АНОТАЦІЯ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Методом АЕС у горобини звичайної листі, квітках, плодах і корі визначено вміст 19 елементів, з яких 6 макроелементів і 13 мікроелементів. Найбільше елементів накопичується в горобини звичайної квітках і плодах, найменше – в корі. У досліджуваній сировині переважають (у мг/100 г) калій (від 710 до 1980) і кальцій (від 365 до 770), також в значній кількості містяться магній (від 95 до 290), силіцій (від 103 до 410) і фосфор (від 18 до 130). У сировині відсутні або знаходяться за межами можливостей визначення приладу мікроелементи кобальт, кадмій, арсен і меркурій. Вміст важких металів в усіх досліджуваних зразках знаходиться в межах допустимої для ЛРС норми згідно з вимогами ДФУ. Якість плодів горобини регламентується фармакопейною статтею ДФ СРСР XI видання, але вона не відповідає сучасним вимогам ДФУ і ЄФ. На фармацевтичному ринку України існують лікарські засоби з горобини плодів, тому є потреба у розробці монографії ДФУ на цю сировину. В результаті дослідження 7 зразків горобини плодів згідно з вимогами, що регламентуються настановою Фармакопейного комітету «Порядок розробки монографій для лікарської рослинної сировини для введення в ДФУ», у складі групи «Лікарська рослинна сировина» під керівництвом начальника відділу ДФУ д. фарм. н., с. н. с. Котова А. Г. та завідувача сектором «Експериментальна підтримка розробки монографій на ЛРС» ДП «Фармакопейний центр» к. фарм. н., с. н. с. Котової Е. Е. розроблено проєкт національної монографії «Горобини плоди^{N}», який рекомендовано ДП «Українським науковим фармакопейним центром якості лікарських засобів» до внесення в ДФУ 2.5 (акти про участь у розробці проєкту монографії № 11/1486-5 – 11/1489-5 від

09.11.2020). Запропоновано наступні параметри стандартизації горобини плодів: ідентифікацію за макро- та мікроскопічними ознаками, ідентифікацію гідроксикоричних кислот і флавоноїдів методом ТШХ, визначення сторонніх домішок (плодів підгорілих – не більше 3,0 %; плодів недозрілих (світло-жовтих, жовтих) – не більше 2 %; інших частин рослини (плодоніжок, гілочок, листків) – не більше 0,5 %; плодів із плодоніжками – не більше 3,0 %; органічних часток – не більше 0,5 %; мінеральних часток – не більше 0,2 %), втрати в масі при висушуванні – не більше 15,0 %, загальної золи – не більше 5,0 %; визначення вмісту суми похідних гідроксикоричних кислот, у перерахунку на кислоту хлорогенову і суху сировину – не менше 1,5 %.

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

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

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

Методом ГХ-МС в екстракті «Сорбафол» визначено вміст 38 карбонових кислот, з яких 10 двоосновних, 1 триосновна, 10 ароматичних, 17 жирних (13 насичених, 4 ненасичені) кислот. Загальний вміст карбонових

кислот в екстракті становить 35,2 г/кг, з них двоосновних – 40 %, триосновних – 13,1 %, ароматичних – 18,8 %, жирних кислот – 28,1 %. Домінуючими з двоосновних кислот є яблучна гідроксикислота і бурштинова, з триосновних – лимонна гідроксикислота, з ароматичних – бензойна, з жирних – левулінова, ліноленова і пальмітинова кислоти.

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

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

В екстракті «Сорбафол» методом ГХ-МС ідентифіковано 4 вільних моносахаридів: манозу, глюкозу, галактозу і фруктозу, з яких переважають фруктоза і глюкоза. Вміст ідентифікованих вільних моносахаридів в екстракті становить 5,35 мг/г. Загальний вміст ідентифікованих моносахаридів в екстракті становить 8,3 мг/г, з яких домінуючим моносахаридом є глюкоза.

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

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

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

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

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

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

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

Список публікацій здобувача

1. Криворучко О. В., Маркін О. М. Гідроксикоричні кислоти і флавоноїди горобини звичайної і горобини арії. *Зб. наук. прац. співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика*. К., 2017. Вип. 28. С. 67–73 (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

2. Research in the chemical composition of the bark of *Sorbus aucuparia* / E. Krivoruchko, A. Markin, V. Samoilova, T. Ilina, O. Koshovyi. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2018. Vol. 67 (3). P. 113–115 (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

3. Карбоновые кислоты экстрактов листьев рябины обыкновенной / А. Н. Маркин, Е. В. Криворучко, О. В. Товчига, В. А. Самойлова, А. А. Стремоухов. *Вестник фармации*. 2019. № 2 (84). С. 34–38 (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

4. Маркин А. Н., Криворучко Е. В., Самойлова В. А. Исследование карбоновых кислот почек и листьев Sorbus aucuparia. *Наука и инновация*. 2019. № 4. С. 122–125 (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

5. Дослідження хімічного складу екстрактів листя горобини звичайної та їх впливу на обмін глюкози і видільну функцію нирок у щурів / О. В. Товчига, О. М. Маркін, С. Ю. Штриголь, О. В. Криворучко. *Клінічна*

фармація. 2020. Т. 24, № 1. С. 26–34 (*Особистий внесок* – брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

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

7. Товчига О. В., Штриголь С. Ю., Криворучко О. В., Маркін О. М., Баля О. А. Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної: пат. на кор. мод. 133831 України: МПК A61K 36/00, A61K 36/73, A61P 3/10. № u201811026; заявл. 08.11.2018; опубл. 25.04.2019, Бюл. № 8 (*Особистий внесок* – брав участь у патентному пошуку, плануванні експерименту, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту).

8. Товчига О. В., Штриголь С. Ю., Криворучко О. В., Маркін О. М., Баля О. А. Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя горобини звичайної: пат. на винахід 122521 України: МПК A61K 36/73, A61P 3/10. № a201811027; заявл. 08.11.2018; опубл. 25.11.2020, Бюл. № 22 (*Особистий внесок* – брав участь у патентному пошуку, плануванні експерименту, одержанні лікарського засобу та оформленні патенту).

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

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

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

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

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

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

15. Элементный состав экстрактов рябины обыкновенной листьев / А. Н. Маркин, А. А. Баля, Е. В. Криворучко, О. В. Демешко. *Современные достижения фармацевтической науки и практики*: материалы Международной конференции, посвященной 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, 31 окт. 2019 г. Витебск: ВГМУ, 2019. С. 115–116.

16. Маркин А. Н., Криворучко Е. В. Элементный состав рябины обыкновенной. *Актуальные вопросы фармации: фармацевтическая опека в педиатрии. Дизайн, производство и контроль качества лекарственных*

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

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