |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | Ендо | 35 °С | 24-72 год | Морфологія колоній і клітин типова |
| <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 | Соєво-казеїновий агар | 35 °С | 24-72 год | Морфологія колоній і клітин типова |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 | Соєво-казеїновий агар | 35 °С | 24-72 год | Морфологія колоній і клітин типова |
| <i>Candida albicans</i> ATCC 885/653 | Сабуро-декстрозний агар | 25 °С | 24-120 год | Морфологія колоній і клітин типова |
| х | Тіогліколеве середовище для контролю стерильності | 35 °С | 24-72 год | Ріст мікроорганізмів відсутній |
| х | Соєво-казеїновий агар | 35 °С | 24-72 год | Ріст мікроорганізмів відсутній |

Примітка: х – мікроорганізми не засівали.

Випробування на мікробіологічну чистоту проводили методом прямого посіву на рідкі поживні середовища. Розливали стерильно в пробірки соєво-казеїновий бульйон, тіогліколеве середовище і рідке середовище Сабуро по 10,0 мл. У кожному з пробірок вносили по 1 мл (1 г), 0,1 мл (0,1 г) і 0,01 мл (0,01 г) випробовуваного препарату. Посіви інкубували протягом 14 днів на соєво-

казеїновому бульйоні, тіогліколевому середовищі в термостаті за температури 35 °С, посіви – на рідкому середовищі Сабуро за температури 25 °С. Нейтралізацію антибактеріальних властивостей досліджуваних зразків проводили за допомогою інактиваторів, які містять полісорбат-80 (30 г/л) і лецитин (3 г/л).

У дослідженні методом глибокого посіву, який полягає в додаванні препарату розведеного 1 : 10 на фосфатному буферному розчині з натрію хлоридом рН 7,0 у кількості 0,1 мл (0,1 г) на агар, і поверхневого посіву (1 г) – на агар визначали кількість життєздатних клітин мікроорганізмів і грибів.

Критерієм оцінки антибактеріальної ефективності консервантів вважається зменшення числа життєздатних колоній клітин мікроорганізмів за певний період після контамінації. Відповідно до вимог ДФУ в препаратах для місцевого застосування логарифм зменшення числа життєздатних колоній бактерій через 2 доби має бути не менше 2-х, через 7 діб – не менше 3-х, у подальшому число життєздатних клітин бактерій не має збільшуватися. Логарифм зменшення числа життєздатних клітин грибів за 14 діб має становити не менше 2-х. Ці показники відповідають критерію «А». Відповідно до критерію «В» у препаратах для місцевого застосування логарифм кількості життєздатних колоній за 14 діб має становити не менше 3-х, у подальшому число життєздатних колоній не має збільшуватися. Логарифм зменшення числа життєздатних грибів за 14 діб має становити не менше 1 і в подальшому не має збільшуватися. Після контамінації мікроорганізмами зразок висівали на агар для визначення числа життєздатних клітин. Відсутність зростання на агарі або незбільшення кількості колоній після 14 днів інкубації вказувало на те, що препарат відповідає вимогам ДФУ. Наявність життєздатних клітин мікроорганізмів і грибів на 28 добу дослідження свідчить про те, що препарат не відповідає критеріям «А» чи «В» і вимогам ДФУ.

2.6 Дослідження на антибактеріальну активність

Для оцінки активності препаратів використовували такі тест-штами мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653.

Приготування мікробної суспензії мікроорганізмів проводили з використанням приладу Densi-La-Meter («PLIVA-Lachema», Чехія; довжина хвилі 540 нм). Суспензію готували згідно з інструкцією, що додається до приладу, й інформаційним листом про нововведення в системі охорони здоров'я № 163-2006 «Стандартизація, приготування мікробних суспензій» (м. Київ). Синхронізацію культур проводили за низької температури (4 °С). Мікробне навантаження становило 10^7 мікробних клітин на 1 мл середовища, що визначалося за стандартом McFarland. Для досліджень брали 18-24-годинну культуру мікроорганізмів; використовували агар Мюллера-Хінтона («Himedia Laboratorles Pvt. Ltd», India), для *Candida albicans* – агар Сабуро-декстрозний («Himedia Laboratorles Pvt. Ltd», India).

Дифузю препаратів в агар проводили методом «колодязів». Визначення активності антибактеріальних препаратів проводили на двох шарах густого поживного середовища, розлитого в чашки Петрі. У нижньому шарі використовували «голодні» (не засіяні) середовища (агар-агар, вода, солі). Нижній шар являє собою підкладку з 10 мл «голодного агару», на яку чітко горизонтально встановлюють 3-6 тонкостінних циліндрів з нержавіючої сталі діаметром 8 мм і висотою 1 мм. Навколо циліндрів заливали верхній шар, що складається з живильного агаризованого середовища, розплавленого та охолодженого до 40 °С, куди вносили відповідний стандарт добової культури тест-мікроба. Верхній шар попередньо добре перемішували до утворення однорідної маси. Після застигання циліндри стерильним пінцетом витягували і в лунки, що утворилися, поміщали випробовувані розчинені речовини (1 : 10) з урахуванням їх об'єму (0,3 мл).

Об'єм середовища для верхнього шару коливався від 14 до 16 мл. Чашки підсушували протягом 30-40 хв за кімнатної температури і ставили в термостат на 18-24 години.

При вивченні нових антибактеріальних речовин і антибіотикостійких штамів застосовують такі критерії:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони затримки до 10 мм свідчать, що мікроорганізм не чутливий до внесеного в лунку препарату або концентрації антибіотика;
- зони затримки росту діаметром 10-15 мм свідчать про малу чутливість культури до випробовуваної концентрації антибактеріальної речовини;
- зони затримки росту діаметром 15-25 мм розцінюються як показник чутливості мікроорганізму до випробовуваного лікарського засобу (ЛЗ);
- зони затримки росту, діаметр яких перевищує 25 мм, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваних препаратів.

2.7 Дослідження на противірусну активність

Вивчення дезінфекційної активності препарату «Екстракт малини» проводили на моделі штаму аденовірусу 5 типу, який є резистентним до дії фізико-хімічних факторів навколишнього середовища, та вірусу грипу А(H1N1)pdm2009. Аденовірус використовували в робочій концентрації 10^{-5} TCID_{50/мл} і культивували на перещеплюваній культурі клітин HEp-2. Вірус грипу використовували в робочій концентрації 10^{-7} TCID_{50/мл} і культивували на культурі клітин MDCK. Дослідження здійснювали згідно з методичними рекомендаціями «Визначення віруліцидної активності дезінфікуючих засобів», затвердженими наказом МОЗ України від 08.04.2009 р. № 231.

Оскільки щодо препарату, який досліджувався, специфічні нейтралізатори для виключення його токсичної дії на культуру клітин невідомі, досліді

проводили з використанням батистових тест-об'єктів з наступним їх дворазовим промиванням у стерильній дистильованій воді.

Для визначення віруліцидної активності нерозведеного препарату «Екстракт малини» із застосуванням батистових тест-об'єктів (клаптики батисту розміром 1 x 0,5 см), їх поміщали у стерильну чашку Петрі і заливали рідиною, що містить 10^{-5} TCID_{50/мл} штаму аденовірусу 5 типу, з розрахунку 0,1 мл рідини на тест-об'єкт. Через 20 хв тест-об'єкти підсушували стерильним фільтрувальним папером у термостаті за 37 °С, після чого використовували у досліді. Тест-об'єкти можуть бути використані у досліді протягом 3 діб, якщо вони зберігаються в холодильнику за температури -4 °С. Використовували нерозведений препарат з розрахунку 1,0 мл розчину на кожний тест-об'єкт у відповідних експозиціях (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Використані експозиції досліджуваного засобу

| Препарат | Концентрації за препаратом | Експозиції |
|-----------------|----------------------------|------------|
| Екстракт малини | Нерозведений | 30 с |
| | | 1 хв |
| | | 2 хв |
| | | 5 хв |

Для приготування вірусомісної рідини клітини культури з повною цитопатичною дією, яка викликана аденовірусом 5 типу, тканини з культуральною рідиною переносили у стерильні пробірки, заморожували, а потім розморожували. Далі центрифугували зі швидкістю 3000 об/хв протягом 10 хв. Надосадову рідину відбирали та використовували у досліді. Перед використанням вірусу в досліді методом Ріда-Менча визначали титр вірусомісної рідини.

У робочі розчини занурювали інфіковані тест-об'єкти з розрахунку 5 штук на кожну експозицію. Через зазначений час (згідно з кожною експозицією)

діставали по 5 тест-об'єктів, двічі промивали у стерильній дистильованій воді, потім стерильною петлею переносили у пробірку зі скляними намистинками і розчином Хенксу. Струшували тест-об'єкти протягом 10 хв і цією рідиною заражали культуру клітин.

Крім того, для досліджуваного препарату «Екстракт малини», згідно з методичними рекомендаціями «Визначення віруліцидної дії дезінфікуючих засобів», затвердженими наказом МОЗ України від 08.04.2009 р. № 231, проводили визначення віруліцидної дії для знезараження поверхонь, виготовлених із гуми.

Для росту культури клітин HEp-2 як підтримувальне використовували середовище 199, середовище Ігла з подвійним набором амінокислот і додаванням 10 % ембріональної бичачої сироватки й антибіотиків. На 4-7 добу відбувалось максимальне накопичення вірусу, що супроводжувалось цитопатичною дією.

При зараженні клітин тканин HEp-2 аденовірусом 5 типу відбувається характерна їх агрегація у вигляді «виноградного грона» на фоні частково зруйнованого моношару клітин. За відсутності специфічних змін у культурі клітин вірус вважають інактивованим.

Дослідження з використанням вірусу грипу проводили на культурі клітин MDCK (епітеліальні клітини нирки собаки), одержаній із Центру з контролю за хворобами (CDC, Атланта, США), що є високочутливою до вірусів грипу. Для уведення культури клітин використовували середовище росту на основі культурального середовища DMEM з додаванням 5 % телячої ембріональної сироватки. Підтримувальне середовище, що використовувалось для інфікованої та вірогідно інфікованої культури клітин, було безсироватковим і містило телячий сироватковий альбумін (7,5 %) та очищений трипсин (T-1426) (фірма «Sigma», Німеччина).

При зараженні клітин тканини MDCK вірусом грипу з'являються характерні зміни у клітинах, що набухають, округлюються, а моношар клітин поступово руйнується.

До кожного дослідження ставили контроль: 1) на зараженість тест-об'єктів; 2) зберігання життєздатності вірусу; 3) за клітинами культури тканини. Кожен дослід виконували трикратно.

2.8 Методика аналізу складу і вмісту поліфенолів у зразках екстрактів малини

Екстракти перед аналізом фільтрували з використанням шприцевого фільтра Supelco Iso-Disc Filters PTFE 25-4 (25mm x 0,45 µm).

Аналіз екстракту проводили методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) за допомогою хроматографічної системи Prominence LC-20 Shimadzu (Японія), що складається з таких функціональних модулів: дегазатор DGU-20A3, насосний модуль LC-20AD, автосемплер-холодильник SIL-20AC, фотометричний детектор SPD-20AV, стовпчик-термостат СТО-20А, колонка Agilent Technologies Microsorb-MV-150 (оберненофазова, 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 ВЕРХ:

1. Склад рухомої фази (елюенту): метанол і 0,9 % розчин фосфорної кислоти в деіонізованій воді (реактиви Sigma-Aldrich, Німеччина).

2. Режим хроматографування – градієнтний, був розроблений для якісного поділу окремих фенольних кислот і флавоноїдів у рослинних екстрактах [9, 76]. Початкове співвідношення компонентів елюенту – 1 : 9. Вміст метанолу в елюенті в ході аналізу змінювалося за такою схемою:

- перші 13 хв – підвищення з 10 до 40 %;
- з 13 до 20 хв – підвищення від 40 до 53 %;
- с 20 до 26 хв – підвищення від 53 до 55 %;
- з 26 до 40 хв – утримування 55 %;
- з 40 до 41 хв – зниження до 10 %;
- з 41 до 56 хв – утримування 10 %.

3. Швидкість руху елюенту – 0,5 мл/хв.

4. Температура колонки – 40 °С.

5. Обсяг уведеної проби – 5 мкл.

Ідентифікацію речовин в екстракті проводили шляхом порівняння часу утримування і спектральних характеристик досліджуваних речовин з аналогічними характеристиками стандартів відповідно до способу ідентифікації поліфенолів [74], для чого хроматографування проводили за довжин хвиль 225, 255, 286 і 350 нм [64, 73, 74, 75,]. Для точної ідентифікації або визначення належності досліджуваних речовин до конкретних груп поліфенолів використовували такі стандарти: хлорогенова і кофейна кислоти (фенольні кислоти), катехін (катехіни), флавоноли мірицетин, кверцетин і рутин, флаванони нарингенін, нарингін, гесперидин і гесперетин, флавоноли лютеолін і апігенін, антоціанін ціанідин (антоціани) (Sigma-Aldrich, Німеччина). Ідентифікаційні характеристики перерахованих стандартів отримували в описаних вище умовах хроматографування. Калібрувальні залежності «площа піка – вміст стандарту» мали лінійний вигляд з точністю не нижче $r^2 = 0,994$.

Ідентифікацію головних антоціанів в екстрактах зразків малини проводили шляхом зіставлення з хроматограмами в працях [177, 215, 259].

Визначення вмісту речовин з установленою належністю до конкретних груп поліфенолів проводили з використанням стандартів, ступінь подібності з якими був найбільшим, з урахуванням хімічної форми речовини (аглікон, глікозид). Речовини, ступінь подібності яких з будь-яким стандартом був нижче 70 %, відносили до групи неідентифікованих речовин, а їх вміст визначали за стандартами, ступінь подібності з якими був найбільшим. Загальний вміст поліфенолів визначали підсумовуванням вмісту речовин, виявлених на хроматограмах у діапазоні піків флавоноїдів, нефлаваноїдів і фенольних кислот.

Дослідження методом ВЕРХ проводили на хроматографі рідинному Shimadzu LC20 Prominence в модульній системі, оснащеному чотириканальним насосом LC20AD, термостатом колонок СТО20А, автоматичним пробовідбірником SIL20А, діодно-матричним детектором SPDM20А і ChemStation LC20, за таких умов [14, 164, 171]:

- колонка Phenomenex Luna C18(2), розміром 250 × 4,6 мм, розмір частинок – 5 мкм;

- температура колонки – 35 °С;
- довжини хвиль детектування – 330 нм (для гідроксикорчних кислот, глікозидів флавоноїдів), 370 нм (для агліконів флавоноїдів), 280 нм (для дубильних речовин), 340 нм (для кумаринів);
- швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв;
- об'єм уведеної проби – 5 мкл;
- рухома фаза: елюент А: 0,1 % розчин трифторооцтової кислоти у воді; елюент Б: 0,1 % розчин трифторооцтової кислоти в ацетонітрилі;

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

Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримування та відповідністю УФ-спектрів речовинам-стандартам (табл. 2.3).

Таблиця 2.3

Результати ідентифікації компонентів за часом утримування та відповідністю УФ-спектрів речовинам-стандартам

| Сполука | Час утр., хв | λ_{\max} , нм |
|---|--------------|-----------------------|
| 1 | 2 | 3 |
| Рутин | 30,9-31,0 | 256, плече 265, 353 |
| Гіперозид | 31,8-32,4 | 255, плече 265, 354 |
| Астрагалін (3О-глюкозид кемпферолу) | 34,5 | 265, 350 |
| Кверцитрин | 35,5-35,9 | 255, плече 265, 348 |
| Апігенін-7-глюкозид | 36,0-36,4 | 266, 337 |
| Акацетин-7-глюкозид (метильований апігенін) | 45,5 | 267, 338 |
| Лютеолін | 47,0 | 254, плече 265, 367 |

Продовження табл. 2.3

| 1 | 2 | 3 |
|---------------------------------|-----------|--|
| Кверцетин | 46,6-47,2 | 256, 370 |
| Апігенін | 52,3-52,4 | 266, 337 |
| Кемпферол | 53,0-53,2 | 265, 366 |
| Ізо-кверцитрин | 54,0 | 254, 368 |
| Ізо-рамнетин | 54,5 | 368 |
| Галова кислота | 6,8 | 266 |
| Неохлорогенова кислота | 14,8-15,0 | 216, 235, плече 290,325 |
| Хлорогенова кислота | 20,0-20,4 | 216, 235, плече 290,325 |
| <i>n</i> -кумарова кислота | 21,0-21,2 | 216, 235, плече 290,327 |
| Кофейна кислота | 21,8-22,0 | 216, 235, плече 290,323 |
| Елагова кислота | 30,8-31,0 | 253, 367 |
| Ферулова кислота | 31,4-31,6 | 217, 234, плече 290,322 |
| 3,5-дикафеоліхінна кислота | 35,0 | 216, 235, плече 290,330 |
| 4,5-дикафеоліхінна кислота | 37,0 | 216, 235, плече 290,330 |
| Розмаринова кислота | 37,8-38,2 | Плече 285, 330 |
| Літоспермова кислота | 38,4 | 278, плече 325 |
| Сальвіанолова кислота G | 17,70 | 220, 276-286, 320 |
| Сальвіанолова кислота F | 23,1 | 220, 276-286, 320 |
| Сальвіанолова кислота E | 24,9 | 220, 276-286, 320 |
| Сальвіанолова кислота D | 29,2 | 220 ,245 плече, 269 плече, 300 плече, 320 |
| Сальвіанолова кислота C | 30,1 | 220, 276-286, 320 |
| Сальвіанолова кислота B | 47,7 | 220, 276-286, 320 |
| Сальвіанолова кислота A | 56,1 | 220, 276-286, 320 |
| Цинарозид (лютеолін-7-глюкозид) | 33,1 | 348, 254 |
| Умбеліферон | 29,4-30,1 | 232 |
| Скополетин | 30,0-30,9 | 229, плече 296, 344 |
| Катехін | 19,4 | 213, 267, 337 |
| Похідні кверцетину | – | 254-255, плече 265, 354 (моноглікозиди) 254-255, плече 265, 348 (диглікозиди) 254-255, плече 265, 344 (триглікозиди) 254-255, плече 265, 346 – 6-глікозиди 254-255, плече 265, 336 – 4-глікозиди |
| Похідні кемпферолу | – | 265, 348 (моноглікозиди) 265, 341 (диглікозиди) 267, 344 – 5-глікозиди 265, 319, 338 (триглікозиди) |
| Похідні лютеоліну | | 254, 350 (моноглікозиди) 268, 342 (диглікозиди) |
| Похідні апігеніну | | 267, 337 (моноглікозиди) |

Методика дослідження антоціанів. Дослідження методом ВЕРХ проводили на хроматографі рідинному Shimadzu LC20 Prominence в модульній системі, оснащений чотиріканальним насосом LC20AD, термостатом колонок СТО20А, автоматичним пробовідбірником SIL20А, діодно-матричним детектором SPDM20А і ChemStation LC20, за таких умов [77, 165]:

- колонка Phenomenex Luna C18(2), розміром 250 × 4,6 мм, розмір частинок – 5 мкм;
- температура колонки – 25 °С;
- довжина хвилі детектування – 520 нм;
- швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв;
- об'єм уведеної проби – 10 мкл;
- рухома фаза: елюент А: ацетонітрил; елюент Б: оцтова кислота – 10 %, ацетонітрил – 2 %, трифторооцтова кислота – 0,2 %, вода до 100 %:

| Час хроматографування (хв) | Елюент А, % | Елюент Б, % |
|----------------------------|-------------|-------------|
| 0–5 | 0 | 100 |
| 5–20 | 0 → 20 | 100 → 80 |
| 20–25 | 20 → 40 | 80 → 60 |
| 25–30 | 40 → 0 | 60 → 100 |
| 30–35 | 0 | 100 |

Ідентифікацію компонентів проводили за часом утримання і відповідністю УФ-спектрів речовинам-стандартам і стандартизованим екстрактам аронії, журавлини, винограду червоного.

Спектри поглинання записані під час аналізу ВЕРХ, спектральні вимірювання проведені в діапазоні довжин хвиль (200-600) нм із кроком 2 нм (табл. 2.4).

Таблиця 2.4

Спектри поглинання антоціанів

| Антоціан* | Час утр., хв | λ_{\max} , нм |
|-------------|--------------|-----------------------|
| Dphd-3-gal | 11,78 | 526, 243, 278, 335 |
| Dphd-3-glc | 12,58 | 526, 243, 278, 335 |
| Cyd-3-soph | 13,1 | 520 |
| Dphd-3-ara | 13,20 | 526, 280,244, 335 |
| Dphd-3-rut | 13,5 | 527, 276, 244, 346 |
| Cyd-3-gal | 13,68 | 519, 279, 244, 335 |
| Cyd-3-glc | 13,71 | 520 |
| Plrg-3-soph | 13,73 | 520 |
| Ptd-3-gal | 14,55 | 520 |
| Cyd-3-glc | 14,68 | 517, 243, 280,337 |
| Cyd-3-rut | 15,30 | 518, 244, 282, 376 |
| Ptd-3-glc | 15,5 | 528, 242, 276, 346 |
| Cyd-3-ara | 15,7 | 519, 279, 244, 335 |
| Ptd-3-rut | 16,1 | 520 |
| Ptd-3-ara | 16,46 | 520 |
| Pnd-3-gal | 16,76 | 527, 278, 245, 334 |
| Mvd-3-gal | 17,13 | 528, 278, 245, 336 |
| Pnd-3-glc | 17,58 | 534, 273, 245, 345 |
| Mvd-3-glc | 18,0 | 528, 277, 245, 345 |
| Pnd-3-ara | 18,55 | 524, 244, 274 |
| Mvd-3-ara | 19,0 | 520 |
| Cyd-3-xyl | 20,2 | 520 |
| Ptd-3-xyl | 21,4 | 520 |
| Cyd-3-xyl | 23,8 | 520 |

Примітка: * – Dphd – дельфінідин; Cyd – ціанідин; Pnd – пеонідин; Mvd – мальвідин;
Ptd – петунідин; Plrg – пеларгонідин; glc – глюкозид; gal – галактозид; ara – арабі-
нозид; xyl – ксилозид; soph – софорозид; glcrut – глюкорутинозид.

Дослідження проводили на хроматографі фірми «Agilent Technologies» (модель 1100), укомплектованому протоковим вакуумним дегазатором G1379A, чотириканальним насосом градієнта низького тиску G13111A, автоматичним інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, діодно-матричним детектором G1316A. Для проведення аналізу була використана хроматографічна колонка розміром $2,1 \times 150$ мм, заповнена октадецилсилільним сорбентом, зернення 3,5 мкм («ZORBAX-SB C-18»), за таких умов:

- швидкість подачі рухомої фази – 0,25 мл/хв;
- градієнтний режим хроматографування:

| Час, хв | A % (0,6 % TFA*) | B % 70 % – метанол (0,6 % TFA) | C % 100 % метанол |
|---------|------------------|-----------------------------------|-------------------|
| 0 | 92 | 8 | 0 |
| 8 | 62 | 38 | 0 |
| 24 | 0 | 100 | 0 |
| 24.1 | 0 | 0 | 100 |
| 29 | 0 | 0 | 100 |

* TFA – трифтороцтова кислота

- робочий тиск елюенту – 110-260 кПа;
- температура термостата колонки – 45 °С;
- об'єм проби 2 мкл.

Параметри детектування: масштаб вимірювань – 1,0; час сканування – 0,5 с. Параметри зняття спектра – кожен пік 190-600 нм.

Довжини хвиль: 254 нм – для елагової кислоти та її похідних; 280 нм – для (+) – D-катехіну і (-) – епікатехіну; 525 нм – для антоціанів; 350 нм – для глікозидів кверцетину.

Ідентифікацію фенольних сполук проводили за часом утримування стандартів і спектральними характеристиками.

Пробопідготовка для екстрактів і соків: зразки центрифугують і переливають у віалу для аналізу.

2.9 Дослідження сапонінів спиртового екстракту з вичавок плодів малини звичайної методом ВЕРХ

Дослідження методом ВЕРХ проводили на хроматографі рідинному Shimadzu LC20 Prominence в модульній системі, оснащеній чотириканальним насосом LC20AD, термостатом колонок СТО20А, автоматичним пробовідбірником SIL20А, діодно-матричним детектором SPDM20А і ChemStation LC20 за таких умов:

- колонка X-Bridge C18, розміром 150 × 4,6 мм із розміром зерна 5 мкм (фірма «Waters»);
- температура колонки – 30 °С;
- довжина хвилі детектування – 205 нм;
- швидкість потоку рухомої фази – 1,0 мл/хв;
- об'єм уведеної проби – 20 мкл;

Рухома фаза: метанол для ВЕРХ : 0,2 % розчин амонію ацетату (рН 6,75) у співвідношенні (80 : 20).

Режим елюювання: ізократичний.

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

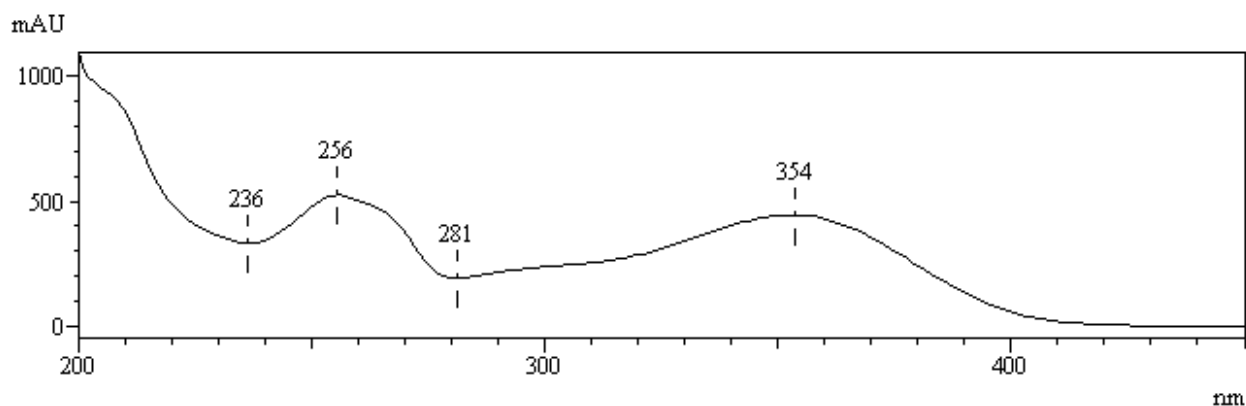
Спектри тритерпенових сапонінів мають максимум поглинання за 200-210 нм, тому детектування цієї групи сполук проводили за 205 нм. Кількісне визначення індивідуальних компонентів екстрактів проводили з використанням зовнішніх РСЗ кислот олеанолової, урсолової, еускапової, торментинової, бетулінової, ескуліну, есцину, актеїну, гедеракозиду С, бетуліну, еритродіолу, уваолу, лупеолу [119,178, 224]. Час утримування та λ_{\max} наведено в табл. 2.5.

**Параметри ідентифікації сапонінів спиртового екстракту з вичавок
плодів малини звичайної методом ВЕРХ**

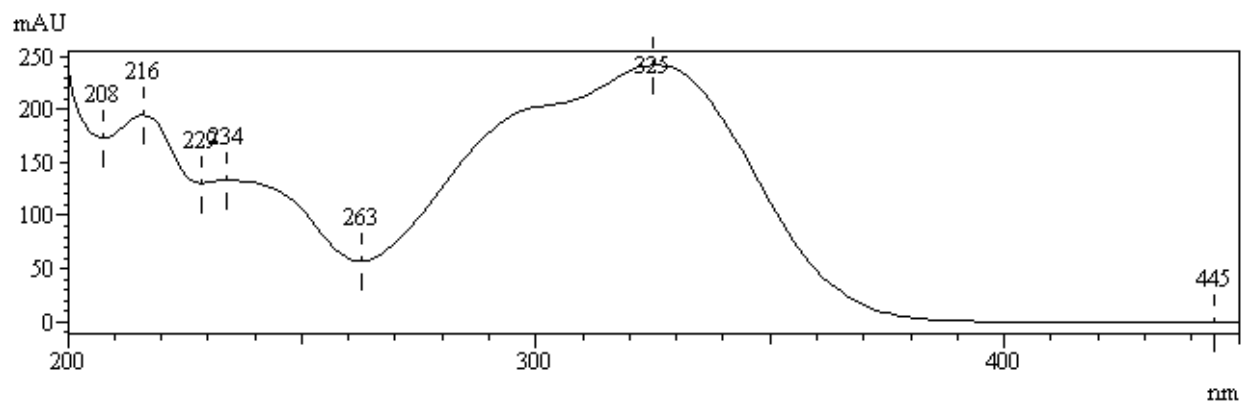
| Сполука | Час утр., хв | λ_{\max} , нм |
|----------------------|--------------|-----------------------|
| Ескулін | 1,88 | 213, 337 |
| Есцин | 2,15 | 205 |
| Актеїн | 2,68 | 204 |
| Гедеракозид С | 4,89 | 204, 245 |
| Еускапова кислота | 8,53 | 200 |
| Торментинова кислота | 12,68 | 200 |
| Бетулін | 14,57 | 200,234, 322 |
| Олеанолова кислота | 16,34 | 200 |
| Урсолова кислота | 17,45 | 200 |
| Еритродіол | 22,59 | 200 |
| Уваол | 22,80 | 200 |
| Бетулінова кислота | 26,92 | 200, |
| Лупеол | 48,13 | 203, 230 |

Під час аналізу фенольних і тритерпенових сполук використовували стандарти виробництва «Sigma-Aldrich» з такими спектральними характеристиками:

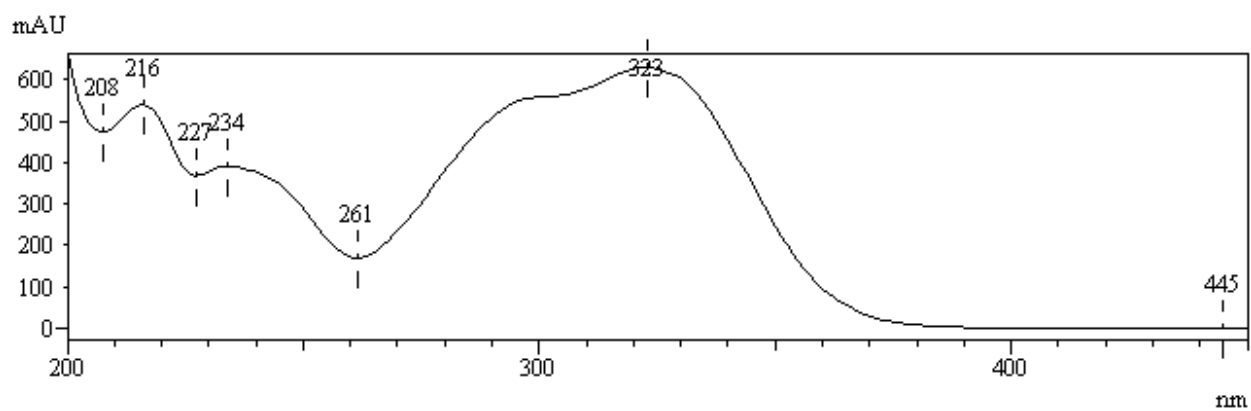
Гіперозид



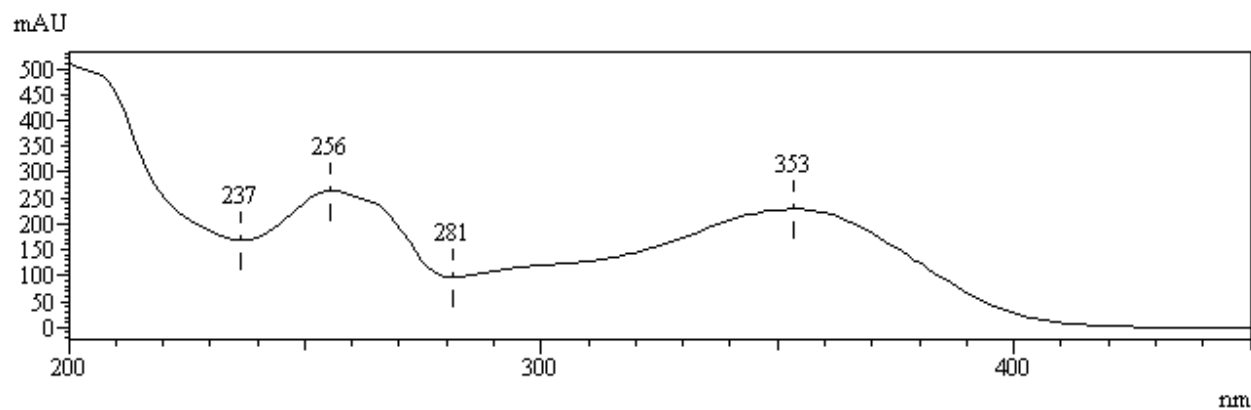
Хлорогенова кислота



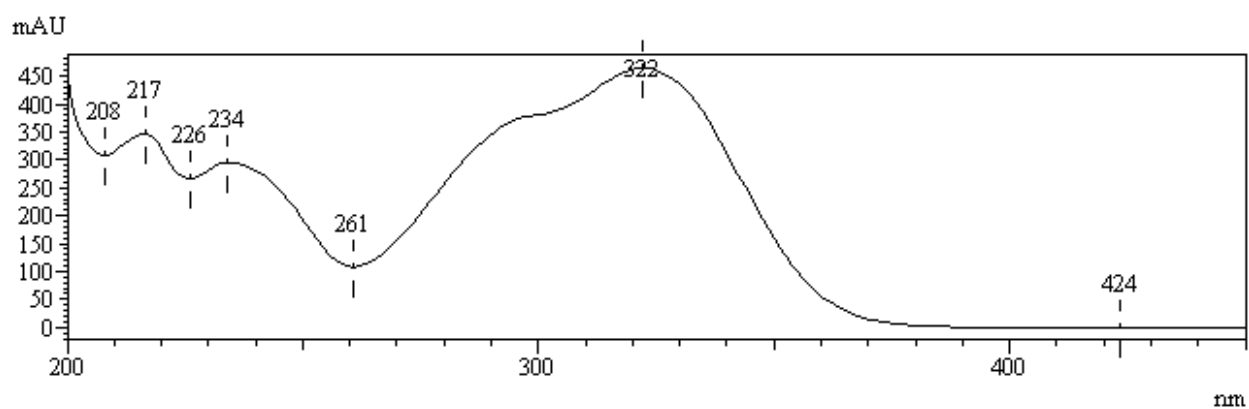
Кофейна кислота



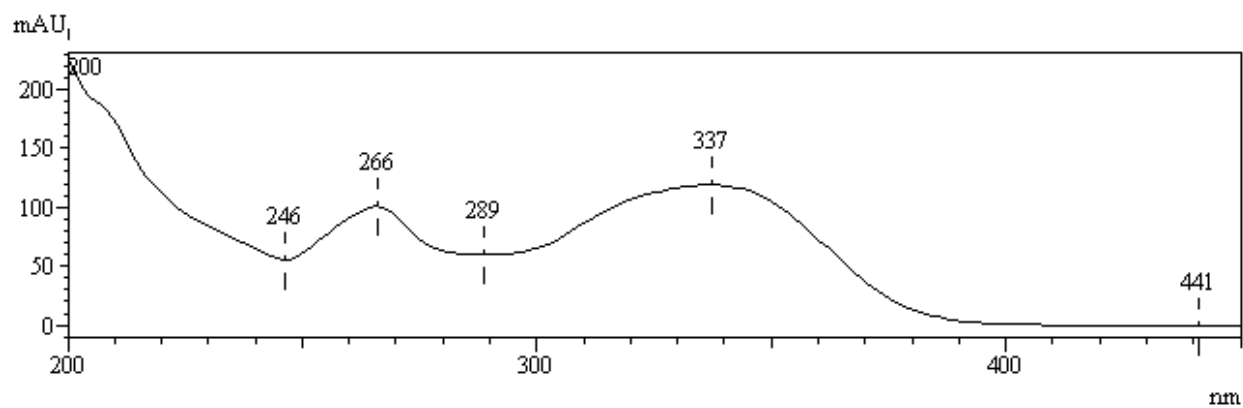
Рутин



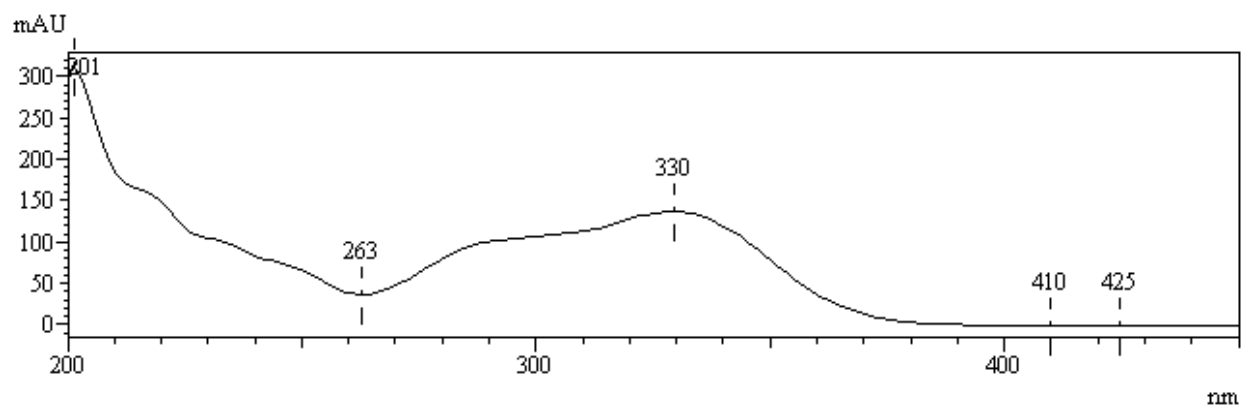
Ферулова кислота



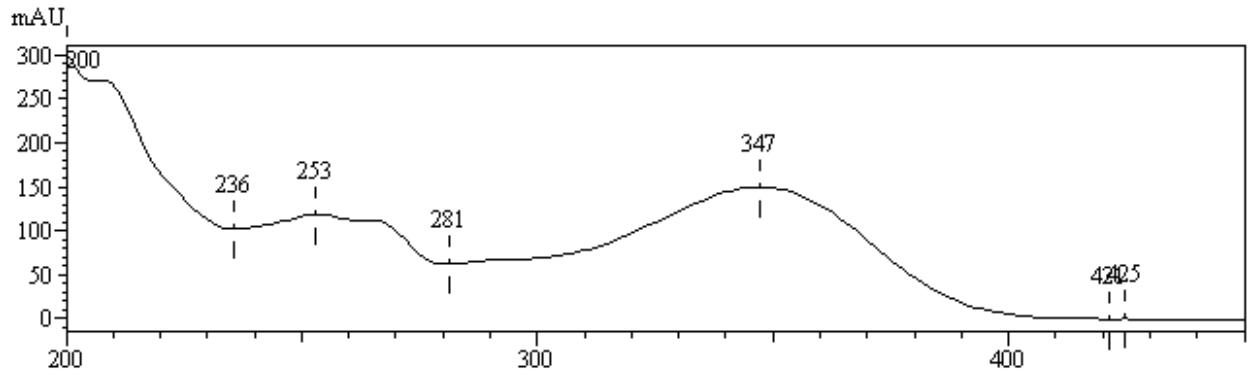
Апігенін-7-глюкозид (цинарозид)



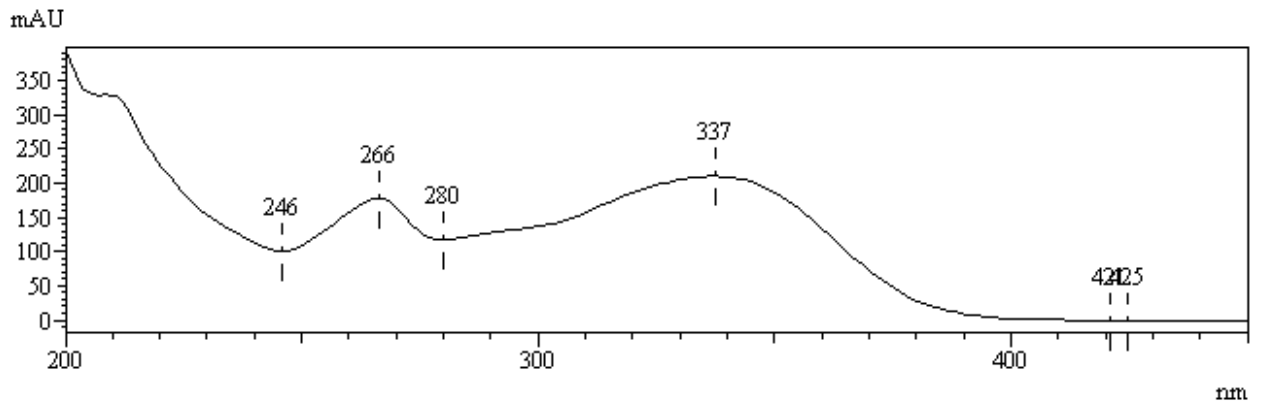
Розмаринова кислота



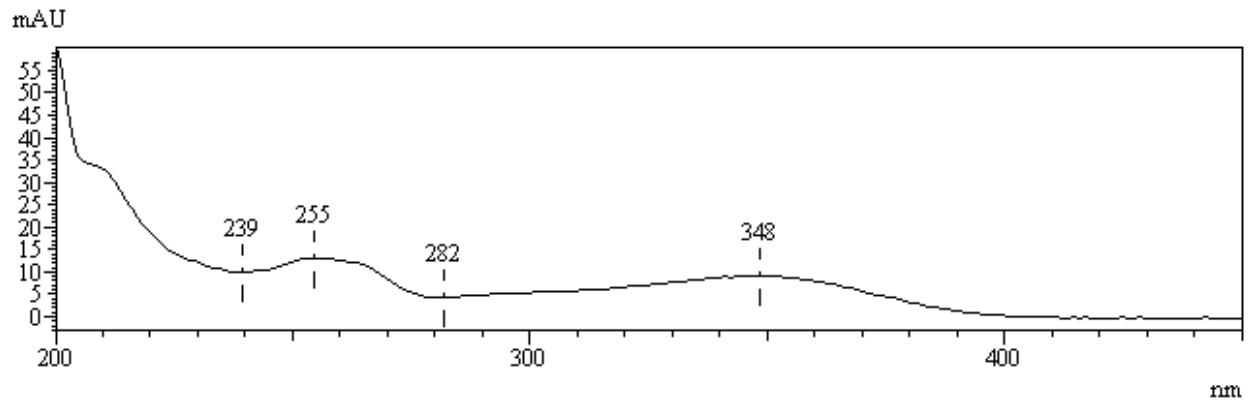
Лютеолін



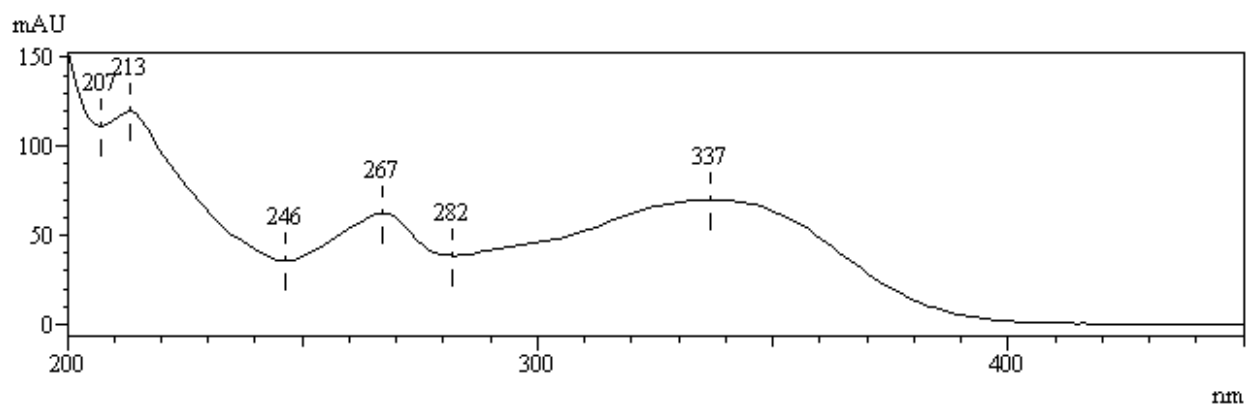
Апігенін



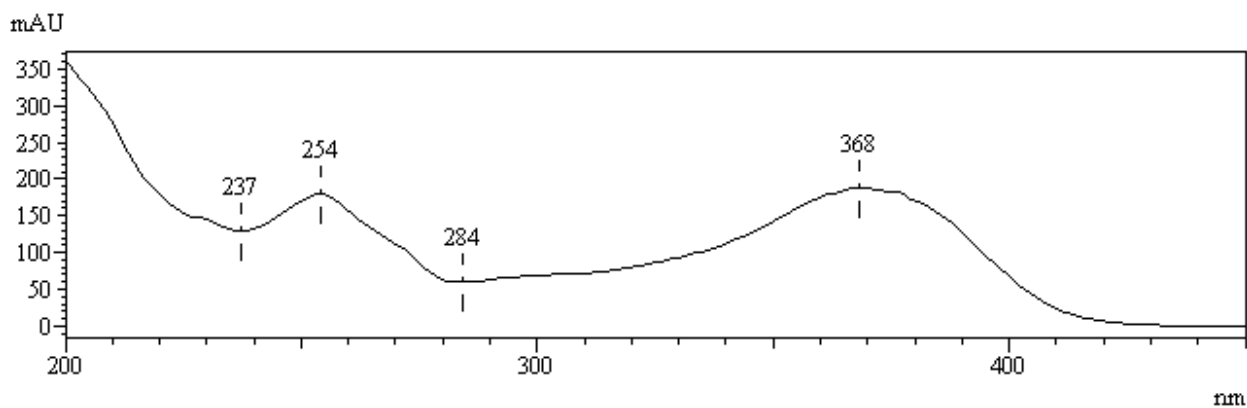
Кверцитрин



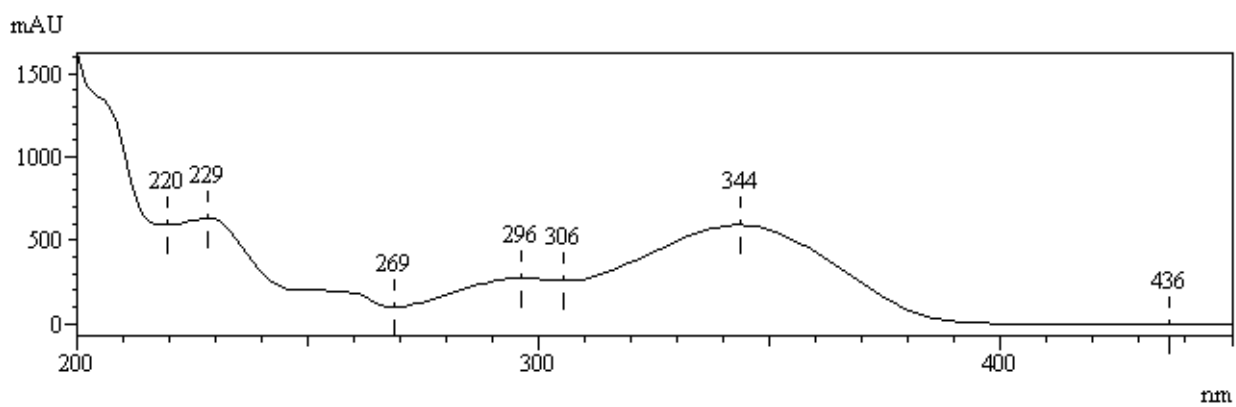
Катехін



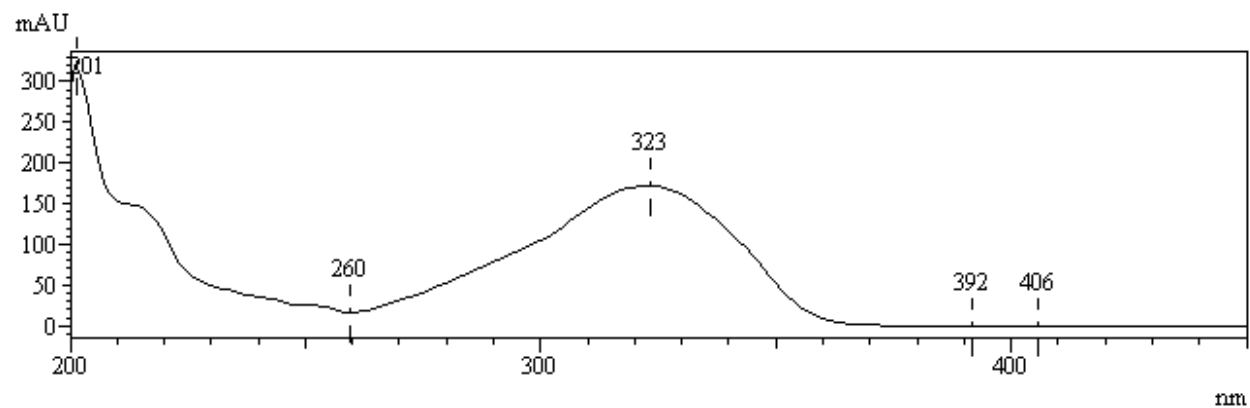
ізо-Кверцитрин



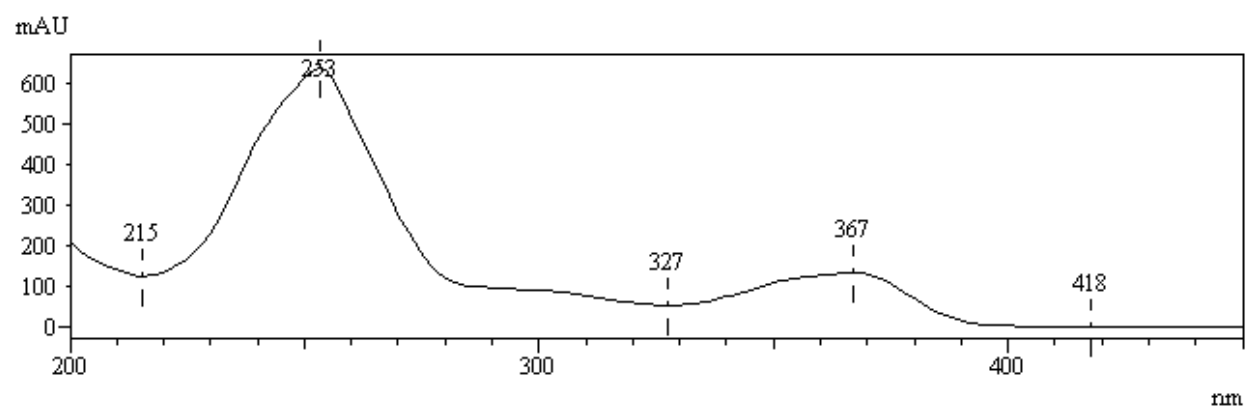
Скополетин



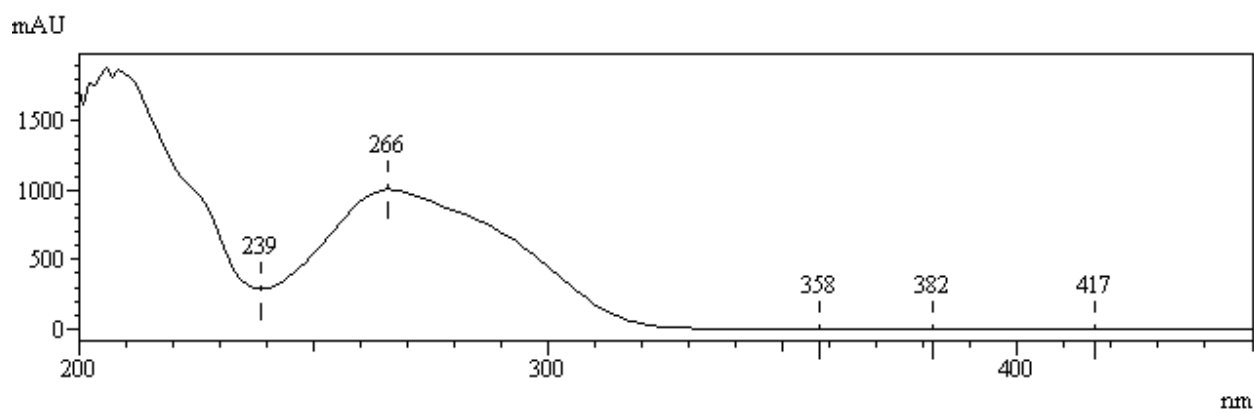
Умбеліферон



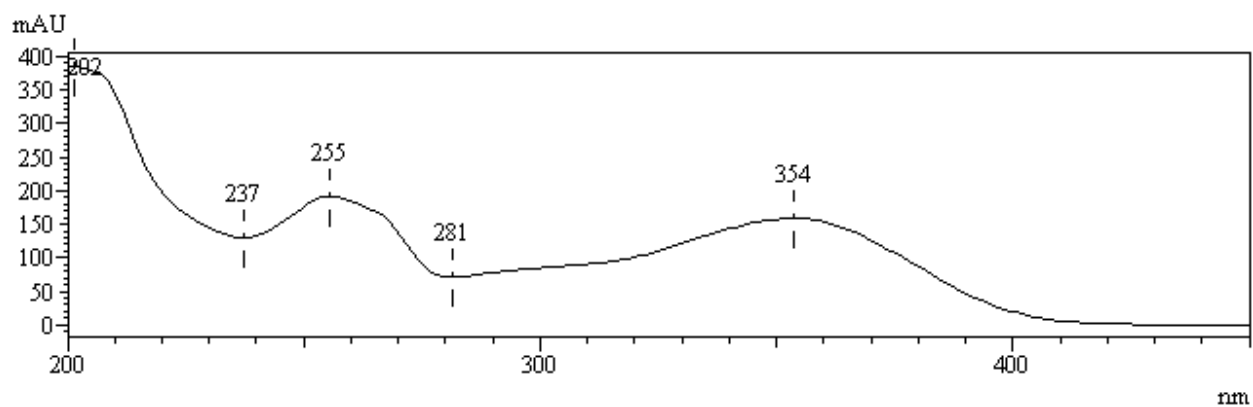
Елагова кислота



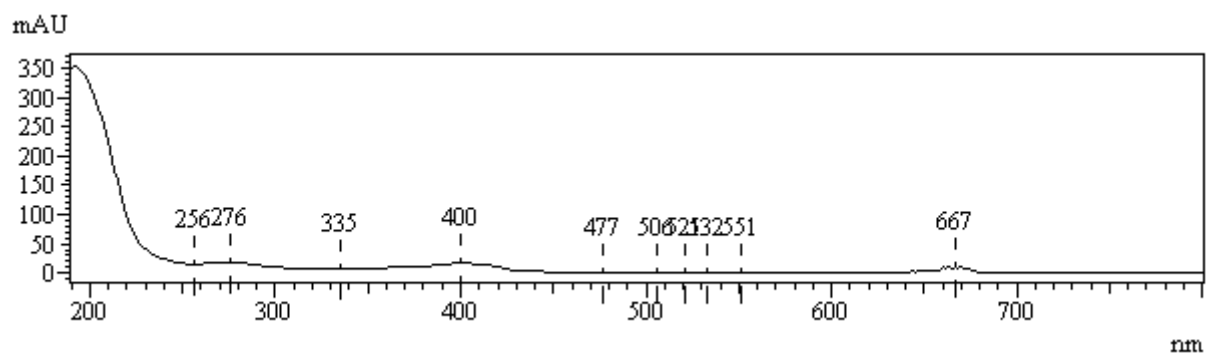
Галова кислота



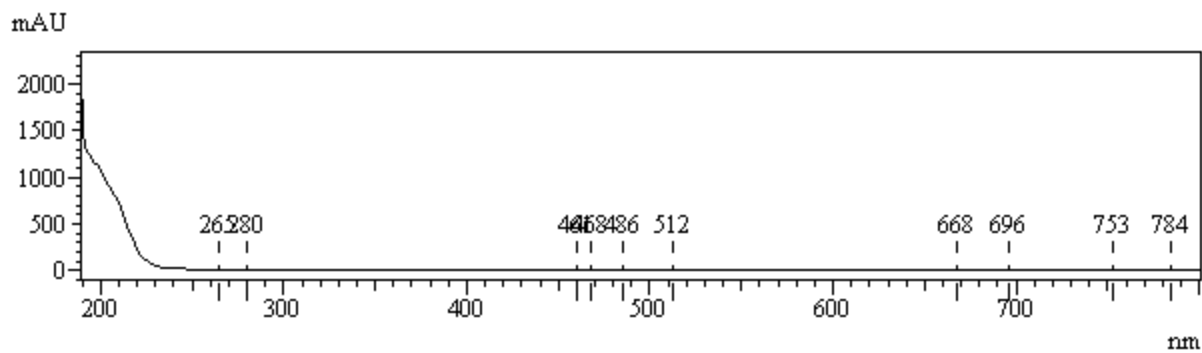
Гіперозид



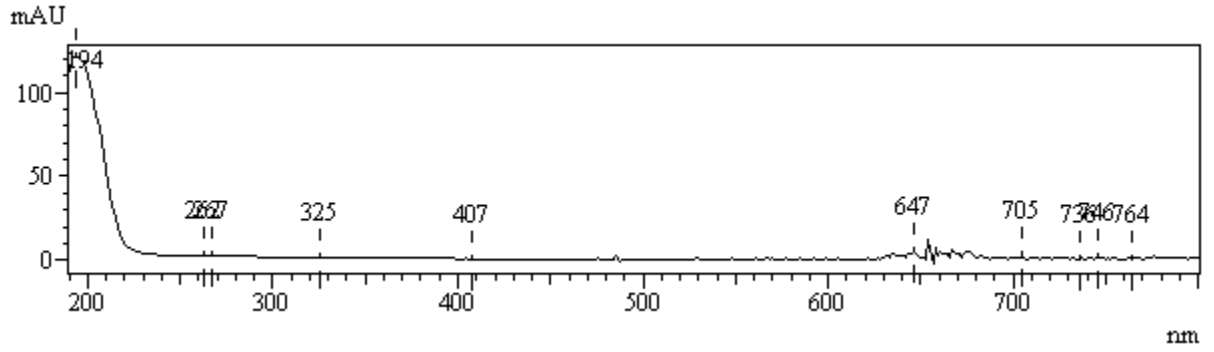
Урсолова кислота



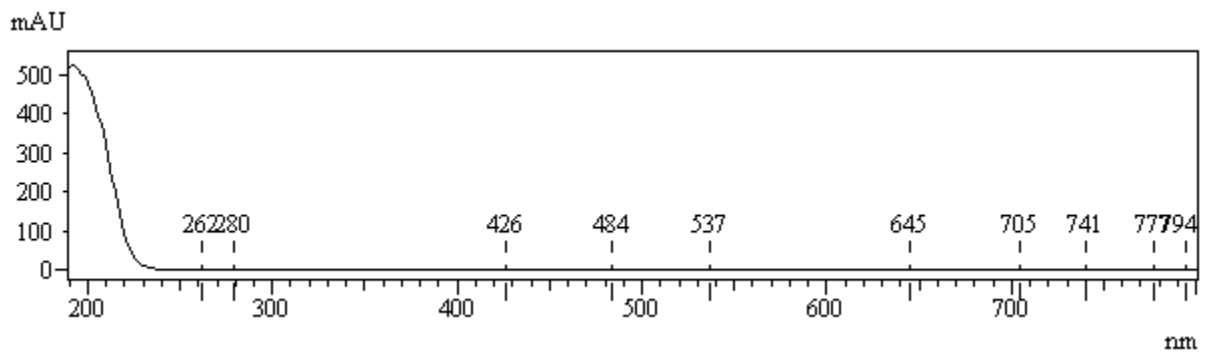
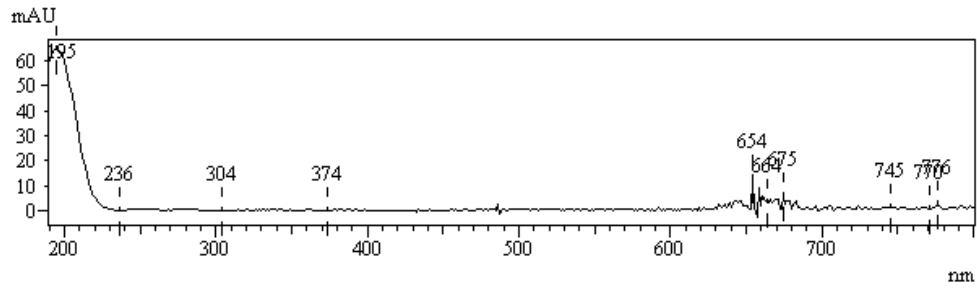
Бетулінова кислота



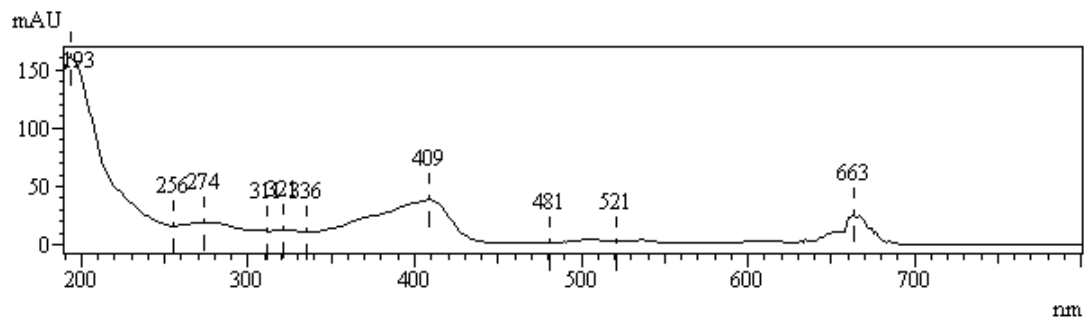
Лулеол



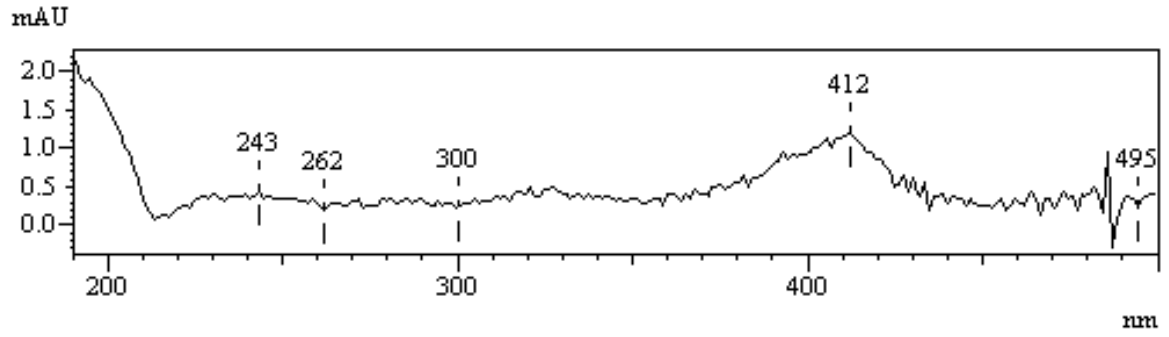
Олеанолова кислота

 β -Амірин

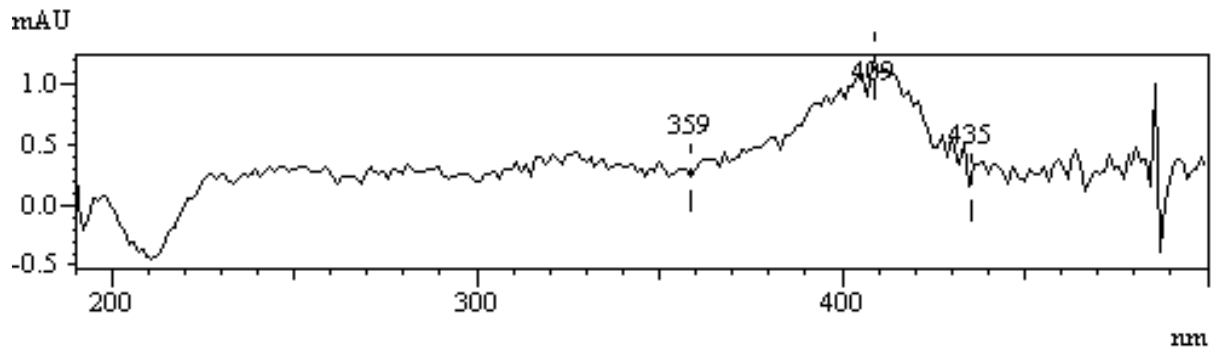
Бетулін



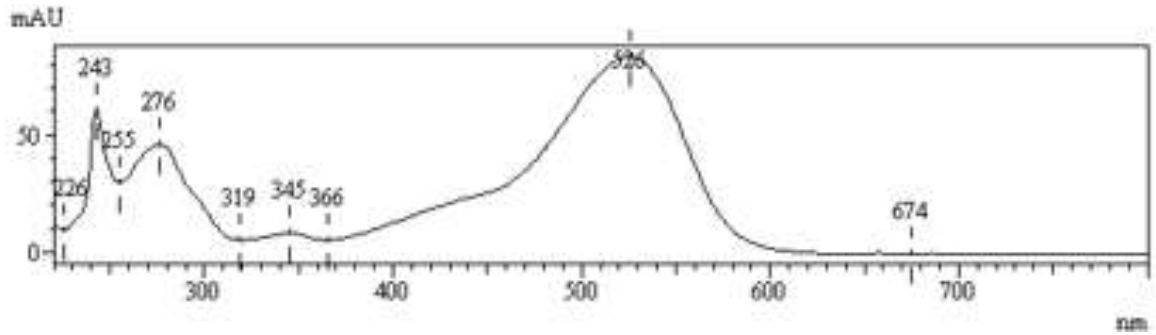
Торментинова кислота



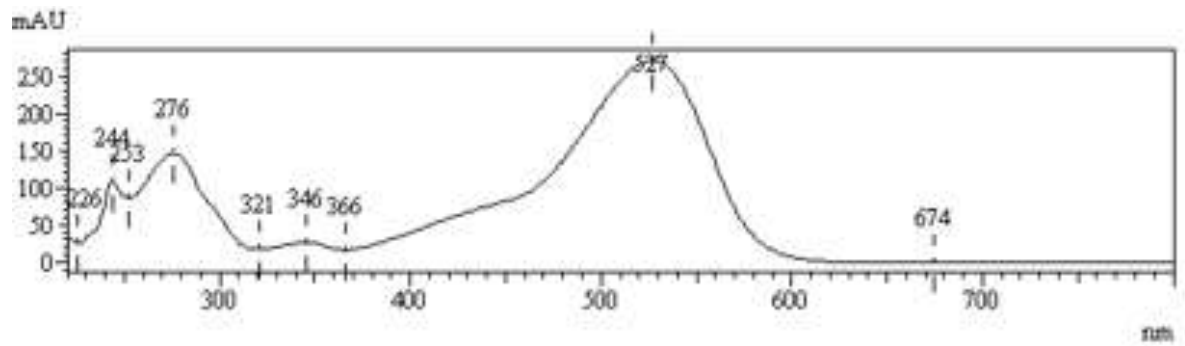
Еускапова кислота



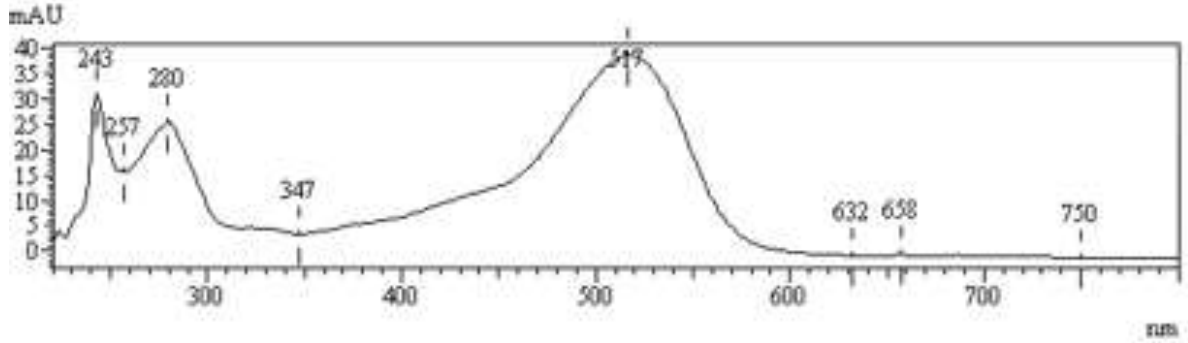
Дельфінідин-3-глюкозид



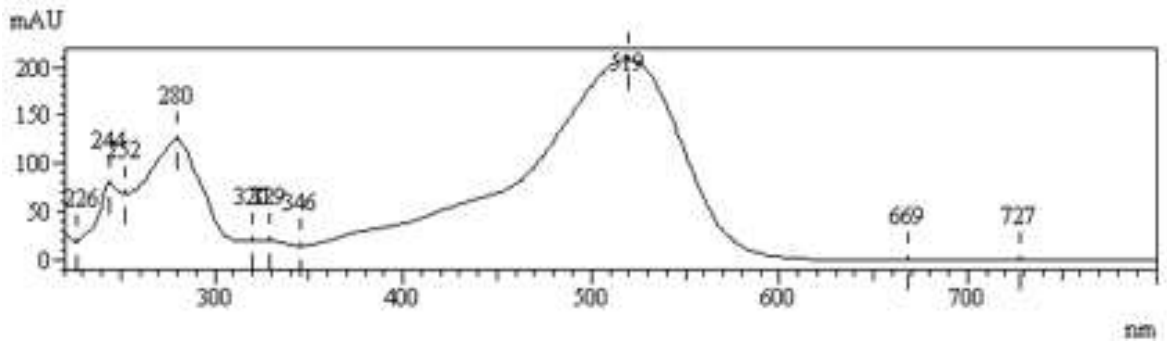
Дельфінідин-3-рутинозид



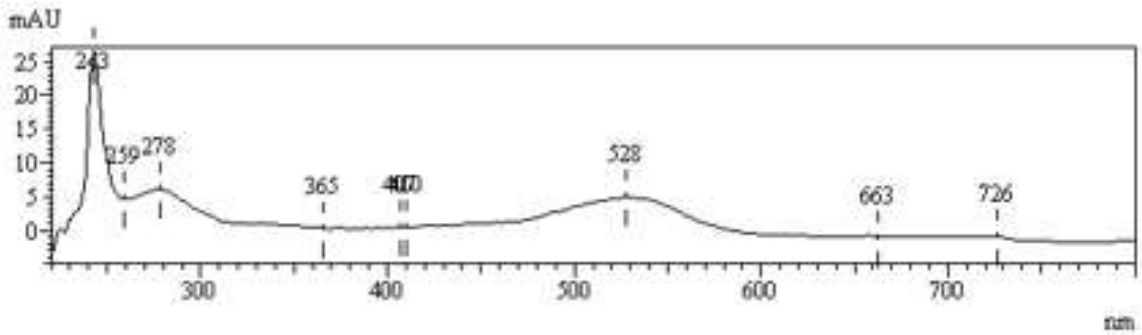
Ціанідин-3-глюкозид



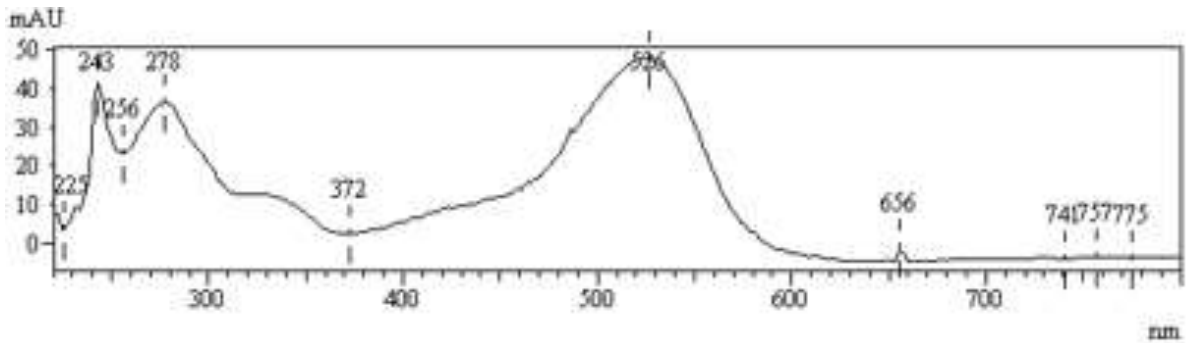
Ціанідин-3-рутинозид



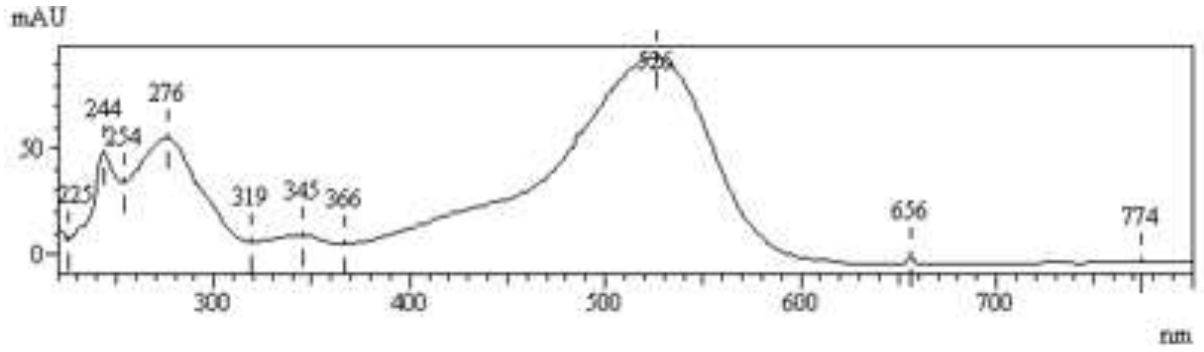
Петунідин-3-рутинозид



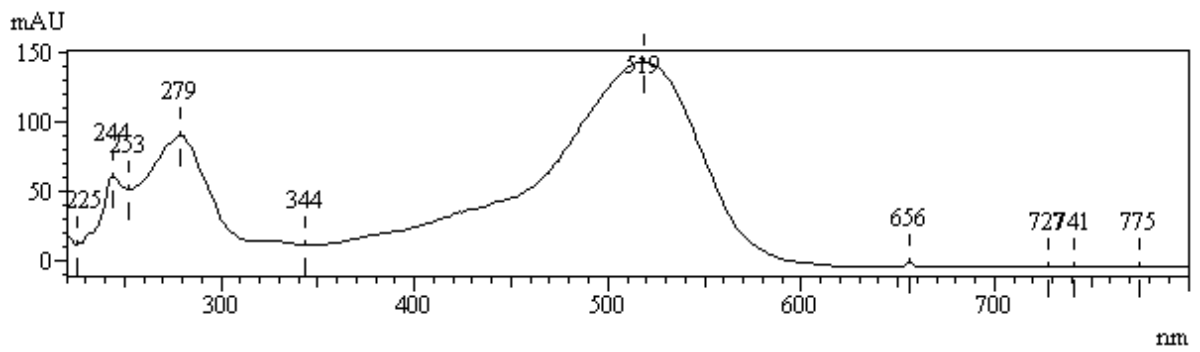
Дельфінідин-3-галактозид



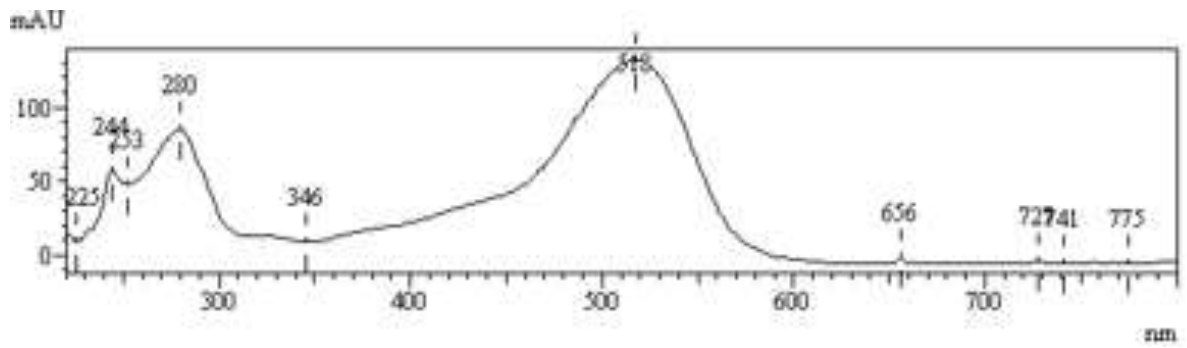
Дельфінідин-3-глюкозид



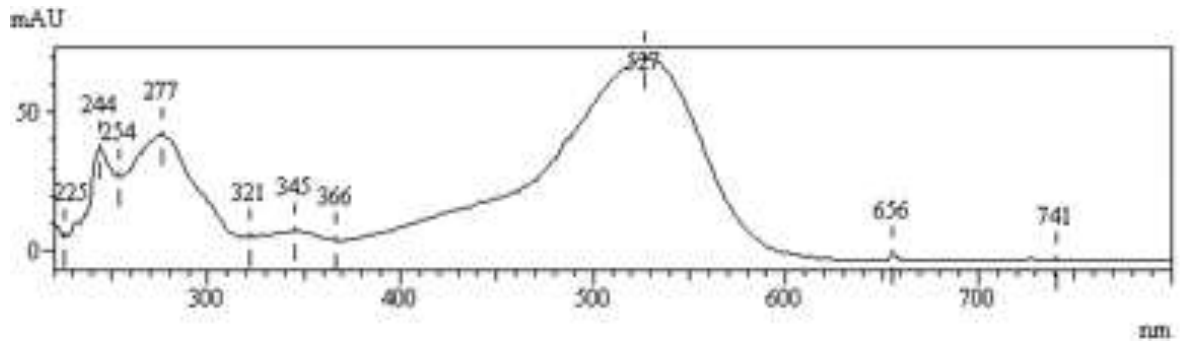
Ціанідин-3-галактозид



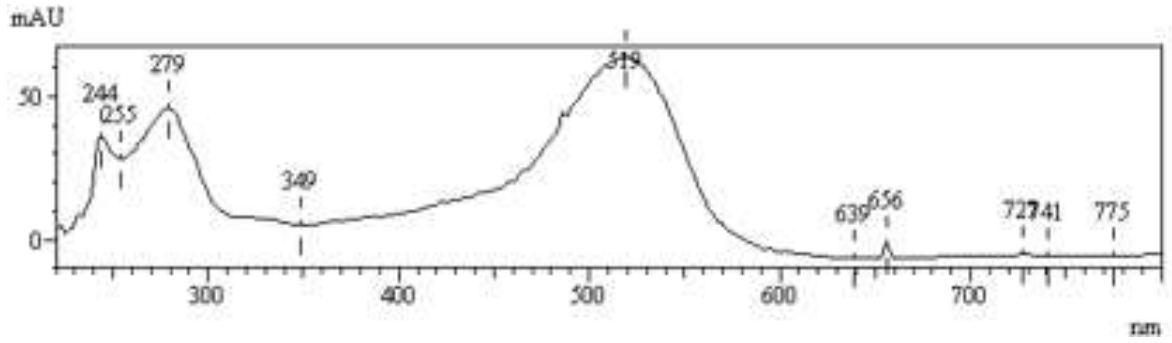
Ціанідин-3-глюкозид



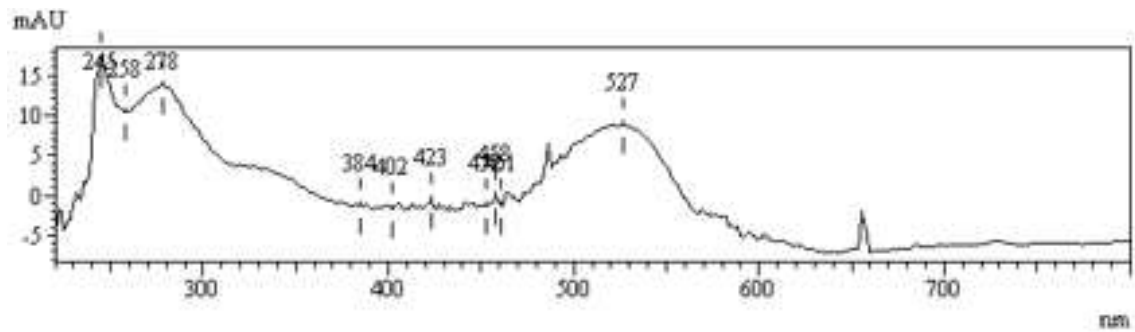
Петунідин-3-глюкозид



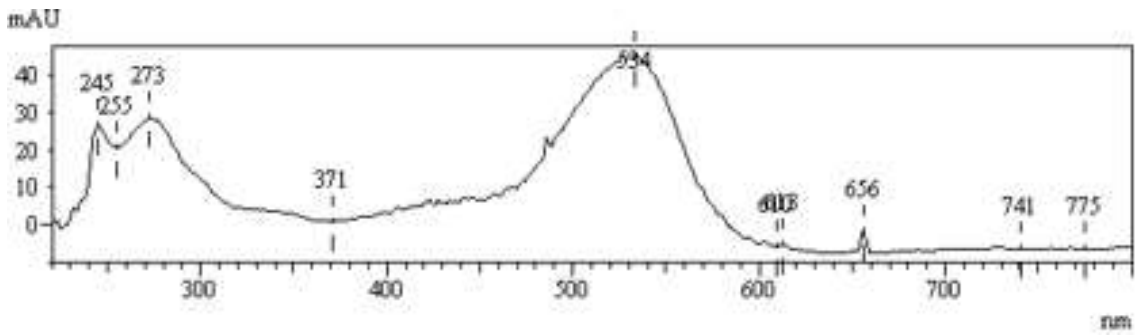
Ціанідин-3-арабінозид



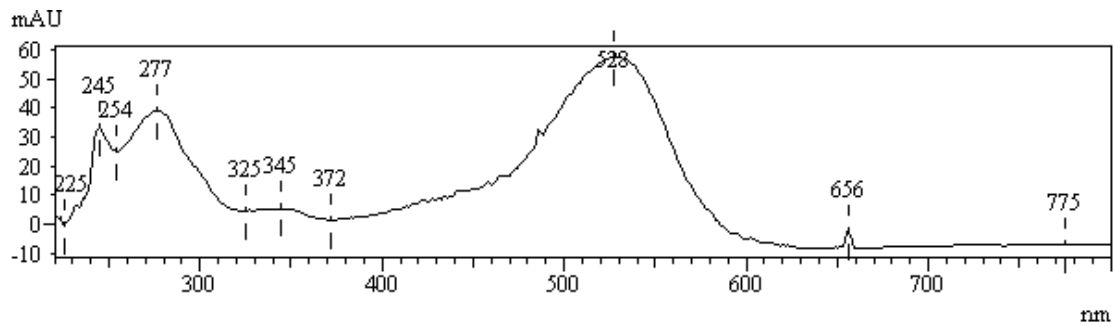
Пеонідин-3-галактозид



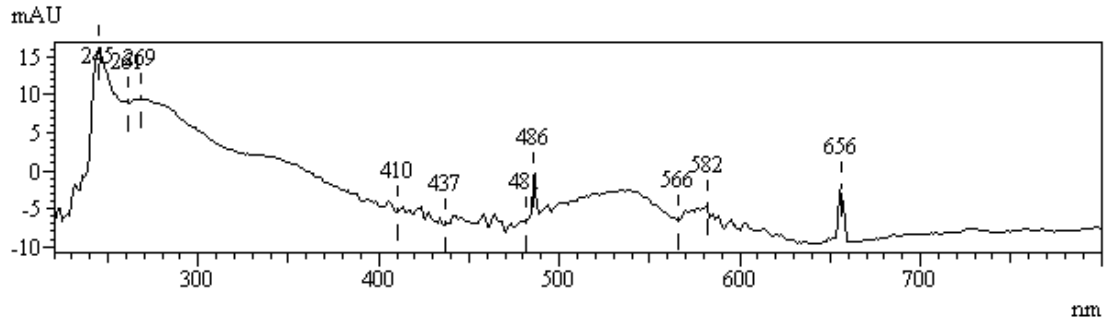
Пеонідин-3-глюкозид



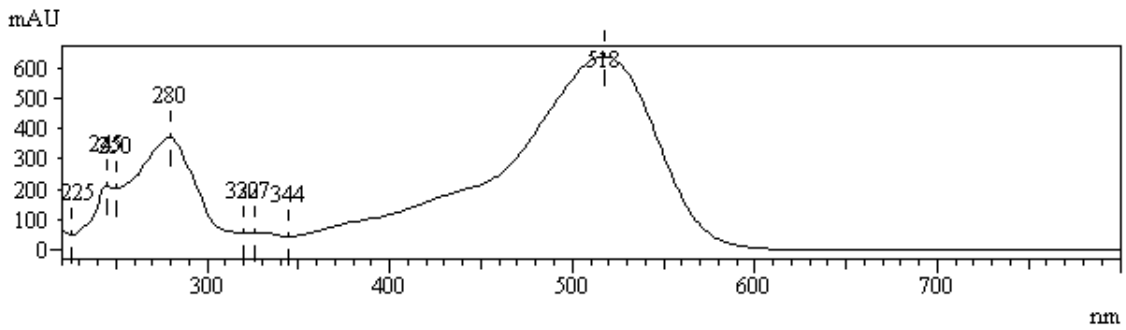
Мальвідин-3-глюкозид



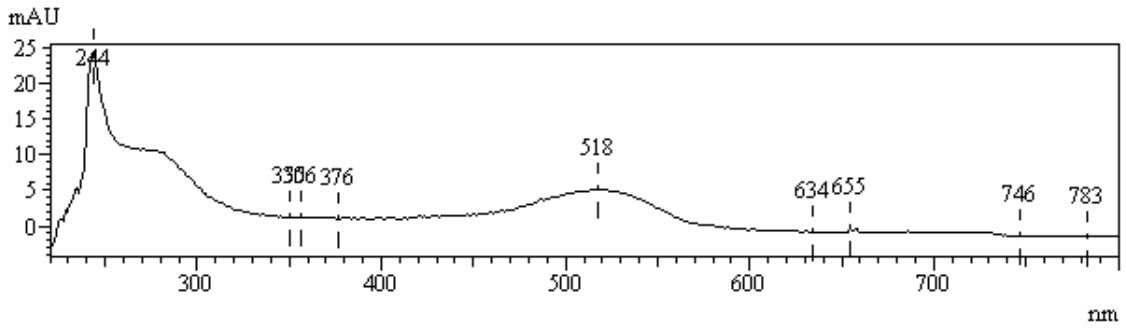
Мальвідин-3-арабінозид



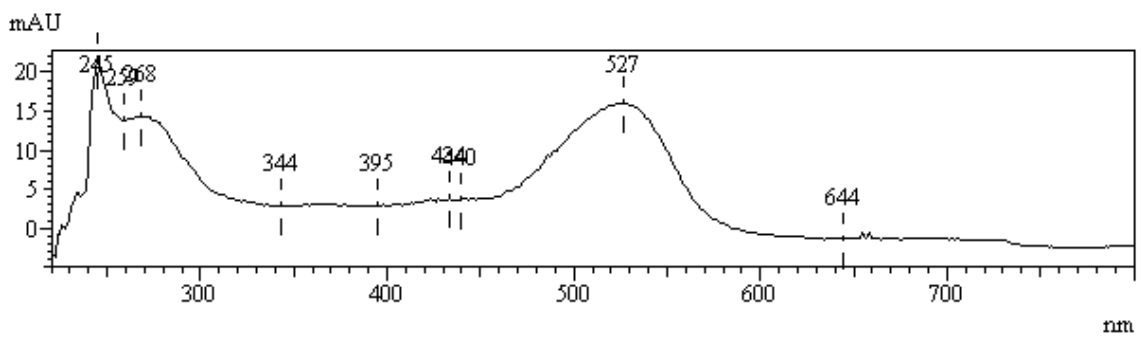
Ціанідин-3-глюкозид



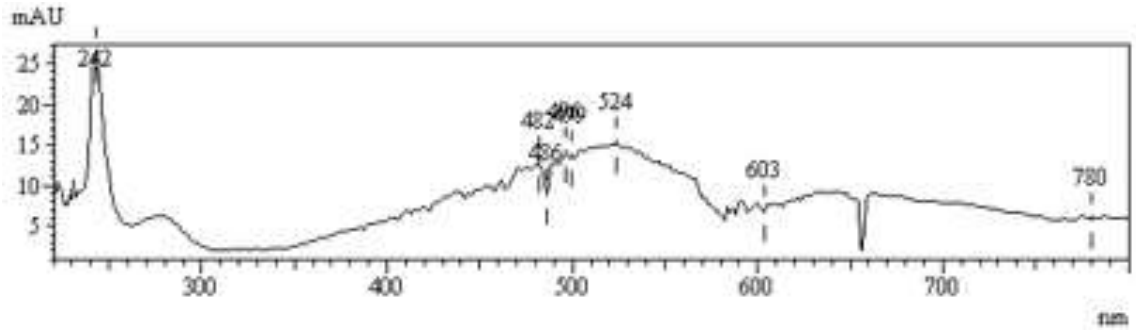
Ціанідин-3-рутинозид



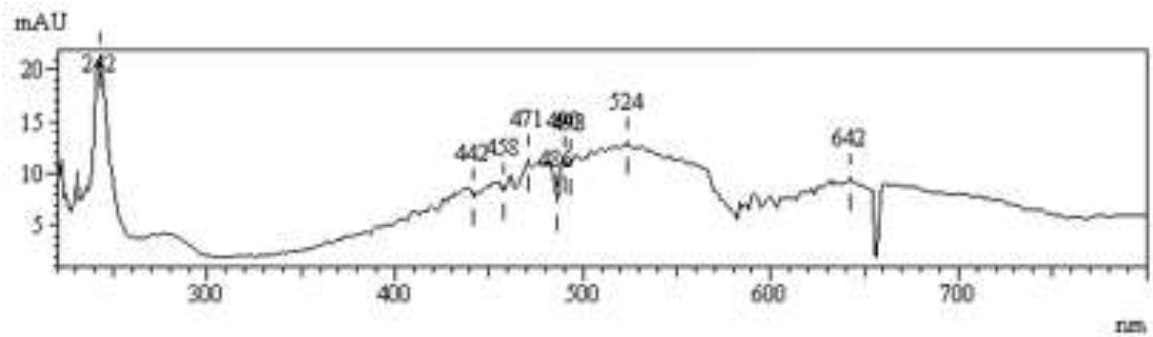
Ціанідин-3-ксилозид



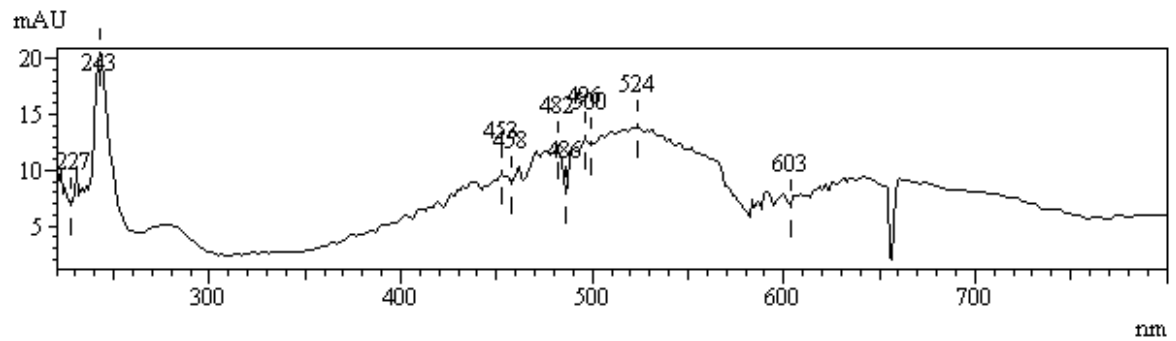
Ціанідин-3-галактозид



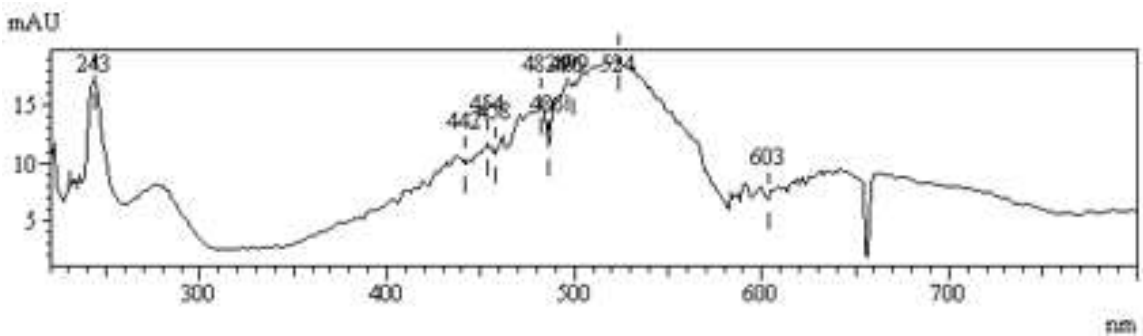
Ціанідин-3-глюкозид



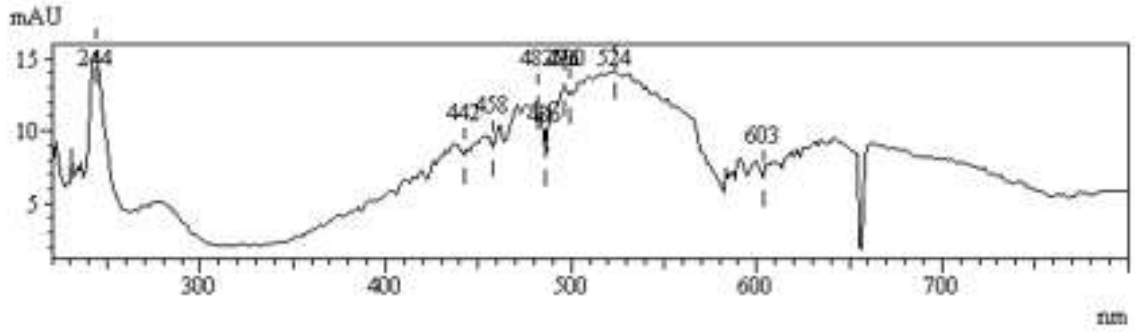
Ціанідин-3-арабінозид



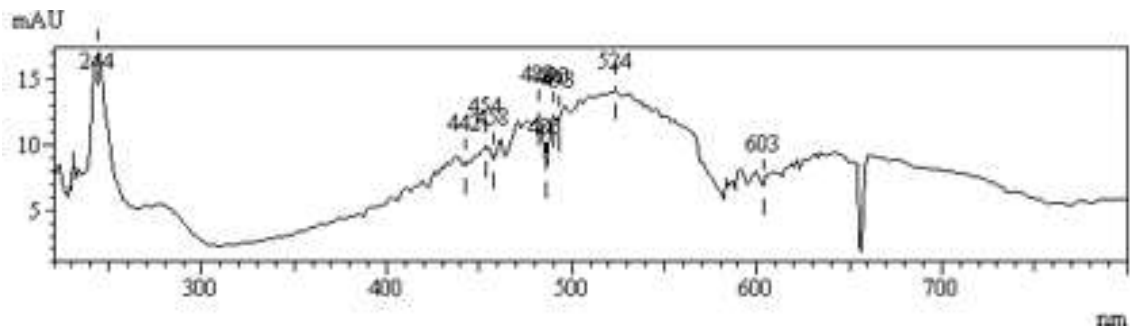
Пеонідин-3-галактозид



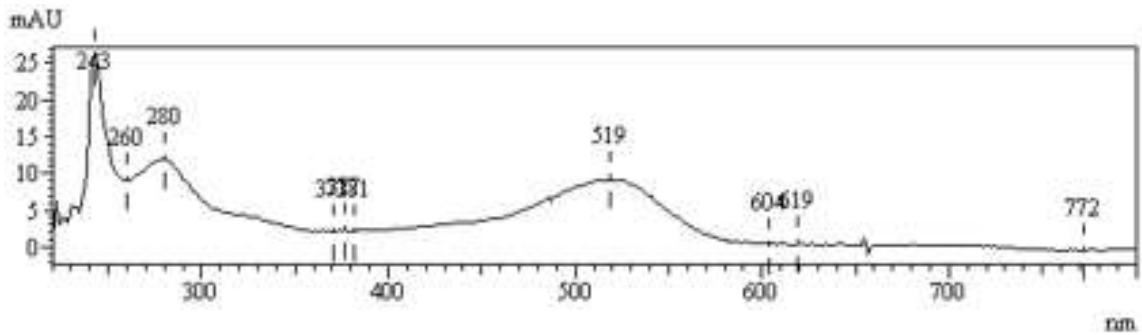
Пеонідин-3-глюкозид



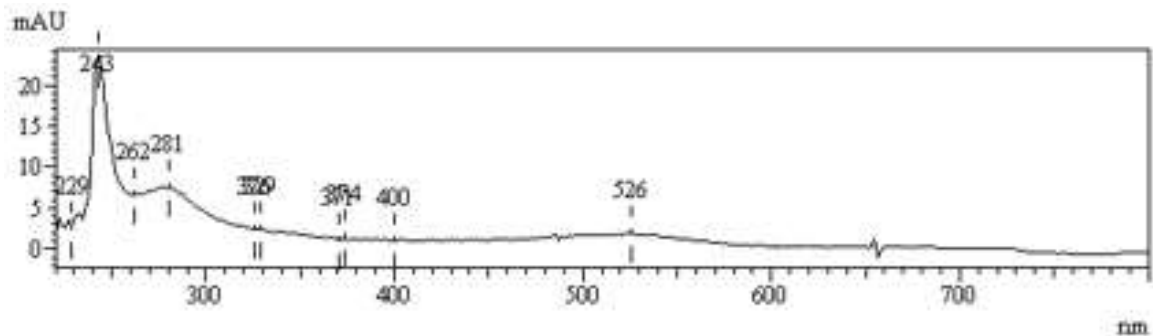
Пеонідин-3-арабінозид



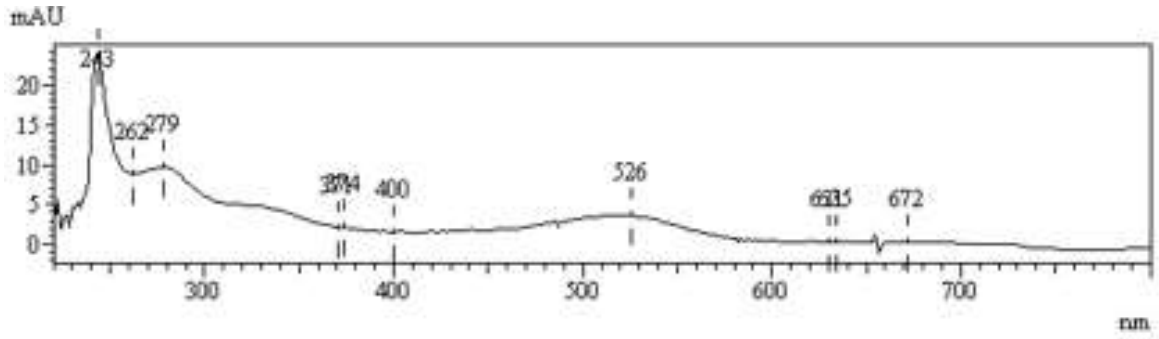
Ціанідин-3-галактозид



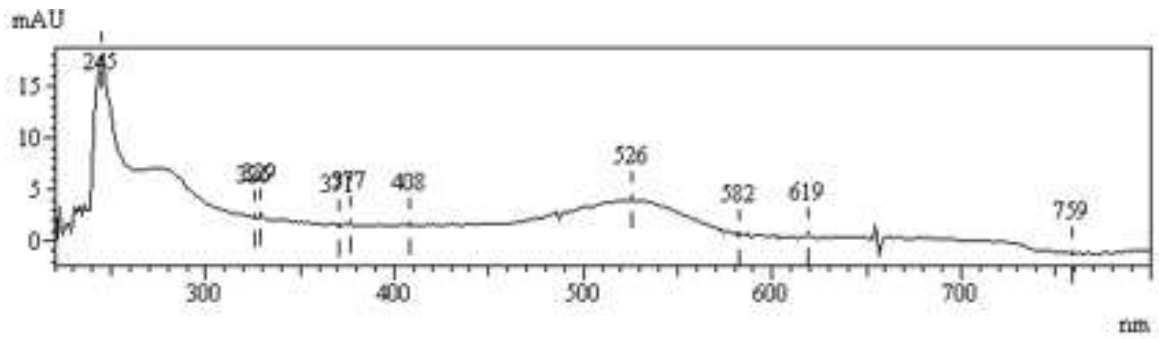
Ціанідин-3-глюкозид



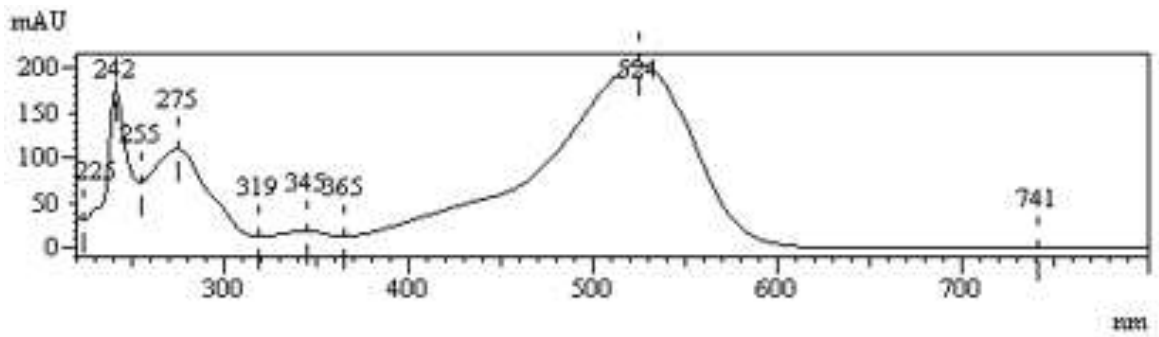
Ціанідин-3-арабінозид



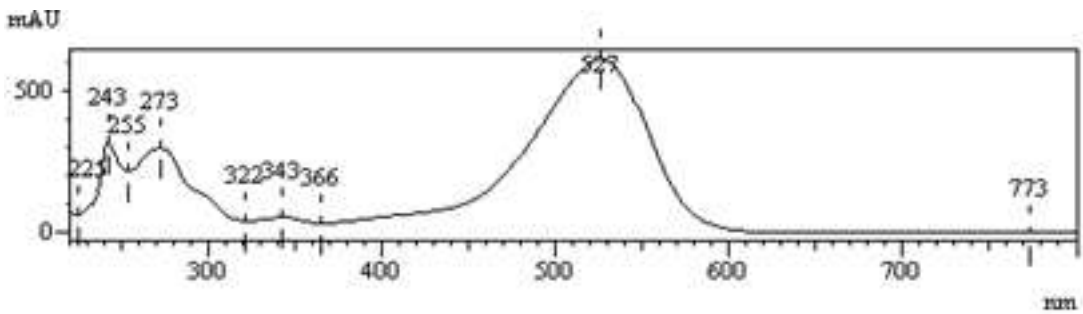
Ціанідин-3-ксилозид



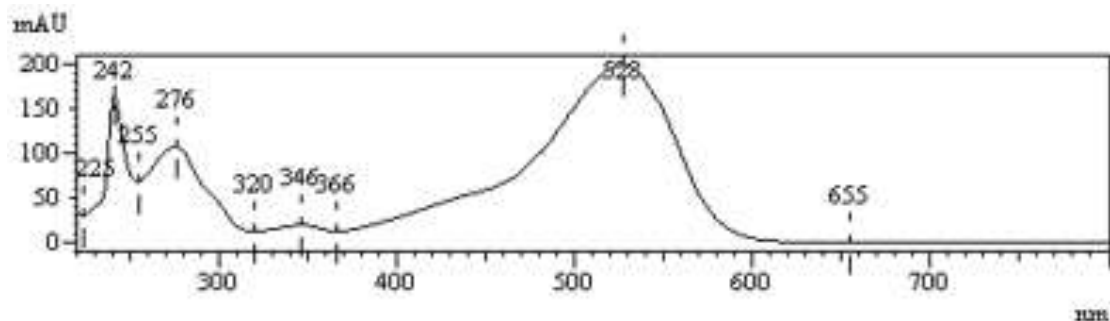
Дельфінідин-3-глюкозид



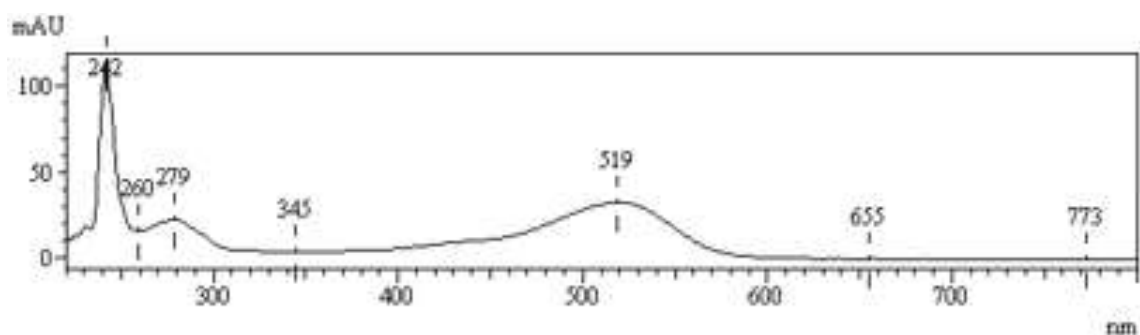
Ціанідин-3-глюкозид



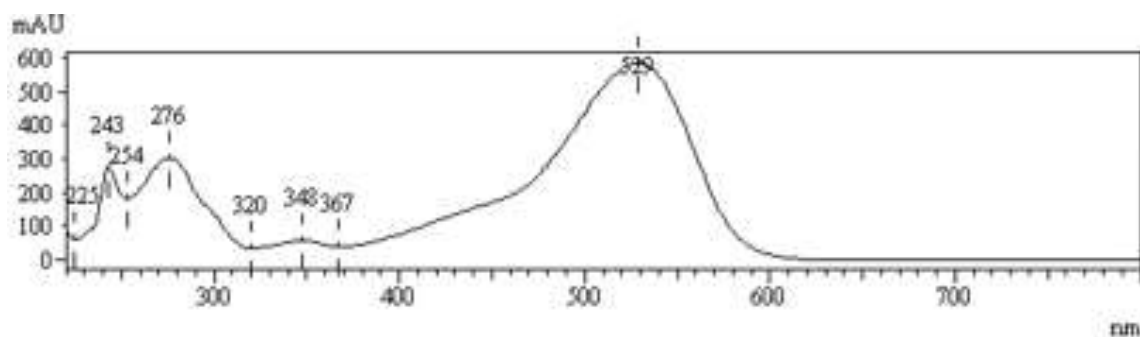
Петунідин-3-глюкозид



Пеонідин-3-глюкозид



Мальвідин-3-глюкозид



Методика визначення амінокислот методом ВЕРХ. Дослідження проводили на хроматографі фірми «Agilent Technologies» (модель 1100), укомплектованому протоковим вакуумним дегазатором G1379A, чотириканальним насосом градієнта низького тиску G13111A, автоматичним інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, діодно-матричним детектором G1316A. Для проведення аналізу була використана хроматографічна колонка розміром 2,1-150 мм, заповнена октадецилсилільним сорбентом, зернення – 3,5 мкм («ZORBAX-XDB-C18»).

Умови хроматографування:

- градієнтний режим хроматографування:

| Час, хв | A % 0.05 М розчин ацетату натрію (рН 6,50) із 15 % v / v ацетонітрилу | B % ACN:H ₂ O (9:1, v/v) | C % H ₂ O | D % ацетонітрил 100 % | Швидкість подачі рухомої фази, мл/хв |
|---------|---|-------------------------------------|----------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0,25 |
| 10 | 75 | 25 | 0 | 0 | 0,25 |
| 15 | 60 | 40 | 0 | 0 | 0,25 |
| 22 | 15 | 85 | 0 | 0 | 0,25 |
| 22,1 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0,25 |
| 23 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0,25 |
| 23,1 | 0 | 0 | 2 | 98 | 0,25 |
| 28 | 0 | 0 | 1 | 99 | 0,25 |
| 28,1 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0,25 |
| 32 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0,25 |

- робочий тиск елюенту – 58-120 кПа;
- температура термостата колонки – 50 °С;
- обсяг проби – 1 мкл.

Параметри детектування:

- масштаб вимірювань – 1,0;
- час сканування – 0,5 с;
- довжина хвилі детектування – 265 нм.

Ідентифікацію амінокислот проводили за часом утримування стандартів.

2.10 Дослідження складу органічних кислот

Дослідження проводили таким чином: до 0,50 мг висушеного екстракту у віалі на 2 мл додавали внутрішній стандарт (50 мкг тридекану в гексані) і 1,0 мл метилуовального агенту – 14 % BCl₃ у метанолі, Supelco № 3–3033. Суміш витримували у герметично закритій віалі протягом 8 год за температури 65 °С. За цей час з екстракту повністю екстрагується жирна олія і відбувається переетерифікація жирних кислот. Реакційну суміш зливали з осаду і розбавляли 1 мл дистильованої

води. Для отримання метилових естерів жирних кислот додавали 0,2 мл хлористого метилену, струшували протягом 1 год та піддавали хроматографуванню.

Уведення проби 2 мкл до хроматографічної колонки проводили у режимі splitless (без розподілу потоку), що дозволяє зробити це без втрат на розділення і суттєво (до 20 разів) збільшити чутливість методу хроматографування. Швидкість уведення проби – 1 мл/хв, термін – 0,2 хв.

Аналіз метилових естерів жирних кислот проводили з використанням хромато-мас-спектрометра 5973N/6890N MSD/DS «Agilent Technologies» (США).

Детектор мас-спектрометра – квадруполь, спосіб іонізації – електронний удар (EI), енергія іонізації – 70 еВ. Для аналізу використовували режим реєстрації повного іонного струму. Для розподілу використовували капілярну колонку HP-INNOWAX (30 м × 250 мкм). Нерухома фаза – INNOWAX; рухома фаза – гелій, швидкість потоку газу – 1 мл/хв; температура нагрівача уведення проби – 250 °С; температура термостата програмується від 50 до 250 °С.

Ідентифікацію метилових естерів кислот проводили на основі розрахунку еквівалентної довжини аліфатичного ланцюга (ECL) з використанням даних бібліотеки мас-спектрів NIST 05 і Willey 2007 із загальною кількістю спектрів понад 470000 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST. Також порівнювали час утримування з часом утримування стандартних сполук («Sigma»).

Для обчислення кількісного визначення компонентів застосовували формулу:

$$C = K_1 \cdot K_2 \cdot 1000 \text{ (мг/кг)}, \quad (2.6)$$

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

$K_2 = 50/M$, 50 – маса внутрішнього стандарту, введеного в досліджуваний зразок, мкг;

M – наважка досліджуваного зразка, мг;

C – вміст жирних кислот у сировині, мг/кг.

2.11 Вивчення імуномодулювальної дії

Імуномодулювальну дію субстанцій вивчали *in vitro* реакція бластної трансформації лімфоцитів.

Як матеріал для тестування субстанцій використовували моноклеарні клітини (лімфоцити), які були вилучені з венозної гепаринізованої крові шляхом центрифугування з використанням градієнта щільності фіколверографіну (щільність – 1,077 г/мл) [65, 98].

Отримані клітини культивували в середовищі 199, яке було доповнено 10 % розчином ембріональної телячої сироватки, 2 мм L-глутаміну, 100 мкг/мл гентаміцину. Суспензію 1 млн клітин в 1 мл культурального середовища з додаванням субстанцій інкубували протягом 15–18 год у термостаті за температури 37 °С, з 5 % CO₂, в атмосфері насиченої водяної пари.

Інтенсивність проліферативної реакції оцінювали за показниками активації синтезу ДНК, яка фіксувалася шляхом обробки зразків моноклональними антитілами до білка S-періоду клітинного мітотичного циклу – бромдеоксиуридину (BrdU) Antibody (3H579) концентрацією 100 мкг/мл (Santa Cruz Biotechnology). Після остаточної підготовки зразків для постанови проточно-цитометричного аналізу з використанням флуоресцентного детектора отримали числові дані загальної кількості клітин та відсоток бластних форм у зразках.

Відомо, що рослинний лектин фітогемаглютинін (ФГА) є мітогеном для усіх Т-лімфоцитів [98]. Тому з метою встановлення кондиційності умов культивування клітин, а також для вивчення потенційної проліферативної активності основних популяцій Т-лімфоцитів контролем була мітогенна стимуляція лімфоцитів ФГА в концентрації 2,5 мкг/мл. В експерименті ставили реакцію РБТЛ без додавання досліджуваних субстанцій (спонтанна бластна трансформація).

РОЗДІЛ 3. ФІТОХІМІЧНЕ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСТРАКТІВ ТА СОКУ ІЗ ПЛОДІВ МАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ

3.1 Попередні дослідження екстрактів з плодів малини

3.1.1 Відповідність плодів вимогам нормативної документації

ДСТУ 7179:2010 «Малина свіжа. Технічні умови» поширюється на свіжі плоди малини всіх помологічних сортів (*Rubus idaeus* L.), які реалізують у торговельній мережі і використовують для промислового перероблення. Використання плодів малини для отримання екстракту та подальше його використання для створення лікарських засобів (ЛЗ) – це промислове перероблення сировини.

Згідно з п. 4.1 цього стандарту плоди малини залежно від показників якості поділяють на два товарних сорти – перший та другий; згідно з п. 4.2 плоди малини свіжої кожного товарного сорту мають бути одного помологічного сорту, характерного розміру, цілі, свіжі, чисті, здорові, без зайвої вологи, без стороннього запаху і присмаку та відповідати показникам якості (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Показники якості плодів малини свіжої

| Показник | Характеристика і норми | Досліджувана сировина | Відповідність стандарту |
|------------------|--|--|-------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| Зовнішній вигляд | Плоди досить розвинуті, здорові, свіжі, цілі, стиглі, без механічних пошкоджень, уражень хворобами та без пошкоджень шкідниками, надмірної зовнішньої вологи, з плодоложем, з характерним для помологічного сорту забарвленням | Плоди досить розвинуті, здорові, свіжі, цілі, стиглі, без механічних пошкоджень, уражень хворобами та без пошкоджень шкідниками, надмірної зовнішньої вологи, з плодоложем, з характерним для помологічного сорту забарвленням | Відповідає |

Продовження табл. 3.1

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|--|--|--|------------|
| Смак і аромат | Притаманний цьому помологічному сорту, без стороннього запаху і присмаку | Притаманний цьому помологічному сорту, без стороннього запаху і присмаку | Відповідає |
| Стан стиглості для споживання у свіжому вигляді та у разі постачання для перероблення | | | |
| Маса ягід для споживання у свіжому вигляді, г, не менше ніж: | | | |
| для першого товарного сорту | 2,5 | 7-9 | Відповідає |
| для другого товарного сорту | 2,2 | 7-9 | Відповідає |
| Маса ягід для технічного перероблення, г | Не нормують | 7-9 | Відповідає |
| Масова частка плодів інших помологічних сортів, % від маси, не більше ніж: | | | |
| для першого товарного сорту | Не допускають | 0 | Відповідає |
| для другого товарного сорту | 5 | 0 | Відповідає |
| Наявність плодів, зім'ятих, перестиглих у місцях заготівлі, % від маси, не більше ніж: | | | |
| для першого товарного сорту | Не допускають | 0 | Відповідає |
| для другого товарного сорту | 2 | 0 | Відповідає |
| Наявність плодів, зім'ятих, перестиглих у місцях призначення, % від маси, не більше ніж: | | | |
| для першого товарного сорту | 2 | 1,8 | Відповідає |
| для другого товарного сорту | 4 | 1,8 | Відповідає |
| Наявність плодів без плодоложа в місцях заготівлі, % від маси, не більше ніж: | | | |
| для першого товарного сорту | Не допускається | 0 | Відповідає |
| для другого товарного сорту | 2 | 0 | Відповідає |
| Наявність плодів без плодоложа в місцях призначення, % від маси, не більше ніж: | | | |
| для першого товарного сорту | 2 | 1,7 | Відповідає |
| для другого товарного сорту | 4 | 1,7 | Відповідає |

Продовження табл. 3.1

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|--|-----------------|---|------------|
| Наявність плодів, які не досягли знімальної стиглості, але не зелених, % від маси, не більше ніж: | | | |
| для першого товарного сорту | Не допускається | 0 | Відповідає |
| для другого товарного сорту | 2 | 0 | Відповідає |
| Наявність домішок рослинного походження, % від маси, не більше ніж: | | | |
| для першого товарного сорту | Не допускається | 0 | Відповідає |
| для другого товарного сорту | 0,5 | 0 | Відповідає |
| Наявність плодів прілих, заброджених, пліснявих, зі слідами хімічних засобів захисту | | | |
| для першого товарного сорту | Не допускається | 0 | Відповідає |
| для другого товарного сорту | Не допускається | 0 | Відповідає |

Як видно з табл. 3.1, нормативний документ, що регламентує якість свіжих плодів малини ДСТУ 7179:2010 «Малина свіжа. Технічні умови», висуває жорсткі умови і досить велика кількість плодів не може бути віднесена до першого або другого товарного сорту і придатна тільки для переробки. Одним зі шляхів переробки плодів малини є отримання соку. Побічним продуктом переробки малини на сік є вичавки, що залишаються після вичавлювання соку і не використовуються у вітчизняній фармацевтичній промисловості. Тому нами було поставлено завдання провести фітохімічне та фармакологічне дослідження продуктів переробки плодів малини.

Зібрані ягоди відповідають вимогам ДСТУ 7179:2010 «Малина свіжа. Технічні умови», віднесені до першого товарного сорту та використані в подальших дослідженнях.

3.1.2 Дослідження динаміки екстракції біологічно активних речовин сухих вичавок плодів малини

Об'єктом дослідження були плоди малини *R. Idaeus*, зібрані в місцях її культивування. Із плодів вичавлювали сік, після чого отримані вичавки висушували та екстрагували спиртом різної концентраціях у співвідношенні 1 : 10 з урахуванням коефіцієнта поглинання. Вміст соку в плодах становив 60,5 %, а вичавок – 39,5 % від маси плоду.

При однократній екстракції у вичавках цієї сировини залишається ще значна кількість БАР. Виходячи з цього доцільно дослідити динаміку екстракції БАР із сухих вичавок плодів малини та визначити оптимальну кратність екстракцій, що здійснювали відповідно до методики визначення екстрактивних речовин, описаної в розд. 2.

Із метою отримання екстрактів брали чотири наважки сухих вичавок масою по 100 г. Кожну з наважок поміщали у колбу і заливали спиртом відповідної концентрації: 20, 50, 70 і 96 % у співвідношенні 1 : 15. Після цього ставили на магнітну мішалку і проводили екстракцію протягом 3 год за кімнатної температури. Одержані екстракти відфільтровували та проводили послідовно ще 5 екстракцій. Відфільтровані екстракти упарювали за допомогою роторного апарата до маси взятої наважки – 100 г. Результати дослідження наведені в табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Залежність виходу екстрактивних речовин зі вичавок плодів малини від кратності екстракцій при екстрагуванні

| Екстрагент | Злив | Сухий залишок, % | % від суми 6 екстракцій |
|-------------|------|------------------|-------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| Етанол 20 % | 1 | 15,93 | 69,79 |
| | 2 | 5,41 | 23,71 |

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|-------------|---|-------|-------|
| Етанол 20 % | 3 | 1,05 | 4,58 |
| | 4 | 0,29 | 1,28 |
| | 5 | 0,10 | 0,44 |
| | 6 | 0,05 | 0,20 |
| Етанол 50 % | 1 | 16,84 | 73,31 |
| | 2 | 5,00 | 21,77 |
| | 3 | 0,79 | 3,45 |
| | 4 | 0,21 | 0,93 |
| | 5 | 0,08 | 0,35 |
| | 6 | 0,04 | 0,17 |
| Етанол 70 % | 1 | 18,00 | 80,07 |
| | 2 | 3,25 | 14,47 |
| | 3 | 1,01 | 4,48 |
| | 4 | 0,13 | 0,59 |
| | 5 | 0,06 | 0,27 |
| | 6 | 0,03 | 0,12 |
| Етанол 96 % | 1 | 10,93 | 76,24 |
| | 2 | 1,87 | 13,02 |
| | 3 | 0,87 | 6,04 |
| | 4 | 0,40 | 2,79 |
| | 5 | 0,20 | 1,39 |
| | 6 | 0,07 | 0,51 |

За 100 % екстрактивних речовин було взято шість екстракцій 20, 50, 70 і 96 % спиртом. Для досліджуваного виду сировини рекомендована 2-кратна екстракція. Вихід екстрактивних речовин від умовних 100 % при екстракції сухих вищавок малини: 20 % спиртом – 93,5 %; 50 % спиртом – 95,08 %; 70 % спиртом – 94,54 %; 96 % спиртом – 89,26 %. Повні виходи при шести екстракціях 20, 50, 70 і 96 % спиртом склали 22,83, 22,96, 22,48 і 14,34 % відповідно. Більш високі виходи у водно-спиртових екстрактах пояснюються розчиненням цукрів у них. Тому вважаємо за доцільне під час виробництва витяжок проводити двократну

екстракцію, що дозволить раціональніше використовувати природні, трудові та часові ресурси (рис. 3.1).

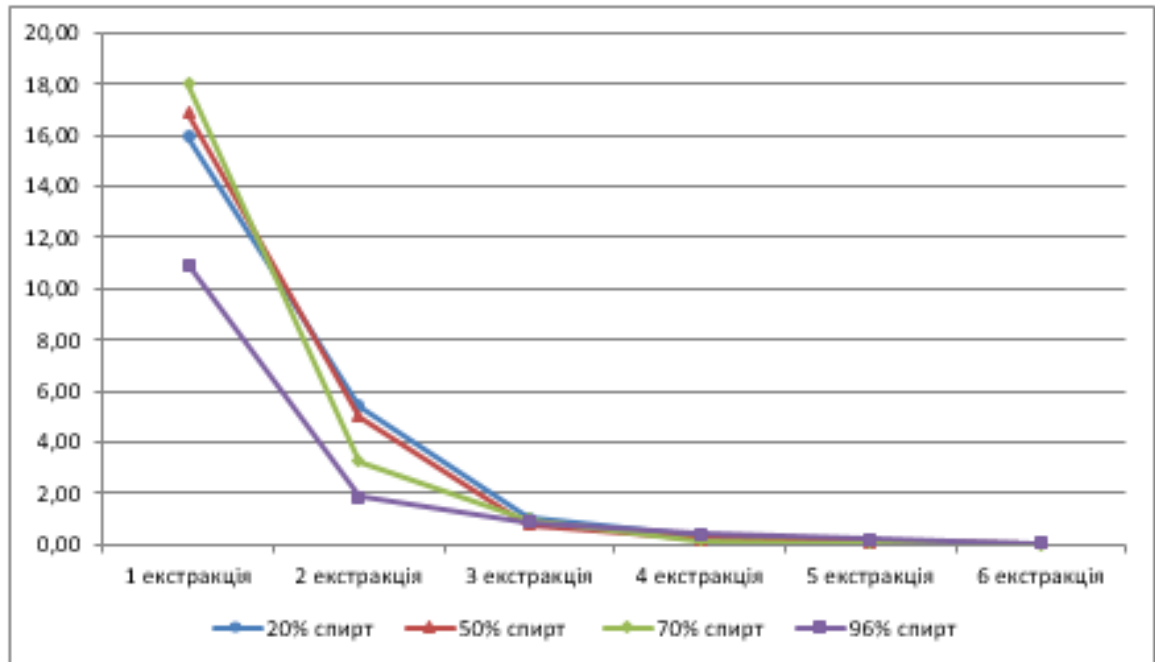


Рис. 3.1 Графік виходу екстрактивних речовин залежно від кількості проведених екстракцій вичавок плодів малини

3.1.3 Попередні дослідження якісного складу плодів малини

Відомо, що екстракти – це складні комплекси різних груп біологічно активних речовин з різною фармакологічною дією. За літературними даними, речовини, які містяться у плодах малини, володіють антимікробною, протівірусною, імуномодулювальною, антиоксидантною дією. Попередні дослідження якісного складу БАР у плодах малини проводили методами паперової, тонкошарової хроматографії у системах, наведених у розд. 2.

Попереднє хроматографічне вивчення якісного складу амінокислот плодів малини звичайної проводили методом висхідної хроматографії у системі розчинників № 2, проявником служив розчин Е. Виявлено три амінокислоти: аргінін,

аланін, цистеїн. Подальше дослідження амінокислотного складу перспективних субстанцій проводили методом ВЕРХ.

При додаванні до 20 мл концентрованих водних екстрактів плодів малини чотирикратного об'єму 96 % етанолу утворювався аморфний осад. Його відділяли, промивали, висушували і використовували для проведення хроматографічного аналізу.

Хроматографували у системі розчинників № 2 низхідним способом у присутності вірогідних зразків моноцукрів. Хроматограми висушували на повітрі, обробляли реактивом Г і нагрівали в сушильній шафі протягом 10 хв за температури 100–105 °С. У результаті дослідження в плодах малини виявлені D–глюкоза та L–рамноза.

Гідроксикоричні кислоти вивчали методом ПХ та двомірної ПХ у системах № 2 і 3 із вірогідними зразками гідроксикоричних кислот. Для хроматографічного дослідження отримали водні екстракти малини звичайної, після чого проводили фракціонування етилацетатом. БАР етилацетатної фракції проявляються на хроматограмі реактивом Д, що є підтвердженням фенольної структури речовини. Наявність ортодіоксигрупи в молекулі підтверджується появою плями сіро–зеленого кольору. Кислотність цих молекул підтверджується утворенням з розчином бромкрезолового синьо–зеленого забарвлення. Під час хроматографування плями мають в УФ–світлі блакитне забарвлення, яке підсилюється або змінюється на зелено–блакитне під дією парів аміаку. Це свідчить про наявність похідних коричної кислоти. Були ідентифіковані *n*–кумарова і хлорогенова кислоти.

Наявність флаваноїдів визначали у водно–спиртових витяжках за допомогою загальновідомих якісних реакцій: ціанідинова проба за Бріантом, реакції із 3 % розчином хлориду заліза. За результатами реакцій робили висновок про присутність глікозидів і агліконів флавоноїдної природи.

Крім того, речовини флавоноїдної природи виявляли ПХ та ТШХ у системах органічних розчинників: № 2, 3, 4. Наявність цієї групи сполук виявляли за флуоресценцією в УФ–світлі до і після обробки хроматограм реактивами А, Б і В.

Установлено, що в плодах малини звичайної міститься не менше 3 сполук флавоноїдної природи.

3.1.4 Кількісне визначення фенольних сполук спектрофотометричним методом

За даними дослідження вмісту екстрактивних речовин, проводити більше трьох послідовних екстракцій недоцільно. Дослідження проводили згідно з описаними у розд. 2 методиками. Визначали кількісний вміст фенольних сполук в екстрактах вичавок плодів малини, отриманих різними екстрагентами, як екстрагент використовували спирт етиловий різної концентрації, а саме 20, 50, 70 і 96 %. Для статистичної достовірності досліди проводили не менше п'яти разів. Результати кількісного визначення антоціанів, суми фенольних сполук, похідних гідроксикоричної кислоти наведені в табл. 3.3.

Таблиця 3.3

Залежність виходу фенольних сполук з вичавок плодів малини від кратності екстракцій

| Екстрагент | Злив | Кількісний вміст у сухому залишку, % | | | Вміст сухого залишку, |
|-------------------|------|--|---|---|-----------------------|
| | | гідроксикоричних кислот ($\lambda = 326$ нм у перерахунку на хлорогенову кислоту) | антоціанів $\lambda = 510$ нм у перерахунку на ціанідин-3,5-диглікозид) | суми фенольних сполук ($\lambda = 270$ нм у перерахунку на галову кислоту) | |
| 1 | 2 | | | | 6 |
| Етанол | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| Сума трьох зливів | | | | | |
| Етанол | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| Сума трьох зливів | | | | | |

| 1 | 2 | | | | 6 |
|-------------------|---|--|--|--|---|
| Етанол | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| Сума трьох зливів | | | | | |
| Етанол | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| Сума трьох зливів | | | | | |

У результаті кількісного визначення основних груп фенольних сполук з'ясовано, що 96 % етанол є оптимальним екстрагентом для одержання ЛЗ на основі гідроксикоричних кислот, для екстракції інших груп фенольних сполук краще використовувати 70 % розчин етанолу. Відмічено, що зі збільшенням градієнта концентрації спирту кількість гідроксикоричних кислот в екстрактах збільшувалась. Крім того, слід зазначити, що третя екстракція була для антоціанів більш значущою як у відсотковому, так і в абсолютному вираженні. Ця закономірність спостерігається для всіх екстрагентів.

3.1.5 Фармакологічний скринінг антимікробної дії отриманих субстанцій

Розробка нових ЛЗ – це пошук альтернативи лікам, наявним на фармацевтичному ринку. Нові ліки мають бути ефективніші у боротьбі з хворобою і безпечніші за ті, які вже використовуються. Що стосується ЛЗ з бактеріостатичною та фунгістатичною активністю, то головною проблемою є їхній негативний вплив на макроорганізм у лікуванні бактеріальної та грибової інфекції (розвиток резистентності, дисбактеріоз, диспептичні явища, алергічні реакції тощо). Тому пошук нових фармакологічно активних субстанцій, які б виявляли антимікробну, фунгіцидну та імуномодулювальну дію та були малотоксичними, залишається однією з важливих проблем сучасної експериментальної фармації. Проведення

фармакологічного скринінгу антимікробної дії дозволяє визначити найбільш перспективну субстанцію для подальшого фітохімічного дослідження.

Фармакологічний скринінг антимікробної, антибактеріальної активності одержаних екстрактів проводили методом дифузії в агар (розд. 2) у лабораторії біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ Інституту мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова під керівництвом к.біол.н. Т. П. Осолодченко. Відповідно до рекомендацій ВООЗ для оцінки активності препаратів використовували референс-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia Coli* ATCC 25922, *Proteus Vulgaris* ATCC 4636, *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 27853, *Basillus Subtilis* ATCC 6633, *Candida Albicans* ATCC 653/885. Для дослідження використовували нативні екстракти. Результати дослідження антимікробної активності екстрактів плодів малини наведені в табл. 3.4. Для точності статистичних даних дослідження антибактеріальної і протигрибкової активності екстрактів проводили п'ять разів.

Таблиця 3.4

**Антимікробна і протигрибкова активність екстракту вичавок
плодів малини, отриманого спиртами різної концентрації**

| Екстракт | Середній діаметр зони затримки росту, мм, n = 5 | | | | | |
|-----------------------|---|---------------------------------------|--------------------------------------|---|---------------------------------------|------------------------------|
| | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | <i>Escherichia Coli</i> ATCC 25922 | <i>Proteus Vulgaris</i> ATCC 4636 | <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> ATCC 27853 | <i>Basillus Subtilis</i> ATCC 6633 | <i>Candida Albicans</i> A |
| 1 | | | | | | |
| 20% спирт | | | | | | |
| Перший злив | | | | | | |
| Другий злив | | | | | | |
| Третій злив | | | | | | |
| Четвертий злив | | | | | | |

Продовження табл. 3.4

| | | | | | | |
|-----------------------|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | |
| Перший злив | | | | | | |
| Другий злив | | | | | | |
| Третій злив | | | | | | |
| Четвертий злив | | | | | | |
| Перший злив | | | | | | |
| Другий злив | | | | | | |
| Третій злив | | | | | | |
| Четвертий злив | | | | | | |
| Перший злив | | | | | | |
| Другий злив | | | | | | |
| Третій злив | | | | | | |
| Четвертий злив | | | | | | |

Отже, екстракти виявляють антимікробну активність по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Escherichia Coli*, *Proteus Vulgaris*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Basillus Subtilis*, *Candida Albicans*. Найбільшу активність виявив екстракт, отриманий 96 % спиртом, тому його було обрано як найперспективнішу субстанцію, що в подальшому досліджувалася більш детально.

Оцінка чутливості патогенів до антимікробних засобів та вивчення їх мінімальної інгібувальної концентрації є основними показниками, які при зіставленні

дозволяють прогнозувати ефективність антибактеріальної терапії. Тому для підтвердження оптимальності двократної екстракції сировини проведено визначення мінімальної інгібувальної концентрації (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

**Дослідження мінімальної інгібувальної концентрації
екстрактів вичавок плодів малини**

| Об'єкти дослідження | Кратність розведення для досягнення МПК, n = 5 | | | | | |
|----------------------------|--|--|------|--|------|------|
| | | | | | | |
| 1 екстракція плодів малини | | | | | | |
| 2 екстракція плодів малини | | | | | | |
| 3 екстракція плодів малини | | | Ріст | | Ріст | Ріст |

Перша та друга екстракції мають доволі високі показники мінімальної інгібувальної концентрації. Вони є ефективними засобами при розведенні від 1 : 32 до 1 : 8 залежно від типу мікроорганізму. Підтверджено що третя екстракція не-ефективна.

3.2 Фітохімічне дослідження фітосубстанцій із плодів малини звичайної

Для одержання фітосубстанцій, які використовували у подальшому, плоди малини були зібрані на території Харківської та Донецької областей. Із плодів малини вичавлювали сік, який потім згущували до 80 % об'єму соку, після чого додавали спирт етиловий у кількості 1/4 до об'єму. Отриманий сік, центрифугували та фільтрували. Вичавки, які залишилися після отримання соку, примусово висушували повітрям за температури 40 °С, після чого екстрагували двічі у співвідношенні 1 : 10 протягом доби. Отримані екстракти об'єднували та згущували до 8,5 % сухого залишку. При подальшому згущуванні екстракт втрачає стабільність, випадає осад.

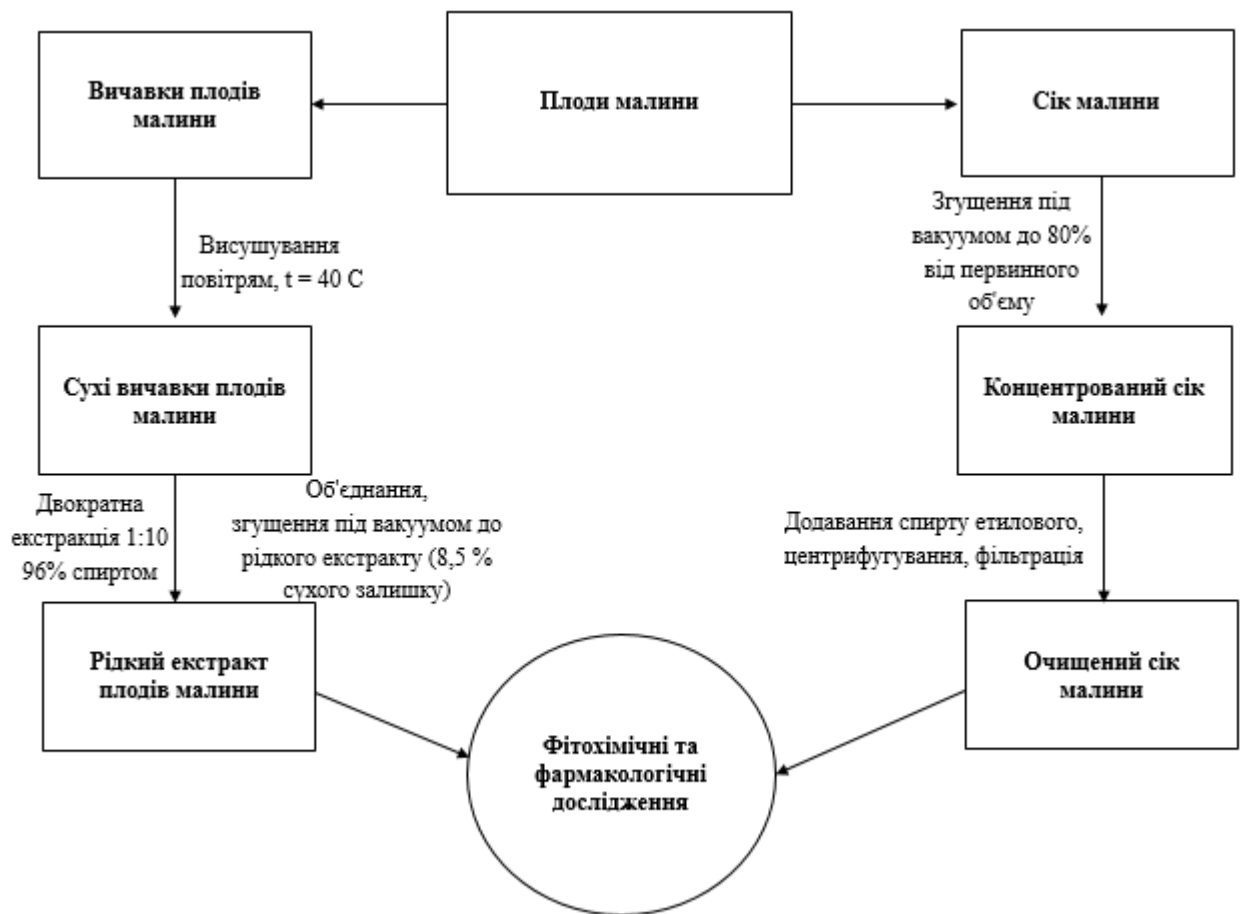


Рис. 3.1 Схема одержання фітосубстанцій з плодів малини звичайної

3.2.1 Дослідження фенольного складу соку та рідкого екстракту вичавок плодів малини (метод ВЕРХ)

Для ідентифікації фенольних сполук в екстракті з вичавок плодів малини звичайної проведено вивчення їх складу методом (ВЕРХ) за допомогою рідинних хроматографічних систем Prominence LC-20 Shimadzu (Японія), колонка Agilent Technologies Microsorb-MV-150c та Shimadzu LC20 Prominence в модульній системі, оснащений діодно-матричним детектором SPDM20A і ChemStation LC20, за умов, наведених в розд. 2.

Результати досліджень фенольних сполук екстракту вичавок плодів малини методом ВЕРХ наведені в табл. 3.6, 3.7.

Таблиця 3.6

Дослідження фенольного складу рідкого екстракту вичавок плодів малини (метод ВЕРХ)

| Час утрим., хв | Індекс подібності, I_L | Ідентифікація | λ , нм | S (у.о.) | $C_{\text{екстр.}}$, мг/л | Примітки | |
|----------------|--------------------------|---------------|----------------|----------|----------------------------|-------------------------|-----------|
| | | | | | | ідентифікована речовина | похідне |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 3,432 | 0,932 | catechin-L | 225 | 414990 | 8,69 | | Флаванолу |
| 3,653 | 0,649 | catechin-L | 225 | 1801873 | 37,73 | | Флаванолу |
| 3,739 | 0,633 | catechin-L | 225 | 3673604 | 76,93 | | Флаванолу |
| 3,913 | 0,894 | catechin_1 | 225 | 5127570 | 107,37 | | Флаванолу |
| 4,241 | 0,638 | catechin-L | 225 | 5627984 | 117,85 | | Флаванолу |
| 4,380 | 0,746 | catechin-L | 225 | 1255454 | 26,29 | | Флаванолу |
| 4,755 | 0,848 | catechin-L | 225 | 449459 | 9,41 | | Флаванолу |
| 4,833 | 0,881 | catechin-L | 225 | 487745 | 10,21 | | Флаванолу |
| 5,096 | 0,795 | catechin_1 | 225 | 92949 | 1,95 | | Флаванолу |
| 5,341 | 0,410 | [daidzein] | 255 | 109354 | 1,84 | Не ідентифіковано | |
| 6,091 | 0,374 | [resveratrol] | 350 | 52557 | 7,90 | Не ідентифіковано | |
| 6,679 | 0,635 | catechin-L | 225 | 765478 | 16,03 | | Флаванолу |
| 7,070 | 0,722 | catechin-L | 225 | 1294951 | 27,12 | | Флаванолу |
| 7,637 | 0,843 | catechin-L | 225 | 112569 | 2,36 | | Флаванолу |
| 7,799 | 0,649 | catechin-L | 225 | 540010 | 11,31 | | Флаванолу |
| 8,098 | 0,566 | [catechin] | 225 | 373792 | 7,83 | Не ідентифіковано | |
| 8,220 | 0,843 | catechin-L | 225 | 750834 | 15,72 | | Флаванолу |
| 8,308 | 0,476 | [myricetin] | 255 | 816836 | 25,31 | Не ідентифіковано | |

Продовження табл. 3.6

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|--------|-------|-----------------|-----|----------|---------|-------------------------|-----------|
| 8,445 | 0,622 | catechin-L | 225 | 612358 | 12,82 | | Флаванолу |
| 8,712 | 0,546 | [naringin] | 286 | 78520 | 3,75 | Не ідентифіковано | |
| 9,155 | 0,957 | catechin-L | 225 | 2563487 | 53,68 | | Флаванолу |
| 9,284 | 0,954 | --Catechin-- | 225 | 245427 | 5,14 | Катехін, флаванол | |
| 9,623 | 0,506 | [naringin] | 286 | 1078036 | 51,53 | Не ідентифіковано | |
| 10,037 | 0,709 | catechin-L | 225 | 186513 | 3,91 | | Флаванолу |
| 10,262 | 0,489 | [naringin] | 286 | 463879 | 22,17 | Не ідентифіковано | |
| 10,485 | 0,874 | catechin-L | 225 | 2404569 | 50,35 | | Флаванолу |
| 10,799 | 0,431 | [naringin] | 286 | 51327298 | 2453,44 | Не ідентифіковано | |
| 11,109 | 0,720 | catechin-L | 225 | 123394 | 2,58 | | Флаванолу |
| 11,364 | 0,646 | naringin-L | 286 | 1295272 | 61,91 | | Флаванону |
| 11,564 | 0,650 | naringin-L | 286 | 1661919 | 79,44 | | Флаванону |
| 11,875 | 0,432 | [naringin] | 286 | 6348573 | 303,46 | Не ідентифіковано | |
| 12,328 | 0,674 | naringin-L | 286 | 1329200 | 63,54 | | Флаванону |
| 12,505 | 0,750 | catechin-L | 225 | 530387 | 11,11 | | Флаванолу |
| 12,691 | 0,948 | catechin-L | 225 | 198886 | 4,16 | | Флаванолу |
| 13,147 | 0,498 | [naringin] | 286 | 31669 | 1,51 | Не ідентифіковано | |
| 13,316 | 0,513 | [naringin] | 286 | 199958 | 9,56 | Не ідентифіковано | |
| 13,542 | 0,820 | naringin-L | 286 | 38429 | 1,84 | | Флаванону |
| 13,865 | 0,746 | catechin-L | 225 | 151280 | 3,17 | | Флаванолу |
| 14,171 | 0,340 | [baicalin] | | | | Не ідентифіковано | |
| 14,490 | 0,340 | [sophoricoside] | 255 | 968578 | 27,17 | Не ідентифіковано | |
| 14,784 | 0,467 | [baicalin] | | | | Не ідентифіковано | |
| 14,928 | 0,312 | [resveratrol] | 350 | 19345 | 2,91 | Не ідентифіковано | |
| 15,251 | 0,354 | | 350 | 33990 | 5,11 | Не ідентифіковано | |
| 15,489 | 0,350 | [chlor acid] | 350 | 7277 | 0,43 | Не ідентифіковано | |
| 15,790 | 0,629 | myricetin-L | 255 | 64174 | 1,99 | | Флаванолу |
| 15,986 | 0,418 | [baicalin] | | | | Не ідентифіковано | |
| 16,424 | 0,401 | [resveratrol] | 350 | 1415 | 0,21 | Не ідентифіковано | |
| 16,644 | 0,536 | [apigenin] | 350 | 16076 | 0,48 | Не ідентифіковано | |
| 17,267 | 0,108 | [luteolin] | 350 | 16038 | 0,29 | Не ідентифіковано | |
| 17,483 | 0,887 | apigenin-L | 350 | 18552 | 0,56 | | Флаванону |
| 17,996 | 0,748 | --Rutin-- | 255 | 76237 | 4,32 | Рутин, флаванол | |
| 18,297 | 0,632 | --Hesperidin-- | 286 | 32222 | 2,10 | Гесперидин, флаванон | |

Продовження табл. 3.6

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|--------|--------|---------------|-----|---------|-------|------------------------|-----------|
| 18,640 | -1,216 | [genistein] | 255 | 937923 | 13,06 | Не ідентифіковано | |
| 19,051 | -1,136 | [genistein] | 255 | 3582614 | 49,87 | Не ідентифіковано | |
| 19,279 | 0,464 | [naringin] | 286 | 55293 | 2,64 | Не ідентифіковано | |
| 19,769 | 0,810 | --Myricetin-- | 255 | 22285 | 0,69 | Мірицетин, флаванол | |
| 20,584 | 0,781 | luteolin-L | 350 | 63043 | 1,14 | | Флаванолу |
| 20,940 | -3,584 | [genistein] | 255 | 309852 | 4,31 | Не ідентифіковано | |
| 21,855 | 0,609 | catechin-L | 225 | 152561 | 3,19 | | Флаванолу |
| 22,088 | 0,954 | catechin-L | 225 | 78176 | 1,64 | | Флаванолу |
| 22,842 | 0,446 | [genistein] | 255 | 38446 | 0,54 | Не ідентифіковано | |
| 23,433 | 0,561 | [naringin] | 286 | 1147 | 0,05 | Не ідентифіковано | |
| 23,673 | 0,843 | catechin-L | 225 | 8631 | 0,18 | | Флаванолу |
| 23,827 | 0,410 | [daidzein] | 255 | 43765 | 0,74 | Не ідентифіковано | |
| 23,943 | 0,462 | [daidzein] | 255 | 60062 | 1,01 | Не ідентифіковано | |
| 24,103 | 0,600 | quercetin-L | 255 | 43385 | 1,11 | | Флаванолу |
| 24,310 | 0,512 | [catechin] | 225 | 29178 | 0,61 | Не ідентифіковано | |
| 24,849 | 0,843 | catechin-L | 225 | 12262 | 0,26 | | Флаванолу |
| 25,401 | 0,532 | [hesperetin] | 286 | 1001 | 0,02 | Не ідентифіковано | |
| 27,948 | 0,352 | [daidzein] | 255 | 1832 | 0,03 | Не ідентифіковано | |
| 28,477 | 0,891 | catechin-L | 225 | 39193 | 0,82 | | Флаванолу |

Таблиця 3.7

**Дослідження антоціанового складу рідкого екстракту вичавок
плодів малини (метод ВЕРХ)**

| Час утрим., хв | S (у.о.) | C _{екстр.} , МГ/Л | Ідентифікація |
|----------------|----------|----------------------------|---------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| 9,244 | 14083 | 0,60 | |
| 9,555 | 802 | 0,03 | |
| 9,902 | 5862 | 0,25 | |
| 10,125 | 11572 | 0,49 | |
| 10,307 | 1553 | 0,07 | |
| 10,749 | 5467 | 0,23 | |
| 10,867 | 3679 | 0,16 | |

Продовження табл. 3.7

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|--------|---------|-------|-------------------------------|
| 11,727 | 1863 | 0,08 | |
| 11,859 | 3138 | 0,13 | |
| 12,244 | 2100 | 0,09 | |
| 12,644 | 15842 | 0,68 | |
| 13,880 | 6303 | 0,27 | |
| 14,170 | 1024773 | 43,74 | cyanidin-3-sophorose |
| 14,780 | 629078 | 26,85 | cyanidin-3-glucosylrutinoside |
| 15,255 | 357658 | 15,27 | cyanidin-3-glucoside |
| 15,647 | 9314 | 0,40 | pelargonodin-3-sophorose |
| 15,767 | 31604 | 1,35 | cyanidin-3-xylosylrutinoside |
| 16,011 | 110184 | 4,70 | cyanidin-3-rutinoside |
| 16,200 | 2320 | 0,10 | |
| 16,393 | 2601 | 0,11 | |
| 17,749 | 2800 | 0,12 | |
| 19,040 | 6170 | 0,26 | |
| 19,977 | 6177 | 0,26 | |

Примітка: час утрим. – середній час утримування речовини для чотирьох довжин хвиль (225, 255, 286 і 350 нм); індекс подібності, ІЛ – схожість між речовиною і стандартом за спектральними характеристиками; ідентифікація – стандарт, до якого речовина виявляє найбільшу схожість; λ , нм – довжина хвилі, за якої проведено калібрування залежності «площа піку–вміст» для конкретного стандарту; S (у.о.) – площа піку речовини при довжині хвилі λ ; $C_{\text{екстр.}}$ (мг/л) – вміст речовин в екстракті.

Сума ідентифікованих флаванолів становить 8,11 мг/л – це 0,015 % у сухому залишку екстракту: рутин – 4,32 мг/л; мірицитин – 0,69 мг/л і його глікозиди – 1,99 мг/л. Відсутність кверцетину й аглікону рутину пояснюється окисненням їх у вичавках до хінонпохідних.

Флаваноли та їх олігополімери, похідні флавани-3-олів (катехинів) і флавані-3,4 діолів (антоціанів), вони предствалені катехіном – 5,14 мг/л, його похідними – 80,42 мг/л. 541,5 мг/л катехіноподобні речовини належать до поліфенолів олігомеру, піки яких розташовані поза зоною піків катехинів, вміст яких у сухому залишку становить 1,13 %. Із антоціанів установлені: 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 із 23 антоціанів – 95,91 % від їх загальної маси. Загальний вміст флавандіолів та їх похідних становить 0,17 % від сухого залишку досліджуваного екстракту.

Разом виявлено 94 речовини фенольної природи в масі 3929,53 мг/л екстракту. При 55000 мг сухого залишку на літр це становить 7,15 % фенольних сполук, з них 2992,62 мг/л (або 5,44 %) хоча і є фенольними сполуками, не були ідентифіковані, оскільки індекс подібності до стандартів був недостатній. Хроматограми, одержані при визначенні вмісту речовини фенольної природи в рідкому екстракті вичавок плодів малини звичайної, наведені на рис. 3.2-3,4.

Для ідентифікації фенольних сполук у соці малини звичайної також проведено вивчення їх складу методом (ВЕРХ) за допомогою рідинних хроматографічних систем Prominence LC-20 Shimadzu (Японія), колонка Agilent Technologies Microsorb-MV-150c та Shimadzu LC20 Prominence в модульній системі, оснащений діодно-матричним детектором SPDM20A і ChemStation LC20 за умов, наведених у розд. 2.

Результати досліджень фенольних сполук соку малини методом ВЕРХ наведені в табл. 3.8, 3.9.

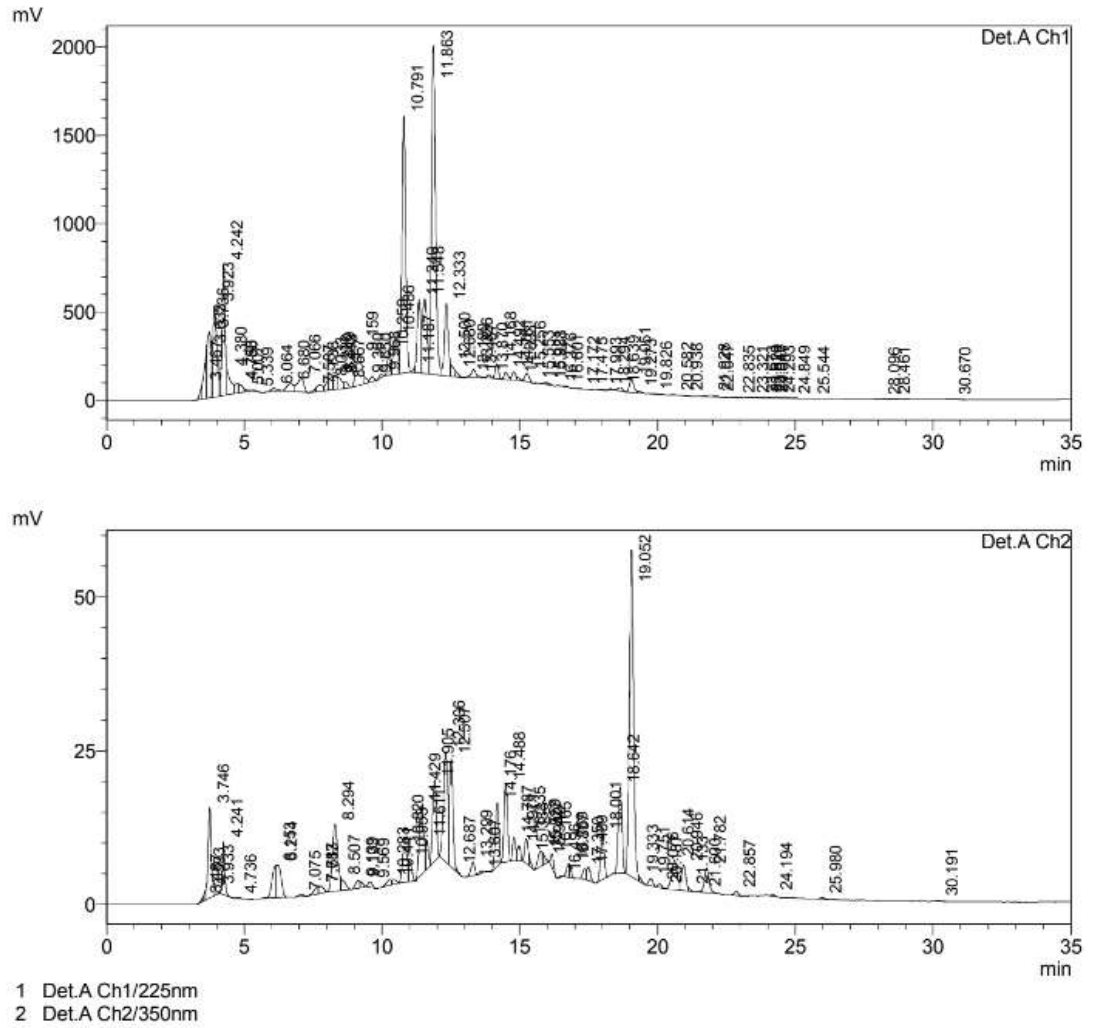


Рис. 3.2 Хроматограми визначення вмісту фенольних сполук у рідкому екстракті вичавок плодів малини звичайної за довжин хвиль 225 та 350 нм

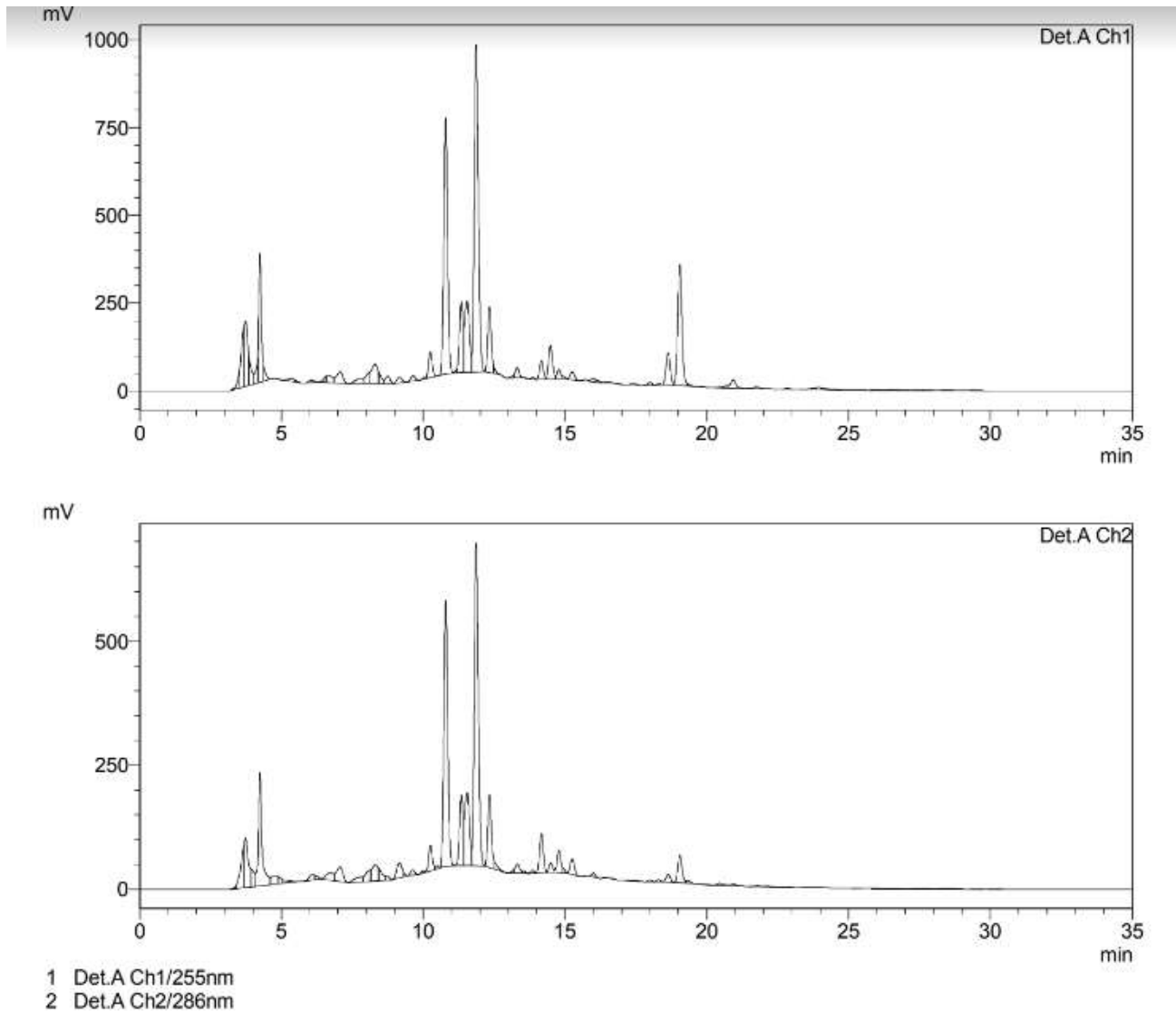


Рис. 3.3 Хроматограми визначення вмісту фенольних сполук у рідкому екстракті вичавок плодів малини звичайної за довжин хвиль 255 та 286 нм

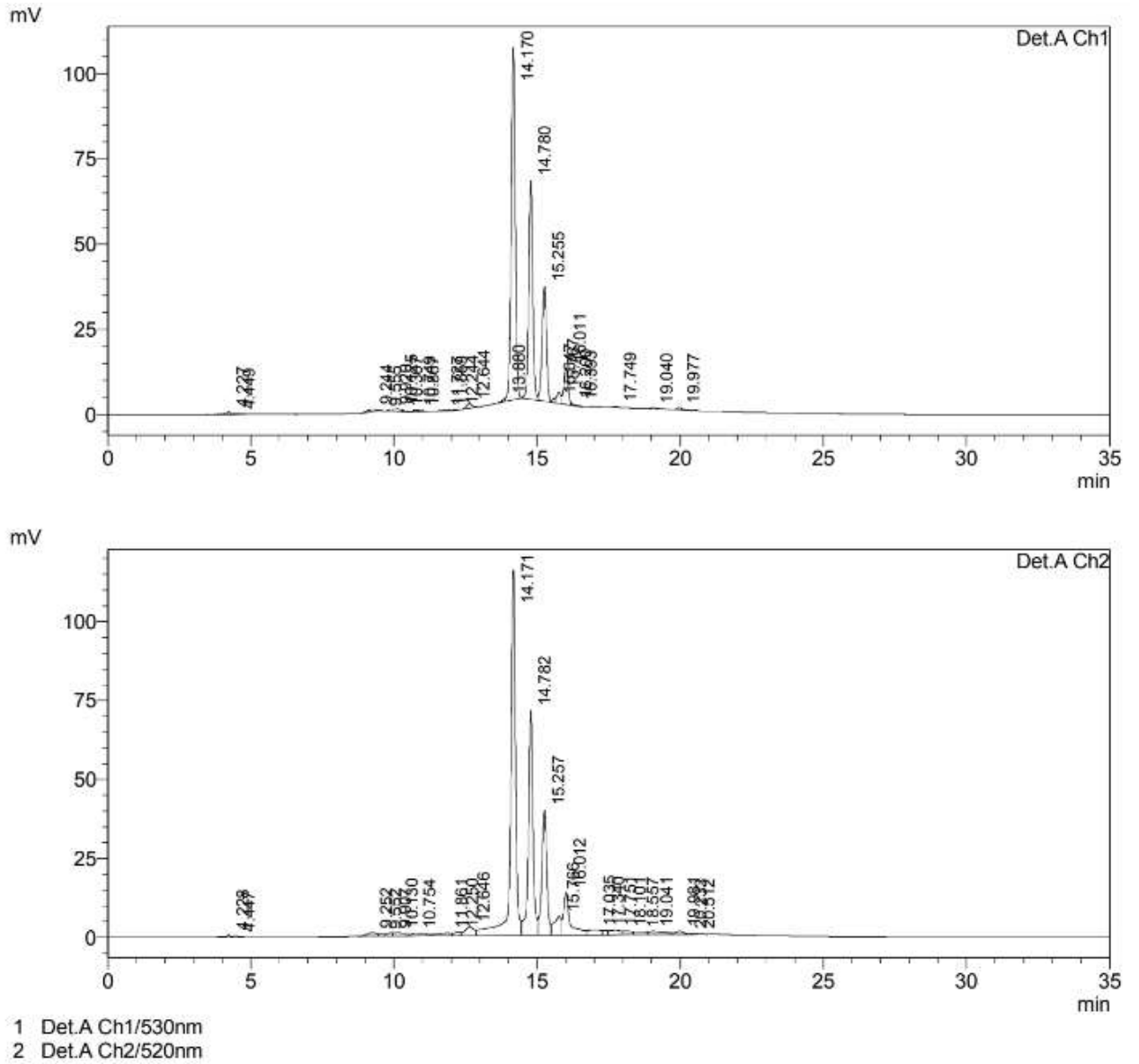


Рис. 3.4 Хроматограми визначення вмісту фенольних сполук у рідкому екстракті вичавок плодів малини звичайної за довжин хвиль 530 та 520 нм

Дослідження фенольного складу соку малини (метод ВЕРХ)

| Час утрим., хв | Індекс подіб- ності, I _L | Ідентифікація | λ, нм | S (у.о.) | C _{екстр.} , мг/л | Примітки | |
|----------------------|---|------------------|-------|----------|-------------------------------|--|-----------|
| | | | | | | ідентифіко- вана речовина | похідне |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| 2,131 | 0,843 | catechin-L | 225 | 7464 | 0,16 | | Флаванолу |
| 3,440 | 0,936 | catechin-L | 225 | 409338 | 8,57 | | Флаванолу |
| 3,644 | 0,954 | catechin-L | 225 | 2057669 | 43,09 | | Флаванолу |
| 3,738 | 0,632 | catechin-L | 225 | 1763706 | 36,93 | | Флаванолу |
| 4,018 | 0,891 | catechin-L | 225 | 5751643 | 120,44 | | Флаванолу |
| 4,234 | 0,693 | catechin-L | 286 | 3164893 | 66,27 | | Флаванолу |
| 4,382 | 0,927 | catechin-L | 225 | 928936 | 19,45 | | Флаванолу |
| 4,807 | 0,954 | catechin-L | 225 | 1098392 | 23,00 | | Флаванолу |
| 5,381 | 0,610 | catechin-L | 225 | 238492 | 4,99 | | Флаванолу |
| 6,151 | 0,413 | [myricetin] | 255 | 104661 | 3,24 | Не ідентифіковано | |
| 6,589 | 0,690 | catechin-L | 225 | 482977 | 10,11 | | Флаванолу |
| 7,094 | 0,698 | catechin-L | 225 | 546337 | 11,44 | | Флаванолу |
| 8,037 | 0,897 | catechin-L | 225 | 543918 | 11,39 | | Флаванолу |
| 8,321 | 0,400 | [myricetin] | 255 | 179736 | 5,57 | Не ідентифіковано | |
| 8,437 | 0,465 | [myricetin] | 255 | 128747 | 3,99 | Не ідентифіковано | |
| 9,148 | 0,927 | --Catechin-- | 225 | 175086 | 3,67 | Катехін, флаванол | |
| 9,289 | 0,530 | [resveratrol] | | | | Не ідентифіковано | |
| 9,670 | 0,731 | naringin-L | 286 | 111382 | 5,32 | | Флаванону |
| 10,143 | 0,500 | [resveratrol] | 350 | 15926 | 2,40 | Не ідентифіковано | |
| 10,251 | 0,459 | [naringin] | 286 | 85587 | 4,09 | Не ідентифіковано | |
| 10,819 | 0,526 | [naringin] | 286 | 751834 | 35,94 | Не ідентифіковано | |
| 11,069 | 0,662 | rutin-L | 255 | 17642 | 1,00 | | Флаванолу |
| 11,409 | 0,726 | --Caffeic acid-- | 350 | 226936 | 7,58 | Кофейна, гід- роксикорична кислоти | |
| 11,602 | 0,591 | [naringin] | 286 | 329844 | 15,77 | Не ідентифіковано | |
| 11,928 | 0,466 | [naringin] | 286 | 202656 | 9,69 | Не ідентифіковано | |
| 12,299 | 0,437 | [apigenin] | 350 | 308122 | 9,26 | Не ідентифіковано | |
| 12,509 | 0,404 | [myricetin] | 255 | 134274 | 4,16 | Не ідентифіковано | |
| 12,840 | 0,843 | catechin-L | 225 | 18486 | 0,39 | | Флаванолу |
| 13,022 | 0,822 | naringin-L | 286 | 67160 | 3,21 | | Флаванону |
| 13,330 | 0,519 | [naringin] | 286 | 24613 | 1,18 | Не ідентифіковано | |
| 13,510 | 0,815 | naringin-L | 286 | 30944 | 1,48 | | Флаванону |
| 13,836 | 0,761 | naringin-L | 286 | 46538 | 2,22 | | Флаванону |
| 14,176 | 0,443 | [resveratrol] | | | | Не ідентифіковано | |

Продовження табл. 3.8

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|--------|--------|-----------------|-----|---------|-------|-------------------------|--------------------------|
| 14,502 | 0,585 | [sophoricoside] | 255 | 410862 | 11,52 | Не ідентифіковано | |
| 14,789 | 0,433 | [resveratrol] | | | | Не ідентифіковано | |
| 15,270 | 0,329 | [resveratrol] | 350 | 14575 | 2,19 | Не ідентифіковано | |
| 15,747 | 0,413 | [baicalin] | 286 | 39112 | 1,69 | Не ідентифіковано | |
| 15,891 | 0,752 | myricetin-L | 255 | 34512 | 1,07 | | |
| 16,015 | 0,695 | naringin-L | 286 | 136652 | 6,53 | | Флаванону |
| 16,480 | 0,593 | [catechin] | 225 | 14161 | 0,30 | Не ідентифіковано | |
| 16,754 | 0,702 | myricetin-L | 255 | 17082 | 0,53 | | Флаванолу |
| 16,977 | 0,700 | naringin-L | 286 | 12948 | 0,62 | | Флаванону |
| 17,638 | 0,627 | caffeic acid-L | 350 | 348 | 0,01 | | Гідроксикоричної кислоти |
| 17,808 | 0,843 | catechin-L | 225 | 1546 | 0,03 | | Флаванолу |
| 17,996 | 0,774 | --Rutin-- | 255 | 42747 | 2,43 | Рутин, флаванол | |
| 18,287 | 0,702 | --Hesperidin-- | 286 | 23021 | 1,50 | Гесперидин, флаванон | |
| 18,373 | 0,843 | catechin-L | 225 | 18492 | 0,39 | | Флаванолу |
| 18,653 | -2,964 | [genistein] | 255 | 336025 | 4,68 | Не ідентифіковано | |
| 19,052 | -1,107 | [genistein] | 255 | 4204670 | 58,53 | Не ідентифіковано | |
| 19,333 | -0,116 | [genistein] | 255 | 29648 | 0,41 | Не ідентифіковано | |
| 19,719 | 0,548 | --Myricetin-- | 255 | 5582 | 0,17 | | Флаванолу |
| 20,007 | 0,543 | [catechin] | | | | Не ідентифіковано | |
| 20,441 | -3,192 | [baicalin] | 286 | 68551 | 2,97 | Не ідентифіковано | |
| 20,938 | -3,961 | [genistein] | 255 | 107505 | 1,50 | Не ідентифіковано | |
| 21,270 | -2,127 | [genistein] | 255 | 12299 | 0,17 | Не ідентифіковано | |
| 21,771 | 0,798 | rutin-L | 255 | 20439 | 1,16 | | Флаванолу |
| 22,098 | 0,987 | --Hesperetin-- | 286 | 6808 | 0,15 | Гесперидин, флаванон | |
| 22,836 | 0,346 | [sophoricoside] | 255 | 34227 | 0,96 | Не ідентифіковано | |
| 24,821 | 0,843 | catechin-L | 225 | 17805 | 0,37 | | Флаванолу |
| 25,854 | 0,283 | [genistein] | 255 | 12301 | 0,17 | Не ідентифіковано | |
| 26,536 | -2,415 | [genistein] | 255 | 22718 | 0,32 | Не ідентифіковано | |
| 27,747 | 0,410 | [daidzein] | 255 | 1121 | 0,02 | Не ідентифіковано | |
| 28,041 | 0,843 | catechin-L | 225 | 17258 | 0,36 | | Флаванолу |
| 28,273 | 0,843 | catechin-L | 225 | 5663 | 0,12 | | Флаванолу |

Дослідження антоціанового складу соку плодів малини (метод ВЕРХ)

| Час утрим., хв | S (у.о.) | C _{екстр.} , мг/л | Ідентифікація |
|----------------|----------|----------------------------|-------------------------------|
| 9,269 | 26238 | 1,12 | |
| 10,188 | 24289 | 1,04 | |
| 10,966 | 2393 | 0,10 | |
| 11,881 | 2596 | 0,11 | |
| 12,307 | 1008 | 0,04 | |
| 12,646 | 17181 | 0,73 | |
| 14,169 | 1297992 | 55,40 | cyanidin-3-sophoroside |
| 14,780 | 962063 | 41,06 | cyanidin-3-glucosylrutinoside |
| 15,254 | 218783 | 9,34 | cyanidin-3-glucoside |
| 15,765 | 41292 | 1,76 | cyanidin-3-xylosylrutinoside |
| 16,009 | 127137 | 5,43 | cyanidin-3-rutinoside |
| 16,347 | 1692 | 0,07 | |
| 17,032 | 2833 | 0,12 | |
| 17,747 | 1294 | 0,06 | |
| 19,985 | 12885 | 0,85 | |

Примітка: час утрим. – середній час утримування речовини для чотирьох довжин хвиль (225, 255, 286 і 350 нм); індекс подібності, IL – схожість між речовиною і стандартом за спектральними характеристиками; ідентифікація – стандарт, до якого речовина виявляє найбільшу схожість; λ , нм – довжина хвилі, за якої проведено калібрування залежності «площа піка – вміст» для конкретного стандарту; S (у.о.) – площа піка речовини за довжині хвилі λ ; C_{екстр.} (мг/л) – вміст речовин в екстракті.

У соці малини не виявлені ізофлавоноїди. Загальна сума поліфенолів склала 687,82 мг/л, що від сухого залишку соку становить 2,3 %. 0,583 % речовин не ідентифіковані через умовно найнижче значення індексу подібності, вміст їх визначався за стандартом, подібність до якого була найбільшою. 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 (або 0,025 % від сухого залишку і 0,67 % від суми поліфенолів).

Вміст катехіну і його похідних становить 7,09 мг/л – 0,024 % від сухого залишку, а власне катехін – лише половину від суми катехінів – 0,012 %. Катехіноподобні речовини зі спектральними характеристиками катехінів представлені в кількості 357,08 мг/л, що становить 1,19 % від сухого залишку, а від суми поліфенолів – 51,91 %. Другими за кількістю є антоціани – 174,44 мг (або 0,392 % від сухого залишку); 15 антоціанів складають 25,36 % від суми поліфенолів, п'ять з них були ідентифіковані як: ціанідин-3-софорозид – 55,44 мг/л (або 0,18 % від сухого залишку і 8,06 % від суми поліфенолів); ціанідин-3-глюкозилрутинозид – 41,06 мг/л (0,14 % від сухого залишку і 5,97 % від поліфенолів); ціанідин-3-глюкозид – 9,34 мг/л (0,03 % від сухого залишку і 1,36 % від поліфенолів соку); ціанідин-3-ксилозилрутинозид – 1,76 мг/л (0,006 % від сухого залишку і 0,26 % від поліфенолів); ціанідин-3-рутинозид – 5,43 мг/л (0,18 % від сухого і 0,79 % від суми фенольних сполук).

Флаваноїди в соці малини представлені флаванолами – 6,37 мг/л і флаванонами – 21,03 мг/л (0,021 і 0,07 % від сухого залишку, розчинного у спирті).

Представниками флаванолів, ідентифікованими в соці, є глікозид кверцетину рутин – 2,43 мг/л (0,008 % сухого залишку), відсотковий вміст від поліфенолів – 0,35 %; а також мірицетин – 0,17 мг/л (0,006 і 0,003 % від сухого залишку і поліфенолів відповідно) і його глікозид – 1,60 мг/л (0,005 % від сухого залишку і 0,25 % від поліфенолів). Сума флаванолів похідних кверцетину і мірицетин, виявлених у зразку, склала 6,36 мг/л (0,02 % або 0,092 % від сухого залишку і від суми поліфенолів відповідно).

Флаванони предствлені геспередином – 1,5 мг/л і гесперитином – 0,15 мг/л; загальна кількість флаванонів – 21,03 мг/л (0,07 % від сухого залишку і 3,05 % від суми поліфенолів); загальна сума флаваноїдів становить 148,68 мг/л (0,5 % від сухого залишку соку малини).

Із 76 фенольних сполук ідентифіковано 12: одна гідроксикорична кислота, один флаванон, три флавоноли, два флавони, п'ять антоціанів (флаванодіолів). Хроматограми, одержані при визначенні вмісту речовин фенольної природи в соці плодів малини звичайної, наведені на рис. 3.5-3.7.

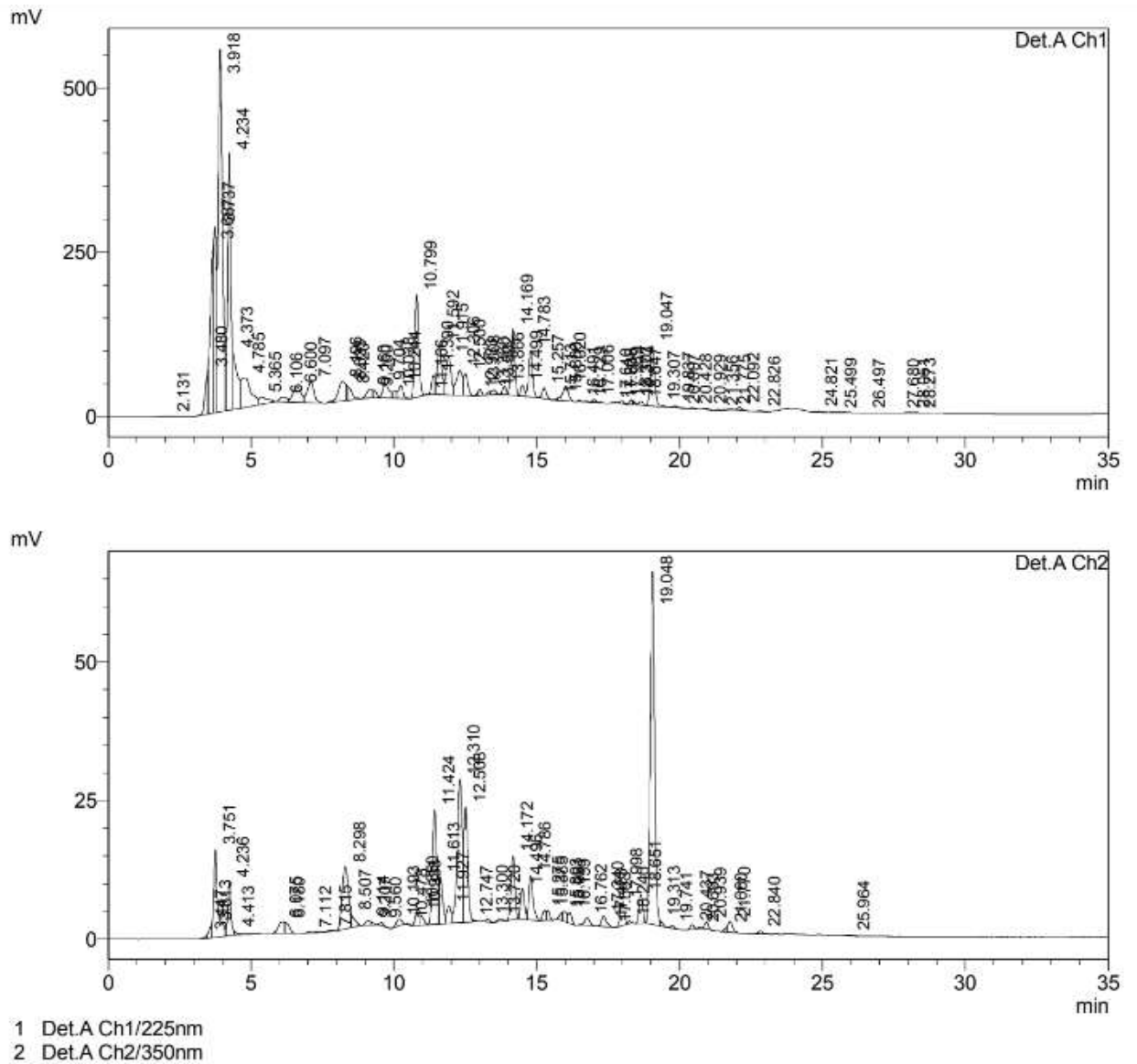


Рис. 3.5 Хроматограми визначення вмісту фенольних сполук у соці плодів малини звичайної за довжин хвиль 225 та 350 нм

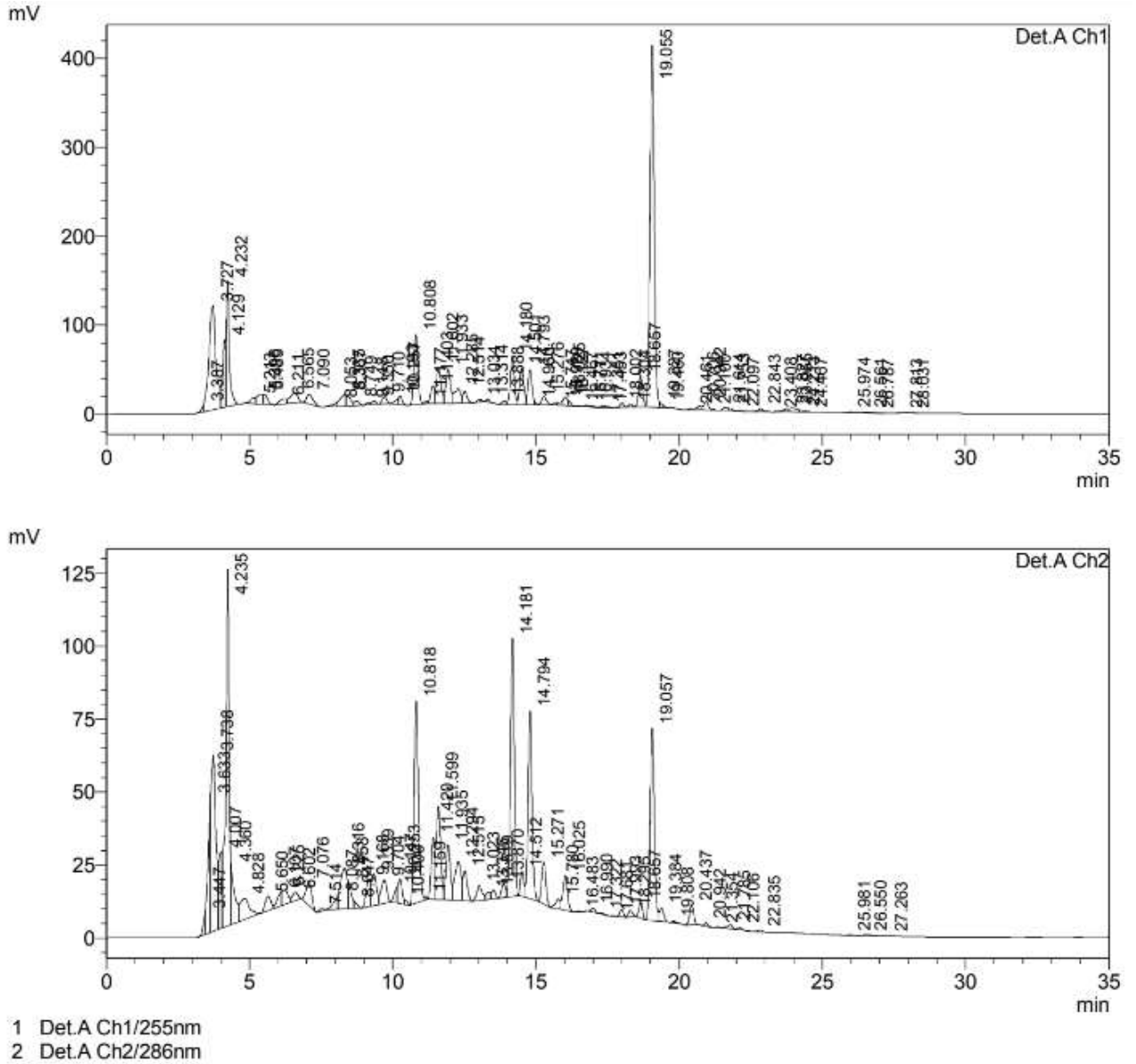


Рис. 3.6 Хроматограми визначення вмісту фенольних сполук у соці плодів малини звичайної за довжин хвиль 255 та 286 нм

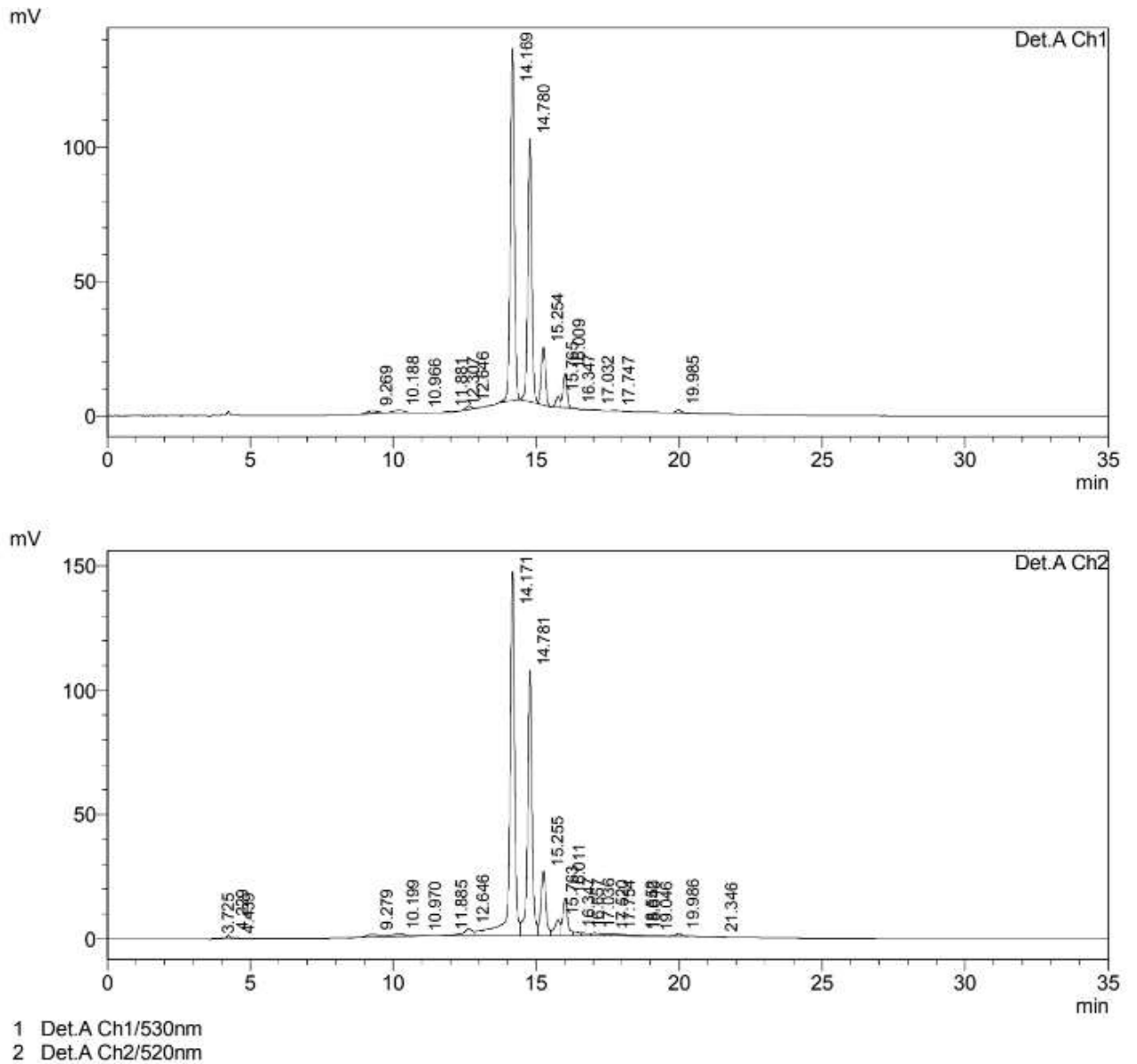


Рис. 3.7 Хроматограми визначення вмісту фенольних сполук у соці плодів малини звичайної за довжин хвиль 530 та 520 нм

Узагальнені дані дослідження вмісту фенольних сполук у соці та екстракті вичавок плодів малини звичайної наведені в табл. 3.10.

Таблиця 3.10

**Результати досліджень фенольних сполук соку та екстракту
вичавок малини методом ВЕРХ**

| Група поліфенолів | Вміст, мг/л екстр. | Вміст, мг/л соку | Використані стандарти | Вміст, мг/л екстр. | Вміст, мг/л соку |
|-------------------------|--------------------------|------------------------|-----------------------------------|--------------------------|------------------------|
| Фенольні кислоти | | | Кофейна кислота | | |
| Катехіни | | | Катехін | | |
| Катехіноподібні* | | | | | |
| Флавоноли | | | Рутин | | |
| | | | Кверцетин | | |
| | | | Глікозиди мірицетину | | |
| | | | Мірицетин | | |
| Флаванони | | | Гесперидин | | |
| | | | Гесперетин | | |
| Флаволи | | | Глікозиди лютеоліну | | |
| | | | Глікозиди апігеніну | | |
| Антоціани | | | Ціанідин-3-софорозид | | |
| | | | Ціанідин-3-глюкозилрути- нозид | | |
| | | | Ціанідин-3-глюкозид | | |
| | | | Пеларгонідин-3-софорозид | | |
| | | | Ціанідин-3-ксилозилрути- нозид | | |
| | | | Ціанідин-3-рутинозид | | |
| Не ідентифіковано | | | | | |
| Сума поліфенолів | | | | | |
| Сума флавоноїдів | | | | | |

3.2.2 Дослідження тритерпеноїдів соку та рідкого екстракту вичавок плодів малини (метод ВЕРХ)

За літературним аналізом у вегетативних органах малини були виявлені пентациклічні тритерпенові сапоніни групи олеану й урсану. Відомостей про вміст сапонінів тритерпенового і стероїдного ряду в плодах малини звичайної і продуктах переробки нами виявлено не було.

Оскільки сапоніни – це БАР, які найчастіше знаходяться у формі глікозидів, то вони мають від одного до п'яти цукрів, предствлених як нейтральними, так і карбоксильованими молекулами. Тому аналізували і нативний екстракт або сік і після гідролізу 5 % соляною кислотою. Оскільки загального методу не існує, то використовували метод ВЕРХ зі спектрофотометричним детектором в УФ-спектрі.

Для детекції сапонінів використовували достовірні стандартні зразки: тритерпенові пентациклічні сапоніни, похідні α -амірину й урсанового ряду (еускапова, урсолова, торментилова кислоти). Тритерпенові сапоніни, похідні β -амірину ряду олеанану: олеанолова кислота, гедеракозид С, есцин, уваол, еритродіол.

Група лупану досліджена на вміст бетуїнової кислоти і лупеололу, зі стероїдних сапонінів представлені зразком фуростанолового сапоніну актеїну.

Хроматограми та результати, одержані при визначенні вмісту тритерпенових сапонінів екстракту з вичавок плодів малини звичайної, наведені в табл. 3.11 і на рис. 3.8.

Аналіз екстракту вичавок плодів малини на тритерпенові і стероїдні сапоніни показав наявність пентациклічних тритерпенових сапонінів – похідних урсану, олеанану та лупану.

**Результати дослідження сапонінів екстракту вичавок
плодів малини методом ВЕРХ**

| Час утрим., хв | Речовина | λ_{\max} , нм | Площа піка | Вміст речовин в екстракті, мг/л | % від сухого залишку екстракту |
|---|----------------------------|-----------------------|------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Нативний | | | | | |
| 5,276 | Неідентифікований сапонін* | 204 | 40211,0 | 3,94 | 0,007 |
| 8,684 | Еускапова кислота | 200 | 163252,6 | 15,99 | 0,029 |
| 12,216 | Торментинова кислота | 200 | 96284,6 | 9,43 | 0,017 |
| 49,669 | Лупеол | 203; 230 | 173574,4 | 17,00 | 0,031 |
| Сума сапонінів | | | | 46,41 | 0,084 |
| Гідролізат екстракту вичавок плодів малини | | | | | |
| 5,244 | Неідентифікований сапонін* | 204 | 203349,0 | 1,99 | 0,004 |
| 15,995 | Олеанолова кислота | 200 | 34169,1 | 3,35 | 0,006 |
| 49,692 | Лупеол | 203, 230 | 1642,4 | 0,16 | 0,003 |
| Сума сапонінів | | | | 5,5 | 0,013 |

Примітка: * – неідентифіковані сапоніни у перерахунку на олеїнову кислоту.

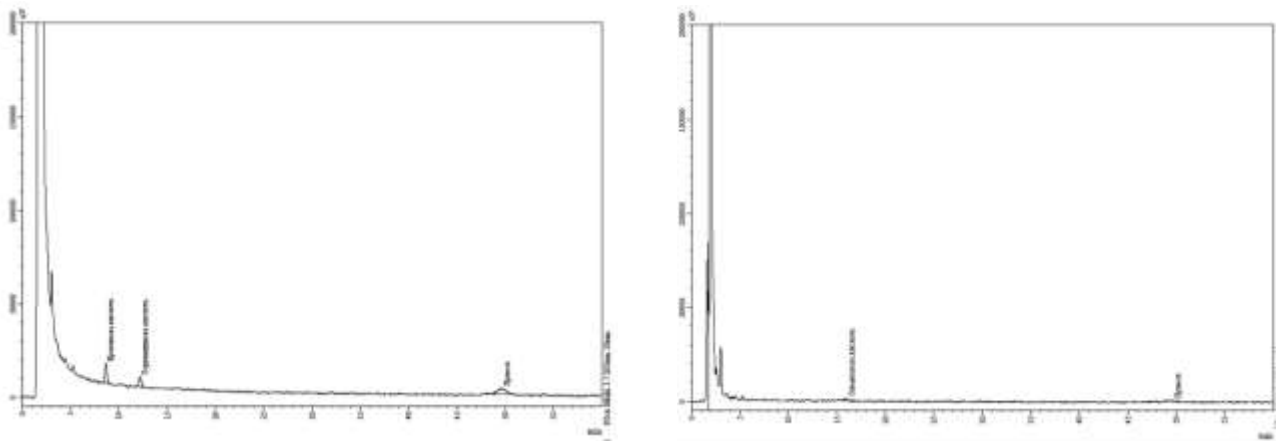


Рис. 3.8 Хроматограми визначення вмісту тритерпенових сапонінів у рідкому екстракті вичавок плодів малини звичайної до та після гідролізу

У нативному екстракті було виявлено чотири сапоніни, вміст яких становив 46,41 мг/л (0,084 %), три з них ідентифіковані як: еускапова – 15 мг/л (0,03 %) і торментилова – 9,43 мг/л (0,017 %) кислоти, які належать до групи урсану похідних α -амірину, та лупеол – 17 мг/л (0,031 %), який також належить до пентациклічних тритерпенових сапонінів групи лупану. Напевно, в екстракті, крім агліконів знайдених сапонінів, знаходяться і їх глікозиди. З метою визначення наявності був проведений гідроліз хлористоводневою кислотою протягом 2 год. Аналіз гідролізату проводили аналогічним чином. Було виявлено три сапоніни, два з них ідентифіковані як олеанолова кислота – 3,35 мг/л (0,006 %) та лупеол – 0,16 мг/л (0,003 %). Тобто похідні олеанолової кислоти знаходяться у вигляді глікозидів, а неідентифіковані тритерпенові сапоніни представлені групою олеонану. Уперше у вичавках малини ідентифіковані такі сапоніни, як еускапова і торментилова кислоти та лупеол.

За проведеним аналізом даних дослідження соку плодів малини методом ВЕРХ та його гідролізату виявлено п'ять сапонінів у мінорній кількості (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Результати дослідження сапонінів соку плодів малини методом ВЕРХ

| Час утрим., хв | Речовина | λ_{\max} , нм | Площа піка | Вміст речовин в екстракті, мг/л | % від сухого залишку екстракту |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------|---------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| Нативний | | | | | |
| 2,577* | Неідентифікований сапонін | 204 | 69088,0 | 6,77 | 0,012 |
| 16,070 | Олеанолова кислота | 200 | 27864,1 | 2,73 | 0,005 |
| Гідролізат соку плодів малини | | | | | |
| 4,533* | Невідомий сапонін | 204,245 | 12477,9 | 1,22 | 0,002 |
| 13,186* | Невідомий сапонін | 200 | 255620,2 | 25,04 | 0,046 |
| 28,243* | Невідомий сапонін | 200 | 426555,0 | 41,79 | 0,076 |
| Сума сапонінів | | | | 77,55 | 0,25 |

Примітка: * – неідентифіковані сапоніни в перерахунку на олеїнову кислоту.

Сума сапонінів у перерахунку на олеанову кислоту складає 0,25 %, олеанова кислота – 2,73 мг/л (0,005 %), яка у соці малини ідентифікована уперше.

3.2.3 Дослідження карбонових кислот соку та рідкого екстракту вичавок плодів малини (метод ГХ-МС)

Органічні кислоти є невід’ємним компонентом рослинної клітини, це проміжні сполуки при окисненні вуглеводів, жирів, амінокислот і білків. Органічні кислоти містяться в клітинах у вільному стані та у вигляді солей із металами, естерів, амідів тощо. Вони виявляють різноманітні види біологічної активності. Аналіз карбонових кислот проводили з використанням хромато-мас-спектрометра «Agilent Technologies» (США) (розд. 2). Хроматограма та результати, одержані при визначенні вмісту карбонових кислот соку та рідкого екстракту вичавок плодів малини, наведені на рис. 3.9, 3.10 і в табл. 3.13, 3.14.

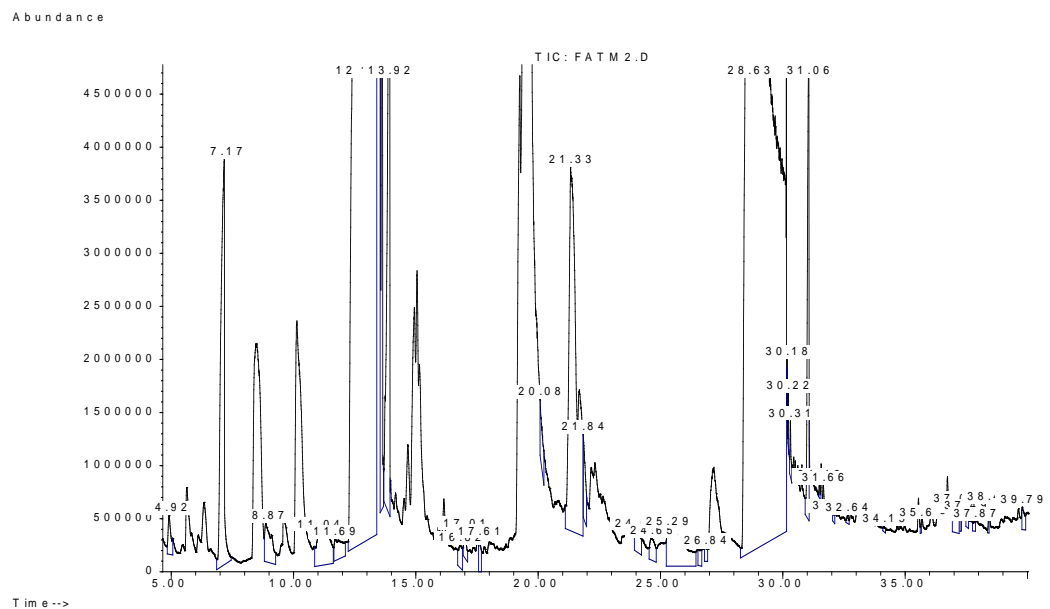


Рис. 3.9 Хроматограма визначення карбонових кислот у соці плодів малини звичайної

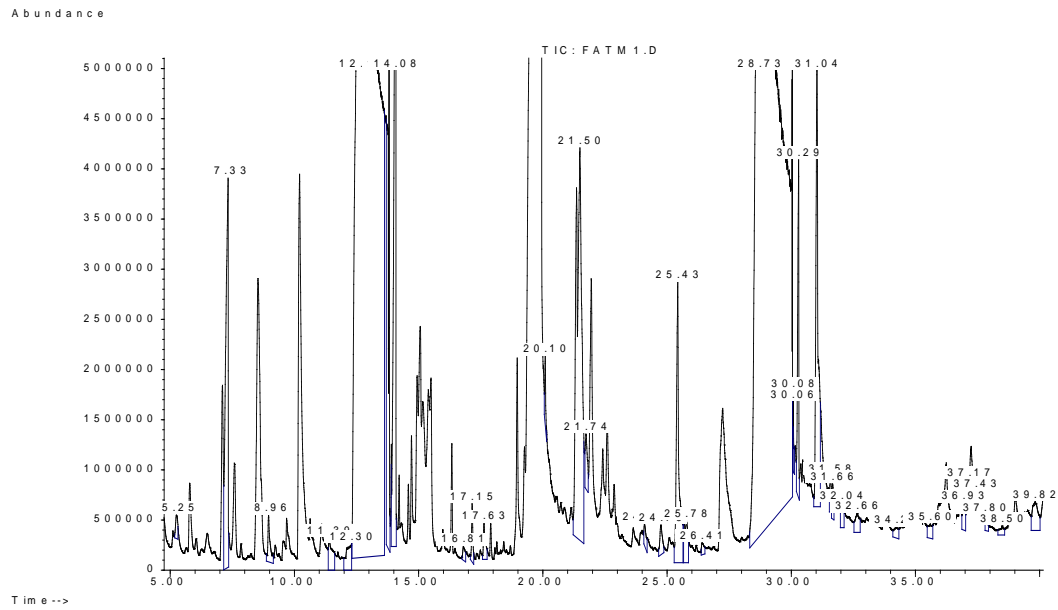


Рис. 3.10 Хроматограма визначення карбонових кислот у рідкому екстракті вичавок плодів малини звичайної

Таблиця 3.13

**Результати дослідження карбонових кислот
у соці плодів малини звичайної (метод ГС-МХ)**

| Час утрим., хв | Ідентифікована кислота | Вміст, мг/кг |
|----------------|-------------------------|--------------|
| 4,917 | Капронова | 175,15 |
| 8,871 | Щавлева | 404,65 |
| 11,042 | Малонова | 693,55 |
| 11,685 | Фумарова | 265,00 |
| 12,61 | Левулінова | 22329,03 |
| 13,631 | Бурштинова | 1811,92 |
| 13,926 | Бензойна | 2647,76 |
| 16,819 | Фенілоцтова | 130,03 |
| 17,009 | Саліцилова | 109,17 |
| 17,608 | Лауринова | 106,02 |
| 20,083 | 2-окси-3-метилглутарова | 208,69 |
| 21,324 | Яблучна | 4429,15 |

| 1 | 2 | 3 |
|--------|--------------------|----------|
| 21,844 | Міристинова | 262,37 |
| 24,024 | Пентадеканова | 179,94 |
| 24,649 | Азелаїнова | 175,98 |
| 25,288 | Пальмітинова | 1017,79 |
| 26,675 | Пальмітолеїнова | 83,60 |
| 26,842 | Гептадеканова | 55,46 |
| 28,63 | Лимонна | 31187,10 |
| 30,18 | Стеаринова | 18,66 |
| 30,224 | Олеїнова | 37,77 |
| 30,312 | Лінолева | 85,68 |
| 31,061 | Ізо-лимонна | 1124,58 |
| 31,488 | Ліноленова | 19,73 |
| 31,664 | Ванілінова | 53,96 |
| 32,113 | 2-оксипальмітинова | 24,67 |
| 32,637 | Арахінова | 22,58 |
| 34,148 | Хенейкозанова | 16,39 |
| 35,645 | Бегенова | 12,74 |
| 37,049 | p-оксибензойна | 286,71 |
| 37,217 | Трикозанова | 47,55 |
| 37,485 | Бузкова | 46,43 |
| 37,833 | Гентизинова | 41,76 |
| 38,41 | Тетракозанова | 24,70 |
| 39,788 | Ферулова | 151,94 |

Таблиця 3.14

**Результати дослідження карбонових кислот у рідкому екстракті
вичавок плодів малини звичайної методом ГС-МС**

| Час утрим., хв | Ідентифікована речовина | Вміст, мг/кг |
|----------------|-------------------------|--------------|
| 5,056 | Капронова | 151,53 |
| 8,959 | Щавлева | 180,33 |
| 11,394 | Малонова | 216,94 |

| 1 | 2 | 3 |
|--------|-------------------------|----------|
| 12,301 | Фумарова | 228,00 |
| 12,689 | Левулінова | 24304,09 |
| 13,812 | Бурштинова | 2516,29 |
| 14,076 | Бензойна | 2571,91 |
| 16,806 | Фенілоцтова | 56,05 |
| 17,154 | Саліцилова | 127,07 |
| 17,634 | Лауринова | 126,46 |
| 20,096 | 2-окси-3-метилглутарова | 120,43 |
| 21,496 | Яблучна | 3 561,27 |
| 21,738 | Міристинова | 203,23 |
| 24,099 | Пентадеканова | 79,84 |
| 24,764 | Азелаїнова | 132,34 |
| 25,433 | Пальмітинова | 1215,72 |
| 25,776 | Пальмітолеїнова | 257,70 |
| 26,41 | Гептадеканова | 50,59 |
| 28,736 | Лимонна | 28288,03 |
| 30,061 | Стеаринова | 25,15 |
| 30,183 | Олеїнова | 89,59 |
| 30,294 | Лінолева | 636,88 |
| 31,034 | Ізо-лимонна | 1720,25 |
| 31,58 | Ліноленова | 92,63 |
| 31,664 | Ванілінова | 110,69 |
| 32,043 | 2-оксипальмітинова | 110,51 |
| 32,659 | Арахінова | 136,98 |
| 34,236 | Хенейкозанова | 80,39 |
| 35,601 | Бегенова | 105,76 |
| 36,935 | p-оксибензойна | 120,21 |
| 37,173 | Трикозанова | 48,10 |
| 37,428 | Бузкова | 55,65 |
| 37,803 | Гентизинова | 51,45 |
| 38,494 | Тетракозанова | 65,93 |
| 39,815 | Ферулова | 283,63 |

Фенолкарбонові кислоти, які визначаються методом газорідинної хроматографії, складають 4,13 % від сухого залишку соку і 5,08 % від суми органічних кислот; вони представлені бензойною – 3,88 %, фенілоцтовою – 0,19 %, саліциловою – 0,16 %, ваніліною – 0,08 %, *p*-оксибензойною – 0,42 %, бузковою – 0,07 %, гентизиною – 0,06 %, феруловою – 0,22 % кислотами від суми всіх органічних кислот.

Усі такі похідні бензойної кислоти, як *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 соці. Така концентрація є робочою для бензойної кислоти та її похідних. А сама бензойна кислота становить 76 % від усіх фенолокислот. Додатково вони мають антиоксидантну та протизапальну дію. Вміст саліцилової кислоти становить 3,15 %, її ізомеру *n*-оксибензойної – 8,27 % від суми похідних бензойної кислоти. Ферулова кислота (похідне фенілпропанових кислот) володіє антимікробною, протигрибковою, протизапальною, антиаритмічною, антиагрегантною, протиалергічною та протизапальною дією. Фенілоцтова кислота в концентрації 3,74 % (від суми фенолокислот) має запах меду, виявляє ауксиноподібну дію, підсилює диференціювання стовбурових клітин у людини та рослин.

Дикарбонові кислоти, які визначаються методом газорідинної хроматографії, складають 9,51 % від сухого залишку соку й 11,70 % від суми органічних кислот. Вони представлені щавлевою – 0,59 %, малоною – 1,01 %, фумаровою – 0,39 %, бурштиною – 2,67 %, 2-окси-3-метилглютаровою – 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; інші 15,4 % представлені чотирма кислотами: щавлева – 5 %, фумарова – 3,33 %, 2-окси-3-метоксиглютарова – 2,50 %, азелаїнова – 2,22 %. Усі дикарбонові кислоти володіють комплексотвірними властивостями з полівалентними металами, вступаючи з ними в реакцію, перебирають на себе кофермент

і зупиняють або регулюють ферментні реакції макро- і мікроорганізму. Вони підтримують кислотно-лужний баланс, беруть участь у циклі Кребса, покращують кровообіг, мають антиоксидантні, цитопротекторні, проносні, сечогінні, антигіпоксичні, протизапальні, антимікробні, детоксикаційні властивості. Покращують адаптаційні властивості організму, підвищуючи його опір до інфекцій. Їх використовують у терапії асцидозів (конфумін) як гіповолемічний засіб. Дикарбонові кислоти не володіють токсичністю, крім шавлевої, вміст якої складає 0,04 %. Азелаїнова кислота, крім заявлених вище властивостей, інгібує проліферацію кератину, використовується для лікування вугрів і комедонів, входить до складу препаратів «Угри стоп», «Азалекс» та ін.

Сума трикарбонних кислот – 3,23 % у соці і 47,32 % від суми органічних кислот. Вони представлені сумою органічних кислот, а саме лимонної – 45,67 % та ізо-лимонної – 1,65 % від суми кислот. Беруть участь у циклі Кребса, знижують набряки, впливають на рН крові людини, є комплексоутворювачами, впливають на імунітет, мають протигрибкову дію.

Жирні кислоти мають 18 представників – 2,45 % від сухого залишку і 35,90 % від суми органічних кислот. Вони представлені насиченими і ненасиченими 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, та 2-оксипальмітинова – 0,04 %.

Усі кислоти в солях із металами й амінокислотами є детергентами і мають антибактеріальну дію. Левулінова кислота додатково має кетогрупу, яка в кислому середовищі (екстракту або соку) вступає в реакцію з амінокислотами білків оболонки мікроорганізму та їх екзоферментами, тобто виявляє два механізми дії на мікроорганізми.

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. Мажорною сполукою серед них є бензойна кислота – 0,25 %, що становить 76,26 % від суми фенолокислот.

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

У трикарбонових кислотах переважають лимонна та ізо-лимонна кислоти із вмістом 2,83 %, що становить 94,33 % від трикарбонових кислот.

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 % (88,36 % від усіх жирних кислот).

3.2.4 Дослідження амінокислот соку та рідкого екстракту вичавок плодів малини (метод ВЕРХ)

Одним із найважливіших компонентів комплексу БАР рослин є амінокислоти. Вони синтезуються з простих неорганічних сполук і беруть участь у синтезі білків, коферментів, алкалоїдів та інших груп БАР.

Амінокислоти відіграють важливу роль у функціонуванні різноманітних систем і органів людського організму та характеризуються вираженими фармакотерапевтичними властивостями. Деякі з них чинять позитивний вплив на серцево-судинну систему, беруть участь у процесах нервової регуляції, підтримують судинний тонус. Зокрема, аргінін і глутамінова кислота характеризуються антиоксидантними, гепатопротекторними та мембраностабілізуювальними властивостями. Аланін і гліцин регулюють рівень цукру в крові та беруть участь у регенерації тканин. Серин сприяє накопиченню глікогену в печінці та м'язах і впливає на обмін жирів. Із гістидину утворюється біогенний амін – гістамін, що є місцевим гормоном. Триптофан в організмі людини бере участь у синтезі вітаміну РР

(ніацину), а також є попередником нейромедіатора серотоніну, що чинить значний вплив на емоційний стан людини, його нестача характерна для депресивних станів. Лізин підсилює неспецифічну резистентність організму, впливає на тонус судин серця, знижує рівень холестерину в крові. Метіонін перешкоджає відкладенню залишку жиру в печінці, захищає її клітини від впливу токсичних речовин і бере участь у синтезі фосфатидилхоліну. Амінокислота цистин є природним антиоксидантом [50, 173].

Беручи до уваги широту фармакологічної дії та продовжуючи дослідження БАР плодів малини і продуктів їх переробки, ми звернули увагу на те, що амінокислотний склад екстракту та соку майже не вивчений. Оскільки амінокислоти можуть утворювати солі та комплексні сполуки з іншими сполуками, їх якісний та кількісний склад буде впливати на розчинність, біодоступність і загальний фармакотерапевтичний ефект екстракту.

Якісний і кількісний аналіз вільних і зв'язаних амінокислот проводили за допомогою вискоєфективного рідинного хроматографа фірми «Agilent Technologies» (модель 1100) (розд. 2). Хроматограма та результати, одержані при визначенні вмісту амінокислот соку та рідкого екстракту вичавок плодів малини, наведені на рис. 3.11, 3.12 і в табл. 3.15.

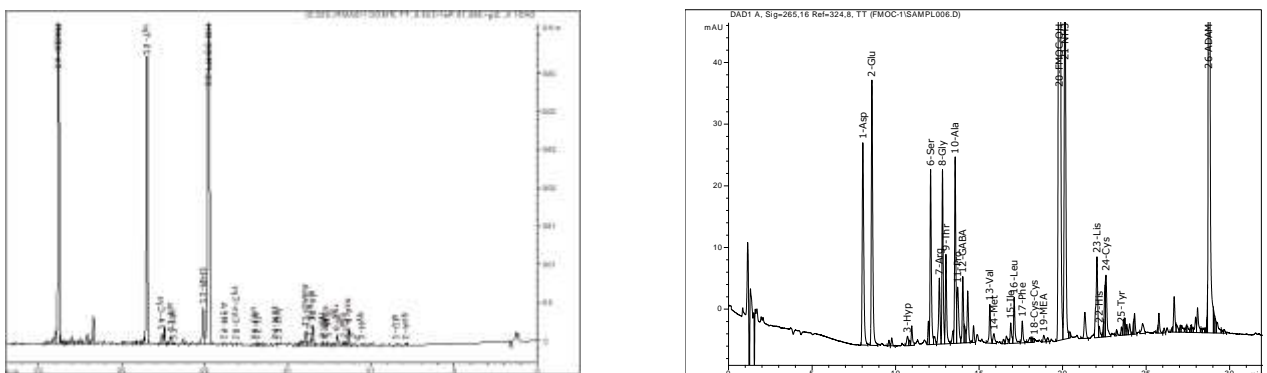


Рис. 3.11 Хроматограми визначення вмісту амінокислот у рідкому екстракті вичавок плодів малини звичайної до та після гідролізу

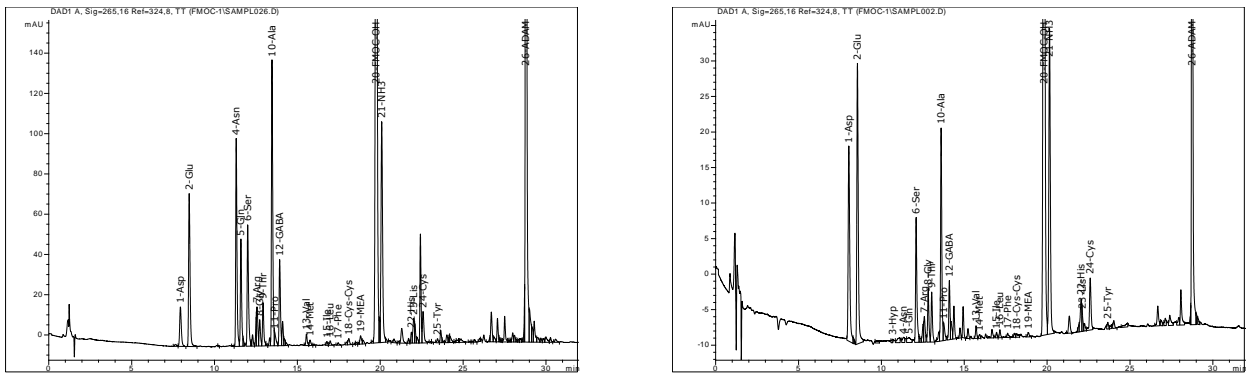


Рис. 3.12 Хроматограми визначення вмісту амінокислот у соці плодів малини звичайної до та після гідролізу

Таблиця 3.15

**Результати дослідження амінокислот у соці та рідкому екстракті
вичавок плодів малини звичайної**

| Амінокислота | 1 – екстракт вичавок | | 2 – сік малини | |
|--------------------|----------------------|--------|----------------|--------|
| | загальні | вільні | загальні | вільні |
| | мг/л | мг/л | мг/л | мг/л |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Аспарагінова | 221,5 | 2,1 | 139,0 | 20,8 |
| Глутамінова | 367,0 | 2,7 | 248,4 | 97,4 |
| 4-гідроксипролін | 14,2 | 3,1 | 3,2 | – |
| Аспарагін | – | 23,1 | – | 119,8 |
| Глутамін | – | 7,3 | – | 90,5 |
| Серин | 152,7 | 10,2 | 71,1 | 50,2 |
| Аргінін | 139,1 | 8,0 | 31,6 | 32,9 |
| Гліцин | 87,0 | 1,0 | 18,0 | 6,5 |
| Треонін | 88,5 | 3,2 | 31,4 | 19,3 |
| Аланін | 214,0 | 25,5 | 152,5 | 152,9 |
| Пролін | 105,4 | 10,6 | 18,7 | 10,6 |
| Гамма-аміномасляна | 58,8 | 14,3 | 31,7 | 34,8 |
| Валін | 44,9 | 1,4 | 8,3 | 6,0 |
| Метіонін | 22,5 | 0,9 | 4,5 | 4,6 |
| Ізолейцин | 29,0 | 1,7 | 4,4 | 2,3 |
| Лейцин | 63,2 | 1,7 | 6,3 | 3,1 |

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--------------|-------|------|------|------|
| Фенілаланін | 48,2 | – | 7,2 | 2,7 |
| Цистин | 4,5 | 1,2 | 2,7 | 3,4 |
| 2-етаноламін | 6,4 | 0,5 | 2,8 | 3,5 |
| Гістидин | 85,0 | 1,3 | 34,2 | 6,5 |
| Лізін | 17,2 | 11,1 | 8,8 | 10,5 |
| Цистеїн | 129,0 | 27,0 | 77,2 | 35,1 |
| Тирозин | 11,7 | 6,0 | 7,4 | 3,3 |

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 (14,07 %), яка бере участь в утворенні N-гліканів (глікопротеїнів); аланін – 25,5 мг/100 г (15,54 %), вона впливає на рівень цукру в крові, антиоксидант; цистеїн – 27,0 мг/100 г (6,45 %), активує лейкоцити, лімфоцити, бере участь в імунобіологічних процесах.

28,04 % від загальної суми амінокислот становлять чотири амінокислоти: гамма-аміномасляна – 8,59 %, є нейромедіатором та ноотропом; пролін – 6,46 %, синтезується з глютамінової кислоти, що є нейромедіатором, впливає на імунну систему; лізін – 6,77 %, має противірусну дію щодо герпесу, імуномодулятор; серин – 6,22 %, є активатором пептидазоестераз.

Загальний відсоток семи мажорних амінокислот становить 74,11 %.

Решта 15 зв'язаних амінокислот становить 25,89 %, які діляться на три групи, близькі за відсотковим вмістом, перші чотири амінокислоти: аргінін – 4,96 %, глютамін – 4,45 %, тирозин – 3,67 %, треонін – 1,95 %, загальною сумою 14,33 %.

Аргінін, треонін, глютамінова кислота володіють імуностимулювальними властивостями, беруть участь у синтезі глутатіону, підвищують рівень глютамінази лімфоцитів, підтримуючи структуру і функції слизової оболонки і проліферацію

лімфоцитів. 6,9 % від загальної суми складають: аспарагінова кислота – 1,28 %, глутамінова кислота – 1,65 %, 4-гідроксипролін – 1,89 %, ізолейцин – 1,04 %.

Сім інших амінокислот знаходяться в мінорній кількості, вміст кожної з них менше 1 % від загальної суми амінокислот: гліцин – 0,6 %, валін – 0,85 %, метіонін – 0,55 %, 2-етаноламін – 0,30 %, цистин – 0,73 %, гістидин – 0,79 %.

Амінокислоти – амфотерні сполуки, мають рК від 1,2 до 12 і вступають у реакції амідоутворення і солеутворення. Для розуміння, скільки і які амінокислоти вступили в реакцію і знаходяться у зв'язаному стані, був проведений гідроліз соляною кислотою, після – аналіз методом ВЕРХ.

Проведений аналіз з достовірними зразками виявив 21 амінокислоту. Відсутні аспарагін і глутамін, оскільки це аміді, які руйнуються в кислому середовищі, перетворюючись на аспарагінову і глутамінову амінокислоти. Додатково було виявлено фенілаланін, 17,2 мг/100 г, що складає 2,52 % від загальної суми амінокислот. Слід зазначити, що 91,4 % амінокислот зв'язані у вигляді амідів та солей.

Мажорні кислоти складають 41,97 % від загальної суми амінокислот, це глутамінова кислота – 19,2 %, аспарагінова кислота – 11,57 %, є нейромедіаторами і впливають на рівень цукру в крові.

41,18 % від загальної суми амінокислот складають другу групу, до якої входять сім речовин з кількісним вмістом від 8 до 4 %. До них належать серин – 8 %, аргінін – 7,28 %, гліцин – 4,66 %, треонін – 4,62 %, пролін – 5,52 %, ститидин – 4,45 %, цистеїн – 6,75 %, із них аргінін, треонін, цистеїн мають імуностимулювальну дію.

Третя група амінокислот (від 3 до 2,5 %) представлена чотирма кислотами: гамма-аміномасляна кислота – 3 %, валін – 2,35 %, лейцин – 3,31 %, фенілаланін – 2,52 %, вони складають 11 % від загальної суми амінокислот.

Сім амінокислот знаходяться в мінорних кількостях від 1,8 до 0,04 % від загальної суми: 4-гідроксипролін – 0,74 %, метіонін – 1,18 %, ізолейцин – 1,52 %,

цистеїн – 0,24 %, 2-етаноламін – 0,34 %, лізин – 0,9 %, тирозин – 0,61 %; ізолейцин і лізин є імуномодуляторами.

У кількісному вмісті амінокислоти розташувалися в такому порядку: глютамінова кислота > аспарагінова кислота > аланін > серин > аргінін > цистеїн > пролін > треонін > гліцин > гістидин > лейцин > гамма-аміномасляна кислота > фенілаланін > метіонін > тирозин > 2-етаноламін > цистеїн.

Серед амінокислот соку малини 78,8 % кислот знаходяться у вільному вигляді, на відміну від екстрату, а 4-гідроксипролін у вільному вигляді відсутній. Домінантними сполуками є аланін, глютамінова та аспарагінова кислоти.

3.2.5 Дослідження фенольного складу гідролізованого ряду соку та рідкого екстракту вичавок плодів малини (метод ВЕРХ)

Оскільки раніше в надземних органах *Rubus arcticus*, *Rubus idaeus*, *Rubus matsumuranus*, *Rubus saxatilis* були знайдені полімери (дубильні речовини) елагової кислоти, то виникла необхідність визначення їх у продуктах переробки плодів малини. Хроматографували за допомогою хроматографа фірми «Agilent Technologies» 1100, з діодно-матричним детектором G1316A. Спектри знімали в діапазоні 190-600 нм: при 254 нм – елагової кислоти, її похідних, таких, як ламбертіанін С без елагового фрагмента, сангуїн Н-10 ізомер 2, ламбертіанін С ізомер, ламбертіанін С, сангуїн Н-10; при 525 нм – антоціанів, таких, як ціанідин-3-О-софорозид, ціанідин-3-о-глюкозид, ціанідин-3-о-рутинозид, ціанідин-3-О-глюкозорутинозид; усі антоціани розраховані на стандарт мальвідин-3-О-глюкоронід; при 350 нм – кверцетин-3-О-глюкораніду у перерахунку на кверцетин-3-О-глюкозид. Таким методом хроматографування вдалось розділити деякі елаготаніни та підтвердити наявність раніше ідентифікованих речовин. Хроматограми та результати, одержані при визначенні вмісту фенольних сполук гідролізованого соку та рідкого екстракту вичавок плодів малини, наведені на рис. 3.13, 3.14 і в табл. 3.16.

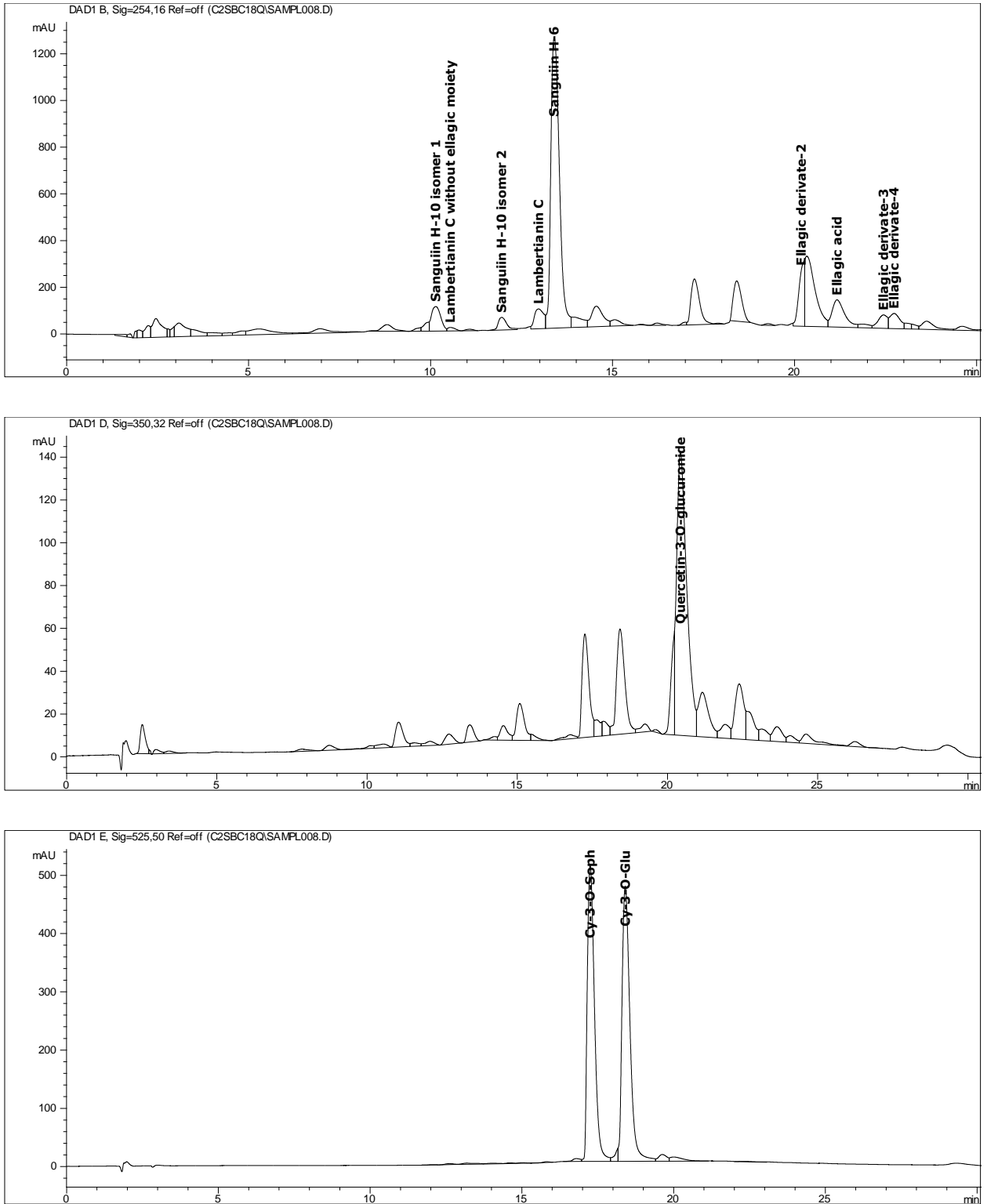


Рис. 3.13 Хроматограми визначення вмісту фенольних сполук гідролізованого ряду в екстракті вичавок плодів малини звичайної за довжин хвиль 234, 350 та 525 нм

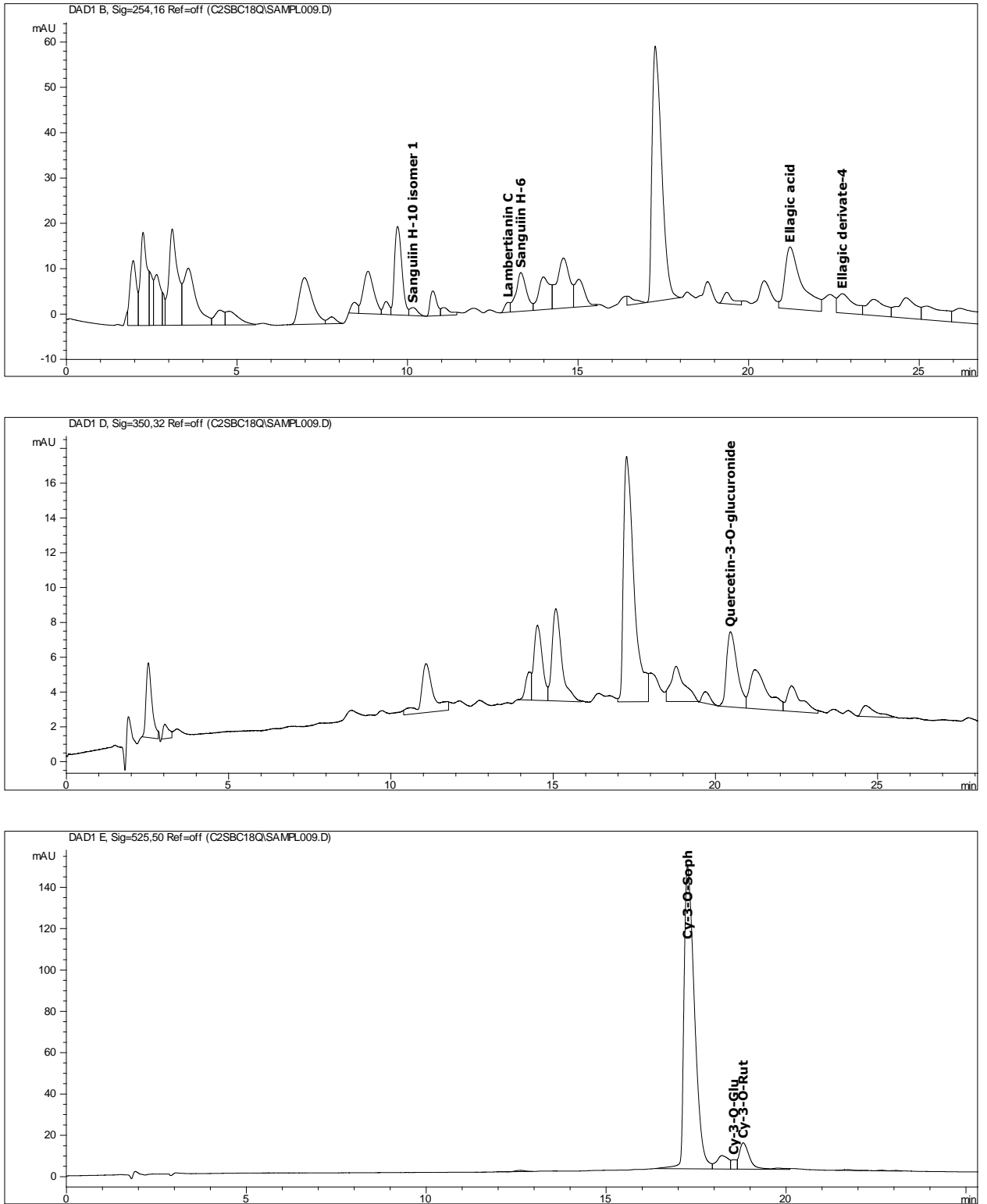


Рис. 3.14 Хроматограми визначення вмісту фенольних сполук гідролізованого ряду в соці плодів малини звичайної за довжин хвиль 234, 350 та 525 нм

**Результати досліджень фенольних сполук гідролізованого соку
та екстракту вичавок малини (метод ВЕРХ)**

| Час утрим., хв | Речовина | 1 – екстракт вичавок | 2 – сік малини |
|----------------------|---|-------------------------|----------------|
| | | мг/л | мг/л |
| 10,08 | Сангуїн Н-10 ізомер 1 | 50,1 | 0,8 |
| 10,51 | Ламбертіанін С без елагового фрагмента | 5,6 | – |
| 11,89 | (+) – D-Катехін | – | – |
| 11,91 | Сангуїн Н-10 ізомер 2 | 23,6 | – |
| 12,48 | Ламбертіанін С ізомер | – | – |
| 12,91 | Ламбертіанін 3 | 40,1 | 0,6 |
| 13,38 | Сангуїн Н-6 | 548,1 | 4,9 |
| 14,96 | (-) – епікатехін | – | – |
| 17,22 | Ціанідин-3-О-софорозид | 705,2 | 249,6 |
| 17,42 | Ціанідин-3-О- (2»-глюкозилрутинозид) | – | – |
| 18,43 | Ціанідин-3-О-глюкозид | 722,9 | 4,2 |
| 18,82 | Ціанідин-3-О-рутинозид | – | 20,3 |
| 19,96 | Похідне елагової к-ти 1 | – | – |
| 20,26 | Похідне елагової к-ти 2 | 76,7 | – |
| 20,44 | Кверцетин-3-О-глюкуронід | 566,4 | 18,1 |
| 21,20 | Елагова к-та | 75,8 | 12,6 |
| 22,48 | Похідне елагової к-ти 3 | 27,5 | – |
| 22,75 | Похідне елагової к-ти 4 | 34,2 | 3,7 |

- Примітки:
1. Сангуїн Н-10 ізомер 1, Ламбертіанін С без елагового фрагмента, сангуїн Н-10 ізомер 2, Ламбертіанін С ізомер, ламбертіанін С, сангуїн Н-6 і всі похідні елагової кислоти розраховані на елагову кислоту за довжини хвилі 254 нм.
 2. Усі антоціани розраховані на мальвідин-3-О-глюкозид за довжини хвилі 525 нм.
 3. Кверцетин-3-О-глюкуронід розрахований на кверцетин-3-О-глюкозид за довжини хвилі 350 нм.

Вміст полімерних фенольних сполук гідролізованого ряду соку 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.

3.3 Фармакологічне дослідження фітосубстанцій із плодів малини звичайної

Препаратів на основі продуктів переробки плодів малини звичайної на фармацевтичному ринку України немає. На фармацевтичних ринках сусідніх країн є фасована сировина листя малини та її плоди як потогінний засіб.

Раніше малина використовувалась у вигляді сиропу як коригент смаку в педіатричній практиці.

Останнім часом почалося поглиблене вивчення вегетативних і генеративних органів малини звичайної та інших видів і продуктів їх переробки фармакологами ЄС, США, РФ. Продукти, отримані на основі малини, показали, що вони викликають апоптоз деяких форм ракових клітин. У народній медицині України плоди малини використовуються як дієтичний продукт при анеміях, гіпертонії, діабеті, атеросклерозі, шкірних захворюваннях у вигляді чаю, варення, соку.

Тому створення препарату, який матиме антимікробні, протигрибкові й імуномодулювальні властивості і не дозволить розвиватися резистентності до антибіотиків і антибактеріальних препаратів, є актуальним. А також може використовуватися для лікування патології печінки, шлунково-кишкового тракту і верхніх дихальних шляхів, викликаних патогенними мікроорганізмами. Мажорними сполуками екстракту малини є такі похідні бензойної кислоти, як бензойна, елагова, ванілінова кислоти. Фенілпропіонова, ферулова, кетокислоти левулінова й оксипальмітинова мають протимікробну і фунгіцидну дію. Полікарбонові кислоти є комплексонами. Дубильні речовини малини пригнічують і адсорбують токсини і ферменти, які продукуються, наприклад, стафілококом. Його ферменти коагулаза, фібринолізин, гіалуронідаза, ДНК-аза, токсини гематоксин, ентеротоксин, некротоксин є факторами, що пригнічують фагоцитоз.

Постінфекційний імунітет після захворювань, викликаних стафілококами, поділяють на клітинний і гуморальний. Нестійкий імунітет виникає як до бактерії, так і до токсинів, виділених стафілококом.

Через мінливість антигенної структури стафілокока важливу роль відіграють Т-лімфоцити, які дозволяють отримати тканинний імунітет до 5 років.

Отже, доцільно вивчити протимікробну та противірусну дію екстракту вичавок малини, а також дослідити вплив соку малини на проліферацію Т-лімфоцитів.

3.3.1 Дослідження чутливості клінічних штамів до одержаних екстрактів

Поява та поширення бактерій, стійких до протимікробних препаратів, є однією з найсерйозніших загроз для здоров'я населення. Порівняно з інфекціями, спричиненими чутливими штамми, інфекції, викликані резистентними до антибіотиків організмами, з більшою ймовірністю подовжують термін госпіталізації, підвищують ризик смерті і потребують лікування більш токсичними або дорогими антибіотиками. Тому нами проведено дослідження антимікробної активності екстракту вичавок плодів малини щодо клінічних штамів, зразки яких були отримані від пацієнтів клінік м. Харкова (табл. 3.17, 3.18).

Таблиця 3.17

Результати досліджень антибактеріальної і протигрибкової активності досліджуваних рідких екстрактів малини щодо клінічних штамів

| Об'єкти дослідження | Діаметри зон затримки росту, мм, n = 3 | | | | | |
|---|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------|
| | <i>Staphylococcus aureus</i> 44 | <i>Escherichia coli</i> 17 | <i>Proteus vulgaris</i> 16 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 39 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 68 | <i>Candida albicans</i> 46 |
| 1 екстракція плодів малини 96 % спиртом | 30, 30, 30 | 31, 29, 29 | 27, 27, 27 | 26, 25, 26 | 31, 31, 32 | 26, 27, 26 |
| 2 екстракція плодів малини 96 % спиртом | 26, 25, 25 | 23, 22, 23 | 20, 21, 21 | 22, 20, 20 | 24, 25, 25 | 22, 22, 22 |

**Результати досліджень антибактеріальної і протигрибкової активності
щодо клінічних штамів досліджуваних рідких екстрактів малини
методом серійних розведень**

| Об'єкти дослідження | Діаметри зон затримки росту, мм, n = 3 | | | | | |
|---|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------|
| | <i>Staphylococcus aureus</i> 44 | <i>Escherichia coli</i> 17 | <i>Proteus vulgaris</i> 16 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 39 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 68 | <i>Candida albicans</i> 46 |
| 1 екстракція плодів малини 96 % спиртом | 1 : 32 | 1 : 16 | 1 : 16 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 8 |
| 2 екстракція плодів малини 96 % спиртом | 1 : 8 | 1 : 8 | 1 : 4 | 1 : 4 | 1 : 16 | 1 : 8 |

У результаті дослідження підтверджена чутливість клінічних штамів патогенів та вивчено їх мінімальні інгібувальні концентрації, які становлять від 1 : 32 (клінічний штам золотистого стафілокока та синьогнійної палички) при використанні першої екстракції до 1 : 4 при використанні другої екстракції (клінічний штам синьогнійної палички та протею).

3.3.2 Дослідження імуномодулювальної властивості соку малини

На фармацевтичному ринку України існує невелика кількість імунотропних засобів рослинного походження. Тому актуальним питанням для фармації є пошук та розробка вітчизняних ефективних ЛЗ рослинного походження з імуномодулювальною властивістю.

Доцільно було вивчити імуномодулювальну активність субстанцій із плодів малини шляхом дослідження їх впливу на функціональну активність лімфоцитів у реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ). Дослідження проводилось у лабораторії імунореабілітології ДУ «Інститут мікробіології та

імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» під керівництвом к. біол. н., старшого наукового співробітника Н. В. Кашпур (табл. 3.19).

Як матеріал для тестування субстанцій використовували моноклеарні клітини (лімфоцити), які були вилучені з венозної гепаринізованої крові шляхом центрифугування. Отримані клітини культивували у середовищі, яке було доповнено 10 % розчином ембріональної телячої сироватки. Відомо, що рослинний лектин фітогемаглютинін (ФГА) є мітогеном для усіх Т-лімфоцитів. Тому з метою встановлення кондиційності умов культивування клітин, а також для вивчення потенційної проліферативної активності основних популяцій Т-лімфоцитів проводили мітогенну стимуляцію лімфоцитів ФГА в концентрації 2,5 мкг/мл (контроль). В експерименті ставили реакцію РБТЛ без додавання досліджуваних субстанцій (спонтанна бластна трансформація).

Таблиця 3.19

Результати вивчення імуномодулювальної активності соку малини методом *in vitro* в реакції бластної трансформації лімфоцитів

| Субстанція | Розведення | Реакція бластної трансформації лімфоцитів (%) |
|---|------------|---|
| Сік плодів малини упарений | | |
| Контроль (фітогемаглютиніном) | | |
| Спонтанна реакція бластної трансформації лімфоцитів | | |

Виявлено, що сік малини значною мірою стимулює трансформаційну активність мононуклеарних клітин периферичної крові. Порівняно зі спонтанною бластною трансформацією лімфоцитів активність під впливом субстанцій збільшується на 54,7 %.

Отримані дані свідчать про високу імуномодулювальну активність соку малини, а отже, про доцільність комплексної переробки ЛРС з метою отримання засобів різної фармакологічної активності.

3.3.3 Дослідження протівірусної дії екстракту вичавок плодів малини

Віруси є причиною більшості гострих інфекцій дихальних шляхів, які в сукупності забирають понад 4 млн людських життів на рік. Причому реальна кількість хворих людей перевищує офіційну статистику в 1,5–2 рази. Незважаючи на величезні зусилля в розробці засобів профілактики та лікування цієї групи хвороб, їх результат вельми скромний. Більша частина досліджень у цій галузі спрямована на вивчення патогенезу та методів запобігання/терапії грипу. Однак його щорічні епідемії, значна мінливість часу пікової захворюваності, варіативність і помилки в прогнозах домінантних для сезону штамів вірусу свідчать, що грип на поточний момент слабо контролюється існуючою системою профілактики.

За даними ВООЗ, у міжпандемічні періоди у світі в середньому близько 1 млрд осіб на рік хворіють на грип, при цьому в 3–5 млн із них розвиваються тяжкі форми інфекції, а від 300 до 500 тис. хворих помирають. Максимальна летальність від респіраторних інфекцій відмічається в ранньому дитячому віці та у літніх осіб. Те, що пневмонія щорічно забирає 1,4–1,8 млн життів дітей (що перевищує сумарну летальність від малярії, ВІЛ-інфекції/СНІД і кору), значною мірою асоційованою з грипом (17 % випадків) та респіраторно-синцитіальною вірусною інфекцією (РСВІ) (29 %), виводить ці гострі респіраторні вірусні інфекції (ГРВІ) на провідні за медико-соціальною значущістю місця серед усіх захворювань людини [156].

Висока захворюваність на ГРВІ та грип завдає значної шкоди як економіці країни в цілому, так і окремо взятій сім'ї, насамперед через втрату працездатності. Часті респіраторні захворювання асоційовані із соціальною дезадаптацією дитини і несуть у собі потенційну небезпеку формування педагогічних проблем, змін психологічного клімату в сім'ї та зниження якості життя всіх її членів [54, 156].

ГРВІ є групою захворювань зі схожими епідеміологічними та клінічними особливостями, але вкрай різноманітною етіологією (вірусною, вірусно-бактеріальною, змішаною). Сьогодні відомо понад 300 збудників респіраторних інфекцій, серед яких найчастішими є віруси – до 90 % всіх захворювань у дітей. Збудники ГРВІ належать до різних сімейств. Серед них найбільш відомі РНК-віруси: віруси грипу, парагрипу, РСВ, метапневмовіруси, коронавіруси, риновіруси, ентеровіруси та ротавіруси; ДНК-віруси: аденовіруси, бокавіруси. Серед них присутні як давно відомі і досить добре вивчені, так і нові штами вірусів, які ідентифіковані останнім часом завдяки розвитку молекулярно-біологічних методів дослідження [54].

Вивчення віруліцидної активності препарату «Екстракт малини» проводили на базі ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН України» на моделі штаму аденовірусу 5 типу, який є резистентним до дії фізико-хімічних факторів навколишнього середовища, та вірусу грипу А(H1N1)pdm2009. Аденовірус використовували в робочій концентрації 10^{-5} ТЦІД_{50/мл} та культивували на перещеплювальній культурі клітин HEp-2. Вірус грипу використовували в робочій концентрації 10^{-7} TCID_{50/мл} та культивували на культурі клітин MDCK. Дослідження здійснювали згідно з методичними рекомендаціями «Визначення віруліцидної активності дезінфекційних засобів», затвердженими наказом МОЗ України від 08.04.2009 р. № 231 (табл. 3.20).

Нерозведений препарат «Екстракт малини» інактивує аденовірус 5 типу через 1 хв, буде чинити протівірусну дію на оболонкові та менш стійкі віруси, зокрема віруси гепатиту В та С, вірус імунодефіциту людини, кір, епідемічний паротит, коронавіруси людини, також і SARS-CoV-2 та ін.

**Результати вивчення віруліцидної активності препарату
«Екстракт малини» при знезараженні аденовірусу 5 типу
на батистових тест-об'єктах**

| Повторюваність досліджу | Пасаж | Концентрація за діючою речовиною | Експозиція | | | |
|-------------------------|-------|----------------------------------|------------|----------|----------|----------|
| | | | 30 с | 1 хв | 2 хв | 5 хв |
| 1 | 1 | Нерозведений | Наяв. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 2 | | Наяв. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 3 | | Наяв. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| 2 | 1 | Нерозведений | Наяв. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 2 | | Наяв. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 3 | | Наяв. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| 3 | 1 | Нерозведений | Наяв. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 2 | | Наяв. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 3 | | Наяв. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| КЖВ | 1 | – | Наяв. | Наяв. | Наяв. | Наяв. |
| | 2 | | Наяв. | Наяв. | Наяв. | Наяв. |
| | 3 | | Наяв. | Наяв. | Наяв. | Наяв. |
| КЗТО | 1 | – | Наяв. | Наяв. | Наяв. | Наяв. |
| | 2 | | Наяв. | Наяв. | Наяв. | Наяв. |
| | 3 | | Наяв. | Наяв. | Наяв. | Наяв. |
| ККТ | 1 | – | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 2 | | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 3 | | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |

Примітка: Наяв. – наявність цитопатогенної дії аденовірусу; Відсутн. – відсутність цитопатогенної дії аденовірусу; КЗТО – контроль зараженості тест-об'єктів аденовірусом; КЖВ – контроль життєздатності аденовірусу; ККТ – контроль культури клітин; «–» – дослідження не проводили.

Нижче наведені дані щодо визначення дезінфекційної дії препарату, що вивчається, на об'єктах, виготовлених із гуми. Обробку поверхонь проводили шляхом зрошення та протирання згідно з методичними рекомендаціями (табл. 3.21).

**Результати вивчення віруліцидної активності препарату
«Екстракт малини» при знезараженні аденовірусом 5 типу
на поверхнях, виготовлених із гуми**

| Повторюваність досліджу | Пасаж | Концентрація за діючою речовиною | Експозиція | | | |
|-------------------------|-------|----------------------------------|------------|----------|----------|----------|
| | | | 30 с | 1 хв | 2 хв | 5 хв |
| 1 | 1 | Нерозведений | Наявн | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 2 | | Наявн | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 3 | | Наявн | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| 2 | 1 | Нерозведений | Наявн | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 2 | | Наявн | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 3 | | Наявн | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| КЗТО | 1 | – | Наявн | Наявн | Наявн | Наявн |
| | 2 | | Наявн | Наявн | Наявн | Наявн |
| | 3 | | Наявн | Наявн | Наявн | Наявн |
| КЖВ | 1 | – | Наявн | Наявн | Наявн | Наявн |
| | 2 | | Наявн | Наявн | Наявн | Наявн |
| | 3 | | Наявн | Наявн | Наявн | Наявн |
| ККТ | 1 | – | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 2 | | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 3 | | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |

Примітка: Наявн. – наявність цитопатогенної дії аденовірусу; Відсутн. – відсутність цитопатогенної дії аденовірусу; «–» – дослідження не проводили; КЗТО – контроль зараженості поверхонь аденовірусом; КЖВ – контроль життєздатності аденовірусу; ККТ – контроль культури клітин.

Нерозведений препарат «Екстракт малини» інактивує аденовірус 5 типу через 1 хв на поверхнях, виготовлених із гуми.

Отже, враховуючи вищевикладене, можна рекомендувати досліджуваний препарат для дезінфекційної обробки рук, зокрема і медичного персоналу.

Нерозведений препарат «Екстракт малини» інактивує вірус грипу А(Н1N1)pdm через 30 с на батистових тест-об'єктах (табл. 3.22).

**Результати вивчення віруліцидної активності препарату
«Екстракт малини» при знезараженні вірусом грипу А(Н1N1)рdm
на батистових тест-об'єктах**

| Повторюваність досліджу | Пасаж | Концентрація за діючою речовиною | Експозиція | | | |
|-------------------------|-------|----------------------------------|------------|----------|----------|----------|
| | | | 30 с | 1 хв | 2 хв | 5 хв |
| 1 | 1 | Нерозведений | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 2 | | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 3 | | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| 2 | 1 | Нерозведений | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 2 | | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 3 | | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| 3 | 1 | Нерозведений | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 2 | | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 3 | | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| КЖВ | 1 | – | Наявн | Наявн | Наявн | Наявн |
| | 2 | | Наявн | Наявн | Наявн | Наявн |
| | 3 | | Наявн | Наявн | Наявн | Наявн |
| КЗТО | 1 | – | Наявн | Наявн | Наявн | Наявн |
| | 2 | | Наявн | Наявн | Наявн | Наявн |
| | 3 | | Наявн | Наявн | Наявн | Наявн |
| ККТ | 1 | – | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 2 | | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |
| | 3 | | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. | Відсутн. |

Примітка: Наявн. – наявність цитопатогенної дії вірусу грипу; Відсутн. – відсутність цитопатогенної дії вірусу грипу; «–» – дослідження не проводили; КЗТО – контроль зараженості тест-об'єктів вірусом грипу; КЖВ – контроль життєздатності вірусу грипу; ККТ – контроль культури клітин MDCK.

Отже, вивчення віруліцидної активності засобу «Екстракт малини» показало його ефективність проти складних і простих вірусів.

Також була досліджена гостра токсичність екстракту, він відноситься до VI класу токсичності і є малотоксичною речовиною.

Висновки до розділу 3

1. Ідентифіковано якісно і кількісно 83 БАР, що належать до фенольних, тритерпенових сполук, ди-, трикарбонових жирних кислот і амінокислот, 72 із них раніше не були виявлені в плодах малини звичайної.

2. У рідкому екстракті вичавок плодів малини звичайної було встановлено 82 сполуки, у консервованому соці плодів малини – 75; 73 сполуки є загальними для екстракту і соку малини звичайної. Однак вміст фенольних сполук в екстракті малини вище, ніж у соці.

3. Уперше для вегетативних та генеративних органів малини звичайної і продуктів, отриманих з неї, ідентифіковано: глікозиди мірицетину, лютеоліну, апігеніну, мірицетин, гесперидин, гесперетин, ціанідин-3-ксилозилрутинозид, сангуїн Н-10 ізомер 1, сангуїн Н-10 ізомер 2, ламбертіанін С без елагового фрагмента, ізо-ламбертіанін С, ламбертіанін С, капронова, щавлева, малонова, фуमारова, левулінова, бурштинова, бензойна, фенілоцтова, 2-окси-3-метилглутарова, яблучна, азелаїнова, пальметинова, ізо-лимонна, 2-оксипальметинова, хенейкозанонова, бегенова, трикозанонова, бузкова, тетракозанонова, гамма-аміномасляна, еускапова, торментинова кислоти, 4-гідроксипролін, аспарагін, глютамін, цистин, 2-етаноламін, лупіол.

4. Уперше визначено, що екстракт вичавок плодів малини звичайної чинить антимікробну дію на штами АТСС і клінічні штами граммпозитивних та грамнегативних бактерій.

5. Уперше встановлено, що екстракт вичавок плодів малини звичайної характеризується протигрибковою дією.

6. Уперше встановлено, що сік плодів малини звичайної володіє імунологічною дією, впливаючи на лімфоцити і диференціюючи їх на лімфобласти.

7. Уперше встановлено, що рідкий екстракт вичавок плодів малини звичайної має противірусну дію щодо аденовірусу 5 типу, вірусу грипу Н1N1.

8. Розроблено технологічну схему комплексної переробки плодів малини звичайної. Визначено кратність екстракції сировини, розчинник для рідкого екстракту вичавок плодів малини звичайної, який володіє протигрибковою, антимікробною і противірусною дією.

9. Рідкий екстракт вичавок плодів малини і сік плодів малини звичайної становлять інтерес для створення препаратів, які впливатимуть на Т-клітинний імунітет і володітимуть антибактеріальною, протигрибковою та противірусною дією.

Результати досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

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 . *Vіsник farmacії*. 2018. № 3 (95). P. 30–33.

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. *Vіsник farmacії*. 2018. № 4 (95). P. 24–27.

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.

4. Изучение фенольных соединений экстракта жмыха малины обыкновенной методом ВЭЖХ / И. Н. Полищук, Н. А. Комисаренко, А. Н. Комиссаренко, Т. В. Упырь, Т. В. Ильина *Наука и инновация*. 2020. № 1. С. 67-71.

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

6. Перспектива створення противугривого засобу на основі водного екстракту плодів малини / І. М. Поліщук, М. А. Комісаренко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова. *Сучасні методи корекції вугрової 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.

7. 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.

8. Polischuk I. M., Koshovyi O. M., Komisarenko M. A., Upyr 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.

9. Изучение органических кислот экстракта жмыха малины обыкновенной методом ГХ-МС / И. Н. Полищук, А. Н. Комиссаренко, Т. В. Ильина, Н. А. Комиссаренко. *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.

РОЗДІЛ 4. СТАНДАРТИЗАЦІЯ ПРОДУКТІВ ПЕРЕРОБКИ ПЛОДІВ МАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ ТА ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ НА ЇХ ОСНОВІ

4.1 Обґрунтування й особливості технологічних аспектів розробки препарату на основі плодів малини звичайної

Сушіння плодів малини пов'язано з величезною кількістю нюансів. Збирають плоди на плантації вранці і ввечері. Ранкова малина потрапляє на переробку через 7-9 годин від початку збору, а вечірня ягода не раніше ніж через 14 годин. При цьому аутоферментативні процеси в плодах малини не припиняються. В результаті механічного впливу плоди починають текти, порушується їх цілісність, кількість таких плодів у ранковій і вечірній партіях різна.

Перед тим, як відправити плоди на сушіння, необхідна первинна обробка сировини. Забирають квітконіжки, клиноподібне квітколоже, листя, незрілі плоди, частини інших рослин.

Сушіння (не примусове) відбувається протягом 4-7 днів, у добре провітрюваному приміщенні або на майданчику під навісом, при цьому плід має бути захищений від впливу сонячних променів. Плоди необхідно перевертати кожні 1,5-2 години, вони мають бути розстеленими моношарово і тільки за умови гарної, сухої, сонячної погоди. Якщо плоди водянисті або пошкоджені, то вони починають бродити через велику кількість цукрів і аутоферментезацію, з'являються дрозоділи, пліснява. А це неприпустимі домішки сировини. Плоди, злиплі в грудки і почорнілі, які жорстко регламентуються.

Збір плодів проводиться сезонно, не вистачає площ для їх сушіння, що є ще одним слабким місцем в сушінні сировини. Вихід сировини становить менше 15 %, а при висушуванні невеликих кількостей – 19-22 %.

При сублимації сушіння попередньо оброблені (перебрані) плоди піддаються глибокому заморожуванню на протязі 8 годин за температури мінус 18-25 °С.

При цьому процес розподіляється на охолодження до 0 градусів, $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ і власне глибокого заморожування. Доведення в подальшому до $-35 - -40\text{ }^{\circ}\text{C}$ і, власне, ліофілізації під інфрачервоним випромінюванням і вакуумом на протязі від 8 до 24 годин. Недоліки: малі обсяги, енерговитрати – $25\text{ кВт} \cdot \text{год}$, обов'язкова наявність достатньої кількості «холодильних скринь» для заморожування. Продукт виходить чудової якості, але є дуже дорогим.

Недоліками при висушуванні плодів малини є їх ніжність, вразливість, схильність до розчавлення без подрібнення, близько 80 % вологи. Ці слабкі місця і використовували для комплексної переробки сировини.

Плоди добового строку (свіжозібрані) завантажували в гідравлічний побутовий прес для отримання соку, практично самопливного. Із 10 кг свіжих плодів отримували 6,5-7 л соку. Вичавки масою 3-3,5 кг сушили природним шляхом протягом 1-2 діб, площі для сушіння займають у п'ять разів менше місця. Слід зазначити, що вичавки не бродять і не покривалися пліснявою. Пов'язано це з кількістю вільних цукрів (які стали осмотичним консервантом), відсутністю води у вичавках (12-14 %) і великою кількістю органічних кислот і фенольних сполук, які інгібують ферментні системи малини. Продукт переробки плодів малини після висушування став сировиною для отримання рідкого екстракту плодів малини, що володіє протимікробною, фунгіцидною та противірусною дією.

Сік малини (6,7 л), отриманий механічним пресуванням з 10 кг плодів, завантажували в реактор з оболонкою і швидко нагрівали до температури $(95 \pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$ під вакуумом. Білкові сполуки коагулювали. Аутоферментація припинялася, мікроорганізми, що потрапили на поверхню плодів у процесі вирощування, збирання і транспортування гинули. Сік у гарячому стані передавлювали в перегінний куб. Відганяли 20 % гідролату. Отриманий об'єм заповнювали до вихідного етиловим спиртом, перемішуючи. Отриманий розчин центрифугували і фільтрували. Розчиняли в отриманому продукті 10,05 г тіосульфату натрію. Знову філь-

трували крізь фільтр 0,22 мкм під тиском у шестилітровий балон із темного нейтрального скла під ламінарним потоком стерильного повітря. Балон закупорювали, маркували, ставили на обрешітку і зберігали за температури (5 ± 2) °С.

Сік плодів малини випробовували за показниками якості, стабільності, вивчали хімічний склад та імуномодельовальну дію.

Рідкий екстракт плодів малини отримували з висушених вичавок плодів. Вичавки подрібнювали на млині з розміром сита 6 мм. 2,0 кг порошку вичавок плодів, отриманих із 10 кг свіжих плодів малини, завантажували в скляний реактор на 50 літрів. Через нижню подачу подавали 20 кг спирту етилового 95 %, вмикали лопатеву мішалку зі швидкістю 50 об/хв. Первинна екстракція проходила 8-16 годин. Після чого екстракт зливали й упарювали в роторному випаровувачі під вакуумом 4 кПа за температури 35-40 °С теплоносія. Отриману відгонку доводили до 10 літрів спиртом і повторно екстрагували, перемішуючи, протягом 3 годин. Отриманий екстракт упарювали приблизно до 1 літра. Екстракти об'єднували і доводили до вимог специфікації. Стандартизований рідкий екстракт фільтрували крізь полідентфторидну мембрану, фільтр 0,22 мкм, фірми «Міліпор» (США). Упаковували, маркували та зберігали за температури не вище 25 °С.

Отриманий рідкий екстракт досліджували за хімічним складом, стабільністю, термінами придатності, протимікробною, фунгіцидною, противірусною активністю і далі використовували для отримання спрею з екстрактом малини як антисептичного засобу для лікування захворювань ротової порожнини, викликаних різними збудниками інфекцій.

4.2 Стандартизація рідкого екстракту вичавок плодів малини

Із метою стандартизації рідкого екстракту вичавок плодів малини визначали низку числових показників трьох його серій, отриманих в експериментальних умовах, описаних в розд. 3. Методики стандартизації одержаних екстрактів

розробляли відповідно до загальних статей і методик кількісного визначення БАР, викладених у ДФУ (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Специфікація на Малини екстракт рідкий згідно з проєктом МКЯ

| Показники якості | Допустимі межі | Методики контролю |
|-------------------------|--|--|
| Опис | Рідина темно-червоного кольору з характерним запахом | За п. 1 МКЯ |
| Ідентифікація | | |
| Якісні реакції | 0,2 мл екстракту рідкого розчиняють у 10 мл води очищеної Р. Одержаний розчин використовують для проведення якісних реакцій. До 1,0 мл вихідного розчину додають 1,0 мл розчину розчину 10 г/л заліза (III) хлориду Р; з'являється темно-зелене забарвлення (фенольні сполуки) | За п. 2 МКЯ |
| Метод ТШХ | <ul style="list-style-type: none"> – пластинки із шаром <i>силікагелю Р</i> – розчин порівняння: левулінова кислота – рухома фаза: <i>бутанол : етанол : р-н аміаку 1 : 1 : 1</i> – пробіг: 15 см – розчинник: метанол – виявлення: <ol style="list-style-type: none"> 1) <i>2,4-динітрофенілридрозин у хлористоводневій кислоті</i> 2) <i>Бромтимоловий синій</i> – переглядання в денному світлі | За п. 3 МКЯ ДФУ, 2.2.27 |
| Випробування | | |
| Вміст етанолу | Не менше 90 % | За п. 4 МКЯ ДФУ, 2.9.10 |
| Метанол і 2-пропанол | Не більше 0,05 % (<i>об/об</i>) метанолу і не більше 0.05 % | За п. 5 МКЯ ДФУ, 2.9.11 |
| Сухий залишок | Не менше 8 % | За п. 6 МКЯ (ДФУ.8.16) |
| Важкі метали | Не більше 100 ppm | За п. 7 МКЯ ДФУ, 2.4.8 |
| Мікробіологічна чистота | В 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г. Не допускається наявність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г | За п. 8 МКЯ ДФУ, 2.6.12; 2.6.13, 5.1.4, категорія 2 |

| Кількісне визначення | | |
|-------------------------|--|--------------------------|
| Вміст органічних кислот | Вміст суми органічних кислот у перерахунку на яблучну кислоту – не менше 6 % | За п. 9 МКЯ ДФУ, 2.2.25 |
| Вміст фенольних сполук | Вміст суми фенольних сполук у перерахунку галову кислоту – не менше 3 % | За п. 10 МКЯ ДФУ, 2.2.25 |

Опис. Рідина темно-червоного кольору з характерним запахом.

Ідентифікація

А. Вихідний розчин. 0,2 мл екстракту рідкого розчиняли у 10 мл води очищеної Р. Одержаний розчин використовували для проведення якісних реакцій. До 1,0 мл вихідного розчину додавали 1,0 мл розчину 10 г/л заліза (III) хлориду Р; з'являється темно-зелене забарвлення (фенольні сполуки).

В. Тонкошарова хроматографія (ДФУ, 1 вид., 2.2.27).

Випробовуваний розчин. До 0,2 мл рідкого екстракту додавали 8 мл 96 % (об/об) спирту Р, струшували та фільтрували у пікнометр місткістю 10 мл. Одержаний фільтрат доводили 96 % (об/об) спиртом Р до об'єму 10 мл.

Розчин порівняння. 3 мг кислоти левулінової Р розчиняли у 2 мл 96 % спирту Р.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: бутанол : етанол : р-н аміаку 1 : 1 : 1.

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

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

Висушування: на повітрі.

Виявлення. Пластинку ділили на дві частини, одну з яких обприскували розчином 2 г 2,4-динітрофенілридрозину у хлористоводневій кислоті; іншу – розчином 0,05 % бромтимолового синього в етанолі Р, висушували на повітрі, переглядали у денному світлі.

Результати А. На хроматограмі розчину порівняння має проявлятися пляма левулінової кислоти. Перший проявник дає оранжеву пляму на світло-жовтому полі (ідентифікує карбонільні групи), другий – жовту пляму на синьому

полі (використовується для відкриття карбоксильних груп). На хроматограмі випробовуваного розчину можуть проявлятися також інші плями.

Сухий залишок: не менше 8,0 % (ДФУ, доп. 1, 2.8.16).

Вміст етанолу: не менше 90,0 % об/об (ДФУ, доп. 1, 2.9.10,N, 5.5).

Вміст метанолу і 2-пропанолу: не більше 0,05 % (об/об) метанолу і не більше 0,05 % (об/об) 2-пропанолу (ДФУ, 2.9.11).

Важкі метали. З метою токсикологічної безпеки в усіх видах фітохімічної продукції потрібно контролювати вміст важких металів, за вимогами ДФУ (2.4.8), їх вміст має бути не більше 100 ppm.

0,2 г препарату, у перерахунку на суху речовину, поміщали у попередньо прожарений порцеляновий або кварцовий тигель, змочували 1 мл *сірчаної кислоти R* та обережно нагрівали на сітці або піщаній бані, постійно перемішуючи, обертаючи тигель щипцями, до видалення парів кислоти сірчаної і спалювали до зникнення темних частинок за температури 600 °С. За наявності темних частинок знову додавали 1 мл *сірчаної кислоти R* та повторювали спалювання. Залишок з тигля переносили у пробірку двома порціями *хлористоводневої кислоти розведеної R*, по 5 мл кожна, за необхідності нагрівали за температури від 50 до 60 °С до розчинення осаду. Охолоджували, додавали 0,1 мл *розчину фенолфталеїну R* та підлужували *розчином аміаку концентрованого R* до появи рожевого забарвлення. Охолоджували, додавали *кислоту оцтову льодяну R* до знебарвлення розчину та додавали ще 0,5 мл *кислоти оцтової льодяної R*. Якщо необхідно, фільтрували крізь паперовий фільтр невеликого діаметра, попередньо промитий розчином 10 г/л *оцтової кислоти льодяної R*, потім гарячою водою *R*, після фільтрації промивали фільтр водою *R*. Доводили об'єм розчину водою *R* до 20 мл і перемішували. До 12 мл одержаного фільтрату додавали 2 мл *буферного розчину pH 3,5* і перемішували, одержану суміш додавали до 1,2 мл *реактиву тіоацетаміду R* і швидко перемішували (допускається слабка опалесценція розчину).

Для приготування еталону в тигель поміщали *сірчану кислоту Р* у кількості, використаній для спалювання препарату, 2 мл *етанольного розчину свинцю (10 ppm Pb) Р*. Спалювали за тих самих умов, що і випробовувану речовину, кількісно переносили хлористоводневою кислотою, додавали розчин аміаку, потім кислоту оцтову. Доводили об'єм розчину *водою Р* до 20 мл і перемішували. До 10 мл одержаного розчину додавали 2 мл розчину, одержаного при обробці випробовуваної речовини, і 2 мл *буферного розчину рН 3,5* та перемішували. Одержану суміш додавали до 1,2 мл *реагенту тіоацетаміду Р* і швидко перемішували.

Готували холостий розчин, використовуючи суміш 10 мл *води Р* і 2 мл розчину, одержаного при обробці випробовуваної речовини. Порівняно з холостим розчином еталон повинен мати світло-коричневе забарвлення. Через 2 хв коричневе забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим, ніж забарвлення еталону.

Мікробіологічна чистота (ДФУ, 5.1.4, N, категорія 3 А, ДФУ, доп. 1, 2.6.12, 2.6.13). Для фітохімічних засобів характерна мікробна забрудненість, тому потрібно контролювати кількість життєздатних бактерій і грибів в екстракті. Випробування проводили відповідно до вимог ДФУ, 2.6.12, 2.6.13.

Для визначення загального числа життєздатних аеробних бактерій 10 г препарату поміщали у стерильну мірну посудину, доводили до 500 мл стерильною нейтралізуювальною рідиною, що містить 10 % полісорбату–80 та 20 % ізопропілміристату. По 1 мл підготовленого зразка висівали двошаровим методом на кожну із п'яти чашок Петрі з густим живильним середовищем № 1.

Для визначення загального числа життєздатних грибів 10 г препарату поміщали у стерильну мірну посудину, доводили до 500 мл стерильною нейтралізуювальною рідиною, що містить 10 % полісорбату–80 та 20 % ізопропілміристату. По 1 мл підготовленого зразка висівали двошаровим методом на кожну з п'яти чашок Петрі з густим живильним середовищем № 2.

Для випробування на наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus* 10 г препарату поміщали у стерильну мірну посудину, доводили до 500 мл стерильною нейтралізуювальною рідиною, що містить 10 % полісорбату–80 та 20 % ізопропілміристату. По 50 мл підготовленого зразка вносили у 500 мл живильних середовищ № 3 і 8.

Нормування мікробіологічної чистоти препарату встановлено відповідно до вимог ДФУ, 5.1.4, категорія 2.

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

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

Не допускається наявність *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г.

Не допускається наявність *Staphylococcus aureus* в 1 г.

Примітка: Склад нейтралізуювальної рідини, що містить 10 % полісорбату–80 та 20 % ізопропілміристату:

| | |
|-------------------------------|---------|
| Полісорбат–80 | 100 г |
| Ізопропілміристат | 200 г |
| Лецитин (яєчний) | 3 г |
| Гістидину гідрохлорид | 1 г |
| Пептон ферментативний | 1 г |
| Натрію хлорид | 4,3 г |
| Калію дигідрофосфат | 3,6 г |
| Динатрію гідрофосфат дигідрат | 7,2 г |
| Вода очищена | 1000 мл |

Кількісне визначення

Органічні кислоти. 1,0 мл екстракту поміщали в колбу зі шліфом на 50,0 мл, заливали 20 мл води очищеної і витримували протягом 1 год на киплячій

водяній бані. Після охолодження розчин кількісно переносили в мірну колбу на 25,0 мл, доводили об'єм до мітки (розчин А).

1,0 мл розчину А поміщали в колбу на 100,0 мл, доводили до мітки свіжо-прокип'яченою водою і титрували 0,1 М розчином натрію гідроксиду потенціометрично. Після додавання кожної порції титранту розчин ретельно перемішували і фіксували значення електродного потенціалу.

Також був проведений холостий досвід, згідно з яким холостий об'єм 0,1 М натрію гідроксиду склав 0,03 мл:

$$X = \frac{(V_{\text{екв}} - V_x) \cdot 0,0067 \cdot 25 \cdot 100 \cdot \text{КП}}{m \cdot 1},$$

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

$V_{\text{екв}}$ – об'єм 0,05 М розчину натрію гідроксиду, мл;

V_x – об'єм 0,05 М розчину натрію гідроксиду, використаного для титрування в холостому досліді, мл;

КП – поправковий коефіцієнт;

m – маса наважки, г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Сума фенольних сполук.

Вихідний розчин. 1,0 мл екстракту А поміщали у мірну колбу ємністю 25,0 мл, доводили об'єм 40 % етиловим спиртом до мітки та перемішували.

Випробовуваний розчин. 1 мл вихідного розчину поміщали у пікнометр місткістю 10 мл, доводили об'єм розчину 40 % (об/об) спиртом до позначки та перемішували (розчин 2).

Компенсаційний розчин. 40 % (об/об) спирт. Вимірювали оптичну густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 270 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст суми фенольних сполук (X), у перерахунку на кислоту галову, обчислювали у відсотках за формулою:

$$X = \frac{A \cdot V_2 \cdot V_4}{V_1 \cdot V_3 \cdot 540},$$

де A – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 270 нм;

m – маса наважки випробовуваного екстракту, г;

V₁ – об'єм екстракту, мл;

V₂ – об'єм вихідного розчину, мл;

V₃ – об'єм вихідного розчину, взятий для розведення, мл;

V₄ – об'єм випробовуваного розчину, мл;

540 – питомий показник поглинання кислоти хлорогенової.

Вміст суми фенольних сполук (X), у перерахунку на кислоту галову, має бути не менше 3,0 %.

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

Умови зберігання. Зберігають у захищеному від світла місці за температури не вище + 25 °С.

Нами було проведено дослідження трьох серій спиртового екстракту рідкого з плодів малини на відповідність розробленим параметрам стандартизації (табл. 4.2). Установлено, що всі вони відповідають розробленим параметрам.

**Відповідність серій спиртового екстракту малини параметрам
його стандартизації**

| Показники якості | Допустимі межі | Результати аналізу серії | | |
|-----------------------------|---|--------------------------|--|--|
| | | | | |
| Опис | Рідина темно-червоного кольору з характерним запахом | | | |
| Ідентифікація | | | | |
| Фенольні сполуки | 2 мл екстракту рідкого розчиняють у 10 мл води очищеної Р. Одержаний розчин використовують для проведення якісних реакцій. | | | |
| Левулінова кислота | До 1,0 мл вихідного розчину додають 1,0 мл розчину 10 г/л заліза (III) хлориду Р; з'являється темно-зелене забарвлення (фенольні сполуки). ТШХ у системі бутанол : етанол : р-н аміаку Проявники 1) 2,4-динітрофенілгидрозин у хлористоводневій кислоті бромтимоловий синій | | | |
| Вміст етанолу (ДФУ, 2.9.10) | Не менше 90 % | | | |
| Метанол і 2-проп | Не більше 0,05 % (об/об) метанолу і не більше | | | |
| Сухий залишок (ДФУ, 2.8.16) | Не менше 8 % | | | |
| Важкі метали (ДФУ, 2.4.8) | Не більше 100 ppm | | | |

| | | | | |
|--------------------------------------|--|--|--|--|
| | | | | |
| Мікробіологічна чистота (ДФУ 2.6.12, | В 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій та грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г | | | |
| Кількісне визначення | | | | |
| Вміст органічних кислот | Вміст суми органічних кислот – не менше 6 % | | | |
| Вміст фенольних сполук | Вміст суми фенольних сполук – не менше 3 % | | | |

4.3 Стандартизація спрею на основі рідкого екстракту вичавок плодів малини

Мікроорганізми і гриби мають високу чутливість до 1 % спиртового розчину (за сухим залишком) екстракту малини. Нашу увагу привернули піонерські роботи 1970-1980 рр. професорів І. М. Перцева і Д. І. Дмитрієвського з поліетиленоксидом (ПЕО) та поліетиленгліколем (ПЕГ), які показали, що полімери поліетиленгліколю не впливають негативно на антимікробні і протигрибкові властивості, а посилюють їх.

Моделювання проводили з ПЕГ400 і водою з кроком 5%. Факел з розпилювача переставав задовольняти вимоги після 55-60 % поліетиленгліколю. Тому вирішили зупинитися на 1 % розчині (за сухим залишком) екстракту малини, розчиненого у 50 % розчині ПЕГ400 у воді.

На основі екстракту отримали спрей за такою схемою. Наважку ПЕО 400 розчиняли у воді для отримання 50 % розчину, в якому розчиняли екстракт малини рідкий до утворення 1 % розчину екстракту. Стабілізували, перемішуючи

отриманий розчин протягом 45-60 хвилин. Досліджували на відповідність специфікації на спрей малини.

Фільтрували крізь фільтр 0,22 мкм у накопичувальну ємність, розливали за допомогою насоса по 15 і 30 мл. Укупорювали, маркували, упаковували і відправляли в карантинну зону на склад.

Одержаний засіб володіє антибактеріальною, протигрибковою та вірулоцидною дією (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Специфікація на Малини спрей згідно з проєктом МКЯ

| Показники якості | Допустимі межі | Методики контролю |
|----------------------|--|----------------------------|
| 1 | 2 | 3 |
| Опис | Рідина темно-червоного кольору з характерним запахом | За п. 1 МКЯ |
| Ідентифікація | | |
| Якісні реакції | 0,2 мл екстракту рідкого розчиняють у 10 мл води очищеної Р. Одержаний розчин використовують для проведення якісних реакцій. До 1,0 мл вихідного розчину додають 1,0 мл розчину розчину 10 г/л заліза (III) хлориду Р; з'являється темно-зелене забарвлення (фенольні сполуки) | За п. 2 МКЯ |
| Метод ТШХ | <ul style="list-style-type: none"> – пластинки із шаром <i>силікагелю Р</i> – розчин порівняння: левулінова кислота – рухома фаза: <i>бутанол : етанол : р-н аміаку 1 : 1 : 1</i> – пробіг: 15 см – розчинник: метанол – виявлення: <ol style="list-style-type: none"> 1) <i>2,4-динітрофенілридрозин у хлористоводневій кислоті</i> 2) <i>бромтимоловий синій</i> – переглядання в денному світлі | За п. 3 МКЯ ДФУ, 2.2.27 |
| Випробування | | |
| Вміст етанолу | Не більше 12 % | За п. 4 МКЯ ДФУ, 2.9.10 |
| Метанол і 2-пропанол | Не більше 0,05 % (<i>об/об</i>) метанолу і не більше 0,05 % | За п. 5 МКЯ ДФУ, 2.9.11 |

Продовження табл. 4.3

| 1 | 2 | 3 |
|-----------------------------------|--|---|
| Сухий залишок | Не менше 1 % | За п. 6 МКЯ ДФУ, 2.8.16 |
| Важкі метали | Не більше 100 ppm | За п. 7 МКЯ ДФУ, 2.4.8 |
| Мікробіологічна чистота | В 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г. Не допускається наявність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г | За п. 8 МКЯ ДФУ, 2.6.12; 2.6.13, 5.1.4, категорія 2 |
| Перевірка механічного насоса | Поява дисперсного струменя препарату має відбуватися після першого натискання на розпилювач. Виділення вмісту має відбуватися тільки через отвір у розпилювачі | За п. 9 МКЯ |
| Відсоток виходу вмісту контейнера | Вихід вмісту контейнера має бути не менше 95 % від маси вмісту контейнера | За п. 10 МКЯ |
| Кількісне визначення | | |
| Вміст органічних кислот | Вміст суми органічних кислот, у перерахунку на яблучну кислоту, не менше 0,75 % | За п. 11 МКЯ ДФУ, 2.2.25 |
| Вміст фенольних сполук | Вміст суми фенольних сполук, у перерахунку галову кислоту, не менше 0,35 % | За п. 12 МКЯ ДФУ, 2.2.25 |

Опис. Рідина темно-червоного кольору з характерним запахом.

Ідентифікація

А. Вихідний розчин. 0,2 мл екстракту рідкого розчиняли у 10 мл води очищеної Р. Одержаний розчин використовували для проведення якісних реакцій. До 1,0 мл вихідного розчину додавали 1,0 мл розчину розчину 10 г/л заліза (III) хлориду Р; з'являється темно-зелене забарвлення (фенольні сполуки).

В. Тонкошарова хроматографія (ДФУ, 1 вид., 2.2.27).

Випробовуваний розчин. До 0,2 мл рідкого екстракту додавали 8 мл 96 % (об/об) спирті Р, струшували та фільтрували у пікнометр місткістю 10 мл. Одержаний фільтрат доводили 96 % (об/об) спиртом Р до об'єму 10 мл.

Розчин порівняння. 3 мг кислоти левулінової Р розчиняли у 2 мл 96 % спирту Р.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: бутанол : етанол : р-н аміаку 1:1:1.

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

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

Висушування: на повітрі.

Виявлення. Пластинку ділили на дві частини, одну з яких обприскували розчином 2 г 2,4-динітрофенілридрозину у хлористоводневій кислоті, іншу – розчином 0,05 % бромтимолового синього в етанолі Р, висушували на повітрі, переглядали у денному світлі.

Результати А. На хроматограмі розчину порівняння має проявлятися пляма левулінової кислоти. Перший проявник дає оранжеву пляму на світло-жовтому полі (ідентифікує карбонільні групи), другий – жовту пляму на синьому полі (використовується для відкриття карбоксильних груп). На хроматограмі випробовуваного розчину можуть проявлятися також інші плями.

Сухий залишок. Не менше 1,0 % (ДФУ, доп. 1, 2.8.16).

Вміст етанолу. Не більше 12,0 % об/об (ДФУ, доп. 1, 2.9.10,N, 5.5).

Вміст метанолу і 2-пропанолу. Не більше 0,05 % (об/об) метанолу і не більше 0,05 % (об/об) 2-пропанолу (ДФУ, 2.9.11).

Важкі метали. Визначення проводили із 5 мл препарату. Вміст важких металів має бути не більше 0,001 % (10 ppm) (ДФУ, доп. 3, 2.4.8, метод А).

Мікробіологічна чистота (ДФУ, 5.1.4, N, категорія 3 А, доп. 1, 2.6.12, 2.6.13). У препараті допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^4 бактерій і не більше 10^2 грибів у мілілітрі. Не допускається наявність бактерій род. *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* в 1 мл.

Перевірка механічного насоса. На шток насоса надягали розпилювач і робили не більше семи натискань до появи дисперсного струменя препарату. За від-

сутності струменя допускається прокачування повторно. Подальша поява дисперсного струменя препарату має відбуватися після першого натискання на розпилювач. Виділення вмісту має відбуватися тільки через отвір у розпилювачі.

Відсоток виходу вмісту контейнера. Підготовку контейнера проводили, як зазначено в розділі «Перевірка механічного насоса». Контейнер із розпилювачем зважували з точністю до 0,01 г (m_1), кінець розпилювача вводили усередину колби зі шліфом місткістю 100 мл. Видаляли вміст контейнера, колбу негайно закривали пробкою і порожній контейнер з розпилювачем зважували (m_2). Масу препарату в контейнері, в грамах, визначали за різницею маси контейнера з насосом до та після відбору.

Відсоток виходу вмісту контейнера (X) обчислювали за формулою:

$$X = \frac{(m_1 - m_2)}{V \times \rho} \times 100,$$

де m_1 – маса контейнера з препаратом, г;

m_2 – маса порожнього контейнера, г;

V – об'єм вмісту упаковки, зазначений на етикетці, мл;

ρ – густина препарату, г/мл.

Вихід вмісту контейнера має бути не менше 95 % від маси вмісту контейнера.

Кількісне визначення

Органічні кислоти. 1,0 мл спрею поміщали у колбу зі шліфом на 50,0 мл, заливали 20 мл води очищеної і витримували протягом 1 год на киплячій водяній бані. Після охолодження розчин кількісно переносили у мірну колбу на 25,0 мл, доводили об'єм до мітки (розчин А).

5,0 мл розчину А поміщали у колбу на 100,0 мл і доводили до мітки свіжо-прокип'яченою водою і титрували 0,1 М розчином натрію гідроксиду потенціометрично. Після додавання кожної порції титранту розчин ретельно перемішували і фіксували значення електродного потенціалу.

Також був проведений холостий дослід, згідно з яким холостий об'єм 0,1 М натрію гідроксиду склав 0,03 мл:

$$X = \frac{(V_{\text{екв}} - V_x) \cdot 0,0067 \cdot 25 \cdot 100 \cdot \text{КП}}{m \cdot 5},$$

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

$V_{\text{екв}}$ – об'єм 0,05 М розчину натрію гідроксиду, мл;

V_x – об'єм 0,05 М розчину натрію гідроксиду, використаного для титрування в холостому досліді, мл;

КП – поправковий коефіцієнт;

m – маса наважки, г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Вміст суми органічних кислот (X), у перерахунку на кислоту яблучну, має бути не менше 0,75 %.

Сума фенольних сполук

Вихідний розчин. 1,0 мл екстракту А поміщали у мірну колбу ємністю 25,0 мл, доводили об'єм 40 % етиловим спиртом до мітки та перемішували.

Випробовуваний розчин. 5 мл вихідного розчину поміщали у пікнометр місткістю 10 мл, доводили об'єм розчину 40 % (об/об) спиртом до позначки та перемішували (розчин 2).

Компенсаційний розчин. 40 % (об/об) спирт. Вимірювали оптичну густину випробовуваного розчину за довжини хвилі 270 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст суми фенольних сполук (X), у перерахунку на кислоту галову, обчислювали у відсотках за формулою:

$$X = \frac{A \cdot V_2 \cdot V_4}{V_1 \cdot V_3 \cdot 540},$$

де А – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 270 нм;

m – маса наважки випробовуваного екстракту, г;

V₁ – об'єм екстракту, мл;

V₂ – об'єм вихідного розчину, мл;

V₃ – об'єм вихідного розчину, взятий для розведення, мл;

V₄ – об'єм випробовуваного розчину, мл;

540 – питомий показник поглинання кислоти хлорогенової.

Вміст суми фенольних сполук (X), у перерахунку на кислоту галову, має бути не менше 0,35 %.

Упакування. По 15 мл у контейнері зі скла або пластмаси з насосом, обладнаним клапанами. На контейнери наклеюють етикетку – самоклеїтку. Кожен контейнер разом із розпилювачем та інструкцією поміщають у пачку зі звичайного картону з картону або з картону макулатурного типу хром-ерзац.

Умови зберігання. Зберігають у захищеному від світла місці за температури не вище + 25 °С.

На одержаний спрей розроблено проєкт МКЯ і згідно з його вимогами проведено дослідження трьох серій засобу. Усі серії відповідали вимогам розробленої документації (табл. 4.4).

Відповідність серій Малини спрей параметрам його стандартизації

| Показники якості | Допустимі межі | Результати аналізу серії | | |
|--|--|--------------------------|---|---|
| | | | | |
| Опис | Рідина червоного кольору з характерним запахом | | | |
| Ідентифікація | | | | |
| Фенольні сполуки Левулінова кислота | 0,2 мл екстракту рідкого розчиняють у 10 мл води очищеної Р. Одержаний розчин використовують для проведення якісних реакцій. До 1,0 мл вихідного розчину додають 1,0 мл розчину розчину 10 г/л заліза (III) хлориду Р; з'являється темно-зелене забарвлення (фенольні сполуки). ТШХ у системі бутанол : етанол : р-н аміку 1 : 1 : 1 Проявники: 1) 2,4-динітрофенілридрозин у хлористоводневій кислоті; бромтимоловий синій | | | |
| Вміст етанолу (ДФУ, 2.9.10) | Не більше 12 % | | | |
| Метанол і 2-пропан | Не більше 0,05 % (об/об) метанолу і не більше | + | + | + |
| Сухий залишок (ДФУ, 2.8.16) | Не менше 1 % | | | |
| Важкі метали (ДФУ, 2.4.8) | Не більше 100 ppm | | | |
| Мікробіологічна чистота (ДФУ 2.6.12, | В 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій та грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г | | | |
| Перевірка механічного насоса | Поява дисперсного струменя препарату має відбуватися після першого натискання на розпилювач. Виділення вмісту має відбуватися тільки через отвір у розпилювачі | | | |
| Відсоток виходу вмісту контейнера | Вихід вмісту контейнера має бути не менше 95 % від маси вмісту контейнера | | | |

| Кількісне визначення | | | | |
|-------------------------|--|---------------|---------------|---------------|
| Вміст органічних кислот | Вміст суми органічних кислот – не менше 0,75 % | 0,83± 0,04 | 0,79± 0,04 | 0,88± 0,02 |
| Вміст фенольних сполук | Вміст суми фенольних сполук – не менше 0,35 % | 0,37 ±0,02 | 0,41 ±0,01 | 0,39 ±0,01 |

4.4 Стандартизація соку плодів малини

Розчин для внутрішнього вживання з імуномодулювальною дією на основі соку малини одержували за такою схемою: з плодів малини вичавлювали сік, який далі згущували до 80 % об'єму соку. Після чого додавали спирт етиловий у кількості 1/4 до об'єму. Отриманий сік, центрифугували та фільтрували.

Із метою стандартизації соку малини визначали низку числових показників трьох серій, отриманих в експериментальних умовах, описаних в розд. 3. Подальшу розробку методик стандартизації одержаних екстрактів проводили відповідно до загальних статей і методик кількісного визначення БАР, викладених у ДФУ (табл. 4.5).

Таблиця 4.5

Специфікація на Малини сік згідно з проєктом МКЯ

| Показники якості | Допустимі межі | Методики контролю |
|------------------|---|-------------------|
| Опис | Рідина темно-червоного кольору з характерним запахом | За п. 1 МКЯ |
| Ідентифікація | | |
| Якісні реакції | 0,2 мл соку розчиняють у 10 мл води очищеної Р. Одержаний розчин використовують для проведення якісних реакцій. До 1,0 мл вихідного розчину додають 1,0 мл розчину 10 г/л заліза (III) хлориду Р; з'являється темно-зелене забарвлення (фенольні сполуки) | За п. 2 МКЯ |

| | | |
|-------------------------|--|--|
| Метод ТШХ | <ul style="list-style-type: none"> – пластинки із шаром <i>силікагелю Р</i> – розчин порівняння: левулінова кислота – рухома фаза: <i>бутанол : етанол : р-н аміаку 1 : 1 : 1</i> – пробіг: 15 см – розчинник: метанол – виявлення: <ul style="list-style-type: none"> 1) <i>2,4-динітрофенілридрозин у хлористоводневій кислоті</i> 2) <i>бромтимоловий синій</i> – переглядання в денному світлі | За п. 3 МКЯ ДФУ, 2.2.27 |
| Випробування | | |
| Вміст етанолу | У межах 20-21 % | За п. 4 МКЯ ДФУ, 2.9.10 |
| Метанол і 2-пропанол | Не більше 0,05 % (об/об) метанолу і не більше 0,05 % | За п. 5 МКЯ ДФУ, 2.9.11 |
| Сухий залишок | Не менше 8 % | За п. 6 МКЯ (ДФУ.8.16) |
| Важкі метали | Не більше 100 ppm | За п. 7 МКЯ ДФУ, 2.4.8 |
| Мікробіологічна чистота | В 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г. Не допускається наявність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г | За п. 8 МКЯ ДФУ, 2.6.12; 2.6.13, 5.1.4, категорія 2 |
| Кількісне визначення | | |
| Вміст органічних кислот | Вміст суми органічних кислот, у перерахунку на яблучну кислоту, не менше 5 % | За п. 9 МКЯ ДФУ, 2.2.25 |
| Вміст фенольних сполук | Вміст суми фенольних сполук, у перерахунку галову кислоту, не менше 0,5 % | За п. 10 МКЯ ДФУ, 2.2.25 |

Опис. Рідина темно-червоного кольору з характерним запахом.

Ідентифікація

А. Вихідний розчин.

0,2 мл соку розчиняли у 10 мл води очищеної Р. Одержаний розчин використовували для проведення якісних реакцій. До 1,0 мл вихідного розчину додавали 1,0 мл розчину 10 г/л заліза (III) хлориду Р; з'являється темно-зелене забарвлення (фенольні сполуки).

В. Тонкошарова хроматографія (ДФУ, 1 вид., 2.2.27).

Випробовуваний розчин. До 0,2 мл соку додавали 8 мл 96 % (об/об) спирту Р, струшували та фільтрували у пікнометр місткістю 10 мл. Одержаний фільтрат доводили 96 % (об/об) спиртом Р до об'єму 10 мл.

Розчин порівняння. 3 мг кислоти левулінової Р розчиняли у 2 мл 96 % спирту Р.

Пластинка: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

Рухома фаза: бутанол : етанол : р-н аміаку 1 : 1 : 1.

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

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

Висушування: на повітрі.

Виявлення. Пластинку ділили на дві частини, одну з яких обприскували розчином 2 г 2,4-динітрофенілридрозину у хлористоводневій кислоті, іншу – розчином 0,05 % бромтимолового синього в етанолі Р, висушували на повітрі, переглядали у денному світлі.

Результати А. На хроматограмі розчину порівняння має проявлятися пляма левулінової киислоти. Перший проявник дає оранжеву пляму на світло-жовтому полі (ідентифікує карбонільні групи), другий – жовту пляму на синьому полі (використовується для відкриття карбоксильних груп). На хроматограмі випробовуваного розчину можуть проявлятися також інші плями.

Сухий залишок. Не менше 8,0 % (ДФУ, доп. 1, 2.8.16).

Вміст етанолу. У межах 20-25 % об/об (ДФУ, доп. 1, 2.9.10,N, 5.5).

Вміст метанолу і 2-пропанолу. Не більше 0.05 % (об/об) метанолу і не більше 0,05 % (об/об) 2-пропанолу (ДФУ, 2.9.11).

Важкі метали. З метою токсикологічної безпеки в усіх видах фітохімічної продукції потрібно контролювати вміст важких металів, за вимогами ДФУ (2.4.8), їх вміст має бути не більше 100 ppm.

0,2 г препарату, у перерахунку на суху речовину, поміщали у попередньо прожарений порцеляновий або кварцовий тигель, змочували 1 мл *сірчаної кислоти P* та обережно нагрівали на сітці або піщаній бані, постійно перемішуючи, обертаючи тигель щипцями, до видалення парів кислоти сірчаної і спалювали до зникнення темних частин за температури 600 °С. За наявності темних частин знову додавали 1 мл *сірчаної кислоти P* і повторювали спалювання. Залишок з тигля переносили у пробірку двома порціями *хлористоводневої кислоти розведеної P*, по 5 мл кожна, за необхідності нагрівали за температури від 50 до 60 °С до розчинення осаду. Охолоджували, додавали 0,1 мл *розчину фенолфталеїну P* та підлужували *розчином аміаку концентрованого P* до появи рожевого забарвлення. Охолоджували, додавали *кислоту оцтову льодяну P* до знебарвлення розчину та додавали ще 0,5 мл *кислоти оцтової льодяної P*. Якщо необхідно, фільтрували крізь паперовий фільтр невеликого діаметра, попередньо промитий розчином 10 г/л *оцтової кислоти льодяної P*, потім гарячою водою *P*, після фільтрації промивали фільтр водою *P*. Доводили об'єм розчину водою *P* до 20 мл і перемішували. До 12 мл одержаного фільтрату додавали 2 мл *буферного розчину рН 3,5* та перемішували, одержану суміш додавали до 1,2 мл *реативу тіоацетаміду P* і швидко перемішували (допускається слабка опалесценція розчину).

Для приготування еталону в тигель поміщали *сірчану кислоту P* у кількості, використаній для спалювання препарату, 2 мл *етанольного розчину свинцю (10 ppm Pb) P*. Спалювали за тих самих умов, що і випробовувану речовину, кількісно переносили хлористоводневою кислотою, додавали розчин аміаку, потім кислоту оцтову. Доводили об'єм розчину водою *P* до 20 мл і перемішували. До 10 мл одержаного розчину додавали 2 мл розчину, одержаного при обробці випробовуваної речовини, і 2 мл *буферного розчину рН 3,5* та перемішували. Одержану суміш додавали до 1,2 мл *реативу тіоацетаміду P* і швидко перемішували.

Готували холостий розчин, використовуючи суміш 10 мл *води P* і 2 мл розчину, одержаного при обробці випробовуваної речовини. Порівняно з холостим

розчином еталон повинен мати світло–коричневе забарвлення. Через 2 хв коричневє забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим, ніж забарвлення еталону.

Мікробіологічна чистота ДФУ, 5.1.4, N, категорія 3 А, ДФУ, доп. 1, 2.6.12, 2.6.13). Для фітохімічних засобів характерна мікробна забрудненість, тому потрібно контролювати кількість життєздатних бактерій і грибів в екстракті. Випробування проводили відповідно до вимог ДФУ, 2.6.12, 2.6.13.

Для визначення загального числа життєздатних аеробних бактерій 10 г препарату поміщали у стерильну мірну посудину, доводили до 500 мл стерильною нейтралізуювальною рідиною, що містить 10 % полісорбату–80 та 20 % ізопропілміристату. По 1 мл підготовленого зразка висівали двошаровим методом на кожну із п'яти чашок Петрі з густим живильним середовищем № 1.

Для визначення загального числа життєздатних грибів 10 г препарату поміщали у стерильну мірну посудину, доводили до 500 мл стерильною нейтралізуювальною рідиною, що містить 10 % полісорбату–80 та 20 % ізопропілміристату. По 1 мл підготовленого зразка висівали двошаровим методом на кожну з п'яти чашок Петрі з густим живильним середовищем № 2.

Для випробування на наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus* 10 г препарату поміщали у стерильну мірну посудину, доводили до 500 мл стерильною нейтралізуювальною рідиною, що містить 10 % полісорбату–80 та 20 % ізопропілміристату. По 50 мл підготовленого зразка вносили в 500 мл живильних середовищ № 3 і 8.

Нормування мікробіологічної чистоти препарату встановлено відповідно до вимог ДФУ, 5.1.4, категорія 2.

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

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

Не допускається наявність *Staphylococcus aureus* в 1 г.

Примітка. Склад нейтралізувальної рідини, що містить 10 % полісорбату–80 та 20 % ізопропілміристату:

| | |
|-------------------------------|---------|
| Полісорбат–80 | 100 г |
| Ізопропілміристат | 200 г |
| Лецитин (яєчний) | 3 г |
| Гістидину гідрохлорид | 1 г |
| Пептон ферментативний | 1 г |
| Натрію хлорид | 4,3 г |
| Калію дигідрофосфат | 3,6 г |
| Динатрію гідрофосфат дигідрат | 7,2 г |
| Вода очищена | 1000 мл |

Кількісне визначення

Органічні кислоти. 1,0 мл соку поміщали в колбу зі шліфом на 50,0 мл, заливали 20 мл води очищеної і витримували протягом 1 год на киплячій водяній бані. Після охолодження розчин кількісно переносили в мірну колбу на 25,0 мл, доводили об'єм до мітки (розчин А). 1,0 мл розчину А поміщали в колбу на 100,0 мл, доводили до мітки свіжопрокип'яченою водою і титрували 0,1 М розчином натрію гідроксиду потенціометрично. Після додавання кожної порції титранту розчин ретельно перемішували і фіксували значення електродного потенціалу.

Також був проведений холостий дослід, згідно з яким холостий об'єм 0,1 М натрію гідроксиду склав 0,03 мл:

$$X = \frac{(V_{\text{екв}} - V_x) \cdot 0.0067 \cdot 25 \cdot 100 \cdot \text{КП}}{m \cdot 1},$$

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

$V_{\text{екв}}$ – об'єм 0,05 М розчину натрію гідроксиду, мл;

V_x – об'єм 0,05 М розчину натрію гідроксиду, використаного для титрування в холостому досліді, мл;

КП – поправковий коефіцієнт;

m – маса наважки, г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Сума фенольних сполук.

Вихідний розчин. 1,0 мл соку поміщали у мірну колбу ємністю 25,0 мл, доводили об'єм 40 % етиловим спиртом до мітки та перемішували.

Випробовуваний розчин. 5 мл вихідного розчину поміщали у пікнометр місткістю 10 мл, доводили об'єм розчину 40 % (об/об) спиртом до позначки та перемішували (розчин 2).

Компенсаційний розчин. 40 % (об/об) спирт. Вимірювали оптичну густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 270 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм, використовуючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст суми фенольних сполук (X), у перерахунку на кислоту галову, обчислювали у відсотках за формулою:

$$X = \frac{A \cdot V_2 \cdot V_4}{V_1 \cdot V_3 \cdot 540},$$

де A – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 270 нм;

m – маса наважки випробовуваного екстракту, г;

V_1 – об'єм екстракту, мл;

V_2 – об'єм вихідного розчину, мл;

V_3 – об'єм вихідного розчину, взятий для розведення, мл;

V_4 – об'єм випробовуваного розчину, мл;

540 – питомий показник поглинання кислоти хлорогенової.

Вміст суми фенольних сполук (X), у перерахунку на кислоту галову, має бути не менше 0,5 %.

Упакування. По 100 мл у банки з темної скломаси з гвинтовою горловиною і пластмасовими кришками, що нагвинчуються, і прокладками з картону прокладного.

Умови зберігання. Зберігають у захищеному від світла місці за температури не вище + 25 °С.

Нами було проведено дослідження трьох серій соку плодів малини на відповідність розробленим параметрам стандартизації (табл. 4.6). Установлено, що всі вони відповідають їм.

Таблиця 4.6

Відповідність серій соку малини параметрам його стандартизації

| Показники якості | Допустимі межі | Результати аналізу серії | | |
|-----------------------------|---|--------------------------|--|--|
| | | | | |
| Опис | Рідина червоного кольору з характерним запахом | | | |
| Ідентифікація | | | | |
| Фенольні сполуки | 0,2 мл екстракту рідкого розчиняють у 10 мл води очищеної Р. Одержаний розчин використовують для проведення якісних реакцій. | | | |
| Левулінова кислота | До 1,0 мл вихідного розчину додають 1,0 мл розчину 10 г/л заліза (III) хлориду Р; з'являється темно-зелене забарвлення (фенольні сполуки). ТШХ у системі бутанол : етанол : р-н аміку 1 : 1 : 1 Проявники: 1) 2,4-динітрофенілридрозин у хлористоводневій кислоті; 2) бромтимоловий синій | | | |
| Вміст етанолу (ДФУ, 2.9.10) | У межах 20-21 % | | | |
| Сухий залишок (ДФУ, 2.8.16) | Не менше 8 % | | | |

| | | | | |
|--|--|--|--|--|
| Важкі метали (ДФУ, 2.4.8) | Не більше 100 ppm | | | |
| Мікробіологічна чистота (ДФУ 2.6.12, | В 1 г препарату не більше 100 мікроорганізмів (бактерій та грибів сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г. Не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г | | | |
| Кількісне визначення | | | | |
| Вміст органічних кислот | Вміст суми органічних кислот – не менше 5 % | | | |
| Вміст фенольних сполук | Вміст суми фенольних сполук – не менше 0,5 % | | | |

Висновки до розділу 4

1. Розроблено проєкт МКЯ на екстракт та згідно з його вимогами проведено дослідження трьох серій екстрактів. Проєкт МКЯ на рідкий екстракт з вичавок плодів малини розроблено за такими показниками: опис, розчинність, ідентифікація: якісна реакція на фенольні сполуки та метод тонкошарової хроматографії, леулінова 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.

2. На основі екстракту отримано спрей, який володіє антибактеріальною, протигрибковою та вірулоцидною дією. На спрей розроблено проєкт МКЯ та згідно з його вимогами проведено дослідження трьох серій засобу. Проєкт МКЯ на спрей малини розроблено за такими показниками: опис, розчинність, ідентифікація: якісна реакція на фенольні сполуки та метод тонкошарової хроматографії, леулінова кислота, сухий залишок (не менше 1 %), вміст етанолу (не більше 12 %),

важкі метали (не більше 100 ppm), мікробіологічна чистота, перевірка механічного насосу, відсоток виходу вмісту контейнера, вміст органічних кислот (не менше 0,75%), суми фенольних (не менше 0,35 %). Усі серії відповідали вимогам розробленої документації.

3. На основі соку малини одержано розчин для внутрішнього вживання з імуномодулювальною дією. На розчин розроблено проєкт МКЯ за такими показниками: опис, розчинність, ідентифікація: якісна реакція на фенольні сполуки та метод тонкошарової хроматографії, левулінова кислота, сухий залишок (не менше 8 %), важкі метали (не більше 100 ppm), мікробіологічна чистота, вміст органічних кислот (не менше 5 %), суми фенольних (не менше 0,5 %) та згідно з його вимогами проведено дослідження трьох серій засобу. Усі серії відповідали вимогам розробленої документації.

4. Розроблені проєкти МКЯ на екстракт, спрей та розчин оральний відтворюються в умовах ТОВ «УКРДЕЗ», про що свідчать акти упровадження.

Результати досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. 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.

2. 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.

3. 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.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено експериментальне вирішення наукової проблеми фітохімічного вивчення плодів малини звичайної, продуктів її переробки та створення лікарських засобів з антимікробною, протигрибковою, вірулоцидною та імуномодулювальною дією.

1. У результаті кількісного визначення основних груп фенольних сполук 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. Проведено фармакологічний скринінг антимікробної дії отриманих екстрактів методом дифузії в агар. Екстракти виявляють антимікробну активність стосовно *Staphylococcus aureus*, *Candida Albicans*. Найбільшу активність виявив екстракт, отриманий 96 % спиртом.

2. Установлено якісний склад та кількісний вміст 19 жирних, 6 дикарбонових, 2 трикарбонові, 6 похідних бензойної кислоти, 1 фенілоцтова, 1 фенілпропанова кислоти. Уперше в *Rubus idaeus* виявлені капронова, левулінова, 2-гідрокси-3-метилглутарова, арахінова, хенейкозанова, трикозанова, тетракозанова, бегенова, ізо-лимонна, бензойна, бузкова, фенілоцтова кислоти.

3. У результаті проведеного фітохімічного дослідження малини звичайної методом ВЕРХ визначено 6 антоціанів, 1 катехін, 5 флавоноїдів, елагову кислоту та 6 її похідних, гідроксикоричну кофейну кислоти.

4. Уперше в малині звичайній ідентифіковано сангуїн Н-10 ізомер 1 та ізомер 2, ламбертіанін С без елагового фрагмента, ізо-ламбертіанін С, ламбертіанін С, ціанідин-3-ксилозилрутинозид, мірицетин, гесперидин, гесперетин, а також глікозиди мірицетину, лютеоліну, апігеніну.

5. Уперше в малині звичайній методом ВЕРХ ідентифіковані тритерпенові сапоніни групи олеанану, урсану та лупану: еускапова, торментинова, олеанолова кислоти та лупеол.

6. Установлено якісний склад та кількісний вміст 22 амінокислот (методом ВЕРХ). Шість із яких для малини звичайної знайдені вперше: 4-гідроксипролін, аспарагін, глутамін, гамма-аміномасляна, цистин та амін 2-етаноламін.

7. Уперше встановлено вірулоцидну активність рідкого екстракту вичавок плодів малини. Уперше встановлено, що сік плодів малини виявляє імуномодулювальну активність. Спосіб одержання захищено патентом України на корисну модель № 145703.

8. Уперше розроблено параметри стандартизації екстракту рідкого плодів вичавок малини (екстрагент – 96 % етанол), малини спрею, малини соку (рідина оральна). За результатами дослідження трьох серій на відповідність розробленим вимогам розроблено проекти МКЯ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Алтайский травник : 2019 © Интернет-магазин «Здоровье Алтая». URL: www.altai-travnik.ru (дата обращения: 04.11.2018).
2. Алфит Школьный-9 от кашля : Производственно-торговая компания Добро Алтая. URL: <https://dobroaltaya.com/products/alfit-shkolnyi-9-ot-kashlya> (дата обращения: 04.11.2018).
3. Аналіз ринку ягідних культур : Дослідження ринків. URL: proconsulting.ua (дата звернення: 04.11.2018).
4. Атлас лекарственных растений России / Д. Н. Анели и др. Москва : ВИЛАР, 2006. 345 с.
5. Атлас лекарственных растений СССР / под ред. Н. В. Цицина, С. В. Аничкова, Н. Я. Ицкова. Москва : Медгиз, 1962. 704 с.
6. Бескровный Р. П. Лекарственные растения в домашнем обиходе для людей и животных: заготовка, приготовление и применение. Санкт-Петербург : «Центр гомеопатии», 2005. С. 86–87.
7. Биологически активная добавка Фитол-4 Фитокапилар с дигидрокверцетином : Продажа продуктов для здоровья с доставкой по всей России. URL: <http://www.gabris.ru/gabris/health/herbs/mixture/fitol-4-bad.php> (дата обращения: 04.11.2018).
8. Варлих В. К. Полная иллюстрированная энциклопедия лекарственных растений России. Москва : РИПОЛ классик, 2005. 705 с.
9. Вертикова Е. К., Ходаков И. В., Левицкий А. П. Метод определения хлорогеновой кислоты. *Вісник стоматології. Спец. випуск*. 2010. Т. 73, № 5. С. 2–5.
10. Вимоги до виготовлення нестерильних лікарських засобів в умовах аптек: СТ-Н МОЗУ 42-4.5:2015. Введ. Державною службою України з лікарських засобів. Київ : Держстандарт України, 2015. 21 с.

11. Виноградова Т. А., Гажев Б. Н. Практическая фитотерапия. Москва : «ОЛМА – ПРЕСС» ; СПб. : Изд-ский Дом «Нева», «Валерии СПД», 1998. 640 с.
12. Гаммерман А. Ф., Кадаев Г. Н., Яценко-Хмелевский А. А. Лекарственные растения (Растения целители) : справ. пособие. 4-е изд., испр. и доп. Москва : Высш. шк., 1990. 132 с.
13. Гидролат малины : Товары для мыловарения и домашней косметики. URL: <https://easyssoap.com.ua/shop/gidrolat-maliny/> (дата обращения: 04.11.2018).
14. Голембіовська О. І. Розділення та ідентифікація поліфенолів суцвітть *Prunella vulgaris* L. методом ВЕРХ. *Вісник стоматології*. 2012. Т. 7, № 80. С. 26–27.
15. ГОСТ 29188.0-2014. Продукция парфюмерно-косметическая. Правила приемки, отбор проб, методы органолептических испытаний. Взамен ГОСТ 29188.0-91. Минск, 2014. 21 с.
16. Гурин А. Рижский бальзам – фирменный напиток рижан конца 18-го века. URL: https://lv.baltnews.com/rus_port/20160106/1015335452.html (дата обращения: 10.03.2021).
17. Делипаста Малина : Магазин для кондитера Безе. URL: beze.com.ua (дата обращения: 04.11.2018).
18. Делипаста Малина : Товары для кондитеров Карамелия. URL: <https://karamelia.com.ua/catlog/konditerskie-ingredienty/aromatizatory-vanilin-pasty-koncentrirovannye/delipasta-malina/> (дата обращения: 04.11.2018).
19. Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 490 с.
20. Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 724 с.

21. Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП «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.

22. Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП «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.

23. Динаміка нагромадження біологічно активних речовин в листі малини звичайної *Rubus idaeus* L. в онтогенезі / О. Ю. Коновалова та ін. *Фітотерапія. Часопис*. 2008. № 4. С. 42–50.

24. Дослідження антибактеріальної та протигрибкової дії екстракту «РУБІБАКТ» / І. М. Поліщук та ін. *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.

25. ДСТУ 4771:2007. Води запашні натуральні. [Чинний від 2007-27-04]. Київ : Держстандарт України, 2007. 9 с.

26. Евдокимов А. Рижский чёрный бальзам. *Вокруг Света*. 2011. № 11. С. 11-14

27. Жулидов А. В. Географическая и местная изменчивость химического состава плодов *Rubus idaeus* и *Fragaria vesca* на территории русской равнины. *Растительные ресурсы*. 1979. № 3. С. 408–415.

28. Журба О. В. Травник. Москва : Аркадия, 1997. 544 с.

29. Изучение органических кислот экстракта жмыха малины обыкновенной методом ГХ-МС / И. Н. Полищук, А. Н. Комиссаренко, Т. В. Ильина, Н. А. Комиссаренко. *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.

30. Изучение фенольных соединений экстракта жмыха малины обыкновенной методом ВЭЖХ / И. Н. Полищук и др. *Наука и инновация*. 2020. № 1. С. 67-71.
31. Интернет-магазин натуральных товаров из Алтая. URL: fitoterapevt.ru (дата обращения: 04.11.2018).
32. Казначеева Е. В. Фармакогностическое изучение и стандартизация листа малины (*RUBUS IDEUS L.*) и сухого экстракта : автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук: по ВАК РФ 14.04.02. Москва, 2012. 21 с.
33. Казначеева Е. В. Фармакогностическое изучение и стандартизация листа малины (*RUBUS IDEUS L.*) и сухого экстракта : дис. ... канд. фармацевт. наук : 14.04.02. Москва, 2012. 118 с.
34. Квосев П. А. Полный справочник лекарственных растений. Москва : Изд-во Эскмо, 2006. 271 с.
35. Ковалева Н. Г. Лечение растениями. Очерки по фитотерапии. Москва : Медицина, 1971. 350 с.
36. Комісаренко М. А. Фітохімічне вивчення листя брусниці звичайної та створення на їх основі нових лікарських засобів : дис. ... канд. фармацевт. наук: 15.00.02. Харків, 2017. 275 с.
37. Корсун В. Ф., Корсун Е. В. Энциклопедия фитотерапии. Травы жизни профессора Корсуна. Москва : ЗАО Центрполиграф, 2007. 127 с.
38. Куреннов И. П. Самые необходимые лекарственные растения. Москва : Мартен, 2007. 192 с.
39. Кьосев П. А. Полный справочник лекарственных растений. Москва : ЭКСМО – Пресс, 2001. 992 с.
40. Лавренов В. К., Лавренова Г. В. Целебные растения народной медицины. 2-е изд., сокр. и перераб. Санкт-Петербург : Издательский дом «Нева», 2004. 272 с.
41. Лагерь А. А. Фитотерапия некоторых заболеваний / под ред. Г.В. Крылова. Красноярск : Изд-во Красноярского университета, 1986. 26 с.

42. Левицкий А. П., Ходаков И. В., Райцева Е. С. Экстракция полифенолов из листьев винограда. *Харчова наука і технологія*. 2012. Т. 20, № 3. С. 36–37.
43. Лекарственные растения / Н. И. Гринкевич и др. Москва : Высш. шк., 1991. 276 с.
44. Лекарственные растения : энцикл. / сост. И. Н. Путырский, В. Н. Прохоров. 2-е изд., стер. Минск : Книжный дом, 2005. 656 с.
45. Лечебные свойства пищевых растений / Т. Л. Киселева и др. Москва : ФНКЭЦ ТМДЛ Росздрава, 2007. 538 с.
46. Лікарські рослини : енцикл. довід. / відп. ред. А. М. Гродзінський. Київ : Вид-во «Українська Енциклопедія ім. М. П. Бажана», 1992. 544 с.
47. Мазнев Н. И. Энциклопедия лекарственных растений. 3-е изд., испр. и доп. Москва : Мартин, 2004. 496 с.
48. Малина, огляд сортів і видів. URL: sowikical.ru/kulinarija/5407-malina-ogljad-sortiv-i-vidiv.html (дата звернення: 14.10.2018).
49. Мамедова С. О. Вивчення біологічно активних речовин малини звичайної та суниці лісової : автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук: 15.00.02. Харків, 2010. 20 с.
50. Мамедова С. О. Вивчення біологічно активних речовин малини звичайної та суниці лісової : дис. ... канд. фармацевт. наук: 15.00.02. Харків, 2010. 228 с.
51. Масло косметическое для тела «Питание и упругость» с кетоном малины : Целебные секреты флоры. URL: <http://florasecret.com.ua/maslo-pitanie-i-uprugost-s-ketonom-maliny1.html> (дата обращения: 04.11.2018).
52. Масло косметическое с кетоном малины : © Интернет-магазин «Экошоп» 2014-2019. URL: www.ecoshop.org.ua (дата обращения: 04.11.2018).
53. Мичник О. Ю. Методы получения сухих экстрактов из лекарственного растительного сырья. Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сб. науч. тр. Пятигорск, 2004. Вып. 59. С. 17–22.

54. МОЗ України. Медичним працівникам. Лікування й профілактика ГРЗ: рекомендації лікарям. URL: <http://moz.gov.ua/article/for-medical-staff/likuvannja-j-profilaktika-respiratornih-virusnih-infekcij---rekomendacii-likarjam> (дата звернення: 11.10.2018).

55. Носов А. М. Лекарственные растения. Москва : Изд-во Эксмо, 2005. 350 с.

56. Перспектива створення противугрового засобу на основі водного екстракту плодів малини / І. М. Поліщук та ін. *Сучасні методи корекції вугрової хвороби та інших проблем шкіри у практиці косметолога* : збірник наук.-пр. Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 19 жовт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 149–150.

57. Перспективи створення нового антимікробного засобу зі жмиху плодів малини звичайної / І. М. Поліщук та ін. *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.

58. 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.

59. Про затвердження Правил зберігання та проведення контролю якості лікарських засобів у лікувально-профілактичних закладах : Наказ МОЗ України від 16.12.2003 № 584. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0275-04#Text> (дата звернення: 11.10.2018).

60. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hydrangeaceae – Haloragaceae / под ред. П. Д. Соколова. Москва : Наука, 1987. 326 с.

61. Рыженко В. И. Лекарственные растения : справочник / сост. В. И. Рыженко. Москва : Изд-во Оникс, 2007. 448 с.

62. Рябокони́ А. А. Справочник лекарственных растений. Харьков : Книжный клуб, 2005. 351 с.
63. Соколов С. Я., Замотаев И. П. Справочник по лекарственным растениям. Москва : Медицина, 1984. 464 с.
64. Спосіб ідентифікації поліфенолів в рослинних екстрактах : пат. на корисну модель 80597. Україна. № у 201212473 ; заявл. 31.10.2012 ; опубл. 10.06.2013, Бюл. № 11.
65. Спосіб одержання засобу імуномодулюючої дії з плодів малини звичайної : пат. 145703 України. № у 202005174 ; заявл. 11.08.2020 ; опубл. 28.12.2020. Бюл. № 24. 4 с.
66. Справочник по заготовкам лекарственных растений : справочник / Д. С. Ивашин и др. 6-е изд., испр. и доп. Киев : Урожай, 1989. 327 с.
67. Степанова С. И., Передерий Е. А. Противомикробная активность сухого экстракта листьев малины обыкновенной. *Досягнення сучасної фармації та перспективи її розвитку у новому тисячолітті* : матеріали V Нац. з'їзду фармацевтів України. Харків, 1999. С. 337–338.
68. Сухие экстракты из растений – основа создания современных лекарственных форм / В. И. Глызин и др. Физико-биологические аспекты изучения лекарственных растений : сб. тр. Улан-Удэ, 1998. С. 142–143.
69. Татарский Н. Рижский черный бальзам. История и традиции. Радио «Свобода» 2005. URL: <https://www.svoboda.org/a/105369.html> (дата звернення: 04.11.2018).
70. Тоник гидролат клубника-малина AGOR 100 МЛ. © Интернет-магазин «Экошоп» 2014-2019. URL: <https://www.ecoshop.org.ua/tonik-gidrolat-klubnika-malina-agor/> (дата обращения: 04.11.2018).
71. Фармацевтический рынок Украины. URL: <http://medpharmconnect.com> (дата обращения: 18.07.2019).

72. Фиточай «Алфит Школьный-9» от кашля, с малиной : Православный интернет-магазин Благовест. URL: <https://www.blagovest-moskva.ru/item21426.html> (дата обращения: 04.11.2018).

73. Ходаков И. В. Макаренко О. А. Высокоэффективная жидкостная хроматография в исследовании растительных полифенолов. *Вісник стоматології. Спец. вип.* 2010. 73. № 5. С. 59–60.

74. 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.

75. Ходаков И. В. Способ идентификации полифенолов в растительных экстрактах. *Вісник стоматології. Спец. вип.* 2012. Т. 80, № 7. С. 42.

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

77. Цуркан О. О., Голембіовська О. І. Дослідження якісного складу антоціанів у суцвіттях суховершків звичайних (*Prunella vulgaris* L.). *Современные достижения медицинской и фармацевтической науки* : I Междунар. интернет-конф. молодых ученых, 23–25 окт. 2012 г. Запорожье, 2012. URL: <http://koris.com.ua/other/2602/index.html?page=99> (дата звернення: 22.04.2019).

78. Чинова П. С. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР / под ред. П. С. Чинова. Москва : Медгиз, 1983. 276 с.

79. Экспорт свежей малины из Украины провалился, что негативно сказалось на ценах : Информация о рынках овощей и фруктов на восток от Евросоюза. URL: East-fruit.com. (дата обращения: 18.07.2019).

80. Энциклопедия лекарственных растений. Целительная сила природы для вас / гл. ред. Н. Ярошенко. Москва : Ридерз дайджест, 2004. 350 с.

81. ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/

American Heart Association Task Force on Practice Guidelines / N. J. Stone et al. *Circulation*. 2014. Vol. 129, № 25, Suppl. 2. P. S1–45.

82. Alzheimer's disease facts and figures / Alzheimer's Association. *Alzheimers Dement*. 2014. Vol. 10, № 2. P. e47–92.

83. Analysis of botanicals and dietary supplements for antioxidant capacity: a review / R. L. Prior et al. *J. AOAC Int*. 2000. Vol. 83. P. 950–956.

84. Analysis of ellagitannins and conjugates of ellagic acid and quercetin in raspberry fruits by LC-MSn / W. Mullen et al. *Phytochemistry*. 2003. Vol. 64. P. 617–624.

85. Analysis of phenolic plant metabolites / ed. by P. G. Waterman, S. Mole. 1st ed. Hoboken : Wiley-Blackwell, 1994. 248 p.

86. Anthocyanin enhances adipocytokine secretion and adipocyte-specific gene expression in isolated rat adipocytes / T. Tsuda et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2004. Vol. 316, № 1. P. 149–157.

87. Anthocyanin pigments in strawberry / F. L. da Silva et al. *LWT – Food Sci. Technol. (Campinas)*. 2007. Vol. 40. P. 374–382.

88. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E-depleted rats / C. Ramirez-Tortosa et al. *Free Radic. Biol. Med*. 2001. Vol. 31, № 9. P. 1033–1037.

89. Anthocyanin-rich fractions from red raspberries attenuate inflammation in both RAW264.7 macrophages and a mouse model of colitis / L. Li et al. *Sci. Rep*. 2014. Vol. 4. P. 6234.

90. Anthocyanins are absorbed in glycosylated forms in elderly women: a pharmacokinetic study / G. Cao et al. *Am. J. Clin. Nutr*. 2001. Vol. 73. P. 920–926.

91. Anti-glycative and anti-inflammatory effects of caffeic acid and ellagic acid in kidney of diabetic mice / C. Y. Chao et al. *Mol. Nutr. Food Res*. 2010. Vol. 54. P. 388–395.

92. Anti-inflammatory activity of fruit fractions in vitro, mediated through toll-like receptor 4 and 2 in the context of inflammatory bowel disease / N. A. Nasef et al. *Nutrients*. 2014. Vol. 6. P. 5265–5279.

93. Anti-inflammatory effects of polyphenolic-enriched red raspberry extract in an antigen-induced arthritis rat model / D. Jean-Gilles et al. *J. Agric. Food Chem.* 2012. Vol. 60. P. 5755–5762.
94. Anti-obese action of raspberry ketone / C. Morimoto et al. *Life Sci.* 2005. Vol. 77, № 2. P. 194–204.
95. Antioxidant activity of isolated ellagitannins from red raspberries and cloudberries / M. Kähkönen et al. *J. Agric. Food Chem.* 2012. Vol. 60, № 5. P. 1167–1174.
96. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries / M. Liu et al. *J. Agric. Food Chem.* 2002. Vol. 50. P. 2926–2930.
97. Antioxidant properties and neuroprotective capacity of strawberry tree fruit (*Arbutus unedo*) / G. McDougall et al. *Nutrients.* 2010. Vol. 2, № 2. P. 214–229.
98. Antioxidant properties of raspberry seed extracts on micronucleus distribution in peripheral blood lymphocytes / D. Godevac et al. *Food Chem. Toxicol.* 2009. Vol. 47, № 11. P. 2853–2859.
99. Antioxidants in raspberry: on-line analysis links antioxidant activity to a diversity of individual metabolites / J. Beekwilder et al. *J. Agric. Food Chem.* 2005. Vol. 53. P. 3313–3320.
100. Antiplatelet, anticoagulant, and fibrinolytic activity in vitro of extracts from selected fruits and vegetables / C. Torres-Urrutia et al. *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 2011. Vol. 22. P. 197–205.
101. Arts I. C., Hollman P. C. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005. Vol. 81, Suppl. 1. P. 317S–325S.
102. Assessing potential bioavailability of raspberry anthocyanins using an in vitro digestion system / G. J. McDougall et al. *J. Agric. Food Chem.* 2005. Vol. 53. P. 5896–5904.
103. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association

and the American College of Cardiology / S. M. Grundy et al. *Circulation*. 1999. Vol. 100. P. 1481–1492.

104. Bakkalbasi E., Menten O., Artik N. Food ellagitannins-occurrence, effects of processing and storage. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2009. Vol. 49. P. 283–298.

105. Barches J., Derson L. A., Phillipson J. D. *Herbal Medicines*. 3rd ed. London : Pharmaceutical Press, 2007. 710 p.

106. Barrett D. M., Lloyd B. Advanced preservation methods and nutrient retention in fruits and vegetables. *J. Sci. Food Agric.* 2012. Vol. 92. P. 7–22.

107. Beekwilder J., Hall R. D., de Vos C. H. Identification and dietary relevance of antioxidants from raspberry. *Biofactors*. 2005. Vol. 23. P. 197–205.

108. Berries reduce postprandial insulin responses to wheat and rye breads in healthy women / R. Törrönen et al. *J. Nutr.* 2013. Vol. 143. P. 430–436.

109. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention / S. Zafra-Stone et al. *Mol. Nutr. Food Res.* 2007. Vol. 51. P. 675–683.

110. Bioactive compounds in nutrition and health-research methodologies for establishing biological function: the antioxidant and anti-inflammatory effects of flavonoids on atherosclerosis / P. M. Kris-Etherton et al. *Annu. Rev. Nutr.* 2004. Vol. 24. P. 511–538.

111. Bioavailability of anthocyanins and ellagitannins following consumption of raspberries by healthy humans and subjects with an ileostomy / R. González-Barrio et al. *J. Agric. Food Chem.* 2010. Vol. 58. P. 3933–3939.

112. Brain and brawn: parallels in oxidative strength / P. I. Moreira et al. *Neurology*. 2006. Vol. 66, № 2, Suppl. 1. P. S97–101.

113. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.* 1998. Vol. 56. P. 317–333.

114. *British Herbal Pharmacopoeia* / British Herbal Medicine Association. London, 1996. 212 p.

115. Bruneton J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. 2nd ed. Paris : Lavoisier, 1999. 249 p.
116. Bunney S. The Illustrated Encyclopedia of Herbs, Their Medicinal and Culinary Uses. London : Chancellor Press, 1992. 320 p.
117. Burton-Freeman B. Dietary fiber and energy regulation. *J. Nutr.* 2000. Vol. 130, Suppl. 2S. P. 272S–275S.
118. Cardiovascular diseases (CVDs) fact sheet / WHO. Geneva, 2015. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en> (Date of access: 23.05.2019).
119. Cen J. H., Xia R. X. High-performance liquid chromatographic analysis of bioactive triterpenes in *Perilla frutescens*. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2003. Vol. 32. P. 1175–1179.
120. Ceriello A., Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004. Vol. 24, № 5. P. 816–823.
121. Chao P. C., Hsu C. C., Yin M. C. Anti-inflammatory and anti-coagulatory activities of caffeic acid and ellagic acid in cardiac tissue of diabetic mice. *Nutr. Metab. (Lond)*. 2009. Vol. 6. P. 33.
122. Chemical characterization of a red raspberry fruit extract and evaluation of its pharmacological effects in experimental models of acute inflammation and collagen-induced arthritis / M. E. Figueira et al. *Food Funct.* 2014. Vol. 5. P. 3241–3251.
123. Clifford M. N., Scalbert A. Ellagitannins – nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food Agric.* 2000. Vol. 80. P. 1118–1125.
124. Clinical practice guidelines for healthy eating for the prevention of metabolic and endocrine diseases in adults / J. M. Gonzalez-Campoy et al. *Endocr. Pract.* 2013. Vol. 19. P. 1–82.
125. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption / X. Wu et al. *J. Agric. Food Chem.* 2006. Vol. 54. P. 4069–4075.

126. Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption / L. Gu et al. *J. Nutr.* 2004. Vol. 134. P. 613–617.

127. Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland / J. M. Koponen et al. *J. Agric. Food Chem.* 2007. Vol. 55. P. 1612–1619.

128. Cyanidin 3-glucoside ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity due to downregulation of retinol binding protein 4 expression in diabetic mice / R. Sasaki et al. *Biochem. Pharmacol.* 2007. Vol. 74. P. 1619–1627.

129. Cyanidin 3-glucoside attenuates obesity-associated insulin resistance and hepatic steatosis in high-fat diet-fed and db/db mice via the transcription factor FoxO1 / H. Guo et al. *J. Nutr. Biochem.* 2012. Vol. 23, № 4. P. 349–360.

130. Cyclooxygenase inhibitory and antioxidant cyanidin glycosides in cherries and berries / N. P. Seeram et al. *Phytomedicine.* 2001. Vol. 8, № 5. P. 362–369.

131. Diabetes factsheet / WHO. Geneva, 2015. URL: <http://www.who.int/media-centre/factsheets/fs312/en> (Date of access: 23.05.2019).

132. Diabetes trends in the U.S.: 1990–1998 / A. H. Mokdad et al. *Diabetes Care.* 2000. Vol. 23. P. 1278–1283.

133. Dietary ellagic acid improves oxidant-induced endothelial dysfunction and atherosclerosis: role of Nrf2 activation / Y. Ding et al. *Int. J. Cardiol.* 2014. Vol. 175, № 3. P. 508–514.

134. Dietary supplementation with purified mulberry (*Morus australis* Poir) anthocyanins suppresses body weight gain in high-fat diet fed C57BL/6 mice / T. Wu et al. *Food Chem.* 2013. Vol. 141, № 1. P. 482–487.

135. Different polyphenolic components of soft fruits inhibit alpha-amylase and alpha-glucosidase / G. J. McDougall et al. *J. Agric. Food Chem.* 2005. Vol. 53. P. 2760–2766.

136. Direct evidence of endothelial oxidative stress with aging in humans: relation to impaired endothelium-dependent dilation and upregulation of nuclear factor-kappaB / A. J. Donato et al. *Circ. Res.* 2007. Vol. 100. P. 1659–1666. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000269183.13937.e8> (Date of access: 28.08.2018).

137. DNA stability and lipid peroxidation in vitamin E-deficient rats in vivo and colon cells in vitro-modulation by the dietary anthocyanin, cyanidin-3-glycoside / S. J. Duthie et al. *Eur. J. Nutr.* 2005. Vol. 44. P. 195–203.

138. Do you know some of the health risks of being over weight? / NIH. 2015. URL: http://www.niddk.nih.gov/health-information/health-topics/weight-control/health_risks_being_overweight/Documents/hlthrisks1104.pdf (Date of access: 08.09.2018).

139. Dossett M., Lee J., Finn C. E. Characterization of a novel anthocyanin profile in wild black raspberry mutants: an opportunity for studying the genetic control of pigment and color. *J. Funct. Foods.* 2011. Vol. 3. P. 207–214.

140. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 2002. Vol. 82. P. 47–95.

141. Effect of bioactive substances found in rapeseed, raspberry and strawberry seed oils on blood lipid profile and selected parameters of oxidative status in rats / M. Pieszka et al. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2013. Vol. 36. P. 1055–1062.

142. Effect of ellagic acid on gastric damage induced in ischemic rat stomachs following ammonia or reperfusion / T. Iino et al. *Life Sci.* 2002. Vol. 70, № 10. P. 1139–1150.

143. Effect of freezing and storage on the phenolics, ellagitannins, flavonoids, and antioxidant capacity of red raspberries / W. Mullen et al. *J. Agric. Food Chem.* 2002. Vol. 50. P. 5197–5201.

144. Effects of ellagitannin-rich berries on blood lipids, gut microbiota, and urolithin production in human subjects with symptoms of metabolic syndrome / R. Puupponen-Pimiä et al. *Mol. Nutr. Food Res.* 2013. Vol. 57. P. 2258–2263.

145. Effects of extracts of commonly consumed food supplements and food fractions on the permeability of drugs across Caco-2 cell mono- layers / L. A. Laitinen et al. *Pharm. Res.* 2004. Vol. 21. P. 1904–1916.

146. Effects of extracts of selected medicinal plants upon hepatic oxidative stress / M. S. Gião et al. *J. Med. Food*. 2010. Vol. 13. P. 131–136.

147. Ellagic acid inhibits IL-1 β -induced cell adhesion molecule expression in human umbilical vein endothelial cells / Y. M. Yu et al. *Br. J. Nutr.* 2007. Vol. 97, № 4. P. 692–698.

148. Ellagic acid inhibits PDGF-BB-induced vascular smooth muscle cell proliferation and prevents atheroma formation in streptozotocin-induced diabetic rats / U. P. Rani et al. *J. Nutr. Biochem.* 2013. Vol. 24. P. 1830–1839.

149. Ellagic acid promotes A β 42 fibrillization and inhibits A β 42-induced neurotoxicity / Ying Feng et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009. Vol. 390, № 4. P. 1250–1254.

150. Ellagic acid suppresses oxidised low-density lipoprotein-induced aortic smooth muscle cell proliferation: studies on the activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and proliferating cell nuclear antigen expression / W. C. Chang et al. *Br. J. Nutr.* 2008. Vol. 99, № 4. P. 709–714.

151. Ellagitannins from Rubus berries for the control of gastric inflammation: In Vitro and In Vivo studies / E. Sangiovanni et al. *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8, № 8. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071762> (Date of access: 28.08.2018).

152. Ellagitannins—nature, occurrence and dietary burden / Clifford M. N., Scalbert A. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2000. T. 80. № 7. P. 1118-1125.

153. Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties / W. Mullen et al. *J. Agric. Food Chem.* 2002. Vol. 50. P. 5191–5196.

154. Ellagitannins, ellagic acid and vascular health / Larrosa M. et al. *Molecular aspects of medicine*. 2010. T. 31. № 6. P. 513-539.

155. Endothelial function and dysfunction. Part I: methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group

on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension / J. Deanfield et al. *J. Hypertens.* 2005. Vol. 23, № 1. P. 7–17.

156. Environmental and seasonal influences on red raspberry anthocyanin antioxidant contents and identification of quantitative traits loci (QTL) / A. Kassim et al. *Mol. Nutr. Food Res.* 2009. Vol. 53. P. 625–634.

157. European Food Safety Authority Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. Guidance on the scientific requirements for health claims related to antioxidants, oxidative damage and cardiovascular health. *EFSA J.* 2011. Vol. 9. P. 2474.

158. Farbood Y, Sarkaki A, Dianat M, Khodadadi A, Haddad MK, Blackberry anthocyanins are mainly recovered from urine as methylated and glucuronidated conjugates in humans / C. Felgines et al. *J. Agric. Food Chem.* 2005. Vol. 53, № 20. P. 7721–7727.

159. Feng Y, Yang SG, Du XT, Zhang X, Sun XX, Zhao M, Sun GY, Liu R.T. Strong antioxidant activity of ellagic acid in mammalian cells in vitro revealed by the comet assay / F. Festa et al. *Anticancer Res.* 2001. Vol. 21, № 6A. P. 3903–3908.

160. Flavonols, phenolic acids and antioxidant activity of some red fruits / L. Jakobek et al. *Dtsch. Lebensm Rundsch.* 2007. Vol. 103. P. 369–378.

161. Formation of short-chain fatty acids, excretion of anthocyanins, and microbial diversity in rats fed blackcurrants, blackberries, and raspberries / G. Jakobsdottir et al. *J. Nutr. Metab.* 2013. Vol. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/202534> (Date of access: 28.08.2018).

162. Fortalezas S, Tavares L, Pimpao R, Tyagi M, Pontes V, Alves P.M. No difference in platelet activation or inflammation markers after diets rich or poor in vegetables, berries and apple in healthy subjects / R. Freese et al. *Eur. J. Nutr.* 2004. Vol. 43, № 3. P. 175–182.

163. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease / M. Valko et al. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2007. Vol. 39, № 1. P. 44–84.

164. Golembiovska 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.

165. Golembiovska O., Tsurkan A. Anthocyanins profiling of *Prunella Vulgaris* L. grown in Ukraine. *The Pharma Innov. J.* 2013. Vol. 2, № 6. P. 42–48.

166. González-Barrio R., Edwards C. A., Crozier A. Colonic catabolism of ellagitannins, ellagic acid, and raspberry anthocyanins: in vivo and in vitro studies. *Drug Metab. Dispos.* 2011. Vol. 39. P. 1680–1688.

167. *Gordonibacter urolithinifaciens* sp. nov., a urolithin-producing bacterium isolated from the human gut / M. V. Selma et al. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2014. Vol. 64. P. 2346–2352.

168. Grussu D., Stewart D., McDougall G. J. Berry polyphenols inhibit α -amylase in vitro: identifying active components in rowanberry and raspberry. *J. Agric. Food Chem.* 2011. Vol. 59. P. 2324–2331.

169. Gudej J. Kaempferol and quercetin glycosides from *Rubus idaeus* L. leaves. *Acta Polon. Pharm.* 2003. Vol. 60. P. 313–316.

170. Gudej J., Rychlinska I. Flavonoid compounds from the leaves of *Rubus idaeus* L. *Herba Pol.* 1996. Vol. 42, № 4. P. 257–261.

171. Gudzenko A. Development and Validation of a RP-HPLC Method for The Simultaneous Determination of Luteolin and Apigenin in Herb of *Achillea millefolium* L. *The Pharma Innovation Journal.* 2013. Vol. 2, № 7. P. 9–14.

172. Heart disease facts / CDC. 2015. URL: <http://www.cdc.gov/heartdisease/facts.htm> (Date of access: 10.11.2019).

173. Heinecke J. W. Mass spectrometric quantification of amino acid oxidation products in proteins: insights into pathways that promote LDL oxidation in the human artery wall. *FASEB J.* 1999. Vol. 13. P. 1113–1120.

174. Hepatoprotective effects of *Rubus aleaefolius* Poir. and identification of its active constituents / Z. Hong et al. *Journal of ethnopharmacology*. 2010. Vol. 129, № 2. P. 267–272.

175. Hunter C. Raspberry history, folklore, myth, and magic. *The Practical Herbalist*. 2015. URL: <http://www.thepracticalherbalist.com/herbal-library/magical-herbs/raspberry-myth-and-magic> (Date of access: 02.03.2019).

176. Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red Currants and cranberries / G. Borges et al. *J. Agric. Food Chem.* 2010. Vol. 58, №7. P. 3901–3909.

177. Identification of novel pyroanthocyanins in berry juice / M. J. Rein et al. *Eur. Food Res. Technol.* 2005. Vol. 220. P. 239–244.

178. Identification of the phenolic components in Bulgarian raspberry cultivars by LC-ESI-MSn / I. Dincheva et al. *Int. J. Agric. Sci. Res.* 2013. Vol. 3, № 3. P. 127–137.

179. Identification of urolithin a as a metabolite produced by human colon microflora from ellagic acid and related compounds / B. Cerdá et al. *J. Agric. Food Chem.* 2005. Vol. 53. P. 5571–5576.

180. Increased mitochondrial H₂O₂ production promotes endothelial NF- κ B activation in aged rat arteries / Z. Ungvari et al. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007. Vol. 293. P. H37–47.

181. Influence of postflowering temperature on fruit size and chemical composition of Glen Ample raspberry (*Rubus idaeus* L.) / S. F. Remberg et al. *J. Agric. Food Chem.* 2010. Vol. 58. P. 9120–9128.

182. Insulin secretion by bioactive anthocyanins and anthocyanidins present in fruits / B. Jayaprakasam et al. *J. Agric. Food Chem.* 2005. Vol. 53. P. 28–31.

183. Kahkonen M., Hopia A., Heinonen M. Berry phenolics and their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 2001. Vol. 49. P. 4076–4082.

184. Kaur C., Kapoor H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millenium health. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2001. Vol. 36. P. 703–725.

185. Kellerer M., Haring H. U. Pathogenesis of insulin resistance: modulation of the insulin signal at receptor level. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1995. Vol. 28. P. S173–177.

186. 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.

187. Leng G., Chin J. Determination of oleanolic acid and ursolic acid in different parts of *Mesona Chinensis* Benth by RP–HPLC. *Spectrosc. Lab.* 2011. № 28. P. 2111–2114.

188. Lewis H. *Medical Botany: Plants Affecting Human Health*. Hoboken : John Wiley & Sons, 2003. 610 p.

189. Limited stability in cell culture medium and hydrogen peroxide formation affect the growth inhibitory properties of delphinidin and its degradation product gallic acid / M. Kern et al. *Mol. Nutr. Food Res.* 2007. Vol. 51. P. 1163–1172.

190. Lin M. C., Yin M. C. Preventive effects of ellagic acid against doxorubicin-induced cardio-toxicity in mice. *Cardiovasc. Toxicol.* 2013. Vol. 13. P. 185–193.

191. Lipin'ska L., Klewicka E., Sojka M. The structure, occurrence and biological activity of ellagitannins: a general review. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 2014. Vol. 13. P. 289–299.

192. Longitudinal effects of metabolic syndrome on Alzheimer and vascular related brain pathology / F. Lin et al. *Dement. Geriatr. Cogn. Dis. Extra.* 2014. Vol. 4, № 2. P. 184–194.

193. Luchsinger J. A., Gustafson D. R. Adiposity, type 2 diabetes, and Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 2009. Vol. 16, № 4. P. 693–704.

194. Maata K., Kamal-eldin A., Torren A. High-performance liquid chromatography (PIPLC) analysis of phenolic compounds in berries with diode array and electrospray ionization mass spectrometric (MS) detection: ribes species. *J. Agric. Food. Chem.* 2003. Vol. 51, № 23. P. 6736–6744.

195. Määttä-Riihinen K. R., Kamal-Eldin A., Torronen A. R. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (family Rosaceae). *J. Agric. Food Chem.* 2004. Vol. 52. P. 6178–6187.

196. Mashhadizadeh S. Ellagic acid prevents cognitive and hippocampal long-term potentiation deficits and brain inflammation in rat with traumatic brain injury. *Life Sci.* 2015. Vol. 124. P. 120–127.

197. Metabolic fate of polyphenols in the human superorganism / J. van Duynhoven et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. Vol. 108, Suppl. 1. P. 4531–4538.

198. Metabolic syndrome and cognitive impairment: current epidemiology and possible underlying mechanisms / F. Panza et al. *J. Alzheimers. Dis.* 2010. Vol. 21, № 3. P. 691–724.

199. Methods for evaluating endothelial function: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Peripheral Circulation / J. Lekakis et al. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.* 2011. Vol. 18, № 6. P. 775–789.

200. Meyer A. S., Heinonen M., Frankel E. N. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. *Food Chem.* 1998. Vol. 61. P. 71–75.

201. Michal T., Gudej J. Determination of flavonoids, tannins and ellagic acid in leaves from *Rubus L.* species. *Arch. Pharm. Res.* 2004. Vol. 27, № 11. P. 1114–1119.

202. Microarray profiling of gene expression in human adipocytes in response to anthocyanins / T. Tsuda et al. *Biochem. Pharmacol.* 2006. Vol. 71, № 8. P. 1184–1197.

203. Modeling of ATP-sensitive inward rectifier potassium channel 11 and inhibition mechanism of the natural ligand, ellagic acid, using molecular docking / A. J. Mathew et al. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2010. Vol. 680. P. 489–495.

204. Modifiable predictors of dementia in mild cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis / C. Cooper et al. *Am. J. Psychiatry.* 2015. Vol. 172. P. 323–334.

205. Modulation of Nrf2-dependent gene transcription by bilberry anthocyanins in vivo / C. Kropat et al. *Mol. Nutr. Food Res.* 2013. Vol. 57. P. 545–550.

206. Morrow J. D. Quantification of isoprostanes as indices of oxidant stress and the risk of atherosclerosis in humans. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005. Vol. 25. P. 279–286.

207. Mullen W., Lean M. E., Crozier A. Rapid characterization of anthocyanins in red raspberry fruit by high-performance liquid chromatography coupled to single quadrupole mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2002. Vol. 966. P. 63–70.

208. NAD (P)H oxidase inhibition improves endothelial function in rat and human blood vessels / C. A. Hamilton et al. *Hypertension.* 2002. Vol. 40. P. 755–762.

209. National Agriculture Statistics Service Quick Stats 2.0 / USDA. 2014. URL: http://www.nass.usda.gov/Quick_Stats (Date of access: 04.05.2018).

210. National diabetes statistics report / CDC. 2014. URL: <http://www.cdc.gov/diabetes/pubs/statsreport14/national-diabetes-report-web.pdf> (Date of access: 10.11.2019).

211. National nutrient database for standard reference service release 27 and the flavonoid content of selected foods release 3.1 / USDA. Washington : USDA Agricultural Research Services, 2015. URL: <http://www.ars.usda.gov/News/docs.htm?docid=6231> (Date of access: 04.05.2018).

212. Neumann M., Kretzschmar H. A. Molecular neuropathology of non- Alzheimer dementia. *Pathologie.* 2008. Vol. 29. P. 434–441.

213. Neuroprotective effect of anthocyanin on experimental traumatic spinal cord injury / K. T. Kim et al. *J. Korean Neurosurg. Soc.* 2011. Vol. 49. P. 205–211.

214. Obesity and overweight fact sheet / WHO. Geneva, 2015. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en> (Date of access: 23.05.2019).

215. Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins in red raspberry and identification of anthocyanin of extracts using high-performance liquid

chromatography-mass spectrometry / Y. Sun et al. *Eur. Food Res. Technol.* 2007. Vol. 225. P. 511–523.

216. Oxidation-specific biomarkers, prospective 15-year cardiovascular and stroke outcomes, and net reclassification of cardiovascular events / S. Tsimikas et al. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2012. Vol. 60, № 21. P. 2218–2229.

217. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes / J. L. Evans et al. *Endocr. Rev.* 2002. Vol. 23. P. 599–622.

218. Oxidative stress status in an institutionalised elderly group after the intake of a phenolic-rich dessert / M. Carmen Ramirez-Tortosa et al. *Br. J. Nutr.* 2004. Vol. 91. P. 943–950.

219. Pahl H. L. Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. *Oncogene.* 1999. Vol. 18. P. 6853–6866.

220. Panchal S. K., Ward L., Brown L. Ellagic acid attenuates high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *Eur. J. Nutr.* 2013. Vol. 52. P. 559–568.

221. Park K. S. Raspberry ketone increases both lipolysis and fatty acid oxidation in 3T3–L1 adipocytes. *Planta Med.* 2010. Vol. 76. P. 1654–1658.

222. Park K. S. Raspberry ketone, a naturally occurring phenolic compound, inhibits adipogenic and lipogenic gene expression in 3T3–L1 adipocytes. *Pharm. Biol.* 2015. Vol. 53. P. 870–875.

223. Patel A. V., Rojas-Vera J., Dacke C. G. Therapeutic constituents and actions of *Rubus* species. *Curr. Med. Chem.* 2004. Vol. 11. P. 1501–1512.

224. Pentacyclic Triterpene Distribution in Various Plants – Rich Sources for a New Group of Multi-Potent Plant Extracts / S. Jäger et al. *Molecules.* 2009. Vol. 14, № 6. P. 2016–2031.

225. Pessin J. E., Saltiel A. R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 2000. Vol. 106. P. 165–169.

226. 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 farmaciï*. 2018. № 4 (95). P. 24–27.

227. Polischuk I. M., Koshovyi O. M., Komisarenko M. A., Upyr 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.

228. 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 farmaciï*. 2018. № 3 (95). P. 30–33.

229. Polyphenols: food sources and bioavailability / C. Manach et al. *Am. J. Clinical Nutrition*. 2004. Vol. 79, № 5. P. 727–747.

230. Preclinical evaluation of rapeseed, raspberry, and pine bark phenolics for health related effects / S. Vuorela et al. *J. Agric. Food Chem*. 2005. Vol. 53. P. 5922–5931.

231. Profiling and accurate quantification of *Rubus* ellagitannins and ellagic acid conjugates using direct UPLC-Q-TOF HDMS and HPLC-DAD analysis / M. Gasperotti et al. *J. Agric. Food Chem*. 2010. Vol. 58. P. 4602–4616.

232. Profiling of phenols in human fecal water after raspberry supplementation / C. I. Gill et al. *J. Agric. Food Chem*. 2010. Vol. 58. P. 10389–10395.

233. Prolonged oxidative stress impairs insulin-induced GLUT4 translocation in 3T3–L1 adipocytes / A. Rudich et al. *Diabetes*. 1998. Vol. 47. P. 1562–1569.

234. Protective effect of ellagic acid, a natural polyphenolic compound, in a murine model of Crohn's disease / M. A. Rosillo et al. *Biochem. Pharmacol*. 2011. Vol. 82, № 7. P. 737–745.

235. Protocatechuic acid is the major human metabolite of cyanidin-glucosides / P. Vitaglione et al. *J. Nutr*. 2007. Vol. 137. P. 2043–2048.

236. Purified blueberry anthocyanins and blueberry juice alter development of obesity in mice fed an obesogenic high-fat diet / R. L. Prior et al. *J. Agric. Food Chem.* 2010. Vol. 58. P. 3970–3976.

237. Quality and chemical composition of ten red raspberry (*Rubus idaeus* L.) genotypes during three harvest seasons / S. P. Mazur et al. *Food Chem.* 2014. Vol. 160. P. 233–240. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.174> (Date of access: 28.11.2018).

238. Querfurth H. W., LaFerla F. M. Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* 2010. Vol. 362, № 4. P. 329–344.

239. Raspberry juice consumption, oxidative stress and reduction of atherosclerosis risk factors in hypercholesterolemic golden Syrian hamsters / J. H. Suh et al. *Food Funct.* 2011. Vol. 2. P. 400–405.

240. Raspberry seed extracts effect on the ferroxidase activity of ceruloplasmin isolated from plasma / B. Gryszczynska et al. *Food Chem.* 2009. Vol. 112, № 3. P. 695–701.

241. Rayment W. J. Raspberry history. *InDepthInfo*. 2014. URL: <http://www.indepthinfo.com/raspberries/history.htm> (Date of access: 15.04.2019).

242. Reduction of oxidative stress and apoptosis in hyperlipidemic rabbits by ellagic acid / Y. M. Yu et al. *J. Nutr. Biochem.* 2005. Vol. 16, № 11. P. 675–681.

243. Reriani M. K., Lerman L. O., Lerman A. Endothelial function as a functional expression of cardiovascular risk factors. *Biomark. Med.* 2010. Vol. 4. P. 351–360.

244. Role of human gut microbiota metabolism in the anti-inflammatory effect of traditionally used ellagitanninrich plant material / J. P. Piwowarski et al. *J. Ethnopharmacol.* 2014. Vol. 155. P.801–809.

245. Savenkova M. L., Mueller D. M., Heinecke J. W. Tyrosyl radical generated by myeloperoxidase is a physiological catalyst for the initiation of lipid peroxidation in low density lipoprotein. *J. Biol. Chem.* 1994. Vol. 269, № 20. P. 394–400.

246. Scientific report of the 2015 Dietary Guidelines Advisory Committee / USDA. Washington : USDA, 2015. URL: <http://www.health.gov/dietaryguidelines/2015-scientific-report/PDFs/Scientific-Report-of-the-2015-Dietary-Guidelines-Advisory-Committee.pdf> (Date of access: 18.01.2019).

247. Selkoe D. J. Alzheimer's disease results from the cerebral accumulation and cytotoxicity of amyloid beta-protein. *J. Alzheimers Dis.* 2001. Vol. 3. P. 75–80.

248. Shukitt-Hale B. The effects of aging and oxidative stress on psychomotor and cognitive behavior. *Age (Omaha)*. 1999. Vol. 22. P. 9–17.

249. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am. J. Med.* 1991. Vol. 91, № 3C. P. 31S–38S.

250. Sies H., Cadenas E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 1985. Vol. 311. P. 617–631.

251. Singh U., Jialal I. Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiology*. 2006. Vol. 13. P. 129–142.

252. Spielman L. J., Little J. P., Klegeris A. Inflammation and insulin/IGF-1 resistance as the possible link between obesity and neurodegeneration. *J. Neuroimmunol.* 2014. Vol. 273, № 1-2. P. 8–21.

253. Steinegger E., Hansel R. *Pharmacognosie*. 5th ed. Berlin : Springer Verlag, 1992. 440 p.

254. Stocker R., Keaney J. F. Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol. Rev.* 2004. Vol. 84, № 4. P. 1381–1478.

255. Study of Rubus Idaeus Juice Ellagitannins and Its Antimicrobial Activity / I. Polischuk et al. *International Journal of Pharmacy and Chemistry*. 2019. Vol. 5, № 6. P. 68–71.

256. Subchronic exposure to ellagic acid impairs cytotoxic T-cell function and suppresses humoral immunity in mice / C. T. Allen et al. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2003. Vol. 25. P. 409–422.

257. The addition of raspberries and blueberries to a starch-based food does not alter the glycaemic response / M. E. Clegg et al. *Br. J. Nutr.* 2011. Vol. 106. P. 335–338.

258. The antihypertensive effect of ethyl acetate extract from red raspberry fruit in hypertensive rats / H. Jia et al. *Pharmacogn. Mag.* 2011. Vol. 7. P. 19–24.

259. The bioavailability of raspberry anthocyanins and ellagitannins in rats / G. Borges et al. *Mol. Nutr. Food Res.* 2007. Vol. 51. P. 714–725.

260. The effects of an antioxidant-supplemented beverage on exercise-induced oxidative stress: results from a placebo-controlled double-blind study in cyclists / J. Morillas-Ruiz et al. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2005. Vol. 95. P. 543–549.

261. The effects of dietary antioxidants on psychomotor performance in aged mice / B. Shukitt-Hale et al. *Exp. Gerontol.* 1999. Vol. 34, № 6. P. 797–808.

262. The effects of dietary phenolic compounds on cytokine and antioxidant production by A549 cells / B. Gaudiard et al. *J. Med. Food.* 2008. Vol. 11. P. 382–384.

263. The effects of pH and rat intestinal contents on the liberation of ellagic acid from purified and crude ellagitannins / E. M. Daniel et al. *J. Nat. Prod.* 1991. Vol. 54. P. 946–952.

264. The metabolism of gallic acid and hexahydroxydiphenic acid in plants: biogenetic and molecular taxonomic considerations / E. A. Haddock et al. *Phytochemistry.* 1982. Vol. 21. P. 1049–1062.

265. The Role of Nitric Oxide on Endothelial Function / D. Tousoulis et al. *Current Vascular Pharmacology.* 2012. Vol. 10, № 1. P. 4–18.

266. The role of nitric oxide on endothelial function. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2012. Vol. 10, № 1. P. 4–18.

267. Tormentonic acid derivatives: synthesis and apoptotic activity / R. Csuk et al. *European journal of medicinal chemistry.* 2012. Vol. 56. P. 237–245.

268. Torre L. C., Barritt B. H. Quantitative evaluation of Rubus fruit anthocyanin pigments. *J. Food Sci.* 1977. Vol. 42. P. 488–490.

269. Tsuda T. Regulation of adipocyte function by anthocyanins; possibility of preventing the metabolic syndrome. *J. Agric. Food Chem.* 2008. Vol. 56. P. 642–646.

270. Vainio H., Bianchini F. Definitions and classifications for fruit and vegetables. *IARC handbooks of cancer prevention: fruit and vegetables* / ed. by H. Vainio, F. Bianchini. Lyon : IARC Press, 2003. Vol. 8. P. 1–19.

271. van Wyk B.-E., Wink M. Food plants of the World. Gautong : Briza Publications, 2005. 480 p.

272. van Wyk B.-E., Wink M. Medicinal plants of the World. Gautong : Briza Publications, 2004. 480 p.

273. Vascular superoxide and hydrogen peroxide production and oxidative stress resistance in two closely related rodent species with disparate longevity / A. Csiszar et al. *Aging Cell.* 2007. Vol. 6, № 6. P. 783–797.

274. Venkatesh Rao A., Snyder Dawn M. Raspberries and human health: a review. *J. Agric. Food Chem.* 2010. Vol. 58, № 7. P. 3871–3883.

275. Venskutonis P. R., Dvaranauskaite A., Labocas J. Radical scavenging activity and compositions of raspberry (*Rubus idaeus* L.) leaves from different locations in Lithuania. *Fitoterapia.* 2007. Vol. 78, № 2. P. 162–165.

276. Voluntary wheel running restores endothelial function in conduit arteries of old mice: direct evidence for reduced oxidative stress, increased superoxide dismutase activity and down-regulation of NADPH oxidase / J. R. Durrant et al. *J. Physiol.* 2009. Vol. 587. P. 3271–3285.

277. Wang J., Mazza G. Effects of anthocyanins and other phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor alpha in LPS/IFN-gamma-activated RAW 264.7 macrophages. *J. Agric. Food Chem.* 2002. Vol. 50, № 15. P. 4183.

278. Wang Shiow Y., Lin Hsin-Shan. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and development stage. *J. of Agric. Food Chem.* 2000. Vol. 48, № 2. P. 140–146.

279. Washington Red Raspberry Commission. History. Lynden : Washington Red Raspberry Commission, 2013. URL: <http://www.red-raspberry.org/history.asp> (Date of access: 28.04.2019).

280. Washington Red Raspberry Commission. Production statistics. Lynden : Washington Red Raspberry Commission, 2013. URL: <http://www.red-raspberry.org/stats/2014ProdStats.pdf> (Date of access: 07.06.2019).

281. What is metabolic syndrome? / NIH. 2015. URL: <http://www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/ms> (Date of access: 07.06.2019).

282. Whole berries versus berry anthocyanins: interactions with dietary fat levels in the C57BL/6J mouse model of obesity / R. L. Prior et al. *J. Agric. Food Chem.* 2008. Vol. 56. P. 647–653.

283. Wood R. J. Bioavailability: definition, general aspects and fortificants. *Encyclopedia of human nutrition* / ed. by B. Caballero, L. Allen, A. Prentice. 2nd ed. Oxford : Elsevier, 2005. P. 195–201.

284. Wu X., Cao G., Prior R. L. Absorption and metabolism of anthocyanins in elderly women after consumption of elderberry or blueberry. *J. Nutr.* 2002. Vol. 132. P. 1865–1871.

285. Zhang Z. J. Systematic review on the association between F2-isoprostanes and cardiovascular disease. *Ann. Clin. Biochem.* 2013. Vol. 50. P. 108–114.

ДОДАТКИ

Додаток А

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 . *Vіsник farmacії*. 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. *Vіsник farmacії*. 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 / И. Н. Полищук, Н. А. Комисаренко, А. Н. Комиссаренко, Т. В. Упырь, Т. В. Ильина *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 у патентному пошуку, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту).
6. Перспективи створення нового антимікробного засобу зі жмиху плодів малини звичайної / І. М. Поліщук, М. А. Комісаренко, А. М. Ковальова, М. Ю. Голік *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів*

створення лікарських препаратів : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 27-28 верес. 2018 р., м. Тернопіль. Тернопіль : ТДМУ, 2018. С. 34–35.

7. Перспектива створення противугрового засобу на основі водного екстракту плодів малини / І. М. Поліщук, М. А. Комісаренко, Т. В. Ільїна, А. М. Ковальова *Сучасні методи корекції вугрової хвороби та інших проблем шкіри у практиці косметолога* : збірник 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» / І. М. Поліщук, Т. В. Ільїна, М. А. Комісаренко, М. Ю. Голік. *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., Upyr 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 / И. Н. Полищук, А. Н. Комиссаренко, Т. В. Ильина,

Н. А. Комиссаренко. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакоterapiї 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.

Продовж. дод. А

Апробація результатів дисертації

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

1. VII науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р., форма участі – публікація тез);
2. Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні методи корекції вугрової хвороби та інших проблем шкіри у практиці косметолога» (Харків, 19 жовтня 2018 р., форма участі – публікація тез);
3. The 9th International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy (Каунас, 9 листопада 2018 р., форма участі – публікація тез);
4. III Міжнародна науково-практична конференція «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 14-15 березня 2019 р., форма участі – публікація тез та усна доповідь);
5. IV Міжнародна науково-практична конференція «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 12-13 березня 2020 р., форма участі – публікація тез та усна доповідь).

Додаток Б

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ Міністерства охорони
здоров'я України

№ _____

Реєстраційне посвідчення

№ _____

Виробник ТОВ «УКРДЕЗ»

країна: УКРАЇНА

**МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

Sik maliny zvächainoi**Сік плодів малини звичайної,****Розчин оральний,
по 100 мл у контейнері, по 1 контейнеру в пачці**

Продовж. дод. Б

МАРКУВАННЯ

На етикетці українською та російською мовами вказують: назву заявника та виробника, їх адреси, назву препарату українською, російською та англійською мовами, масу препарату в кілограмах, умови зберігання, реєстраційний номер, номер серії, термін придатності.

УПАКОВКА

По 100 мл у контейнері із скла або пластмаси, з гвинтовою горловиною з пластмасовими кришками, що нагвинчуються і прокладками з картону прокладочного. На контейнери наклеюють етикетку, що самоклеїться.

Кожен контейнер разом з ложкою дозатором та інструкцією для медичного застосування поміщають у пачку з картону або з картону макулатурного типу хром-ерзац.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

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

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Копія вірна

Директор ТОВ «УКРДЕЗ»

професор кафедри хімії
природних сполук і нутриціології
Національного фармацевтичного університету



Іванова О.В.

Комісаренко А.М.

Продовж. дод. Б

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ Міністерства охорони
здоров'я України

№ _____

Реєстраційне посвідчення

№ _____

Виробник ТОВ «УКРДЕЗ»
країна: УКРАЇНА

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Malina

Малина,

спрей,

по 15 мл у контейнері, по 1 контейнеру в пачці

Продовж. дод. Б

МАРКУВАННЯ

На етикетці українською та російською мовами вказують: назву заявника та виробника, їх адреси, назву препарату українською, російською та англійською мовами, масу препарату в кілограмах, умови зберігання, реєстраційний номер, номер серії, термін придатності.

УПАКОВКА

По 15 мл у контейнері із скла або пластмаси, з насосом, постаченого клапанами. На контейнери наклеюють етикетку, що самоклеїться.

Кожен контейнер разом з розпилювачем та інструкцією для медичного застосування поміщають у пачку з картону або з картону макулатурного типу хром-ерзац.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

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

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Копія вірна

Директор ТОВ «УКРДЕЗ»

професор кафедри хімії
природних сполук і нутриціології
Національного фармацевтичного університету



Іванова О.В.

Комісаренко А.М.

Продовж. дод. Б

ЗАТВЕРДЖЕНО
Наказ Міністерства охорони
здоров'я України
№ _____
Ресстраційне посвідчення
№ _____

Виробник ТОВ «УКРДЕЗ»
країна: УКРАЇНА

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Extract of malini liquid

Екстракт малини рідкий,

екстракт густий (субстанція)

у банках із скломаси для виробництва нестерильних лікарських форм

Продовж. дод. Б

МАРКУВАННЯ

На етикетці українською та російською мовами вказують: назву заявника та виробника, їх адреси, назву препарату українською, російською та англійською мовами, масу препарату в кілограмах, умови зберігання, реєстраційний номер, номер серії, термін придатності.

УПАКОВКА

По 1 кг у банки зі скломаси з гвинтовою горловиною з пластмасовими кришками, що нагвинчуються і прокладками з картону прокладочного. Горловину банки з кришкою обертають подпергаментом, обв'язують ниткою поліпропіленовою фибрильованою або шпагатом з луб'яних волокон, армованим хімічною ниткою, на кінці якої наклеюють етикетку з паперу, що самоклеїться.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

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

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Копія вірна

Директор ТОВ «УКРДЕЗ»

професор кафедри хімії
природних сполук і нутриціології
Національного фармацевтичного університету



Іванова О.В.

Комісаренко А.М.

Продовж. дод. Б

„ЗАТВЕРДЖУЮ”
Директор ТОВ «УКРДЕЗ»

Іванова О.В.
«24» січня 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результати наукових досліджень аспіранта кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету **Поліщука Івана Миколайовича** були використані при опрацюванні технології виробництва розчину орального «Сік плодів малини звичайної» на промислових потужностях ТОВ «УКРДЕЗ» згідно проекту технологічної документації. Запропонована технологія повністю відтворюється у промислових умовах.

Було отримано три серії, по 3,2 3,1 та 3,3 кг, які відповідали показникам якості розроблених проектів методик контролю якості. Одержані серії передані для аналізу на стабільність, визначення терміну зберігання.

Запропонована технологія, отримана в результаті науково-технічної співпраці ТОВ «УКРДЕЗ» та кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету.

Директор ТОВ «УКРДЕЗ»



Іванова О.В.

професор кафедри хімії
природних сполук і нутриціології
Національного фармацевтичного університету



Комісаренко А.М.,

Продовж. дод. Б

„ЗАТВЕРДЖУЮ”
 Директор ТОВ «УКРДЕЗ»

 Іванова О.В.
 «24» січня 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результати наукових досліджень аспіранта кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету **Поліщука Івана Миколайовича** були використані при опрацюванні технології виробництва спрею на основі рідкого екстракту зі жмиху плодів малини звичайної на промислових потужностях ТОВ «УКРДЕЗ» згідно проекту технологічної документації. Запропонована технологія повністю відтворюється у промислових умовах.

Було отримано три серії, по 112, 110 та 105 шт, які відповідали показникам якості розроблених проектів методик контролю якості. Одержані спреї передані для аналізу на стабільність та визначення терміну зберігання.

Запропонована технологія, отримана в результаті науково-технічної співпраці ТОВ «УКРДЕЗ» та кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету.

Директор ТОВ «УКРДЕЗ»



Іванова О.В.

професор кафедри хімії
 природних сполук і нутриціології
 Національного фармацевтичного університету



Комісаренко А.М.,

Продовж. дод. Б

„ЗАТВЕРДЖУЮ“
 Директор ТОВ «УКРДЕЗ»

 Іванова О.В.
 «24» січня 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результати наукових досліджень аспіранта кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету **Поліщука Івана Миколайовича** були використані при опрацюванні технології виробництва рідких екстрактів зі жмиху плодів малини звичайної на промислових потужностях ТОВ «УКРДЕЗ» згідно проекту технологічної документації. Запропонована технологія повністю відтворюється у промислових умовах.

Було отримано три серії екстрактів, по 2,32, 2,07 та 2,05 кг, які відповідали показникам якості розроблених проектів методик контролю якості. Одержані екстракти передані для аналізу на стабільність, визначення терміну зберігання та розробки лікарських форм.

Запропонована технологія, отримана в результаті науково-технічної співпраці ТОВ «УКРДЕЗ» та кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету.

Директор ТОВ «УКРДЕЗ»



Іванова О.В.

професор кафедри хімії
 природних сполук і нутриціології
 Національного фармацевтичного університету



Комісаренко А.М.,

Продовж. дод. Б

„ЗАТВЕРДЖУЮ”
 Директор ТОВ «УКРДЕЗ»

 Іванова О.В.
 «24» січня 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Розроблений проект методик контролю якості на розчин оральний «Сік плодів малини звичайної», який був апробований в лабораторних умовах ТОВ «УКРДЕЗ» та використаний при аналізі якості розчинів, які отримані на промисловому обладнанні. При розробці документації були використані матеріали науково-дослідної роботи аспіранта Поліщук І.М.

Запропоновані методики, отримані в результаті науково-технічної співпраці ТОВ «УКРДЕЗ» та кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету.

Отримані серії продукту відповідали показникам якості розроблених проектів МКЯ та були передані для дослідження строків придатності.

Директор ТОВ «УКРДЕЗ»



Іванова О.В.

професор кафедри хімії
 природних сполук і нутриціології
 Національного фармацевтичного університету



Комісаренко А.М.

Продовж. дод. Б

„ЗАТВЕРДЖУЮ“
 Директор ТОВ «УКРДЕЗ»

 Іванова О.В.
 «24» січня 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Розроблений проект методик контролю якості на рідкий екстракт зі жмиху плодів малини звичайної, який був апробований в лабораторних умовах ТОВ «УКРДЕЗ» та використаний при аналізі якості екстрактів, які отримані на промисловому обладнанні. При розробці документації були використані матеріали науково-дослідної роботи аспіранта Поліщук І.М.

Запропоновані методики, отримані в результаті науково-технічної співпраці ТОВ «УКРДЕЗ» та кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету.

Отримані екстракти відповідали показникам якості розроблених проектів МКЯ та були передані для дослідження строків придатності.

Директор ТОВ «УКРДЕЗ»



Іванова О.В.

професор кафедри хімії
 природних сполук і нутриціології
 Національного фармацевтичного університету



Комісаренко А.М.

Продовж. дод. Б

„ЗАТВЕРДЖУЮ”
 Директор ТОВ «УКРДЕЗ»

 Іванова О.В.
 «24» січня 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Розроблений проект методик контролю якості на спреї на основі рідкого екстракту зі жмиху плодів малини звичайної, який був апробований в лабораторних умовах ТОВ «УКРДЕЗ» та використаний при аналізі якості спрею, який отримані на промисловому обладнанні. При розробці документації були використані матеріали науково-дослідної роботи аспіранта Поліщук І.М.

Запропоновані методики, отримані в результаті науково-технічної співпраці ТОВ «УКРДЕЗ» та кафедри хімії природних сполук і нутриціології Національного фармацевтичного університету.

Отримані серії спрею відповідали показникам якості розроблених проектів МКЯ та були передані для дослідження строків придатності.

Директор ТОВ «УКРДЕЗ»

професор кафедри хімії
 природних сполук і нутриціології
 Національного фармацевтичного університету



Іванова О.В.

Комісаренко А.М.

Продовж. дод. Б

ТОВ «УКРДЕЗ», м. Київ

Погоджено:

Наказ

от « _____ » _____ 2019г

№ _____

Затверджую:

Директор ТОВ «УКРДЕЗ»

Іванова О.В.

«24» січня 2019 р.



**ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ПРОМИСЛОВИЙ
РЕГЛАМЕНТ**
на виробництво рідкого екстракту Малина
(субстанція) для виробництва нестерильних лікарських
форм по 1 кг в скляних банках

Срок дії до « _____ » 20__ г

Погоджено:

Директор ТОВ «УКРДЕЗ»

Іванова О.В.

«24» січня 2019 р.



Регламент є власністю ТОВ «УКРДЕЗ» и не може бути повністю або частково відтворений, тиражований, розповсюджений без дозволу ТОВ «УКРДЕЗ»

Продовж. дод. Б

ТОВ «УКРДЕЗ», м. Київ

Погоджено:

Наказ

от «_____» _____ 2019г

№ _____

Затверджую:

Директор ТОВ «УКРДЕЗ»
Іванова О.В.

«24» січня 2019 р.



**ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ПРОМИСЛОВИЙ
РЕГЛАМЕНТ**
на виробництво розчину орального Сік плодів малини
звичайної для виробництва нестерильних лікарських
форм по 100 мл в скляних банках

Срок дії до «_____» 20__г

Погоджено:

Директор ТОВ «УКРДЕЗ»
Іванова О.В.

«24» січня 2019 р.



Регламент є власністю ТОВ «УКРДЕЗ»
и не може бути повністю або частково
відтворений, тиражований,
розповсюджений без дозволу ТОВ
«УКРДЕЗ»

Додаток В



Додаток Г



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Результати дослідження біологічно активних речовин екстракту жмиху плодів малини звичайної.

2. Установа, автор: Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології - асп. Поліщук І.М., д. фарм. н. Комісаренко А.М.

3. Джерела інформації:

1. Polischuk I. The study of saponins of the raspberry cake alcoholic extract by HPLC / I. M. Polischuk, M. A. Komisarenko, M. Yu. Golik, T. V. Upyr // Visnik farmacii. – 2018. – N 4 (95). – P. 24-27.

2. The study of the antibacterial and antifungal activity of “Malibact” extract / Kolisnyk O.V., Polischuk I. M., Plyina T. V., Komissarenko A. M.*, Kolisnyk Iu. S. // The 9th International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy (9 November), 2018 Kaunas, Lithuania). – Kaunas: LSMU, 2018. – P.98

3. 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 вугрової хвороби та інших проблем шкіри у практиці косметолога: мат. міжнародної науково-практичної конференції, м.Харків, 19 жовтня 2018 р. Харків. 2019. С. 149-150.

4. Polischuk I. The study of phenolic compounds and the antimicrobial action of the alcoholic extract from the cake of the red raspberry fruit / I. Polischuk, O. Koshovyi, T. Osolodchenko, M. Komissarenko // Visnik farmacii. – 2018. – N 3(95). – P. 30-33.

5. Изучение органических кислот экстракта жмыха малины обыкновенной методом ГХ-МС / Полищук И.Н., Комиссаренко А.Н., Ильина Т.В., Комиссаренко Н.А. // Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції "Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів" 12-13 березня 2020 р., м. Харків. - (2020). Том 1 - С. 415-419.

Продовж. дод. Г

6. Polischuk, Ivan, et al. Study of Rubus Idaeus Juice Ellagitannins and Its Antimicrobial Activity. International Journal of Pharmacy and Chemistry. 2019. №5.6. P.68-71.

7. Полищук И. Изучение фенольных соединений экстракта жмыха малины обыкновенной методом ВЭЖХ / Полищук И. Н., Комисаренко Н. А., Комисаренко А. Н., Упыр Т.В., Ильина Т. В. Наука и инновация. 2020. №1. С. 67-71.

4. Де впроваджено: кафедра фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.

5. Форма впровадження: навчальний процес (лекційний курс), наукова робота.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу плодів малини та отримання нових біологічно активних субстанцій на їх основі.

7. Термін впровадження: 2020-2021 навчальний рік.

Відповідальний за впровадження — доц.Дармограй Р.С.

Завідувач кафедри фармакогнозії і
ботаніки Львівського національного
медичного університету
ім. Данила Галицького



доц.Шаповалова Н.В.

Продовж. дод. Г

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. Найменування пропозиції для впровадження: Результати дослідження складу фенольних сполук екстракту жмиху плодів малини звичайної.

2. Установа, автор: Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутріціології – аспірант Поліщук Іван Миколайович.

3. Джерела інформації:

1. Polischuk, I. The study of phenolic compounds and the antimicrobial action of the alcoholic extract from the cake of the red raspberry fruit / I. Polischuk, O. Koshovyi, T. Osolodchenko, M. Komissarenko // *Visnik farmacii*. – 2018. – N 3(95). - P. 30-33.

2. The study of the antibacterial and antifungal activity of “Malibact” extract / Kolisnyk O.V., Polischuk I. M., Ilyina T. V., Komissarenko A. M.*, Kolisnyk Iu. S. // *The 9th International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy (9 November), 2018 Kaunas, Lithuania*. – Kaunas: LSMU, 2018. – P.98

3. Полищук И. 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.

4. Де впроваджено: Приватний вищий навчальний заклад «Київський медичний університет», кафедра фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії.

5. Форма впровадження: навчальний процес, в лекційному курсі.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.

7. Строки впровадження: 2020-2021 навч. рік.

Завідувач кафедри фармацевтичної
 і біологічної хімії, фармакогнозії,
 д.фарм.н., професор

О. Ю. Коновалова

Продовж. дод. Г

“ЗАТВЕРДЖУЮ”
 Проректорка Івано-Франківського
 національного медичного університету
 д. біол. н., професор
 Ерстенюк Г.М.
 «18» березня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати дослідження хімічного складу екстракту жмиху плодів малини звичайної.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутріціології - асп. Поліщук І.М., д. фарм. н. Комісаренко А.М.
3. **Джерела інформації:**
 1. Polischuk, Ivan, et al. "Study of Rubus Idaeus Juice Ellagitannins and Its Antimicrobial Activity." International Journal of Pharmacy and Chemistry 5.6 (2019): P.68-71.
 2. Изучение органических кислот экстракта жмыха малины обыкновенной методом ГХ-МС / Полищук И.Н., Комиссаренко А.Н., Ильина Т.В., Комиссаренко Н.А. // Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції "Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів" 12-13 березня 2020 р., м. Харків. - (2020). Том 1 - С. 415-419
 3. 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 : VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю (27-28 вересня 2018 р.). – Тернопіль: ТДМУ, 2018. – С. 34-35
4. **Де впроваджено:** кафедра фармації Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 навч. рік.

Завідувач кафедри фармації
 Івано-Франківського
 національного
 медичного університету



д. фарм. наук, професор Грищик А.Р.

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

проректор з науково-педагогічної роботи
Запорізького державного
медичного університету
професор

В.А. Візир

« 25 » квітня 2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Результати вивчення складу фенольних сполук екстрактів та антимікробної активності з плодів малини звичайної.

2. Установа, автор: Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук і нутриціології - асп. Поліщук І.М., д. фарм. н. Комісаренко А.М., кафедра фармакогнозії - д. фарм. н. Кошовий О.М., д. фарм. н. Ільїна Т.В., к. фарм.н. Комісаренко М.А., д. фарм. н. Ковальова А.М.

3. Джерела інформації: 1. Polischuk, I. The study of phenolic compounds and the antimicrobial action of the alcoholic extract from the cake of the red raspberry fruit / I. Polischuk, O. Koshovyi, T. Osolodchenko, M. Komissarenko // Visnik farmacii. – 2018. – N 3(95). – P. 30-33. 2. The study of the antibacterial and antifungal activity of “Malibact” extract / Kolisnyk O.V., Polischuk I. M., Ilyina T. V., Komissarenko A. M.*, Kolisnyk Iu. S. // The 9th International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice, dedicated to the 100th years anniversary of independent Lithuania's pharmacy (9 November), 2018 Kaunas, Lithuania). – Kaunas: LSMU, 2018. – P.98 3. Поліщук І. Изучение фенольных соединений экстракта ямыха малины обыкновенной методом ВЭЖХ, Поліщук І. Н., Комісаренко Н. А., Комісаренко А. Н., Упыр Т.В., Ильина Т. В. Наука и инновация 2020. №1. С. 67-71.

4. Де впроваджено: кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.

5. Форма впровадження: навчальний процес, в лекційному курсі.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.

7. Строки впровадження: вересень – грудень 2020 рік.

« 25 » « Квітня » 2020 р.

Відповідальний за впровадження:
Зав. каф. фармакогнозії, фармакології
та ботаніки ЗДМУ,
д. біол. н., професор

Трещинський С.Д.

Продовж. дод. Г



ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректора з науково-педагогічної роботи Одеського національного медичного університету,
д. мед. н., професор

Шмикова І.П.
« 04 » 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Результати фітохімічного вивчення плодів малини звичайної та екстрактів на їх основі.

2. Установа, автор: Національний фармацевтичний університет, 61002, м. Харків, аул. Пушкінська, 53, кафедра хімії природних сполук і nutrціології - асп. Поліщук І.М., д. фарм. н. Комісаренко А.М.

3. Джерела інформації:

1. Polischuk, Ivan, et al. "Study of Rubus Idaeus Juice Ellagitannins and Its Antimicrobial Activity." International Journal of Pharmacy and Chemistry 5.6 (2019): P.68-71

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

3. Polischuk, I. The study of saponins of the raspberry cake alcoholic extract by HPLC / I. M. Polischuk, M. A. Komisarenko, M. Yu. Golik, T. V. Upry // Visnik farmacii. – 2018. – N 4 (95). – P. 24-27

4. Де впроваджено: кафедра фармакогнозії Одеського національного медичного університету.

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

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.

7. Термін впровадження: 2020-2021 навчальний рік.

« 4 » « 04 » 2020 р.

Відповідальний за впровадження:

Зав. каф. фармакогнозії ОНМедУ,

д. мед. н., професор

Рожковський Я. В.