

Міністерство охорони здоров'я України  
Національний фармацевтичний університет

Міністерство охорони здоров'я України  
Національний фармацевтичний університет

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Стремоухов Олександр Олександрович**

УДК 615.322:581.688:581.192

## **ДИСЕРТАЦІЯ**

**Фармакогностичне вивчення листя та плодів лохини  
для створення нових лікарських засобів**

22 – Охорона здоров'я  
спеціальність 226 «Фармація, промислова фармація»

на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

О. О. Стремоухов

Науковий керівник: Кошовий Олег Миколайович, доктор фармацевтичних  
наук, професор

Харків – 2021

## АНОТАЦІЯ

*Стремоухов О. О.* Фармакогностичне вивчення листя та плодів лохини для створення нових лікарських засобів – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

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

Дисертаційна робота присвячена фармакогностичному вивченню плодів та листя лохини високорослої (*Vaccinium corymbosum* L.), розробленню способів одержання сухих екстрактів з сировини рослини, їх фітохімічному та фармакологічному дослідженню, визначенню параметрів стандартизації листя та екстрактів із листя лохини високорослої для створення субстанцій на їх основі з протизапальною, гіпоглікемічною та гіполіпідемічною активністю.

Вивчено технологічні особливості вирощування двох сортів лохини високорослої – Шантеклер та Блю Голд – в умовах двох фермерських господарств. При заготівлі листя лохини високорослої до сировини потрапляють частинки стебел, які знижують якість сировини, тому було також вивчено макро- та мікроскопічні ознаки, якісний склад та кількісний вміст біологічно активних речовин (БАР) стебел.

За макроскопічними дослідженнями визначено сукупність морфологічних ознак листя лохини високорослої. Проведено мікроскопічне вивчення стебла та листка лохини високорослої, встановлено характерні діагностичні ознаки: черешок однопучковий, напівмісячної форми, з добре розвиненою флоемою та ксилемою; паренхіма складається з невеликих клітин з друзами оксалату кальцію; на поперечному зрізі – листя дорзивентрального типу, стовпчаста паренхіма 1-шарова, губчаста – 2-3-

шарова; верхня епідерма листка складається з паренхімних лопатевих клітини зі звивистими оболонками, клітини вздовж жилок видовжені, прямостінні; вздовж жилок містяться великі багатоклітинні волоски з розширеною основою і видовженим тілом, на верхівці розташована дрібна ампулоподібна верхівка; нижня епідерма листка складається з паренхімних клітин з дуже звивистими оболонками, в основі зрідка трапляються продихи, а в центральній частині вони численні, великі, овальні; тип продихів – аномоцитний та парацитний, на епідермі містяться горбкуваті багатоклітинні волоски з широкою основою і довгі залозисті волоски з дворядною ніжкою; над жилкою клітини слабо-видовжені, прямостінні, оболонки незначно потовщені; по краю листка часто розташовані залозисті волоски на дворядній ніжці, зрідка – криючі багатоклітинні волоски з розширеною основою одноклітинні тонкі дуже загнуті волоски. На поперечному зрізі стебла мають вторинну структуру з дуже тонким епідермісом, судинні пучки колатерального типу із судинним камбієм, великою кількістю склеренхіми між судинами флоєми і ксилеми, на поздовжньому зрізі стебла видно два типи метаксилематичних судин – точкових і лускатих.

У досліджуваних зразках плодів, стебел та листя лохини високорослої визначено вміст макро- та мікроелементів методом атомно-емісійної спектроскопії. Найбільший вміст макро- та мікроелементів встановлено у листі лохини високорослої, який становить  $1389,32 \pm 28,51$  мг/100 г, у плодах –  $717,34 \pm 14,72$  мг/100 г, у стеблах –  $595,93 \pm 12,23$  мг/100 г. Виявлено певні закономірності накопичення елементів. Вміст важких металів у плодах, стеблах та листі лохини високорослої відповідає вимогам ДФУ і знаходиться у межах гранично допустимих концентрацій. Отримані дані використані для розроблення проєктів МКЯ на ЛРС лохини високорослої.

Амінокислоти підвищують біодоступність та потенціюють терапевтичний ефект інших БАР, виявляють власну біологічну активність, тому було визначено їх вміст у плодах, стеблах та листі лохини високорослої. Дослідження амінокислотного складу плодів, стебел та листя лохини

високорослої проводили методом ВЕРХ. Було ідентифіковано 20 амінокислот, з яких 8 незамінних (валін, ізолейцин, лейцин, метіонін, треонін, фенілаланін, лізин, оксилізін) і 12 замінних (аланін, гліцин, серин, тирозин, цистеїн, аргінін, орнітин, гістидин, пролін, оксипролін, аспарагінова та глютамінова кислоти). Найбільший вміст амінокислот установлено у листі лохини високорослої ( $9,04 \pm 0,19$  мг%), що у 2,4 рази вище, ніж у плодах ( $3,80 \pm 0,08$  мг%) та у 4,6 рази – ніж у стеблах ( $1,96 \pm 0,04$  мг%). Домінуючими амінокислотами у плодах, стеблах та листях лохини високорослої є лейцин (у листі –  $10,4 \pm 0,21$  % від загальної кількості амінокислот, у стеблах –  $8,67 \pm 0,18$  %, у плодах –  $7,37 \pm 0,11$  %), аргінін (у листі –  $6,53 \pm 0,13$  %, у стеблах –  $8,27 \pm 0,18$  %, у плодах –  $10,00 \pm 0,21$  %), аспарагінова (у листі –  $9,51 \pm 0,20$  %, у стеблах –  $10,20 \pm 0,21$  %, у плодах –  $8,95 \pm 0,18$  %) та глютамінова кислота (у листі –  $12,61 \pm 0,26$  %, у стеблах –  $13,27 \pm 0,27$  %, у плодах –  $17,37 \pm 0,36$  %).

Вивчення якісного складу та кількісного вмісту моноцукрів у плодах, стеблах та листях лохини високорослої до і після гідролізу проводили методом ВЕРХ. Основним компонентом моноцукрів листя лохини високорослої є глюкоза (близько 51 % від загальної суми цукрів), дещо менше містилося фруктози (44 %). Найбільша кількість вільних цукрів встановлена у плодах з домінуванням фруктози (до 60 % від загальної суми цукрів), у менших концентраціях виявлялася глюкоза (38 %) та сахароза (2 %). Серед вільних цукрів листя лохини високорослої найбільше накопичує глюкозу ( $3,7 \pm 0,08$  %), плоди – фруктозу ( $14,33 \pm 0,29$  %), серед зв'язаних – глюкозу в листях ( $4,45 \pm 0,09$  %) та плодах ( $11,02 \pm 0,23$  %), а у стеблах – ксилозу ( $3,43 \pm 0,07$  %).

Визначення якісного складу та кількісного вмісту карбонових кислот у плодах, стеблах та листях лохини високорослої проводили методом хромато-мас-спектрометрії з попереднім метилюванням жирних кислот. За результатами досліджень, у плодах, стеблах та листях лохини високорослої визначено вміст 37 карбонових кислот. У листі лохини високорослої загальний вміст кислот становить 5867,84 мг/кг, з-поміж яких переважають

пальмітинова (26,70 % від суми карбонових кислот), леулінова (10,23 %), малінова (8,40 %) та лимонна (6,29 %) кислоти; у стеблах загальний вміст становить 7918,61 мг/кг, домінують леулінова (19,76 %), пальмітинова (17,42 %), лимонна (10,09 %), олеїнова (6,85 %) кислоти; у плодах загальний вміст становить 23833,4 мг/кг, переважають леулінова (33,54 %), лимонна (24,51 %), лінолева (10,51 %), ліноленова (5,84 %), олеїнова (5,72 %) кислоти.

Визначення якісного складу та кількісного вмісту терпеноїдів у надземних органах лохини високорослої проводили методом хромато-мас-спектрометрії. Виявлено 65 речовин, найбільший їх вміст був у стеблах – 1315 мг/кг. Листя та плоди містили відповідно у 4,1 та 2,7 рази менше летких сполук, ніж стебла. У складі леткої фракції листя лохини високорослої виявлено 49 речовин, з них 3 сполуки були специфічні для листя лохини і можуть у подальшому використовуватися як хемомаркери: 6-метилгепта-3,5-дієн-2-он, 4-(2,6,6-триметилциклогекс-1,5-дієніл)бут-3-єн-2-он та 4-метилбензальдегід. У складі леткої фракції плодів лохини високорослої виявлено 47 речовин. Для плодів були характерні 5 речовин: 1-(2,6,6-триметилциклогекс-2-єніл)ацетон, 2-метилкапринат, гексадекан, гераніол, 1-бутилциклогекс-2-єн-1-ол. У складі леткої фракції стебел лохини високорослої виявлено 50 речовин. Для стебел були характерні 6 речовин: 4-(2,6,6-триметилциклогекс-1,3-дієніл)пент-3-єн-2-ол, 2-етилкапронат, похідне 1-(1,1-диметил-2,3-дигідро-1-Н-інден-4-іл)етанону, метилолеат, метиллінолеат та метилліноленоат. За аналізом леткої фракції було встановлено вміст 14 органічних кислот, з яких пальмітинова кислота домінувала в усіх вегетативних органах лохини високорослої. Крім пальмітинової кислоти (20 %), у стеблах лохини високорослої виявлено міристинову, олеїнову, лінолеву, лауринову і ліноленову кислоти; для листя характерні лауринова і міристинова кислоти, а для плодів – каприлова і капронова кислоти.

Якісний склад та кількісний вміст фенольних сполук у плодах, стеблах та листях лохини високорослої вивчали методом високоефективної рідинної

хроматографією (ВЕРХ). Вміст фенольних сполук листя становить до гідролізу –  $6271,09 \pm 128,68$  мг/100 г а після гідролізу –  $4020,21 \pm 82,49$  мг/100 г, що на порядок більше, ніж у стеблах до гідролізу –  $453,04 \pm 9,30$  мг/100 г та після гідролізу –  $266,34 \pm 5,47$  мг/100 г, тому саме листя є перспективним джерелом для отримання фенольних сполук з лохини високорослої. У стеблах виявлено 9 сполук фенольної природи, до гідролізу було встановлено 7 сполук, а після гідролізу – 6. Так, похідні 1 та 2 *n*-кумарової кислоти ( $47,4 \pm 0,97$  мг/100 г і  $1,7 \pm 0,03$  мг/100 г відповідно) були виявлені тільки до гідролізу, а після гідролізу встановлено, що вміст *n*-кумарової кислоти майже у 2 рази менше, ніж сума похідних *n*-кумарової кислоти. Фенольний склад листя та стебел лохини високорослої відрізняється. Листя містить кемпферол –  $88,9 \pm 1,83$  мг/100 г і кемпферол-3-О-глюкозид –  $699,8 \pm 14,37$  мг/100 г до гідролізу та  $488,8 \pm 10,04$  мг/100 г після гідролізу, тоді як стебла містять кемпферол-3-О-рутинозид –  $21,4 \pm 0,44$  мг/100 г і *n*-кумарову кислоту  $25,5 \pm 0,52$  мг/100 г та її похідні.

Однією з найбільш важливих груп діючих речовин плодів лохини високорослої є антоціани, що мають широкий спектр фармакологічної активності. Методом ВЕРХ у плодах лохини виявлено 11 флавоноїдів (переважали мірицетин-3-О-гексозид – 19,2 % і кверцетин-3-О-галактозид – 46,4 % від їх загального вмісту) та 14 антоціанів, з яких домінували: мальвідин – 75,3 мг/100 г, дельфінідин – 46,4 мг/100 г, петунідин – 35,3 мг/100 г, пеонідин – 21,5 мг/100 г, ціанідин – 6,6 мг/100 г, цукрова частина яких представлена глюкозою, галактозою, арабінозою і ксилозою.

Кількісне визначення фенольних сполук у плодах, стеблах та листі лохини високорослої проводили спектрофотометричним методом. Вміст суми флавоноїдів (у перерахунку на рутин) складає: для плодів –  $1,32 \pm 0,25$  %, листя –  $3,20 \pm 0,19$  %, для стебел –  $0,90 \pm 0,02$  %. Вміст похідних гідроксикоричних кислот (у перерахунку на хлорогенову кислоту) складає: для плодів –  $1,78 \pm 0,27$  %, для листя –  $4,70 \pm 0,13$  %, для стебел –  $1,20 \pm 0,12$  %. Вміст фенольних сполук (у перерахунку на арбутин) складає: для

плодів –  $2,05 \pm 0,34$  %, для листя –  $5,10 \pm 0,84$  %, для стебел –  $0,20 \pm 0,03$  %. Вміст поліфенолів (у перерахунку на пірогалол) складає: для плодів –  $4,16 \pm 0,12$  %, для листя –  $9,5 \pm 0,57$  %, для стебел –  $13,6 \pm 0,97$  %. Вміст проантоціанів (у перерахунку на ціанідин-3-О-глюкозид) складає: для плодів –  $6,02 \pm 0,52$  %, для листя –  $3,90 \pm 0,65$  %, для стебел –  $1,10 \pm 0,14$  %. За результатами спектрофотометричного визначення вмісту фенольних сполук у листі лохини високорослої встановлено найбільший вміст похідних гідроксикоричних кислот та флавоноїдів, а у плодах лохини високорослої домінували антоціани, що відповідає результатам досліджень методом ВЕРХ цієї сировини. Тобто, листя та плоди лохини високорослої є перспективними джерелами одержання субстанцій, багатих на гідроксикоричні кислоти та флавоноїди.

За результатами проведених макро- та мікроскопічних досліджень, аналізу елементного складу та вмісту основних груп БАР листя лохини високорослої було визначено як перспективний вид сировини та розроблено проєкт МКЯ на нього. Ідентифікацію С у листі цієї рослини запропоновано проводити методом ТШХ за наявністю рутину, гіперозиду, хлорогенової та кофейної кислот. Стандартизацію запропоновано проводити спектрофотометричним методом за вмістом флавоноїдів (у перерахунку на рутин) та гідроксикоричних кислот (у перерахунку на хлорогенову кислоту). Кількісний вміст суми флавоноїдів має бути не менше 1,5 %, а гідроксикоричнових кислот – не менше 4 % (у перерахунку на повітряно-суху сировину).

Для визначення оптимального екстрагенту БАР з плодів і листя лохини високорослої та продуктів переробки плодів (сік та шрот) було використано низку розчинників та визначено кількісний вміст основних груп БАР: фенологлікозидів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та антоціанів. Враховуючи вихід сухих екстрактів з листя лохини високорослої, вміст суми фенольних сполук та економічний чинник, встановлено, що 50 % спирт етиловий є оптимальними екстрагентом. Для отримання сухих екстрактів з

плодів лохини високорослої, сухого соку та шроту плодів встановлено, що оптимальним екстрагентом є 1 % розчин хлористоводневої кислоти у 60 % спирті етиловому.

Для вивчення технологічних аспектів отримання нових лікарських засобів запропоновані способи одержання субстанцій, які захищені патентом України на корисну модель № u 202002993. Із листя лохини високорослої було одержано екстракт під умовною назвою «Вацінол», 3 екстракти на його основі, які були модифіковані аргініном (найбільш перспективний отримав умовну назву «Лохарин») та екстракт з плодів лохини високорослої. Проведено фітохімічне та фармакологічне дослідження одержаних екстрактів.

В екстрактах лохини високорослої методом атомно-емісійної спектроскопії було виявлено 13 елементів, спостерігався високий вміст калію, кальцію, мангану, силіцію, фосфору та магнію. Методом ВЕРХ в екстрактах було виявлено 7 амінокислот, зокрема 3 незамінні: аргінін, гістидин та фенілаланін; 7 фенольних сполук: 5 флавоноїдів (рутин, кверцетин-3-О-глюкозид, кемпферол-3-О-глюкозид, кверцетин та кемпферол) і 2 гідроксикоричні кислоти – хлорогенову та кофейну. Результати аналізу екстрактів спектрофотометричним методом показали таку саму тенденцію, що і ВЕРХ аналіз щодо вмісту основних груп БАР, що у подальшому було використано для розроблення проєктів МКЯ на екстракти.

Уперше методом HPLC-DAD-MS в екстракті «Вацінол» було виявлено 20 речовин фенольної природи: 8 похідних гідроксикоричних кислот та 12 флавоноїдів. В екстракті «Лохарин» виявлено 25 сполук, похідних фенолів. Аналіз показав, що модифікація екстракту «Вацінол» з аргініном приводить до значних змін хімічного складу БАР в екстракті «Лохарин», було встановлено вміст двох кон'югантів кофейлхінної кислоти та аргініну. Також встановлено, що в екстракті «Вацінол» хлорогенова та неохлорогенова кислоти є домінантними серед гідроксикоричних кислот, тоді як серед флавоноїдів домінують кверцетин 3-О-галактозид (гіперозид), кверцетин 3-



О-рутинозид (рутин) та кверцетин 3-О-глюкозид (ізокверцитрин). У листі лохини високорослої та його екстракті «Вацінол» уперше виявлено похідні гідроксикоричної кислоти: 3-О-кофеїлхінну (неохлорогенову), 4-О-кофеїлхінну (криптохлорогенову), О-малоніл-О-кофеїлхінну, О-кофеїлшікімову, О-малоніл-О-кофейну, *n*-кумароїлкофеїлхінну, а також флавоноїди: мірицетин-3-О-галактозид, мірицетин-3-О-глюкозид, кверцетин рамногексозид, кемпферол-О-рамногексозид, кверцетин-О-малонілгексозид, мірицетин-*n*-кумароїлгексозид і кверцетин-*n*-кумароїлгексозид.

Дослідження антибактеріальної активності 5 екстрактів лохини високорослої проводили методом дифузії в агар на базі ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечнікова» під керівництвом к.б.н., ст.н.с. Т. П. Осолодченко. Установлено, що водний розчин екстракту «Вацінол» виявляє помірну антибактеріальну дію щодо усіх досліджуваних штамів, тоді як лише спиртовий розчин екстракту «Лохарин» виявляє помірну чутливість до *S. aureus* та *Pr. vulgaris*. Результати дослідження антимікробної активності екстрактів лохини високорослої враховано у подальшому під час визначення мікробіологічної чистоти субстанцій.

Уперше досліджено протизапальну дію 5 екстрактів з листя лохини високорослої на базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом проф. І. В. Кіреєва на моделі карагенінового набряку у щурів. Виявлено, що найвищу протизапальну активність мають екстракт «Вацінол» у дозі 50 мг/кг та екстракт «Лохарин», модифікований аргініном, у дозі 25 мг/кг, де вміст БАР з листя становить лише 16,7 мг/кг, тоді як без додавання аргініну ці БАР ефективні у дозі 50 мг/кг, що свідчить про потенціювання дії фенольних сполук лохини високорослої аргініном.

Вивчення протизапальної активності екстрактів «Вацінол» та «Лохарин» було проведено *in vitro* на базі *Graduate Institute of Natural Products, College of Medicine, Chang Gung University (Тайвань)*, під керівництвом проф. *Tsong-Long Hwang*. За результатами дослідження встановлено, що екстракт «Вацінол» чинить значний вплив на утворення

супероксид-аніонів з  $IC_{50} = 3,96$  мкг/мл і посилює вивільнення еластази нейтрофілами людини, що може виявляти імуностимулювальний ефект, пов'язаний з процесом дегрануляції. У дослідженні екстрактів з листя лохини високорослої *in vitro* на нейтрофілах крові людини активність виявили тільки екстракти «Вацінол» та «Лохарин».

Гіпоглікемічну та гіполіпідемічну активність екстрактів «Вацінол» та «Лохарин» вивчали на 18-місячних самцях щурів лінії Wistar на базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом к.б.н., доц. Г. Б. Кравченко. Кон'югація екстракту «Вацінол» з L-аргініном приводить до зміни його фармакологічних властивостей. Установлено, що введення сухого екстракту «Вацінол» чинить нормалізувальную дію на метаболічні порушення на тлі високофруктозної дієти. Екстракт «Лохарин» мав більш виражений нормалізувальний ефект порівняно з контрольною групою, що виявляється у зниженні рівня глюкози та нормалізації співвідношення рівня холестерол ліпопротеїнів високої щільності (ХС-ЛПВЩ) та холестерол ліпопротеїнів низької щільності (ХС-ЛПНЩ), тому і виявився перспективним засобом для комплексного застосування у профілактиці інсулінорезистентності, атеросклерозу та метаболічного синдрому.

Розроблено проєкт МКЯ лохини листя за такими показниками: визначення, зовнішні ознаки – макроскопія, мікроскопія, ідентифікація (ТШХ), сторонні домішки, втрата в масі під час висушування (не більше 10 %), загальна зола (не більше 3 %), важкі метали (не більше 10 ppm), мікробіологічна чистота та кількісне визначення (вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин (не менше 1,5 %) та гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту (не менше 4 %). Проєкти МКЯ на «Вацінол» лохини листя екстракт сухий та «Лохарин» лохини листя екстракт сухий, який був модифікований аргініном, розроблено за такими показниками: опис, розчинність, ідентифікація (ТШХ – метод А, В), втрата в масі під час висушування (не більше 5 %), залишкові кількості органічних розчинників (спирт етиловий – не більше 1,0 %), важкі метали (не більше 100

ppm), мікробіологічна чистота, вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин (не менше 6 % в екстракті «Вацінол» та 4 % в екстракті «Лохарин») та гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту (не менше 9 % в екстракті «Вацінол» та 6 % в екстракті «Лохарин»).

*Ключові слова:* лохина, листя, сухий екстракт, модифікація, біологічно активні речовини, гіпоглікемічна активність, гіполіпідемічна активність, протизапальна активність.

#### *Список публікацій здобувача*

1. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Дослідження жирних та органічних кислот листя лохини звичайної. *Вісник фармації*. 2016. № 4 (88). С. 31–33. (Особистий внесок – проведено аналіз літературних джерел, виконано експериментальне дослідження, підготовлено статтю до друку).

2. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Бородіна Н. В., Криворучко О. В. Порівняльне дослідження карбонових кислот надземної частини лохини звичайної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 1 (54). С. 46–50. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

3. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Гонтова Т. М., Комісаренко М. А., Бородіна Н. В. Елементний склад, морфологічні та анатомічні ознаки листя лохини високорослої. *Фітотерапія. Часопис*. 2020. № 1. С. 50–56. DOI:10.33617/2522-9680-2020-1-50 (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

4. Stremoukhov A., Koshovyi O., Kravchenko G., Krasilnikova O., Dimova G., Zhelev I. Phytochemical and pharmacological study of the northern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaves dry extract. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2021. Vol. 10, Issue 4. P. 1-8. DOI: 10.20959/wjpr20214-20032. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

5. Stremoukhov O., Koshovyi O., Komisarenko M., Kireyev I.,

Gudzenko A., Korinek M., Tsong-Long Hwang, Meng-Hua Chen, Mykhailenko O. Phytochemical research and anti-inflammatory activity of the dry extracts from northern highbush blueberry leaves. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2021. № 2 (30). P. 40–48. DOI: 10.15587/2519-4852.2021.230288 (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

6. Стремоухов О. О. Дослідження біологічно активних речовин легкої фракції вегетативних органів лохини високорослої. / О. О. Стремоухов, О. М. Кошовий, М. А. Комісаренко // *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Том 14. № 2(36). С. 185-193. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

7. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя лохини для корекції та профілактики метаболічного синдрому : пат. 145107 України. / О. М. Кошовий, О. О. Стремоухов, Г. Б. Кравченко, О. А. Красільнікова, А. Л. Загайко, М. А. Комісаренко. № u 202002993 ; заявл. 20.05.2020 ; опубл. 25.11.2020. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

8. Стремоухов А. А., Кошевой О. Н. Исследование фенольного состава листьев голубики. *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку* : матеріали І наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, 24-25 берез. 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. С. 139.

9. Стремоухов О. О., Пешкова О. С., Кошовий О. М., Кіреєв І. В. Фармакогностичне дослідження *Vaccinium uliginosum*. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Національного з'їзду фармацевтів, м. Харків, 13-16 верес. 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. Т. 1. С. 141.

10. Стремоухов О. О. Перспективи використання листя лохини для створення нових дієтичних добавок. *Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту* : матеріали III наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 квіт. 2016 р. Харків : Вид-во НФаУ,

2016. С. 19.

11. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Бородіна Н. В. Дослідження жирних та органічних кислот пагонів лохини звичайної. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 282–284. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

12. Пешкова О. С., Кіреєв І. В., Кошовий О. М., Стремоухов О. О. Вивчення антибактеріальної активності екстрактів плодів та листя *Vaccinium uliginosum*. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали I Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 30-31 берез. 2017 р. Харків : НФаУ, 2017. Т. 2. С. 392.

13. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Фармакогностичне вивчення *Vaccinium corymbosum*. *Матеріали XIV з'їзду Українського ботанічного товариства*, м. Київ, 25-26 квіт. 2017 р. Київ, 2017. С. 209.

14. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Король В. В., Сербін А. Г. Дослідження жирних та органічних кислот плодів лохини звичайної. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : Вид-во НФаУ, 2017. Вип. 3. С. 276–279. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

15. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Перспективи створення нових засобів на основі БАР *Vaccinium corymbosum*. *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. 195-196.

16. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Фітохімічне дослідження фенольного складу плодів *Vaccinium corymbosum*. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження* : матеріали наук.-практ. дистанційної міжнар. конф., м. Івано-Франківськ, 19-20 трав. 2020 р. Івано-Франківськ, 2020. С. 181–182.

17. Kostenko Y., Stremoukhov O., Granica S., Koshovyi O. Phytochemical study of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) leaves extracts. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 23-24 верес. 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 20–21.

18. Kostenko Y., Stremoukhov O., Granica S., Koshovyi O. Study of quantitative and qualitative composition of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) leaves extractive and qualitative composition. *International e-conference contemporary pharmacy: issues, challenges and expectations 23rd of October 2020*, Kaunas – p. 15.

19. Kostenko Y. O., Stremoukhov O. O., Kravchenko G. B., Koshovyi O. M., Sebastian Granica. Highbush blueberry leaves extract as a promising agent for the correction of metabolic syndrome. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів присвяч. 150-річчю з дня народж. М. О. Валяшка, м. Харків, 18-19 берез. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 51.

## ABSTRACT

*Stremoukhov O. O.* The pharmacognostic study of blueberry leaves and fruits for creating new medicines – A qualifying scientific work as a manuscript.

The thesis for a degree of Candidate of Pharmacy (PhD) in speciality 226 “Pharmacy, industrial pharmacy” (22 “Healthcare”). – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The thesis is devoted to the pharmacognostic study of fruits and leaves of high-bush blueberry (*Vaccinium corymbosum*), the development of methods for obtaining dry extracts from the plant raw material, their phytochemical and pharmacological research, the determination of the parameters for standardization of leaves and extracts from high-bush blueberry leaves in order to create substances with the anti-inflammatory, hypoglycemic and hypolipidemic activity

based on them.

The technological peculiarities of growing two varieties of high-bush blueberry “Chanticleer” and “Blue Gold” were studied on the example of two farm enterprises. When harvesting high-bush blueberry leaves the stem particles get into the raw material, reducing the quality, therefore, macro- and microscopic features, the qualitative composition and the quantitative content of stem BAS were also studied.

According to the macroscopic studies a set of morphological features of high-bush blueberry leaves was determined. The microscopic examination of stems and leaves of high-bush blueberry was performed. The characteristic diagnostic features determined are as follows: the petiole is single-branched, crescent-shaped, with a well-developed phloem and xylem, the parenchyma consists of small cells with calcium oxalate druses; on the cross-section leaves are of dorsiventral type, the columnar parenchyma is one-layered, the spongy parenchyma is 2-3-layered; the upper epidermis of the leaf consists of parenchymal lobed cells with sinuous membranes, the cells along the veins are elongated, straight-walled, along the veins there are large multicellular hairs with an expanded base and an elongated body, at the top there is a small ampoule-shaped tip; the lower epidermis of the leaf contains parenchymal cells with strongly sinuous membranes, at the base there are occasionally stomatas, and in the center they are numerous, large and oval; the type of stomata is anomocytic and paracytic, the epidermis contains bumpy multicellular hairs with a wide base and long glandular hairs with a two-rowed pedicle; above the vein the cells are slightly elongated, straight-walled, membranes are slightly thickened; along the edge of the leaf glandular hairs on a two-rowed pedicle are often located, there are rare multicellular hairs with an expanded base and unicellular thin strongly curved hairs. On the cross-section the stem has the secondary structure with a very thin epidermis, vascular bundles of the collateral type and the vascular cambium, a large number of sclerenchyma between the phloem and xylem vessels, the longitudinal section of the stem shows the presence of two types of metaxylem vessels – dotted and scaly.

In the samples of fruits, stems and leaves of high-bush blueberry the content of macro- and microelements was determined using atomic emission spectroscopy. The highest total content of macro- and microelements in leaves of high-bush blueberry was  $1389.32 \pm 28.51$  mg/100 g, in fruits –  $717.34 \pm 14.72$  mg/100 g, in stems –  $595.93 \pm 12.23$  mg/100 g. Some regularities of accumulation of elements were found. The content of heavy metals in fruits, stems and leaves of high-bush blueberry met the requirements of the SPhU, and it was within the range of the maximum permissible concentrations. The data obtained were used when developing projects of the Drug Quality Control Methods (DQCM) for high-bush blueberry medicinal products.

Amino acids increase the bioavailability and potentiate the therapeutic effect of other BAS, show their own biological activity. Thus, their content in fruits, stems and leaves of high-bush blueberry was determined. The study of the amino acid composition of fruits, stems and leaves of high-bush blueberry was performed by the HPLC method. Twenty amino acids were identified, including 8 essential (valine, isoleucine, leucine, methionine, threonine, phenylalanine, lysine, oxylysine) and 12 non-essential ones (alanine, glycine, serine, tyrosine, cysteine, arginine, ornithine, histidine, proline, oxyproline, aspartic and glutamic acid). Most amino acids were found in high-bush blueberry leaves ( $9.04 \pm 0.19$  mg%), which was 2.4 times more than in fruits ( $3.80 \pm 0.08$  mg%) and 4.6 times more than in stems ( $1.96 \pm 0.04$  mg%). The dominant amino acids in fruits, stems and leaves of high-bush blueberry were leucine (in leaves –  $10.4 \pm 0.21$  % of the total amount of amino acids, in stems –  $8.67 \pm 0.18$  %, in fruits –  $7.37 \pm 0.11$  %), arginine (in leaves –  $6.53 \pm 0.13$  %, in stems –  $8.67 \pm 0.18$  %, in fruits –  $10.00 \pm 0.21$  %), aspartic acid (in leaves –  $9.51 \pm 0.20$  %, in stems –  $10.20 \pm 0.21$  %, in fruits –  $8.95 \pm 0.18$  %) and glutamic acid (in leaves –  $12.61 \pm 0.26$  %, in stems –  $13.27 \pm 0.27$  %, in fruits –  $17.37 \pm 0.36$ %).

The qualitative composition and quantitative content of monosaccharides in fruits, stems and leaves of high-bush blueberry, before and after hydrolysis, were studied by the HPLC method. The main component of monosaccharides in high-



bush blueberry leaves was glucose (approximately 51% of the total amount of sugars), slightly less fructose (44 %) was contained. The highest amount of free sugars was found in fruits with fructose dominance (up to 60% of the total amount of sugars), while glucose (38%) and sucrose (2%) were found in lower concentrations. Among free sugars, high-bush blueberry leaves was more likely to accumulate glucose ( $3.7 \pm 0.08$  %), while in fruits there was fructose ( $14.33 \pm 0.29$  %); among related sugars, there was glucose in leaves ( $4.45 \pm 0.09$  %) and fruits ( $11.02 \pm 0.23$  %), while in stems xylose ( $3.43 \pm 0.07$  %) was found.

The qualitative composition and quantitative content of carboxylic acids in fruits, stems and leaves of high-bush blueberry were determined by chromat-mass spectrometry with the preliminary methylation of fatty acids. According to the research results, the content of 37 carboxylic acids was determined in fruits, stems and leaves of high-bush blueberry. The total acid content were 5867.84 mg/kg in leaves of high-bush blueberry where palmitic (26.70% of the total amount of carboxylic acids), levulinic (10.23%), malonic (8.40 %) and citric (6.29 %) acids predominated; in stems of high-bush blueberry it was 7918.61 mg/kg, among the dominant acids were levulin (19.76 %), palmitic (17.42 %), citric (10.09 %) and oleic (6.85 %) acids; in fruits of high-bush blueberry it was 23833.4 mg/kg with predominance of levulin (33.54 %), citric (24.51 %), linoleic (10.51 %), linolenic (5.84%), oleic (5.72 %) acids.

The qualitative composition and quantitative content of terpenoids in the overground organs of high-bush blueberry were determined by chromat-mass spectrometry. 65 Substances were found; the highest content of terpenoids was 1315 mg/kg in stems. Leaves and fruits contained 4.1 and 2.7 times less volatile components than stems, respectively. In the volatile fraction of high-bush blueberry leaves 49 substances were identified; 3 substances were characteristic of blueberry leaves and could be used as chemomarkers: 4-methylbenzaldehyde; 4-(2,6,6-trimethylcyclohex-1,5-dienyl)but-3-en-2-one and 6-methylhepta-3,5-dien-2-one. In the volatile fraction of high-bush blueberry fruits 47 substances were found. The following 5 substances were characteristic for fruits: 2-methylcaprylate,

1-(2,6,6-trimethylcyclohex-2-enyl)acetone, hexadecane, geraniol, 1-butylcyclohex-2-en-1-ol. 50 Substances were identified in the volatile fraction of high-bush blueberry stems. Stems were characterized by 6 substances: 4-(2,6,6-trimethylcyclohex-1,3-dienyl)pent-3-en-2-ol, 2-ethylcapronate, a derivative of 1-(1,1-dimethyl-2,3-dihydro-1-H-indene-4-yl)ethanone, methyl oleate, methyl linoleate and methyl linolenate. When analyzing the volatile fraction the content of 14 organic acids was determined; among them palmetinic acid dominated in all vegetative organs of high-bush blueberry. In addition to palmetinic acid, stems of high-bush blueberry (20 mg/kg) contained myristic, oleic, linoleic, lauric and linolenic acids; lauric and myristic acids were found in leaves, and caprylic and caproic acids were characteristic for fruits.

The qualitative composition and the quantitative content of phenolic compounds in fruits, stems and leaves of high-bush blueberry were studied by HPLC. In stems of high-bush blueberry compounds of phenolic nature were found: 7 compounds were found before hydrolysis, and 6 compounds were found after hydrolysis. The content of phenolic compounds of high-bush blueberry leaves was  $6271.09 \pm 128.68$  mg/100 g before hydrolysis,  $4020.21 \pm 82.49$  mg/100 g after hydrolysis. It was by one order more than in stems before hydrolysis –  $453.04 \pm 9.30$  mg/100 g and  $266.34 \pm 5.47$  mg/100 g after hydrolysis. Therefore, leaves are a promising source for obtaining phenolic compounds from high-bush blueberry. Thus, derivatives of 1 and 2 *n*-coumaric acids ( $47.4 \pm 0.97$  mg/100 g and  $1.7 \pm 0.03$  mg/100 g, respectively) were detected only before hydrolysis, while after hydrolysis, the content of *n*-coumaric acid was found to be almost 2 times less than the total amount of *n*-coumaric acid derivatives. The phenolic composition of high-bush blueberry leaves and stems was different. Leaves contained kaempferol –  $88.9 \pm 1.83$  mg/100 g and kaempferol 3-O-glucoside –  $699.8 \pm 14.37$  mg/100 g before hydrolysis and  $488.8 \pm 10.04$  mg/100 g after hydrolysis, while stems had kaempferol 3-O-rutinoside –  $21.4 \pm 0.44$  mg/100 g and *n*-coumaric acid –  $25.5 \pm 0.52$  mg/100 g and its derivatives.

One of the most valuable groups of active ingredients in high-bush blueberry

fruits is anthocyanins, which have a wide range of the pharmacological activity. It was found by HPLC that blueberry fruits contained 11 flavonoids (myricetin-3-O-hexoside – 19.2% and quercetin-3-O-galactoside – 46.4% of the total amount of flavonoids prevailed) and 14 anthocyanins with the predominance of malvidin – 75.3 mg/100 g, delphinidin – 46.4 mg/100 g, petunidin – 35.3 mg/100 g, peonidin – 21.5 mg/100 g, cyanidine – 6.6 mg/100 g; their sugar part was represented by glucose, galactose, arabinose and xylose.

The quantitative determination of phenolic compounds in fruits, stems and leaves of high-bush blueberry was also carried out by the spectrophotometric method. The content of the total amount of flavonoids (calculated with reference to rutin) was for fruits –  $1.32 \pm 0.25$ , for leaves –  $3.20 \pm 0.19$  %, for stems –  $0.90 \pm 0.02$ %. The content of derivatives of hydroxycinnamic acids (calculated with reference to chlorogenic acid) was for fruits –  $1.78 \pm 0.27$  %, for leaves –  $4.70 \pm 0.13$  %, for stems –  $1.20 \pm 0.12$  %. The content of phenolic compounds (calculated with reference to arbutin) was for fruits –  $2.05 \pm 0.34$ %, for leaves –  $5.10 \pm 0.84$  %, for stems –  $0.20 \pm 0.03$ %. The content of polyphenols (calculated with reference to pyrogallol) was for fruits –  $4.16 \pm 0.12$ %, for leaves –  $9.5 \pm 0.57$  %, for stems –  $13.6 \pm 0.97$  %. The content of proanthocyanins (calculated with reference to cyanidin-3-O-glucoside) was for fruits –  $6.02 \pm 0.52$  %, for leaves –  $3.90 \pm 0.65$  %, for stems –  $1.10 \pm 0.14$  %. According to the results of the spectrophotometric study of the content of phenolic compounds in high-bush blueberry leaves the highest content of derivatives of hydroxycinnamic acids and flavonoids was found, while anthocyanins dominated in high-bush blueberry fruits, corresponding to the results of the studies of this raw material using HPLC. Therefore, leaves and fruits of high-bush blueberry are promising sources for obtaining substances rich in hydroxycinnamic acids and flavonoids.

Based on the results of macro- and microscopic studies, analysis of the elemental composition and the content of the main groups of BAS, high-bush blueberry leaves were identified as a promising raw material, and the project of DQCM for this raw material was developed. For high-bush blueberry leaves the

identification was proposed to be carried out by the TLC method based on the content of rutin, hyperoside, chlorogenic and caffeic acids. Standardization was proposed to be carried out by the spectrophotometric method based on the total amount of flavonoids (calculated with reference to rutin) and hydroxycinnamic acids (calculated with reference to chlorogenic acid). The quantitative content of the total amount of flavonoids should be at least 1.5%, and hydroxycinnamic acids – at least 4 % calculated with reference to the air-dry raw material.

To determine the optimal BAS extractant from fruits and leaves of high-bush blueberry and fruit processing products (juice and extraction cake), a number of solvents were used, and the quantitative content of the main BAS groups, such as phenol glycosides, hydroxycinnamic acids, flavonoids and anthocyanins, was determined. Taking into account the yield of dry extracts of high-bush blueberry leaves, the content of the total amount of phenolic compounds and the economic factor it was found that 50 % ethyl alcohol was an optimal extractant. To obtain dry extracts from fruits, dry juice, and extraction cake of fruits, it was determined that the optimal extractant was 1% HCl solution in 60% ethyl alcohol.

When studying the technological aspects for developing new medicines the methods for obtaining substances protected by the patent of Ukraine for the utility model No. u 202002993 were proposed. An extract under the conditional name “Vacinol”, 3 extracts based on it modified with arginine (the most promising received the conditional name “Lokharin”) and an extract from high-bush blueberry fruits were obtained from high-bush blueberry leaves. The phytochemical and pharmacological studies of the extracts obtained were performed.

In extracts of high-bush blueberry 13 elements were detected by atomic emission spectroscopy, and a high content of potassium, calcium, manganese, silicon, phosphorus, and magnesium was observed. In the extracts 7 amino acids, including 3 essential ones (arginine, histidine and phenylalanine); 7 phenolic compounds: 5 flavonoids – rutin, quercetin-3-O-glucoside, kaempferol 3-O-glucoside, quercetin and kaempferol and 2 hydroxycinnamic acids – chlorogenic

and caffeic acids were detected by HPLC. The results of the spectrophotometric analysis showed the same trend as the HPLC analysis with respect to the content of the main groups of BAS in the extracts and were used when developing the projects of DQCM for the extracts.

For the first time, the HPLC-DAD-MS method detected 20 substances of phenolic nature in “Vacinol” extract: 8 derivatives of hydroxycinnamic acids and 12 flavonoids. In “Lokharin” extract 25 compounds, phenol derivatives were detected. The analysis showed that modification of “Vacinol” extract with arginine led to significant changes in the chemical composition of BAS in “Lokharin” extract, the content of two conjugants of caffeoylquinic acid and arginine was determined. In “Vacinol” extract chlorogenic and neochlorogenic acids were found to be dominant among hydroxycinnamic acids, while quercetin-3-O-galactoside (hyperoside), quercetin-3-O-rutinoside (rutin) and quercetin-3-O-glucoside (isoquercitrin) prevailed among flavonoids. Hydroxycinnamic acid derivatives: 3-O-caffeoylquinic acid (neochlorogenic acid), 4-O-caffeoylquinic acid (cryptochlorogenic acid), O-mallonyl-O-caffeoylquinic acid, O-caffeoylshikimic acid, O-mallonyl-O-caffeic acid, *p*-coumaroyl-caffeoyl quinic acid, as well as flavonoids, such as myricetin-3-O-galactoside, myricetin-3-O-glucoside, quercetin rhamnohexoside, kaempferol-O-rhamnohexoside, quercetin O-malonylhexoside, mirycetin-*p*-coumaroylhexoside and quercetin-*p*-coumaroylhexoside were first found in leaves of *V. corymbosum* and its extract.

The antibacterial activity of 5 high-bush blueberry extracts was studied by the agar diffusion method at the State Institution “Institute of Microbiology and Immunology named after I. I. Mechnikov of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine” under the supervision of Candidate of Biology (Ph.D.), senior researcher Osolodchenko T. P. *It was found that an aqueous solution of “Vacinol” extract had a moderate antibacterial effect against all the strains studied, while only an alcoholic solution of “Lokharin” extract had a moderate sensitivity to S. aureus and Pr. vulgaris.* The results of the study of the antimicrobial activity

of *V. corymbosum* extracts were taken into account further when determining the microbiological purity of substances.

For the first time, the anti-inflammatory effect of extracts from high-bush blueberry leaves was studied. The anti-inflammatory activity of 5 high-bush blueberry extracts was studied on the model of carrageenan edema at the premises of the Central Research Laboratory of the National University of Pharmacy (NUPh) under the supervision of professor Kireev I. V. *It was found that the highest anti-inflammatory activity* was in “Vacinol” extract in the dose of 50 mg/kg and “Lokharin” extract modified with arginine in the dose of 25 mg/kg where the content of BAS from high-bush blueberry leaves was only 16.7 mg/kg, while without the addition of arginine these BAS were effective in the dose of 50 mg/kg. It indicates the potentiation of the action of phenolic compounds of high-bush blueberry with arginine.

The anti-inflammatory activity of “Vacinol” and “Lokharin” extracts was studied *in vitro* at the premises of the Graduate Institute of Natural Products, College of Medicine, Chang Gung University, (Taoyuan) under the supervision of professor Tsong-Long Hwang. According to the research results it was found that “Vacinol” extract had a significant effect on the formation of superoxide anions with  $IC_{50} = 3.96 \mu\text{g/ml}$  and showed the potentiating effect on the release of elastase by human neutrophils. It may have the immunostimulating effect associated with the degranulation process. When studying the extracts from high-bush blueberry leaves *in vitro* on human blood neutrophils only “Vacinol” and “Lokharin” were found to be active.

The hypoglycemic and hypolipidemic activities of “Vacinol” and “Lokharin” extracts were studied on 18-month-old male Wistar rats at the premises of the Central Research Laboratory of the NUPh under the supervision of Candidate of Biology (Ph.D.), associate professor Kravchenko G. B. Conjugation of “Vacinol” extract with L-arginine led to a change in its pharmacological properties. It was found that the introduction of a dry extract of “Vacinol” had a normalizing effect on metabolic disorders against the background of a high-

fructose diet. “Lokharin” extract had a more pronounced normalizing effect compared to the control group. It is manifested in a decrease in the glucose level and normalization of the ratio of LDL-C and HDL-C levels. Thus, “Lokharin” extract proved to be promising for the complex use in preventing insulin resistance, atherosclerosis and the metabolic syndrome.

The project of DQCM for *V. corymbosum* leaves was developed according to the following indicators: determination, external signs – macroscopy, microscopy, identification (TLC), related substances, loss on drying (not more than 10 %), total ash (not more than 3%), heavy metals (not more than 10 ppm), microbiological purity and assay (the content of flavonoids calculated with reference to rutin was not less than 1.5 %, and hydroxycinnamic acids calculated with reference to chlorogenic acid was not less than 4 %). The projects of DQCM for “Vacinol” – a dry blueberry leaf extract and “Lokharin” – a dry blueberry leaf extract modified with arginine were developed according to the following indicators: description, solubility, identification (TLC: method A, B), loss on drying (not more than 5%), residues of organic solvents (ethyl alcohol – not more than 1.0%), heavy metals (not more than 100 ppm), microbiological purity, the content of flavonoids calculated with reference to rutin (not less than 6% in “Vacinol” and 4 % in “Lokharin”) and hydroxycinnamic acids calculated with reference to chlorogenic acid (not less than 9% in “Vacinol” and 6 % in “Lokharin”).

*Key words:* blueberry, leaves, dry extract, modification, biologically active substances, hypoglycemic activity, hypolipidemic activity, anti-inflammatory activity.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	27
ВСТУП.....	28
РОЗДІЛ 1 БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД І ЗАСТОСУВАННЯ В МЕДИЦИНІ ЛОХИНИ ВИСОКОРОСЛОЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	35
1.1    Ботанічна характеристика лохини високорослої.....	35
1.2    Ареали, ресурсні запаси та уведення в культуру лохини високорослої.....	41
1.3    Заготівля, культивування та сушіння сировини лохини високорослої.....	45
1.4    Хімічний склад лохини високорослої .....	47
1.5    Їстівні частини рослини та їх використання .....	53
1.6    Фармакологічна активність БАР лохини високорослої .....	54
1.6.1 Використання сировини лохини у народній медицині .....	61
1.6.2 Використання сировини лохини у дієтичних добавках та косметології.....	62
Висновки розділу 1.....	63
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ, ПРИЛАДИ, МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИКИ ТА РЕАКТИВИ.....	65
РОЗДІЛ 3 ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ВИВЧЕННЯ НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ЛОХИНИ ВИСОКОРОСЛОЇ.....	85
3.1    Макро- та мікроскопічне дослідження сировини лохини високорослої.....	85
3.1.1 Дослідження біометричних показників надземної частини лохини високорослої.....	87
3.1.2 Макроскопічне дослідження листя лохини високорослої.....	93
3.1.3 Макроскопічне дослідження стебел лохини високорослої .....	93
3.1.4 Макроскопічне дослідження плодів лохини високорослої.....	94
3.1.5 Мікроскопічне дослідження лохини високорослої .....	96



3.2	Визначення числових показників сировини лохини високорослої.....	101
3.3	Дослідження якісного складу та кількісного вмісту БАР сировини лохини високорослої.....	102
3.3.1	Мінеральний склад.....	102
3.3.2	Амінокислоти.....	105
3.3.3	Полісахариди і моноцукри.....	108
3.3.4	Карбонові кислоти.....	111
3.3.5	Леткі сполуки.....	120
3.3.6	Фенольні сполуки.....	128
3.3.6.1	Прості феноли.....	128
3.3.6.2	Гідроксикоричні кислоти.....	134
3.3.6.3	Флавоноїди.....	136
3.3.6.4	Антоціани.....	138
3.3.6.5	Дубильні речовини.....	140
3.3.6.6	Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ.....	141
3.4	Установлення динаміки накопичення фітомаси та БАР лохини високорослої.....	149
	Висновки розділу 3.....	155
<b>РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ, КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ТА ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТІВ З ЛИСТЯ ТА ПЛОДІВ ЛОХИНИ ВИСОКОРОСЛОЇ.....</b>		
4.1	Установлення оптимальних параметрів екстракції БАР із сировини лохини високорослої.....	159
4.2	Розроблення технологічних схем одержання екстрактів.....	166
4.3	Фітохімічне дослідження екстрактів.....	171
4.3.1	Мінеральний склад.....	171
4.3.2	Амінокислотний склад.....	174
4.3.3	Фенольні сполуки.....	176

	26
4.4 Фармакологічна активність екстрактів з листя лохини високорослої .....	179
4.4.1 Визначення антимікробної активності .....	179
4.4.2 Визначення протизапальної активності .....	183
4.5 Дослідження фенольних сполук найбільш перспективних екстрактів «Вацінол» та «Лохарин» з листя лохини методом HPLC-DAD-MS .....	188
4.6 Визначення гіпоглікемічної та гіполіпідемічної активності екстрактів лохини високорослої.....	205
Висновки розділу 4 .....	210
<b>РОЗДІЛ 5 СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЕКСТРАКТІВ ТА ЛИСТЯ ЛОХИНИ ВИСОКОРОСЛОЇ .....</b>	
5.1 Стандартизація листя лохини високорослої .....	215
5.1.1 Проєкт МКЯ на листя лохини високорослої.....	215
5.1.2 Стандартизація листя лохини .....	221
5.2 Проєкт МКЯ сухих екстрактів «Вацінол» та «Лохарин».....	227
Висновки розділу 5 .....	239
ВИСНОВКИ .....	242
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	245
ДОДАТКИ .....	269

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

- БАР – біологічно активні речовини
- ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія
- ГКК – гідроксикоричні кислоти
- ГРХ – газорідинна хроматографія
- ДП – державне підприємство
- ДФУ – Державна фармакопея України
- ЄФ – Європейська фармакопея
- ЛПВЩ – ліпопротеїни високої щільності;
- ЛПНЩ – ліпопротеїни низької щільності
- ЛР – лікарська рослина
- ЛРС – лікарська рослинна сировина
- МКЯ – методики контролю якості
- МПО – мієлопероксидаза
- МС – мас-спектрометрія
- НД – нормативна документація
- ПХ – паперова хроматографія
- СП – спільне підприємство
- ТАГ – триацилгліцерол
- ТШХ – тонкошарова хроматографія
- УФ-спектр – ультрафіолетовий спектр
- ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок
- ХС-ЛПВЩ – холестерол ліпопротеїнів високої щільності
- ХС-ЛПНЩ – холестерол ліпопротеїнів низької щільності
- СВ – цитохалазин В
- fMLP – *n*-форміл-метіоніл-лейцил-фенілаланін
- FRAP – здатність знижувати антиоксидантну дію заліза
- HPLC-DAD-MS – високоефективна рідинна хроматографія з мас-детектором
- ORAC – здатність поглинання кисневих радикалів
- ТЕ – тролокс ( 6-гідрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбонова кислота )
- ТЕАС – еквівалентна антиоксидантна здатність тролоксу

## ВСТУП

### Обґрунтування вибору теми дослідження

Лохина високоросла (*Vaccinium corymbosum* L.) родини Вересові (*Ericaceae*) – перспективна для України ягідна культура. У Європу вона потрапила з Північної Америки і вже здобула популярність у Франції, Нідерландах, Польщі, РФ та Білорусі. В Україні перші насадження були закладені в ДП «Рейлін» і СП «Брусвяна» [60]. Україна вийшла на друге місце у світі після Перу за темпами закладення нових плантацій лохини. За експертними даними, в Україні у 2018 році було закладено від 0,7 тис. до 1 тис. га нових плантацій лохини. За останні 12 років лохина з маловідомої перетворилася на одну з основних ягідних культур. У структурі комерційних площ зараз лохина посідає 3 місце після чорної смородини і суниці садової (полуниці). На першому місці за площами під лохиною в Україні знаходиться Житомирська область, потім Волинь і Київська область, при цьому експорт плодів лохини з України може зрости до 20 тис. тонн крізь 5 років [16], що свідчить про більш ніж достатню сировинну базу *Vaccinium corymbosum*.

Плоди лохини високорослої (*Vaccinium corymbosum fructus*) широко застосовуються в медицині, фармації та харчовій промисловості [164, 172, 202]. Із плодів готують соки, компоти, вина, варення, желе та муси. Плоди використовують у свіжому, замороженому або сушеному вигляді [9]. Листя та плоди використовують для приготування чаїв [91]. Окрім харчової промисловості, плоди лохини є перспективним джерелом БАР для застосування у фармацевтичній та медичній промисловості, тому їх дослідження є актуальним завданням.

В Україні плоди лохини використовують тільки у вигляді дієтичних та функціональних добавок імпортного виробництва [30, 38] і немає жодного вітчизняного стандартизованого монопрепарату. Засіб «Голубітокс» є концентратом, виготовленим з плодів та листя лохини [9, 61]. Відвар листя лохини в народній медицині використовують у разі діабету, хвороб серця,

анемії, ентеритів, гастритів та як проносний засіб. За кордоном застосовують препарати з екстрактами плодів лохини для поліпшення зору [9, 40]. Відвари із плодів лохини застосовують як в'яжучий засіб у разі колітів, ентероколітів та діареї. В'яжуча дія зумовлена дубильними речовинами та флавоноїдами [9, 174]. З огляду на вищезазначене, фітохімічне та фармакологічне дослідження плодів і листя лохини високорослої для створення нових дієтичних добавок та лікарських засобів є актуальним завданням.

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

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

### **Мета і завдання дослідження**

Метою дисертаційної роботи стало фармакогностичне вивчення плодів та листя лохини високорослої, одержання, фітохімічне дослідження та стандартизація сухих екстрактів із сировини для створення нових лікарських засобів з цукрознижувальною та протизапальною активністю.

Для досягнення мети необхідно вирішити такі завдання:

- узагальнити дані наукових літературних першоджерел щодо сучасного стану дослідження лохини високорослої, а саме: ботанічної характеристики, географічного поширення, сировинних запасів, культивування, заготівлі, сушіння, вивчення хімічного складу, застосування в медицині та фармації;
- провести дослідження якісного складу і кількісного вмісту основних груп БАР у плодах, стеблах та листі лохини високорослої;
- розробити схеми одержання сухих екстрактів з листя та плодів лохини високорослої;

- визначити якісний склад та кількісний вміст БАР в екстрактах з листя та плодів лохини високорослої;
- розробити проєкт МКЯ «Лохини високорослої листя», провести дослідження на відповідність показникам якості сировини за розробленими вимогами;
- розробити проєкти МКЯ та провести стандартизацію екстрактів з листя лохини високорослої;
- підтвердити ефективність отриманих екстрактів з листя лохини високорослої шляхом вивчення їх протимікробної, протизапальної, гіпоглікемічної та гіполіпідемічної активності.

*Об'єкт дослідження* – комплексне фармакогностичне вивчення плодів, стебел та листя лохини високорослої, фітохімічне дослідження сухих екстрактів з листя, соку та шроту плодів лохини високорослої та їх стандартизація.

*Предмет дослідження:* виявлення, ідентифікація БАР у плодах, листі та стеблах лохини високорослої і сухих екстрактах на їх основі; спосіб одержання нових екстрактів з листя лохини високорослої; параметри стандартизації листя та сухих екстрактів з листя лохини високорослої; їх протимікробна, протизапальна, гіпоглікемічна та гіполіпідемічна активність.

### **Методи дослідження**

Якісний склад та кількісний вміст основних груп БАР визначали за фармакопейними методами: паперовою (ПХ) і тонкошаровою хроматографією (ТШХ), гравіметричними та спектрофотометричними методами, високоефективною рідинною хроматографією з УФ-детектором (ВЕРХ) та МС-детектором (HPLC-DAD-MS), хромато-мас-спектрометрією (ГХ-МС) та атомно-абсорбційною спектрометрією, спектрометрією у видимій та УФ-ділянках спектра (СФ); макро- та мікроскопічні, технологічні дослідження; фармакологічне вивчення проводили *in vivo* та *in vitro* з використанням стандартних методик. Антибактеріальну активність вивчали методом дифузії в агар. Дослідження протизапальної активності проводили

на шурів на моделі карагенінового набряку та *in vitro*. Обробку результатів експериментальних досліджень проводили статистичними методами з використанням персонального комп'ютера за програмою Microsoft Excel 2016.

### **Наукова новизна отриманих результатів**

Уперше проведено порівняльне дослідження якісного складу і кількісного вмісту БАР (цукрів, амінокислот, карбонових кислот, терпенів та терпеноїдів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, простих фенолів та дубильних речовин) плодів, стебел та листя лохини високорослої. Установлено їх вміст у сировині вітчизняних зразків лохини високорослої.

В плодах, стеблах та листях лохини високорослої було виявлено 14 мікро- та макроелементів, з домінуванням кальцію, калію, натрію, силіцію, магнію та цинку. Ідентифіковано 17 амінокислот, з яких доміантними є: лейцин, аргінін, аспарагінова та глютамінова кислоти. Виявлено прості феноли: пірогалол та арбутин; похідні гідроксикоричної кислоти: хлорогенову, кофейну, ферулову, *n*-кумарову; 11 сполук флавоноїдної природи, з-поміж яких ідентифіковано: рутин, кверцетин, кемпферол, кемпферол-3-О-глюкозид; дубильні речовини конденсованої групи. Ідентифіковано 37 карбонових кислот; 65 сполук легкої фракції, доміантними з яких були: 3-(2,6,6-триметилциклогекс-1-еніл)проп-2-еналь, сквален, нонакозан, вітиспіран, гексакозан, 4-вініл-2-метоксифенол, гептакозан, *n*-мент-1-ен-8-ол, 1-(1,1-диметл-2,3-дигідро-1-*n*-інден-4-іл)етанон та трикозан. У плодах лохини установлено вміст: вільних та зв'язаних цукрів; 14 антоціанів, з-поміж яких доміантними є: мальвідин-3-О-глюкозиду, петуїдин-3-О-глюкозиду, дельфінідин-3-О-глюкозиду. Установлено, що кількісний вміст фенольних сполук у листях лохини високорослої був більшим, ніж у плодах та стеблах, що вказує на доцільність використання для подальшого дослідження саме листя лохини високорослої.

Установлено морфологічні, анатомічні ознаки листя та стебел лохини високорослої.

Проведено вивчення динаміки накопичення фітомаси та БАР: фенольних сполук, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, антоціанів та поліфенолів у плодах, стеблах та листях лохини високорослої залежно від стадії вегетації. Установлено оптимальні терміни заготівлі.

Уперше розроблено проєкт МКЯ «Лохини високорослої листя». Стандартизацію проведено на 6 серіях листя лохини високорослої відповідно до розроблених вимог.

Установлено, що 50% етиловий спирт є оптимальним екстрагентом для одержання екстрактів на основі фенольних сполук листя лохини високорослої.

Уперше розроблено схеми одержання сухого екстракту з листя лохини високорослої та модифікованих аргініном на його основі сухих екстрактів. Новизну досліджень захищено патентом України на корисну модель № 145107.

Уперше визначено якісний склад та кількісний вміст гідроксикоричних кислот та флавоноїдів у сухих екстрактах з листя лохини високорослої.

Уперше проведено порівняльне дослідження фенольних сполук модифікованого екстракту та екстракту з листя лохини, підтверджено утворення кон'югатів кофеїлхіної кислоти та флавоноїдів з аргініном.

Установлено, що сухі екстракти з плодів та листя лохини високорослої виявляють виражену протизапальну, гіпоглікемічну та гіполіпідемічну активність.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Результати проведеного комплексного фармакогностичного дослідження плодів, стебел та листя лохини високорослої дозволили одержати сухі екстракти «Вацінол» і «Лохарин» з листя та екстракти з плодів, соку та шроту плодів лохини високорослої для розширення номенклатури лікарських засобів з протимікробною, протизапальною, гіпоглікемічною та гіполіпідемічною активністю і теоритичних знань про хімічний склад і застосування сировини лохини високорослої.



Розроблені схеми одержання сухих екстрактів з листя лохини «Вацінол» та «Лохарин» апробовано на обладнанні ТОВ ««КФК» Грін фарм Косметик». Технологічні схеми та проекти МКЯ на розроблені субстанції передано для подальшого упровадження у виробництво.

Результати досліджень упроваджено у навчальний процес і науково-дослідну роботу низки ЗВО, а саме: кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету; фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету; кафедри фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії Київського медичного університету; кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»; кафедри фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету.

### **Особистий внесок здобувача**

Здобувачем самостійно вивчені, проаналізовані та узагальнені дані літератури з питань, що стосуються теми дисертації, виконана експериментальна частина дисертаційної роботи, проведена графічна та статистична обробка одержаних результатів, написані всі розділи дисертаційної роботи та сформульовані висновки. Постанова мети і завдань, обговорення результатів проведені разом з науковим керівником.

Наукові праці опубліковані у співавторстві з О. М. Кошовим, А. М. Комісаренком, І. В. Кіреєвим, Н. В. Бородіною, В. В. Король, А. Г. Сербіним, Т. М. Гонтовою, О. В. Криворучко, Г. Б. Кравченко, А. Л. Загайком, О. С. Пешковою, Ю. О. Костенко, А. В. Гудзенком, О. Красильниковою, О. О. Михайленко, С. Границею, Г. Димовою, І. Желевим, Цон-Лонг Хваном, Мен-Хуа Ченом. Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить

фактичний матеріал і основний творчий доробок.

### **Апробація результатів дисертації**

Основні положення роботи викладено та обговорено на таких науково-практичних заходах різного рівня: I науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку» (Харків, 2016 р.); VIII Національному з'їзді фармацевтів (Харків, 2016 р.); III науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту» (Харків, 2016 р.); I Міжнародна науково-практична конференція «Ліки – людині: Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2017 р.); XIV з'їзд Українського ботанічного товариства (Київ, 2017 р.); III Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 2018 р.); науково-практична дистанційна міжнародна конференція «Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження» (Івано-Франківськ, 2020 р.); VII науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2020 р.); International e-conference contemporary pharmacy: issues, challenges and expectations (Каунас, 2020 р.); XXVIII міжнародна науково-практична конференція молодих учених та студентів, присвяченої 150-річчю з дня народження М. О. Валяшка «*Topical issues of new medicines development*»(Харків, 2021 р).

### **Обсяг і структура дисертації**

Дисертації викладена на 275 сторінках, складається з анотації, вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 5 додатків. Робота ілюстрована 38 таблицями та 51 рисунками. Список використаних джерел містить 199 найменувань, з них 63 кирилицею та 136 латиницею.

# РОЗДІЛ 1

## БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД І ЗАСТОСУВАННЯ В МЕДИЦИНІ ЛОХИНИ ВИСОКОРОСЛОЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Вакциніум (*Vaccinium L.*) – рід вічнозелених або листопадних напівчагарників та чагарників, зрідка дерево або ліана. Більшість видів походять із Північної півкулі, але деякі види поширені у Південній півкулі. Рід *Vaccinium* входить до триби Вакцинієві (*Vaccinieae*) підродини Вакцинієві, або Брусничні (*Vaccinioideae*), родини Вересові (*Ericaceae Juss.*) [2].

Рід *Vaccinium*, за сучасними уявленнями, ділиться на два підроди – власне Вакциніум (*subgen. Vaccinium*) та Журавлина (*subgen. Oxycoccus*). До роду *Vaccinium* належать: лохина звичайна, лохина високоросла, чорниця звичайна, брусниця звичайна, журавлина п'ятипелюсткова та ін. Плоди цих видів їстівні і мають низку цінних властивостей. Деякі види, зокрема лохина високоросла культивуються у промисловому масштабі заради їстівних плодів, у тому числі [11, 25, 29, 34, 51, 50, 55, 59].

### 1.1 Ботанічна характеристика лохини високорослої

Лохина високоросла (*Vaccinium corymbosum L.*), або ягідник щитковий, або вакциніум щитковий; народні назви: боровиця, яфіра, буяхи.

Лохина високоросла – це багаторічний, повільно зростаючий, листопадний, однодомний прямостоячий чагарник з кількома дуже розгалуженими стеблами діаметром 3-4 см і більше, що відходять від штамбу заввишки 1-3,5 м. Діаметр крони становить близько 2 м [7, 36]. Стебла з буруватою або темно-сірою корою, прямі, округлі, циліндричні, молоді стебла зелені, за рахунок нових верхівкових пагонів щорічно збільшуються. Із часом більш старі стебла відмирають та замінюються молодими, що

відростають від кореневої шийки. Молоді стебла блискучі або матові, злегка ребристі. Забарвлення їх варіює від світло-коричневого до яскраво-зеленого. Вегетативний ріст починається навесні з набрякання бруньок.

Коренева система розташовується в шарі ґрунту глибиною 40 см, густо розгалужена, мичкувата, не має корневих волосків. Корені починають рости навесні, що часто збігається з набуханням бруньок, коли температура ґрунту сягає 5 °С, зростуть до кінця весни, а потім їх ріст припиняється. Восени ріст коренів відновлюється у період від збору врожаю до листопаду, поки температура не знизиться до 5°С.

Квіткові бруньки набагато більші за ростові, сферичної форми, кількість їх на одному пагоні не перевищує 4, кожна з яких містить від 5 до 10 потенційних квіток. Ростові бруньки довгасті, загострені, дрібні, розташовані по всій довжині пагона та у пазухах листків [50].

Листя чергове, голе або сизе, гладке, просте, блискуче, цілокрає, прилегле, на коротких черешках, від еліптичного до еліптично-ланцетного, 4-8 см завдовжки і 1,4-4 см завширшки, з гострою верхівкою і клиноподібною основою (рис. 1.1). Зверху блакитнувато-темно-зелене, знизу світліше, сизо-зелене з дуже виступними жилками; молоде листя – яскраво-зелене; восени листя набуває яскраво-червоного кольору.



Рис. 1.1 Лохина високоросла (*Vaccinium corymbosum* L.)

Квітки дзвоникуваті, зазвичай білі або від блідо-рожевого до червонуватого кольору, розташовані по дві-три (зрідка по одній), суцвіття термінальні або китицеподібні пазушні (рис. 1.2). Приквітники горбкуваті, чашечка 4-5-зубчаста, частинки чашечки дельтоподібноовальні 0,5-2 мм завдовжки, зелені, віночок урцеолатний, завдовжки 8-1 мм, завширшки 4-6 мм, яйцеподібно-гличикоподібний, із 4-5 відігнутими назовні зубцями, зазвичай білого або білувато-рожевого кольору. Цвіте у травні.



Рис. 1.2 Квітки лохини високорослої

Плоди – овальні або грушоподібні ягоди, соковиті, світло-блакитні, блакитні або темно-блакитні, дозрілі із сизим нальотом (рис. 1.3), 5-10 мм у діаметрі, солодкі і соковиті, містять кілька дрібних насінин 1-2 мм завдовжки. У дозрілих плодів лохини зберігається чашечка.



Рис. 1.3 Плоди лохини високорослої

Смак плодів – солодкий; м'якоть плоду біла, щільна або середньої

щільності, плоди не бруднять руки, як у чорниці. З куща можна зібрати до 10 літрів плодів [34].

Під час мікроскопічного дослідження на поздовжньому розрізі плоду (рис. 1.4, 1) спостерегаються насіння (se), видимі поглиблення з нектарними клітинами (показані стрілками) та клітини квітконіжки (показані наконечниками стріл). Нектарний клітинний рубець має п'ятикутну зірчасту форму або форму 5-бічного багатокутника (рис. 1.4, 2-3). На поверхні плоду є віскочий наліт, який досить легко стирається. Щільний наліт сформований винятково з аморфного воску, що виникає в результаті злиття кристалів. Між вкритими віском фрагментами є мережа мікротріщин, що мають гладкий шар кутикули і рідко розподілені структури кристалічного воску [65, 183].

На поперечному зрізі плоду після оброблення розчином  $\text{FeCl}_3$  виявляють дрібні овальні накопичення і/або зернисті клітини з танінами, які мають інтенсивне коричневе забарвлення (рис. 1.4, 4), темну шкірку, клітини епідерми, гіподерми, судинні пучки (рис. 1.4, 5). Під час обробки дихроматом калію були також виявлені таніни та поліфенольні сполуки в клітинах епідерми і гіподерми, а також у клітинах судинного пучка (vd) і клітинах дозріваючого насіння (рис. 1.4, 4, 5) [66].

Плоди лохини мають зовнішній шар оплодня, що складається з епідерми, утвореної одним шаром периклінальних сплюснутих клітин, вкритих тонким шаром кутикули, що забарвлюється розчином Судану III в оранжевий колір, і безбарвного шару епікутикулярного воску та клітин гіподерми з хлоропластами (рис. 1.4, 6). Після обробки поздовжнього зрізу плоду розчином  $\text{FeCl}_3$  спостерігають темну шкірку клітин епідерми і гіподерми, судинні пучки і насіння (рис. 1.4, 4, 5, 10). Розчин  $\text{FeCl}_3$  забарвлює фенольні сполуки в шкірці плоду в темно-коричневий колір [65, 66].

Мікроскопічний аналіз показав наявність антоціанового пігменту, що забезпечує зрілість плодів з інтенсивним темно-синім кольором у вакуолях життєздатних протопластів клітин шкірки плоду (епідерми і гіподерми) (рис. 1.4, 7-9). Крім того, вакуолі епідермальних клітин були характерного,



різноманітного кольору від світло-рожевого до темно-бордового і майже чорного.

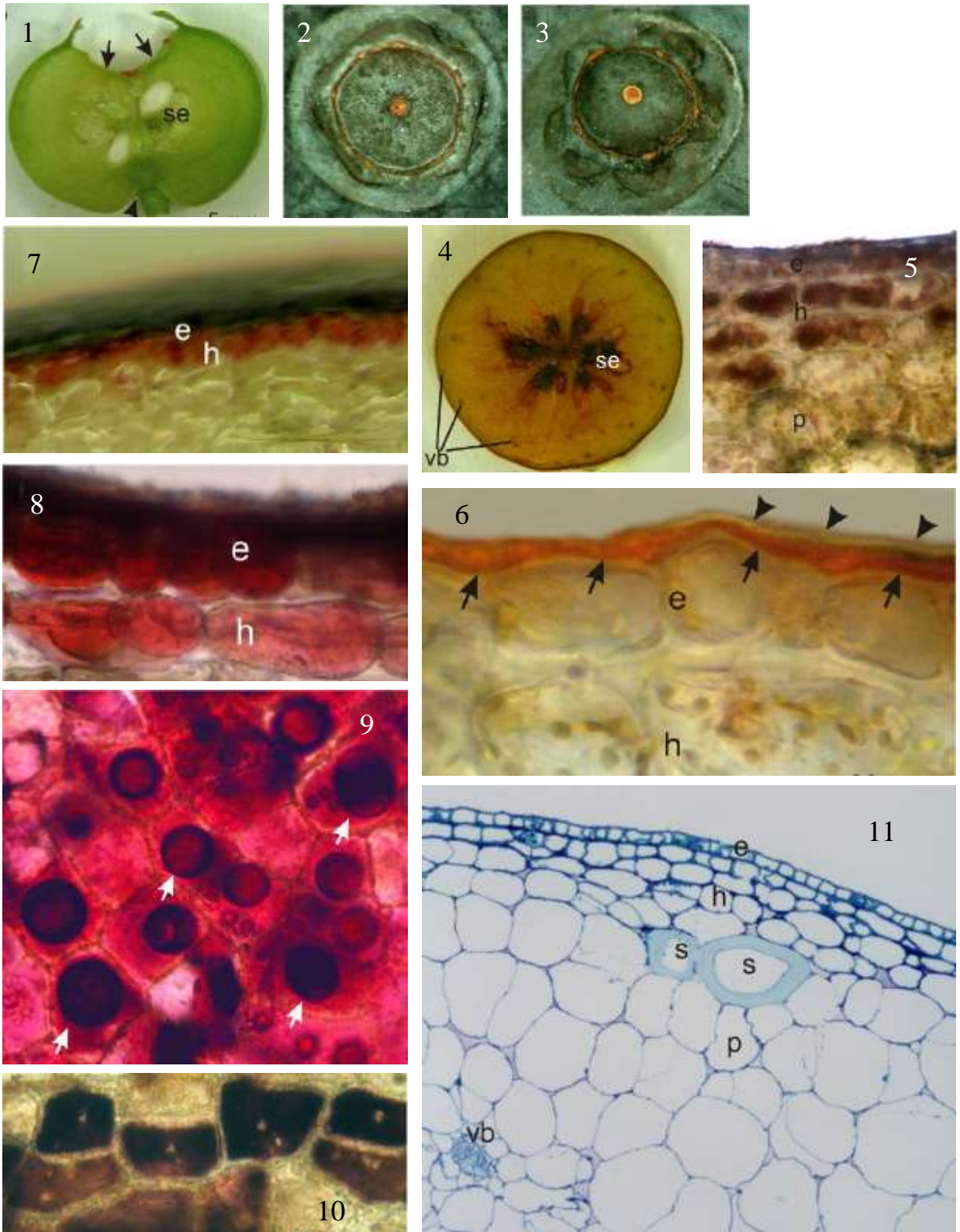


Рис. 1.4 Мікроскопічна будова плоду лохини: 1) поздовжній зріз; 2-3) поперечний зріз верхньої частини плоду; 4-5) поперечний зріз плоду; 6-8) фрагменти зрізів шкірки плоду; 9-10) вид клітин епідерми; 11) поперечний

зрізі навколо плодня; e – епідерма; h – гіподерма; p – паренхіма; з – склереїди; vb – судинні пучки; se – насіння.

У плодах антоціани також містяться в клітинному соці і мають форму дрібних і великих овальних глобоїдів (позначені стрілками) (рис. 1.4, 9). Товщина зовнішніх стінок епідермальних клітин однакова (рис. 1.4, 11). Гіподерма складається з двох шарів периклінальних сплюснутих клітин з однаковою товщиною клітинної стінки, яка містить численні хлоропласти, як і клітини паренхіми (рис. 1.4, 11). Між клітинами периферичних шарів паренхіми, що прилягає до гіподерми, знаходяться склереїди (рис. 1.4, 11). Склереїди мають різноманітну форму і розмір, які зменшуються у напрямку до центра плоду [66].

Насіння лохини високорослої численне, загострене, у формі напівмісяця, яскраво-коричневе, із сітчастою оболонкою. За формою насіння має округлу, іноді п'ятигранну, сплюснуту форму.

На поперечному зрізі насіння видно, що оболонка складається зі склеренхіматичної тканини, з клітин із дуже товстими стінками, всередині знаходяться клітини з потовщеними стінками ендосперма (рис. 1.5), що дає можливість насінню залишатися в ґрунті кілька років без проростання.

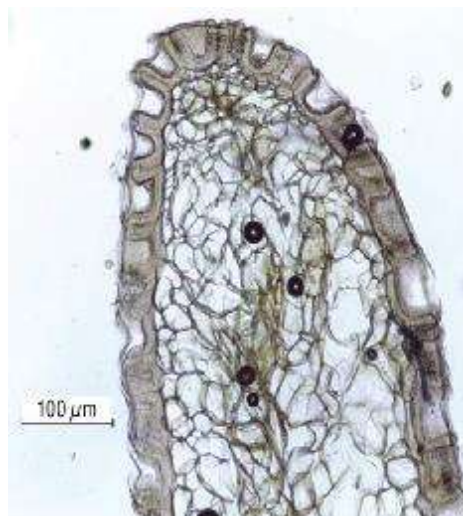


Рис. 1.5 Поперечний зріз насіння лохини

Додавання розчинів Люголя для виявлення крохмалю та Судану III дає позитивну реакцію на присутність ліпідів в ендоспермі (рис. 1.6), розчин



тетразоліну змінює колір насіння на червоний (рис. 1.7) у 50% випадків. Забарвлення свідчить про життєздатність насіння [154].

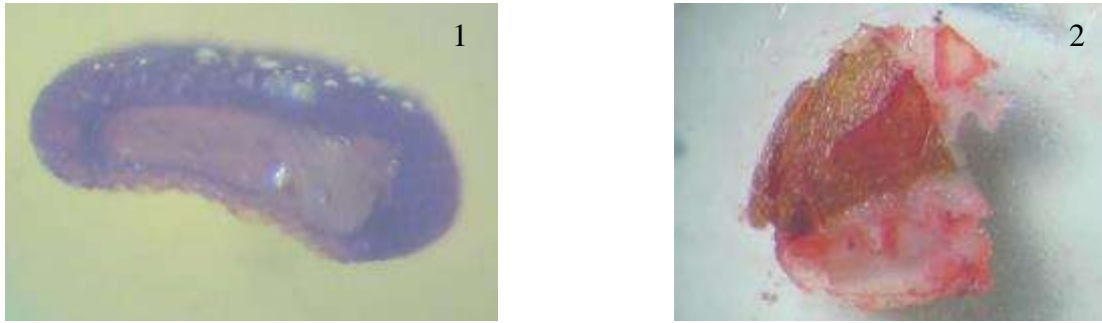


Рис. 1.6 Ділянки насіння після обробки: 1) розчин Люголя; 2) розчин Судану III



Рис. 1.7 Зрізи насіння після обробки розчином тетразоліну: 1) позитивна реакція; 2) негативна реакція

1.2 Ареали, ресурсні запаси та уведення в культуру лохини високорослої

У природі зростає на болотистих місцях, у густих лісових хащах. Природний ареал лохини – схід Канади (провінції Нова Шотландія, Онтаріо, Нью-Брансвік, Квебек) та США (від штату Мен на півночі до Південної Кароліни і Алабами на півдні і Вісконсіну на заході) [2, 181]. У дикорослому вигляді плоди лохини здавен використовуються місцевими жителями – індіанцями. Вони добре зберігаються у сухому вигляді та є важливою складовою харчування протягом зимових місяців для місцевого населення, забезпечуючи необхідну кількість мінеральних речовин, вуглеводів та вітамінів. Полди та інші частини лохини також використовувалися як дієві засоби для лікування кашлю і застуди [144, 194].

Плоди лохини високорослої вирощують у східній частині Північної Америки, від Нової Шотландії і Онтаріо на півдні до Алабами і на заході до Вісконсіна. Британська Колумбія – один із найпродуктивніших регіонів світу, який є найбільшим канадським виробником лохини високорослої. Мічиган – провідний штат з вирощування лохини високорослої у США (32 % споживання плодів). Великі обсяги лохини високорослої вирощують у південних штатах Флорида, Джорджія і Північна Кароліна. За межами свого природного ареалу вона була завезена до Британської Колумбії, штат Вашингтон, а також до Великобританії, Європи, Росії, України, Південної Африки, Японії, Кореї, Новій Зеландії, Австралії, Чилі, Аргентини і Уругваю [130]. В Україні поширена на півночі правобережного Полісся, у Карпатах, у західному та центральному Поліссі, зрідка у лівобережному. Райони заготівлі – північна частина Чернігівської та Житомирської областей [112, 132, 194].

Найбільше чагарників лохини – у тайгових і тундрових лісах Уралу, на сході Сибіру, високо у горах Кавказу, на околицях Санкт-Петербурга та області, у Польщі, Фінляндії, Швеції, Білорусі та Литві [44, 181].

У природних умовах лохина високоросла зростає на відкритих заболочених лісових галявинах, а також на підвищеннях серед боліт, тобто там, де немає застою води. Під час затоплення на декілька днів насадження у період вегетації рослини гинуть. На піщаних ґрунтах лохина страждає від нестачі вологи, якщо кілька днів поспіль тримається сонячна спекотна погода. Тривала засуха (понад два тижні) призводить до загибелі лохини високорослої. Оптимальна кислотність ґрунту для лохини високорослої знаходиться у межах  $\text{pH} = 3,4-4,8$  [44, 77, 94, 112].

Лохина високоросла майже не вражається цвіллю та паразитами, тому на спеціальних плантаціях її навіть не обробляють хімікатами. У разі гарного догляду з  $1 \text{ м}^2$  можна зібрати до 1 кг плодів, а розмір плодів може бути таким, як у вишні. Плодоносити кущі лохини високорослої починають із 3-4 – річного віку. Лохина високоросла найкраще росте та плодоносить за

вологості ґрунту 60-70 % від повної польової вологоємності [7, 113].

Плоди лохини високорослої найкраще ростуть у лісових або відкритих місцях з вологими, кислими, добре аерованими, багатими на органічні речовини ґрунтами. Часто трапляються на відносно низьких висотах по краях боліт; уздовж піщаних околиць озер, ставків та струмків і на відкритих ділянках вологих лісових масивів. Рослини можуть витримувати тривалі періоди повіней. Рослині потрібно близько 100-400 годин за температури нижче 5-7 °С для виходу з періоду покою, це вимагає прохолодних ночей в період дозрівання плодів. Найчастіше трапляються на відкритому сонці або в напівтіні [44, 130].

Для вирощування лохини високорослої потрібна більш висока температура, ніж для лохини болотної, так бруньки та пагони не промерзають при -6 °С. Деякі сорти з Північної Америки підмерзають лише за температури -20 °С [124].

Лохина високоросла є відносно новою ягідною культурою, на початку ІVІІ століття перші переселенці почали прибувати до Північної Америки, проте їх спроби інтродукції традиційних для Європи культур були не завжди вдалим.

У 1908 р. доктор Фредерік Ковілл зі співробітниками Міністерства сільського господарства США (USDA) почав дослідження дикорослої лохини, із 1911 р. протягом майже двох десятиліть у результаті були відібрані сотні дикорослих форм, які стали основою для створення перших комерційних сортів. Селекційна робота, розпочата у США на початку ХХ століття з вирощування лохини високорослої, на сьогодні зробила цю рослину однією з основних торговельних ягідних культур у світі [159].

Доктор Ковілл вивів 15 перших сортів лохини, включаючи Блукроп (*Bluecrop*) – найпоширеніший нараз сорт у комерційному виробництві. Із 1937 р. роботу із селекції та сортодослідження сортів лохини в межах USDA продовжив Джордж Дарроу, а з 1965 року – Арлен Дрейпер, який вивів відомі сорти Дюке (*Duke*) і Елліотт (*Elliott*) [103].

У 50-х роках ХХ століття у Мічиганському державному університеті селекціонер Стенлі Джонсон проводив роботу зі створення холодостійких сортів лохини. Ця програма селекції була припинена та відновлена доктором Джимом Хенкоком у 1990-х рр., він вивів нові перспективні сорти Аврора (*Aurora*), Ліберті (*Liberty*) та Дрейпер (*Draper*) [159]. За межами США селекція лохини високорослої проводилася в Новій Зеландії, Австралії, Польщі та Німеччині. З генетичного матеріалу, одержаного з США, в 1960-х рр. австралійський селекціонер Рідлі Белл отримав важливий комерційний сорт Бригіта Блу (*Brigitta Blue*), а новозеландський селекціонер Нарандра Пател – Нуї (*Nui*), Пуру (*Puru*) та Река (*Reka*). Німецький селекціонер Вальтер Херманн з матеріалу, наданого доктором Ковіллом, отримав сорти Блаувайс-Голдтраубе (*Blauweiss-Goldtraube*) та Блаувайс-Цуккертраубе (*Blauweiss-Zuckertraube*) [103]. Польська селекційна програма лохини почалася у Варшавському університеті природничих наук ще у 1975 р. – перший сорт Боніфасій (*Bonifacy*) був виведений під керівництвом доктора Казимира Плижки [169].

Вирощування лохини високорослої як ягідної культури динамічно розвивається особливо в теплих помірних, субтропічних і тропічних регіонах світу [178, 186]. Станом на 2017 р. площа насаджень лохини високорослої у світі становила 341 тис. га. Промислове вирощування лохини високорослої в Україні розпочалось лише у 2007 р., однак станом на 2015 р. площа цієї культури вже становила 700-750 га. Урожайність плодів лохини становить близько 7,4-7,6 т/га. Основними регіонами промислового вирощування лохини високорослої в Україні є Івано-Франківська, Волинська, Вінницька, Житомирська та Київська області. Лохина високоросла найбільше потерпає від грибкових хвороб, таких, як засихання гілок (фомопсис), стебла, моноліоз плодів, сіра гниль (ботритис), фізалспороз, біла (септоріоз) та подвійна плямистість [16].

Крім грибкових хвороб, лохину високорослу іноді вражають мікроплазмові або вірусні захворювання: карликовість, мозаїка, нитчастість

гілок, червона кільцева та некротична плямистість, від яких неможливо вилікувати рослину, доводиться видаляти та спалювати хворі екземпляри.

### 1.3 Заготівля, культивування та сушіння сировини лохини високорослої

Листя та плоди лохини високорослої є сировиною для виготовлення лікарських засобів. Зрілі плоди заготовляють у липні – серпні, сушать за температури 40 °С у сушарках або заморожують.

Листя заготовлюють після плодоношення та під час осіннього обрізання кущів. Своєчасне обрізання сприяє більш ранньому цвітінню, зменшує пошкодження взимку. Старі пагони мають щорічно замінюватись новими. Омолоджувати слід вже 3-4-річні кущі. Обрізають лохину ранньою весною перед набуханням бруньок або восени після листопаду. Вирізають старі гілки і верхні частини стебел, що не дають добрих приростів, та видаляють тонкі розгалужені пагони, навіть якщо на них є численні квіткові бруньки, а також стебла, що лежать на землі. Має залишатися як мінімум 3-5 наймолодших (однорічних) пагонів, що відходять від основи куща. Велике обрізання проводиться на кущах, яким по 15-20 років. Зрізані пагони рослини в'яжуть у невеликі пучки і розвішують для сушіння в провітрюваному приміщенні або в тіні на відкритому повітрі. Після висушування пучки обмолочують, а отримане таким чином листя звільняють від домішок і зберігають у закритих банках або бляшанках у сухому приміщенні з гарною вентиляцією. Вихід сухого листя становить 7-8% [34].

Умови сушіння значною мірою впливають на якість сировини. Так, загальна кількість антоціанів, виявлених у свіжих плодах *V. corymbosum*, становить 7,2 мг/г сухої сировини у перерахунку на ціанідин-3О-рутинозид. Порівняно зі свіжою сировиною плодів лохини загальна кількість антоціанів у висушених у сушильних шафах плодах знижується до 4,3 мг/г (втрата складає 41 %), тоді як у разі сушіння у вакуум-сушильних шафах кількість антоціанів складає 3,7 мг/г (втрата – 49 %). Вакуумне сушіння більше

впливає на втрату антоціанів, ніж просте термічне сушіння. Навпаки, заморожені зразки не показали будь-якого значного зниження вмісту антоціанів протягом 3 місяців зберігання за  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Дослідження антиоксидантної активності екстрактів антоціанів із лохини високорослої показало, що суттєвої різниці між свіжою, сушеною та замороженою лохиною немає [133].

Плоди *V. corymbosum* сушили з використанням таких технологій, як мікрохвильовий вакуум, гаряче повітря та сублімація. Агліконові сполуки сухих плодів лохини, такі, як елагова кислота, кверцетин і кемпферол, мали більш високий вміст, ніж флоридзин, R- і S-нарингин. Комбіноване сушіння лохини високорослої (заморожування, гаряче повітря та сушіння за допомогою мікрохвильового вакууму) забезпечувало більш високий вміст загальної кількості поліфенолів і антоціанів. Однак заморожені плоди лохини високорослої мали вищу антиоксидантну активність і вищий вміст окремих поліфенолів, ніж у разі сушіння гарячим повітрям, тобто поживні властивості плодів можуть бути збережені краще [139].

Рівень антоціанів у всіх сортах лохини високорослої збільшується, тоді як кількість флавоноїдів і гідроксикоричних кислот знижується залежно від часу збору, заготівлі сировини від незрілої зеленої до стиглої блакитної [77].

Ван і Чен виявили, що обробка плодів лохини алілізотіоціанатом ефективна для підтримки більшої кількості цукрів і органічних кислот під час зберігання за  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Однак алілізотіоціанат знижує активність антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, гваяколпероксидази, глутатіонпероксидази, аскорбатпероксидази, дегідроаскорбатредуктази, моноаскорбатредуктази і глутатіонредуктази), аскорбату і глутатіону. Застосування алілізотіоціанату також знижувало кількість фенольних сполук (хлорогенової кислоти, мірицетин-3-арабінозиду, кверцетин-3-галактозиду, кверцетин-3-арабінозиду і кемпферол-3-глюкозиду) і антоціанів (дельфінідин-3-галактозиду, дельфінідин-3-глюкозиду, дельфінідин-3-арабінозиду, петунідин-3-галактозиду, петунідин-3-глюкозиду, петунідин-3-

арабінозиду, мальвідин-3-галактозиду і мальвідин-3-арабінозиду) у разі зберігання за 10 °С. Результати цього дослідження показали, що алілізотіоціанат не сприяє розвитку антиоксидантних властивостей, але підтримує якість і термін зберігання плодів лохини високорослої [190].

#### 1.4 Хімічний склад лохини високорослої

Плоди лохини високорослої містять флавоноїди (антоціани, флавоноли і проантоціанідини), похідні гідроксикоричних кислот і стильбенів, тритерпеноїди (урсолова кислота та її складні ефіри) [145, 159].

Харчова цінність свіжих плодів лохини високорослої на 100 г становить: енергетична цінність – 240 ккал (57 кДж), вода – 84,21 г, білок – 0,74 г, загальні ліпіди (жири) – 0,33 г, зола – 0,24 г, вуглеводи – 14,49 г; клітковина (загальна дієтична) – 2,4 г; загальні цукри – 9,96 г: сахароза – 0,11 г, глюкоза – 4,88 г, фруктоза – 4,97 г; крохмаль – 0,03 г; мінеральні речовини: кальцій – 6 мг, ферум – 0,28 мг, магній – 6 мг, фосфор – 12 мг, калій – 77 мг, натрій – 1 мг, цинк – 0,16 мг, купрум – 0,057 мг, монган – 0,336 мг, селен – 0,1 мг; вітаміни: вітамін С (аскорбінова кислота) – 9,7 мг, тіамін – 0,037 мг, рибофлавін – 0,041 мг, ніацин – 0,418 мг, пантотенова кислота – 0,124 мг, вітамін В<sub>6</sub> – 0,052 мг, фолієва кислота – 6 мг, холін – 6 мг, бетаїн – 0,2 мг, вітамін А – 3 мг, вітамін Е – 0,57 мг, β-токоферол – 0,01 мг, γ-токоферол – 0,36 мг, δ-токоферол – 0,03 мг, вітамін К – 19,3 мг, β-каротин – 32 мг, лютеїн + зеаксантин – 80 мг; органічні кислоти (яблучна, бензойна, лимонна, щавлева) – 0,035 г; жирні кислоти (насичені): пальмітинова (16:0) – 0,028 г, стеаринова (18:0) – 0,017 г, арахінова (19:0) – 0,027 г, лігноцеринова (23:0) – 0,032 г; жирні кислоти (ненасичені): пальмітолеїнова (16:1) – 0,002 г, олеїнова (18:1) – 0,047 г; лінолева (18:2) – 0,088-0,113 г, ліноленова (18:3) – 0,058 г, докозагексанова (21:7) – 0,007 г; амінокислоти: триптофан – 0,003 г, треонін – 0,020 г, ізолейцин – 0,023 г, лейцин – 0,044 г, лізин – 0,013 г, метіонін – 0,012 г, цистин – 0,008 г, фенілаланін – 0,026 г, тирозин – 0,009 г, валін – 0,031 г, аргінін – 0,037 г, гістидин – 0,011 г, аланін – 0,031 г, аспарагінова

кислота – 0,057 г, глютамінова кислота – 0,091 г, гліцин – 0,031 г, пролін – 0,028 г і серин – 0,022 г; фенолкарбонові кислоти та фенольні глікозиди (арбутин, протокатехова та сириньова кислоти) – 0,137 г; катехіни (епікатехін, епігалокатехін) – 0,022 г; флавоноїди (кверцетин, мірицетин, рутин, ізокверцетин) – 0,022 г; антоціани (дельфінідин, мальвідин) – 0,012 г; дубильні речовини – 0,046 г [185]. Було виявлено, що глюкоза і фруктоза є переважальними запасальними цукрами в плодах *V. corymbosum* і містяться приблизно в рівних кількостях. Також виявили активність інвертази, що була обернено пропорційна концентрації сахарози у плодах [106]. Вміст цукрів та органічних кислот, які є активними учасниками обмінних процесів в організмі людини, у плодах лохини сягає 60 %, у перерахунку на суху речовину, саме вони надають специфічного приємного смаку.

У плодах виявлено низкомолекулярні аліфатичні кислоти: молочну, гліколеву, леулінову, бензойну, малонову, фумарову, бурштинову та яблучну; 1,3-дигідроксіацетон, гліцерин, 5-оксопролін, 4-гідроксифенол, гулонову та маннонову; цукри: галактозу, ксилозу, глюкозу, рибозу, сахарозу; вищі жирні кислоти: пальмітинову,  $\alpha$ -ліноленову, лінолеву, олеїнову, стеаринову, бегенову, церотинову; гваяколу глюкопіранозид, кампестерол, дигідроантрахінон. Фенольний комплекс плодів лохини високорослої містить антоціани: дельфінідин-3-О-галактозид, дельфінідин-3-О-глюкозид, ціанідин-3-О-галактозид, дельфінідин-3-О-арабінозид, петунідин-3-О-галактозид, ціанідин-3-О-арабінозид, петунідин-3-О-арабінозид, пеонідин-3-О-галактозид, мальвідин-3-О-галактозид, мальвідин-3-О-глюкозид, пеонідин-3-О-арабінозид, дельфінідин-3-О-(6"-О-ацетил)глюкозид, мальвідин-3-О-арабінозид, петунідин-3-О-(6"-О-ацетил)глюкозид, мальвідин-3-О-(6"-О-ацетил)глюкозид; флавоноїди: мірицетин-3-О-галактозид, кверцетин-О-диглюкозид, кверцетин-3-О-рутинозид, кверцетин-3-О-галактозид, кверцетин-3-О-глюкозид і кверцетин-3-О-арабінозид, кверцетин-3-О-(6"-О-ацетил)глюкозид [73], лютеолін-7-глюкозид; епікатехіни, катехіни;



гідроксикоричні

кислоти:

*o*-кумарову, кофейну, коричну, хлорогенову, неохлорогенову, 5-*O*-ферулільхінну, ферулова, галову кислота; кумарини: умбеліферон, дигідрокумарин та фенологлікозиди – арбутин [55, 59].

Результати досліджень показали, що плоди лохини високорослої, вирощеної на органічних ґрунтах, містили значно вищий рівень цукру (фруктози і глюкози), яблучної кислоти, суми фенольних сполук (319,3 мг/100 г), суми антоціанів (131,2 мг/100 г) і мали вищий рівень антиоксидантної активності здатності поглинання кисневих радикалів (ORAC) (46,14 ммоль ТЕ/г), ніж плоди лохини, вирощеної на незбагачених ґрунтах. Так, середнє значення ORAC складало 30,8 ммоль ТЕ/г, вміст суми антоціанів – 82,4 мг/100 г і вміст суми фенольних сполук – 190,3 мг/100 г у перерахунку на свіжі плоди. Органічне вирощування плодів лохини високорослої дозволяє підвищити рівень вмісту мірицетин-3-арабінозиду, кверцетин-3-глюкозиду, дельфінідин-3-галактозиду, дельфінідин-3-глюкозиду, дельфінідин-3-арабінозиду, петунідин-3-галактозиду, петунідин-3-глюкозиду і мальвідин-3-арабінозиду. Виявилася значна кореляція між значеннями ORAC і вмістом суми фенольних сполук і антоціанів [191].

Було виявлено, що після опромінення УФ-світлом *V. corymbosum* збільшується рівень фенольних сполук: ресвератролу, мірицетин-3-арабінозиду, кверцетин-3-галактозиду, кверцетин-3-глюкозиду, кемпферозид-3-глюкуроніду, дельфінідин-3-галактозиду, ціанідин-3-галактозиду, дельфінідин-3-арабінозиду, петунідин-3-галактозиду, петунідин-3-глюкозиду, петунідин-3-арабінозиду, мальвідин-3-галактозиду, мальвідин-3-арабінозиду та хлорогенової кислоти. Значно більш висока антиоксидантна здатність була виявлена у плодів, оброблених 2,15, 4,30 або 6,45 кДжм<sup>-2</sup> ультрофіолетового світла, порівняно з контрольними плодами. Доза УФ світла у 0,43 кДжм<sup>-2</sup> також збільшує вміст фенолів і антоціанів, але меншою мірою. Оптимальна доза УФ-світла для підвищення вмісту БАП у *V. corymbosum* складає 2,15 і 4,30 кДжм<sup>-2</sup> [192].

Фенольні сполуки плодів лохини високорослої сорту *Coville* було проаналізовано за допомогою ВЕРХ і ТШХ. Було ідентифіковано 15 похідних антоціанів: 3-моноглюкозиди, 3-моногалактозиди і 3-моноарабінозиди дельфінідину, ціанідину, мальвідину, пеонідину і петунідину. Похідні мальвідину і дельфінідину були найбільш поширеними у плодах; 3-моногалактозид складає 41% від загальних антоціанів. Чотири флавоноїдні глікозиди також були ідентифіковані як кемпферол-3-О-глюкозид, кверцетин-3-О-глюкозид, кверцетин-3-О-галактозид і кверцетин-3-О-рамнозид. Основною гідроксикоричною кислотою була хлорогенова. Після гідролізу фенольні фракції були ідентифіковані галова, сиринова і ванілінова кислоти. Ці кислоти присутні в їх складноефірних формах, ймовірно, у вигляді складних ефірів глюкозидів [105].

Хроматографічний профіль антоціанів був подібним для всіх сортів, але вміст кожної сполуки залежав від сорту лохини, так *V. corymbosa* містила більше антоціанів, ніж *V. ashei*. Дельфінідин, петунідин і мальвідин є основними сполуками у загальному вмісті антоціанів [132].

Плоди лохини високорослої також містять ресвератрол і піцеатанол [159]. Лохина високоросла з Мічигану містить тільки *транс*-ресвератрол (140,0 ммоль/м), рівень цієї сполуки у плодах лохини був <10 % від рівня вмісту в плодах винограду. Під час приготування або теплової обробки плодів лохини ресвератрол розкладається [134, 146]. Дослідження показали, що найбільша кількість загальних антоціанів спостерігається в шкірці плодів лохини (*V. corymbosum*). Мальвідин є доміантним антоціаном лохини високорослої [76]. У плодах лохини гідроксикоричні кислоти накопичуються більше у м'якоті, ніж у шкірці. Листя лохини високорослої містить велику кількість проантоціанідинів, флавонолів і гідроксикоричних кислот. У кореневищах лохини високорослої накопичується велика кількість гідроксикоричних кислот. Було виявлено, що всі частини рослин *V. corymbosum* є джерелами фенольних сполук для використання як дієтичних добавок у фармацевтичній промисловості [158]. Фітохімічний аналіз листя

лохини сорту *Bluecrop*, що воно містить урсолову та олеанову кислоти,  $\beta$ -ситостерину,  $\alpha$ - і  $\beta$ -амирину [141].

У перерахунку на свіжу сировину плодів лохини високорослої було виявлено, що фенольні кислоти (галова, *n*-гідроксиензойна, кофейна, ферулова та елагова) знаходяться у діапазоні від 0,19 до 258,90 мг/100 г, флавоноїди (катехін, епікатехін, мірицетин, кверцетин і кемпферол) – від 2,50 до 387,48 мг/100 г, загальна кількість поліфенолів становить від 261,95 до 929,62 мг/100 г, а загальна кількість антоціанів – від 12,70 до 197,34 мг/100 г на свіжу сировину [166].

Установлено, що антоціани є основними компонентами антиоксидантної активності фенольних сполук у плодах лохини високорослої, при цьому хлорогенова кислота також є важливим антиоксидантом лохини високорослої. Фенольні сполуки, такі, як 3',4'-дигідроксикверцетин і 3',4'-дигідроксиціанідин, що мали кон'югацію між кільцями А і В, виявляють високоефективну здатність зв'язувати вільні радикали. Фенольні кислоти, такі, як кофейна, також виявляли високу антиоксидантну активність, імовірно, крізь їх дигідроксилювання в 3, 4 положеннях як донорів водню [201].

Карвакрол, анетол, коричний альдегід, корична кислота, перилальдегід, ліналоол та *n*-цимен були виявлені в ефірній олії лохини високорослої. Наявність карвакролу, анетолу або перилальдегіду значно підвищує рівень фруктози, глюкози та лимонної кислоти. Компоненти ефірної олії по-різному впливали на окремі флавоноїди. Рівні хлорогенової кислоти, кверцетин-3-О-галактозиду та кверцетин-3-О-арабінозиду підвищувались пропорціонально вмісту всіх компонентів ефірної олії. У разі збільшення ліналоолу і *n*-цимолу в ефірній олії знижувався рівень мальвідин-3-галактозиду, кверцетин-3-О-галактозиду та кверцетин-3-О-арабінозиду. Кількість інших індивідуальних антоціанів, включаючи петунідин-3-О-галактозид, дельфінідин-3-О-галактозид, петунідин-3-О-глюкозид, петунідин-3-О-арабінозид, дельфінідин-3-О-арабінозид та ціанідин-3-О-галактозид, підвищувала [188].

Було виявлено, що листя *V. corymbosum* містить велику кількість

хлорогенової кислоти. Загальна кількість хлорогенової кислоти, виділеної за допомогою колонкової хроматографії та подальшого центрифугування з 0,5 г водної фракції, склала 52,9 мг, що відповідає 10,6 % водної фракції [110].

Було проведено кілька досліджень, присвячених оцінці хімічного складу *V. corymbosum*. 15 антоціанів були охарактеризовані та кількісно оцінені у плодах та соці *V. corymbosum*. Основними виявленими сполуками були дельфінідин-3-О-глюкозид, дельфінідин-3-О-галактозид та пеонідин-3-О-арабінозид [131, 142]. Крізь широке використання в дієті *V. corymbosum* більшість фітохімічних досліджень було присвячено складу плодів. У плодах лохини раніше було ідентифіковано 44 флавоноїди, які були представлені глікозидами кверцетину та мірицетину і хлорогеновою кислотою [136, 151]. Плоди лохини містили переважно кверцетин-3-О-галактозид та кверцетин-3-О-рамнозид. Крім того, було виявлено кілька інших сполук: мірицетин, ларицитрин, кверцетин, ізорамнетин та глікозиди сирингетину або їх ацетильовані похідні. Дослідження також довели присутність хлорогенової кислоти в аналізованому матеріалі [151]. Важливими групами сполук, визначеними у складі ліпофільних сполук плодів, є тритерпени (олеанолова, урсолова кислоти, лупеол і ланостерол), стерини ( $\beta$ -ситостерин) жирні кислоти [187]. Частка цукру у виявлених флавоноїдних глікозидах плодів була представлена глюкозою, галактозою та арабінозою [128], що відповідає результатам досліджень, проведених для листя.

Попередні фітохімічні дослідження, присвячені надземним частинам *V. corymbosum* L., дозволили ідентифікувати ізокверцитрин і рутин, кофейну та хлорогенову кислоти в метанольному екстракті з листя рослин, вирощених у Румунії [171]. Пізніші дослідження на шести зразках листя *V. corymbosum* L., вирощених у Румунії, підтвердили присутність рутину як домінантного флавоноїду та феруїлхіної кислоти як домінантної гідроксикоричної кислоти [172]. Однак у нашому дослідженні гіперозид та хлорогенова кислота були основними представниками цих груп, що узгоджується з

попередніми дослідженнями щодо екстракції хлорогенової кислоти з листя *V. corymbosum* за допомогою протипливної хроматографії [110].

Установлено, що екстракти листя *V. corymbosum* багаті на поліфенольні сполуки: дві фенольні кислоти (хлорогенова та кофеїнова) і два кверцетинові глікозиду (рутин та ізокверцитрин) були ідентифіковані за допомогою ВЕРХ [110, 171, 193]. Більшість доступних даних були зосереджені на хімічному аналізі плодів, отриманих з *V. corymbosum*. Дані про природні речовини, що містяться в листях лохини високорослої, поки що обмежені і не є вичерпними.

Леткі речовини, виділені із зеленого листя *V. corymbosum*, містили ароматичні сполуки і терпени: 2-нонанонен, цинеол, R- і S-лимон, 4-етил бензальдегід, які викликали атрактант-поведінкову реакцію з боку малинового довгоносика *Aegorhinus superciliosus* [148].

У вегетативних та генеративних органах лохини високорослої виявлено 20 амінокислот, а саме: 8 незамінних (Val, Met, Phe, Lie, Leu, Thr, Lys, OH-Lys), з-поміж яких домінують Leu, Lys, Val, Phe, та 12 замінних (Ala, Ser, Gly, Тут, Cys, Glu, Asp, Arg, His, Orn, Pro, OH-Pro), з-поміж яких домінують Asp, Glu, Gly, Ala, Arg. У сумарному вираженні переважають моноамінодикарбонові та моноамінокарбонові кислоти. Визначено склад макро- та мікроелементів (Al, Ca, B, Ba, Co, K, Mg, Si, Ag, Na, P, As, Au, Cr, Cs, I, Cu, Fe, La, Li, Mn, Lu, Sn, Sb, Se, Zn та ін.), які мають певне значення у токсикологічному, екологічному, медичному аспектах, та відзначено, що допустимий рівень токсичних елементів не перевищено [6].

Аналіз літературних джерел показує, що плоди лохини високорослої вивчені більше, але не системно, тому подальше системне вивчення хімічного складу плодів, стебла та листя, щодо зокрема фенольних сполук, є підґрунтям для створення нових лікарських засобів.

## 1.5 Їстівні частини рослини та їх використання

*Vaccinium corymbosum* – найважливіший вид роду *Vaccinium*, що використовується в промисловості. Плід смачний, соковитий, солодкий, поживний. Лохина високоросла доступна у свіжому або переробленому вигляді, швидкозаморожені фрукти, пюре, сік або настояні ягоди, які використовуються у різних харчових продуктах, таких, як пироги, випічка, торти, кекси, крупи, закуски, желе, джеми. Плоди також використовуються для приготування безалкогольних і алкогольних напоїв. Поживний трав'яний чай готують із сухих плодів і листя [130].

Лохину високорослу нерідко використовують для виготовлення мусів та соусів, з неї варять пастилу, джеми, варення, лікувальні компоти та киселі. На зиму заготовлюють корисне пюре з плодів лохини, причому із цукром. Ці продукти вважаються низькокалорійним – 100 г плодів лохини містять лише близько 60 ккал. Для короткотермінового зберігання з плодів лохини готують сік, якій належить до дієтичних продуктів. Установлено, що поліфеноли лохини можуть знижувати приблизно на 70-75% кількість та перешкоджають утворенню нових жирових клітин [35].

Великою популярністю користується вино з плодів лохини, що відрізняється оригінальним смаком.

Лохина високоросла – ранній медонос, під час цвітіння рослини бджоли збирають з 1 га по 10-20 кг нектару [40, 61].

## 1.6 Фармакологічна активність БАР лохини високорослої

Багаті на флавоноїди плоди *V. corymbosum* володіють потенційною здатністю обмежувати розвиток і тяжкість деяких видів раку і судинних захворювань, включаючи атеросклероз, ішемічну хворобу, інсульт і нейродегенеративні захворювання старіння [145].

Плоди і листя лохини високорослої містять різноманітні БАР з такими біологічними властивостями, як антиоксидантні, протипухлинні, противірусні, антинейродегенеративні та протизапальні [27, 145].

Природні стильбени лохини високорослої є потужними антиоксидантами і виявляють хіміопротекторну активність проти раку [159].

Екстракти плодів лохини сортів Герберт, Ковіль, Торо виявили антимікробні властивості. *Citrobacter freundii* і *Enterococcus faecalis* виявилися найбільш чутливими з-поміж восьми досліджених грамнегативних і грампозитивних бактерій [76].

Сорт лохини Берклі мав найбільшу антиоксидантну активність, а найменшою антиоксидантною активністю відзначений сорт лохини Ковіль. Найпотужніші антирадикальні властивості були виявлені у шкірці плодів лохини сорту Ама [76].

Основними антиоксидантними і цитотоксичними компонентами плодів лохини високорослої є тритерпеноїди і фенольні кислоти:  $\beta$ -ситостерол- $\beta$ -D-глюкозид, урсолова,  $3\beta,19\alpha$ -дигідроурс-12-ен-28-ова, галова, сиринова та протокатехова кислоти [189]. Урсолова та  $3\beta,19\alpha$ -дигідроурс-12-ен-28-ова кислоти ефективно інгібують синтез ДНК у клітинах HL-60 лейкемії людини з  $IC_{50}$  1,5 і 1 МД відповідно. Було виявлено, що урсолова кислота має значну цитотоксичність до клітин лімфоцитарного лейкозу P-388 і L-120, а також до клітин раку легень людини A-549. Вона також продемонструвала маргінальну цитотоксичність до пухлинних клітин товстої кишки (HCT-8) і молочної залози (MCF-7) людини.  $3\beta,19\alpha$ -Дигідроурс-12-ен-28-ова кислота, похідні  $19\alpha$ -ОН урсолової кислоти виявили навіть кращу протипухлинну активність, ніж урсолова кислота [189].

Екстракт листя лохини високорослої сорту *Bluecrop* має антилейкемічну активність. Було встановлено, що цей екстракт є найбільш ефективним проти чутливої лінії промієлоцитарних клітин HL60 (приблизно в 2 рази активніший, ніж екстракти полуниці і малини), але виявляє набагато меншу активність щодо резистентних клітин [168].

Було виявлено, що *V. corymbosum* є прекрасним джерелом речовин зі значною біологічною активністю. Свіжі і швидкозаморожені плоди лохини

містять велику кількість фенольних сполук, мають антиоксидантну та антипроліферативну активність. Продукти, що пройшли термічну обробку, зберегли більшу частину антиоксидантної активності і загальної кількості фенольних сполук, виявлених у необроблених плодах, але після термічної обробки плодів спостерігалось зниження антипроліферативної активності [165].

Загальна антиоксидантна здатність ORAC різних вивчених плодів роду *Vaccinium* варіювалася від 13,9 до 45,9 ммоль/г у перерахунку на Trolox (TE). Свіжозібрані плоди лохини, мали 632282,3 ммоль TE/г у перерахунку на сухі. Еквівалентна антиоксидантна здатність тролоксу (TEAC) варіювала від 8,11 до максимум 38,29 мМ/г у перерахунку на сиру сировину. Спостерігалась лінійна залежність між значеннями TEAC і загальною кількістю поліфенолів або загальною кількістю антоціанів [166]. У плодах лохини було виявлено 15 антоціанів, багато з яких виявляли значну антиоксидантну активність, за використанням аналізом здатності знижувати антиоксидантну дію заліза (FRAP). Найбільша антиоксидантна активність була виявлена у дельфінідин-3О-галактозиду, ціанідин-3О-галактозиду, дельфінідин-3О-арабінозиду, петунідин-3О-галактозиду, мальвідин-3О-галактозиду і мальвідин-3О-арабінозиду. Сполуки кверцетин-О-диглюкозид, 5-О-феруїлхінна кислота, кверцетин-3-О-галактозид також виявляли антиоксидантну активність. Низький вміст вітаміну С у плодах лохини не впливає на їх антиоксидантну здатність [73].

Підвищена зрілість під час збору врожаю збільшує ORAC, антоціани і загальний вміст фенолів. Між ORAC і вмістом антоціанів та вмістом поліфенолів існує лінійна залежність [153].

Під час обробки плодів лохини гострою парою та отримання соку було ідентифіковано 15 глікозильованих антоціанів, катехін, галактозид, глюкозид і похідні кверцетин-3-О-рамнозиду, а також бензойна і корична кислоти. Загальний вміст і відносний розподіл антоціанів, хлорогенової кислоти і кверцетину у соці залежали від сорту *V. corymbosum*, а загальний вміст корелював з антиоксидантною активністю [24].



Було виявлено, що деякі компоненти ефірної олії: карвакрол, анетол, коричний альдегід, корична кислота, перилальдегід, ліналоол і *n*-цимен, ефективні щодо зменшення псування плодів, підвищення рівня антиоксидантів лохини високорослої. Найбільш ефективною речовиною для уповільнення утворення цвілі плодів лохини високорослої є *n*-цимол, потім ліналоол, карвакрол, анетол і перилальдегід. Корична кислота і коричний альдегід також пригнічували ріст цвілі, але меншою мірою [191].

Карвакрол, анетол і перилальдегід продемонстрували здатність підвищувати антиоксидантну активність ORAC та зв'язувати гідроксильні радикали в тканинах плодів [188].

Дослідження показали, що водорозчинні сполуки, отримані ферментативним гідролізом, у плодах лохини високорослої добру гарну антиоксидантну активність *in vitro* щодо викликаного  $H_2O_2$  пошкодження клітин у лінії фібробластів легень китайських хом'ячків (V79-4). Ферментний гідроліз, проведений карбогідразою і протеазою, показав високий вміст загальних фенолів, при цьому гідролізати алкалази також виявили більш високі захисні ефекти проти перекисного окиснення ліпідів і пошкодження ДНК [167].

Середні значення абсорбційної здатності кисневих радикалів для фенольних сполук та антоціанів у плодах лохини високорослої становили 15,9 одиниць ORAC, 1,79 мг/г (еквіваленти галової кислоти) і 0,95 мг/г (ціанідин-3-О-глюкозидні еквіваленти) відповідно [88].

У тканині листя значення як ORAC, так і фенольних сполук були значно вище, ніж у тканині плоду – 490 одиниць ORAC і 44,80 мг/г (еквіваленти галової кислоти) відповідно [130].

30-хвилинні настої листя лохини високорослої показали найбільший вміст поліфенолів (1879 мг/л у перерахунку на галову кислоту) та антиоксидантну активність за всіма трьома методами аналізу зв'язування радикалів, знижуючи антиоксидантну здатність заліза (FRAP), 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилу (DPPH) і 2,2'азинобіс(3)-етилбензтіазолін-6-сульфонової

кислоти (ABTS) [152]. Настої з листя лохини продемонстрували значну відновну здатність, а також здатність зв'язувати вільні радикали, що вивело чай з листя лохини високорослої на перше місце у списку дієтичних джерел антиоксидантів.

Дослідження показали, що проантоціанідини, виділені з листя лохини високорослої, можуть виявляти потенційну активність як сполуки проти гепатиту С, пригнічуючи реплікацію вірусної РНК [182]. Інфекція вірусу гепатиту С є основною причиною таких хронічних захворювань печінки, як хронічний гепатит, цироз і гепатоцелюлярна карцинома. Проантоціанідини зі ступенем полімеризації 8-9 показали найбільшу ефективність в інгібуванні експресії субгеномної РНК гепатиту С. Очищені проантоціанідини показали дозозалежне інгібування експресії гена стійкості до неоміцину і гена білка NS<sup>3</sup> в субгеномі гепатиту С у клітинах реплікону.

Неочищений екстракт плодів *V. corymbosum* виявляв протизапальну й антиноцицептивну активність. У тесті з карагінаном неочищений водно-спиртовий екстракт у дозах 100, 200 або 300 мг/кг зменшував набряк лапи щура на 9,8, 28,5 і 65,9% відповідно. Екстракти з додаванням гістаміну зменшували набряк до 70,1, 71,7 і 81,9% відповідно. В аналізі мієлопероксидази (МПО) неочищений екстракт 300 мг/кг викликав значне інгібування її активності крізь 6 і 24 год. після ін'єкції карагану на 42,8 і 46,2% відповідно. У дослідженні гранульоматозної тканини дексаметазон показав значну активність, тоді як екстракт лохини високорослої був неактивним. У тесті на скорочення черевної порожнини інгібування склало 49,0, 54,5, 53,5% відповідно для неочищеного екстракту і 61,4% для індометацину. У формаліновому тесті неочищений екстракт лохини високорослої (200 і 300 мг/кг) і та індометацин інгібували тільки другу фазу на 36,2, 35,3 і 45,8% відповідно. Оскільки неочищений екстракт лохини високорослої виявляє антиноцицептивну і протизапальну активність, його споживання може бути корисним для лікування запальних захворювань [184].

Захисна і протизапальна дія порошку плодів лохини високорослої може забезпечити метаболічні переваги в боротьбі з патологією, пов'язаною з ожирінням. Було виявлено, що порошок плодів лохини знижує інсулінорезистентність усього тіла і гіперглікемію у мишей із високим вмістом жиру за рахунок зменшення загибелі адипоцитів і його запальних наслідків [87].

Калт зі співавторами [107] у дослідженнях на тваринах виявив, що додавання плодів лохини високорослої до раціону харчування знижує рівень ліпідів у плазмі і чинить позитивний вплив на серцево-судинну систему. У першому випробуванні, де базова дієта містила високий рівень рослинних компонентів (70% сої, вівса і ячменю) додавання 1, 2 і 4% плодів лохини високорослої привело до зниження загального холестерину, нормалізації ЛПНЩ і ЛПВЩ. Найбільше зниження спостерігалось у свиней, які отримували дієту з 2 % плодів лохини високорослої, де загальний холестерин, ЛПНЩ і ЛПВЩ знижувалися на 11,7, 15,1 і 8,3% відповідно. У другому випробуванні, в якому дієта містила тільки 20% сої, вівса і ячменю, ліпід- моделювальний ефект із додаванням 2 % плодів лохини високорослої був меншим і складав 8% зниження загального холестерину.

Було виявлено, що екстракти плодів лохини високорослої покращують вікове зниження нейрональної і когнітивної функцій, щої часто спостерігається у разі хвороби Альцгеймера [198]. Після 8-тижневого режиму прийому добавок лохини високорослої вдалося запобігти віковому зниженню таких поведінкових параметрів, як баланс, координація, робоча і довідкова пам'ять. Так само екстракти лохини високорослої посилювали вивільнення оксотреморину, збільшення  $K^+$ , дофаміну зі смугастого тіла. Було виявлено, що зниження дофамінергічної системи впливає на когнітивні функції. Окремі дослідження показали, що поліфеноли лохини високорослої мають здатність покращувати м'язовий тонус, силу і баланс у старих щурів, покращують роботу нейронів, відновлюючи здатність мозку генерувати нейропротекторну відповідь на стрес [93, 168].

Слід зазначити, що плоди *V. corymbosum* містять антиоксидантні речовини, які найсильніше пригнічують цитохром С посилене окиснення 6-гідроксидофаміну, що приводить до утворення перекису водню та інших активних форм кисню. Порушення цілісності мітохондріальної мембрани – патологічна ситуація, що стосується кількох пов'язаних зі старінням нейродегенеративних розладів, включаючи хворобу Паркінсона, спричиняє вивільнення цитохрому С; рівень такого вивільнення, як відомо, вказує на ступінь мітохондріальної дисфункції. Антиоксидантна активність плодів *V. corymbosum* корелює із вмістом антоціанів і загального ціанідину, але не з кверцетином або мірицетином [196].

Попередні дослідження Крикоряна зі співавторами [123] виявили, що добавка із соку лохини високорослої покращує пам'ять і здатність до навчання у літніх людей, водночас знижуючи рівень цукру в крові і симптоми депресії. Результати цього попереднього дослідження показали, що помірний прийом добавок лохини високорослої може сприяти нейрокогнітивному ефекту.

Дослідження Мазза зі співавторами [138] показали, що антоціани можуть абсорбуватися в їх інтактних глікозилізованих і ацильованих формах у людей. 19 із 25 антоціанів, присутніх у плодах лохини високорослої, були виявлені в сироватці крові людини після вживання жирної їжі з ліофілізованим порошком плодів. Крім того, поява антоціанів у сироватці безпосередньо корелювала зі збільшенням антиоксидантної здатності сироватки (ORAC (ацетон)).

Результати досліджень показали, що антоціани з лохини високорослої можуть транспортуватися крізь моношари клітин Сасо-2, хоча ефективність транспорту/абсорбції була відносно низькою порівняно з іншими поліфенольними агліконами. Транспортна ефективність антоціанів у середньому становила приблизно 3-4% (менше 1% у глюкозиду дельфінідину). Дельфінідину глюкозид показав найнижчу ефективність транспорту/абсорбції, а глюкозид мальвідину – найвищу. За результатами

досліджень, збільшення кількості вільних гідроксильних груп і зменшення груп  $-OCH_3$  у структурі сполук може знизити біодоступність антоціанів. Крім того, ціанідин глюкозид продемонстрував значно вищу транспортну ефективність, ніж ціанідин галактозид, а пеонідин глюкозид – значно вищу транспортну ефективність, ніж пеонідин галактозид, це свідчить про те, що глюкозиди антоціанів мають більш високу біодоступність, ніж галактозиди антоціанів [197].

### 1.6.1 Використання сировини лохини у народній медицині

Корисні якості та унікальний склад лохини високорослої переважно базуються на виготовленні різноманітних настоїв та відварів, які застосовуються у народній медицині [9, 35, 36].

**Пагони** у вигляді відвару застосовуються у разі колітів, захворювань серця, як гіпотензивний і кардіотонічний, а також м'який проносний засіб [9, 35].

Відвар з **листя** корисний для хворих на серцеві недуги, як в'яжучий засіб у разі проносів, ентеритів та гастритів, цукрового діабету, неокрів'я; настій – для поліпшення обміну речовин, у разі анемії; ранозагоювальний, сечогінний, протидіабетичний, антисептичний та проносний засіб, у разі хвороб серця, цукрового діабету, урологічних та шкірних захворювань [35]

**Плоди** використовують у сушеному та свіжому вигляді. Свіжі плоди застосовуються у разі колітів, гастритів, дизентерії, циститів та анемії, а також як протицинготний та вітамінний (С-авітаміноз) засіб. Сушені плоди виявляють протизапальну, жарознижувальну, в'яжучу, протиглисну дію. Якщо вживання плодів лохини перетворити на обов'язкову звичку – на день з'їдати 2 столові ложки, то можна досягти зняття напруги з очей для відновлення зору. Відвар плодів вживають у разі гарячки, застуди, гастритів, ентеритів, як в'яжучий засіб у разі колітів та діареї, гельмінтозів, порушення ниркових процесів, атеросклерозу, ревматизму, варикозного розширення вен,

для нормалізації роботи підшлункової залози та у післяопераційному періоді для доброго загоєння ран і травм. Настій вживають у разі колітів, захворювань нирок, гастритів, захворювань підшлункової залози [9, 36].

**Сік** вживають як в'яжучий, протизапальний, антиоксидантний, протицинготний, загальнозміцнювальний, жарознижувальний, глистогінний засіб; для лікування дизентерії, гастритів, гарячки, циститів, порушень обміну речовин; у комплексному лікуванні деяких видів анемії, захворювань печінки, запаленні ниркових лоханок, гіпоавітамінозів, холециститів, загальної слабкості (після тяжких хвороб та операцій) [35].

#### 1.6.2 Використання сировини лохини у дієтичних добавках та косметології

Лохина високоросла є природним джерелом флавоноїдів та вітамінів, що дозволяє застосовувати її в рецептурах косметичних засобів: кремів, сироваток, лосьйонів. За допомогою екстракту плодів лохини можна вирішити проблеми із запаленою, пошкодженою, жирною шкірою, вибілювати й очищати шкіру обличчя, зміцнювати епідерміс, відновлювати колагенові волокна з ефектом легкого пілінгу [35].

Запалення ясен та гінгівіт досить часто виникають унаслідок діяльності бактерій, які формують зубний наліт та викликають запалення прилеглих тканин. У разі періодонтиту (тяжкий ступінь) необхідне застосування антибіотиків. Учені виявили, що екстракт лохини здатний запобігати формуванню нальоту та зубного каменю. Це може стати новим способом терапії та зменшення застосування антибіотиків [36].

Група дослідників Університету Лавалю (Universite Laval) у Квебеку вивчала ефективність природних антибактеріальних компонентів у лікуванні ясен. Багаті на поліфеноли екстракт лохини високрослої (*Vaccinium corymbosum* L.) та чорниці вузьколистої (*Vaccinium angustifolium* L.) були протестовані у лабораторії щодо дії на бактерії *Fusobacterium nucleatum*, яка викликає розвиток періодонтиту. Багаті на поліфеноли екстракти лохини та

чорниці успішно гальмували як ріст бактерій, так і здатність формувати наліт.

За даними зарубіжних дослідників, споживання плодів лохини захищає від впливу радіоактивного випромінювання, уповільнює процеси старіння головного мозку, запобігає розвитку онкологічних захворювань (сортів Замброза, Солстик Слім (NSP (Nature Sunshine Products) та Дика голубика (Mega Food)) [47]. У США плоди лохини використовують як джерело антиоксидантів, що мають захисну дію від канцерогенів, та як засіб, що сповільнює розвиток раку товстого кишківника. Плоди лохини не викликають алергічних реакцій і рекомендовані дітям. Наразі вони входять до складу дієтичних добавок до раціону харчування («Голубичный нектар», «Узвар лохина з травами», «Ензимна маска з лохиною і чорницею» (Данія), «Льодяники з екстрактами лікувальних трав», зокрема її лохини («Agel Exo» (США)) [47, 51].

Препарат «Голубітокс» являє собою концентрат, виготовлений з екстракту плодів та листя лохини і шунгітової води. Засіб допомагає у лікуванні: цукрового діабету, шкірних захворювань, проблем серцево-судинної системи, геморою, простатиту та інших хвороб запального характеру, погіршення зору [3].

В Україні препарати та дієтичні добавки з лохини не представлені на фармацевтичному ринку, а є лише на сайтах інтернет-магазинів у вигляді істівних продуктів та дієтичних добавок імпортного виробництва.

## Висновки розділу 1

1. У природних умовах лохина високоросла родом із Північної Америки, на території сучасної України поширена на Поліссі, у Карпатах. Основними регіонами промислового вирощування лохини високорослої в Україні є Івано-Франківська, Волинська, Вінницька, Житомирська та Київська області.

2. Аналіз літературних джерел дослідження хімічного складу лохини високорослої показав, що ЛРС містить антоціани, флавоноїди, вітаміни, цукри, органічні і фенолкарбонові кислоти та їх похідні, мікро- та макроелементи, прості феноли, дубильні речовини та амінокислоти, які вивчені більш детально у плодах лохини високорослої. Склад листя практично не вивчений, що вказує на перспективність подальшого детальнішого дослідження цієї ЛРС.

3. Основною терапевтичною активністю сировини та екстрактів лохини високорослої є протизапальна, антиоксидантна, жарознижувальна, в'язуча, загальнозмцнювальна, протицинготна, проносна та глистогінна. Плоди лохини мають виражену фармакологічну активність: протимікробну, противірусну, протизапальну, антиоксидантну, антигіперглікемічну та антигіперліпідемічну.

4. На ринку України немає вітчизняних лікарських засобів та дієтичних добавок на основі БАР лохини високорослої, більшість дієтичних добавок імпортного виробництва – на основі екстрактів плодів та соку. Листя лохини використовуються лише у чаях і входить у дієтичну добавку «Голубитокс». Таким чином, на ринку України немає жодного стандартизованого препарату на основі БАР лохини високорослої, що вказує на перспективність створення нових ЛЗ на основі цієї сировини.



## РОЗДІЛ 2

### ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ, ПРИЛАДИ, МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИКИ ТА РЕАКТИВИ

1. *Об'єктом досліджень* були зразки сировини – плоди, стебла та листя лохини високорослої (*Vaccinium corymbosum*), заготовлені у період 2017-2019 рр. на території м. Балаклеї, Харківської області (GPS: 49°27'41.1'' N, 36°50'42.7'' E) та Садового центру «Садко», м. Княжичі, Київської області (GPS: 50°45'84.4'' N, 30°80'03.5'' E). Зразки сировини зібрали у різні фази вегетації.

2. *Відбір проб лікарської рослинної сировини* проводили відповідно до вимог ДФУ 2.0, 2.8.20 [10, 12].

3. *Здрібненість ЛРС* визначали за вимогами ДФУ 2.0, 2.9.12 [10, 12]. Середньодрібний порошок: не менше 95 % маси порошку має проходити крізь сито номер 355 і не більше 40 % маси порошку – крізь сито номер 180.

4. *Втрату в масі під час висушування* визначали за вимогами ДФУ 2.0, 2.2.32 [10, 12].

5. *Загальну золу* визначали відповідно до вимог ДФУ 2.0, 2.4.16 [10, 12]

6. *Золу, не розчинну у хлористоводневій кислоті*, визначали відповідно до вимог ДФУ 2.0, 2.8.1 [10, 12].

7. *Мікроскопія*. Зрізи і препарати з поверхні робили зі свіжозібраного і фіксованого матеріалу за загальноприйнятими методиками. Анатомічну будову органів рослин вивчали за допомогою мікроскопа «Ломо Мікмед-1» з окуляром К10<sup>x</sup>/18 та об'єктивами 40/0,65 і 10/0,20 і фотокамери Sony Cyber-shot (DSC-W80).

8. *Хроматографічні дослідження*. Для хроматографування застосовували різні марки паперу «Filtrak» (FN 1, 3, 7, 14), а також пластинки «Silufol UV-366» , «Silufol UV-254» та «Sorbfil-ПТСХ-А-УФ», «Merck Silica

gel F254».

Для дослідження використовували методи висхідної та низхідної одновимірної, двовимірної хроматографії в тонкому шарі сорбенту і на папері. Результати значень  $R_f$  є середніми величинами 5-6 визначень.

#### *Хроматографічні системи*

Для приготування систем використовували розчинники кваліфікації х.ч. або ч.д.а.; співвідношення розчинників взяті в об'ємних одиницях та позначені цифрами:

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

№ 2 – 15 % кислота оцтова

№ 3 – хлороформ – спирт етиловий 96% (6 : 4)

№ 4 – хлороформ – спирт етиловий 96% – вода (26 : 16 : 3)

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

№ 6 – 30 % оцтова кислота;

№ 7 – оцтова кислота – хлоридна кислота – вода (30 : 3 : 10)

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

№ 9 – етилацетат – вода – мурашина кислота безводна – оцтова кислота льодяна (72 : 14 : 7 : 7)

№ 10 – кислота мурашина безводна – вода – етилацетат (6 : 6 : 88).

#### *Реактиви для виявлення БАР на хроматограмах*

На хроматограмах речовини виявляли до та після обробки різними реактивами, за забарвленням у денному світлі та за флуоресценцією в УФ-світлі за довжиною хвиль 365 та 254 нм:

А – 0,1 % розчин нінгідрину в етанолі

Б – анілінфталатний реактив (0,33 г аніліну та 1,66 г кислоти фталевої в 100 мл н-бутанолу, насиченого водою)

В – розчин діазотової сульфанілової кислоти

Г – реактив Паулі (діазобензолсульфо кислота в насиченому розчині натрію карбонату)

Д – 10 г/л амілового ефіру дифенілборної кислоти в метанолі

Е – 50 г/л макроголу 400 в метанолі

З – 3 % розчин заліза (III) хлориду

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

Л – 5 % спиртовий розчин алюмінію хлориду

М – бутанольний розчин анілінфталату

Н – анісальдегідний реагент.

## 9. *Ідентифікація основних груп БАР методами ПХ та ТШХ*

9.1. *Ідентифікацію амінокислот* в об'єктах дослідження проводили методом висхідної хроматографії у системі розчинників № 1. Для порівняння застосовували стандартний набір амінокислот (ТУ 6-09-3147-83) у концентрації 0,1 %. Хроматограми обробляли реактивом А та висушували за температури 60-80 °С у сушильній шафі. Амінокислоти ідентифікували під час паралельного хроматографування та порівняння значень  $R_f$  з вірогідними зразками [20, 22, 26, 32].

9.2. *Ідентифікація моноцукрів.* 0,2 г екстракту плодів, стебел та листя лохини високорослої розчиняли у колбі зі шліфом з 5 мл води, додавали 5 мл 20% сульфатної кислоти та гідролізували, нагріваючи зі зворотним холодильником на водяній бані, контроль ходу гідролізу проводили методом ПХ. Повний гідроліз – 2,0 години. Гідролізати нейтралізували барієм карбонатом до нейтрального середовища за універсальним індикатором, розчин фільтрували, фільтрат та осад на фільтрах промивали водою. Фільтрат випарювали до сухого залишку під вакуумом, який розчиняли у 0,5 мл етанолу. Отриманий розчин хроматографували ПХ у системі розчинників № 1 та 4 низхідним способом з вірогідними зразками моносахаридів. Хроматограми висушували на повітрі, обробляли реактивом Г та нагрівали за температури 100-105 °С у шафі сушильній протягом 10 хвилин, альдогексози проявлялися у вигляді коричневих плям, альдопентози – у вигляді червоно-бурих плям.

9.3. *Ідентифікацію похідних гідроксикоричних кислот* проводили методом двомірної ПХ та ТШХ у системах № 1 та 2 з достовірними зразками гідроксикоричних кислот (Sigma Chemical Company, США) [32]. Для хроматографування отримували етилацетатні екстракти з надземної сировини лохини високорослої. Сполуки етилацетатних екстрактів на хроматограмі, вступаючи у реакцію з реактивом В, доводять їх фенольну природу, а сіро-зелений колір плям, що утворюються, доводить наявність ортодигідроксигрупи у молекулах. Із розчином бромкрезолового зеленого ці речовини утворюють синьо-зелене забарвлення плям, що підтверджує кислотну природу молекул. У результаті хроматографування речовини етилацетатних екстрактів з надземної сировини лохини високорослої мали блакитне забарвлення в УФ-світлі різної інтенсивності, яке під дією парів аміаку змінюється або підсилюється на зелено-блакитне, що характерно для похідних коричної кислоти.

9.4. *Ідентифікація флавоноїдів.* Наявність сполук флавоноїдної природи визначали ТШХ та ПХ у системах розчинників (№ 1, 2, 3) з вірогідними зразками флавоноїдів (Sigma Chemical Company, США). Наявність речовин флавоноїдної природи виявляли за флуоресценцією в УФ-світлі до та після обробки хроматограм реактивами А, Б, В і Е [32].

10. *Визначення кількісного вмісту основних груп БАР спектрофотометричним методом.*

10.1. *Суму фенольних сполук* визначали у перерахунку на галову кислоту [32]. 1,0 г (точна наважка) подрібненої надземної сировини лохини високорослої поміщали у колбу на 200 мл та додавали 30 мл 40 % етонолу. Колбу нагрівали зі зворотним холодильником на водяному нагрівачі протягом 15 хв. Екстракцію в аналогічних умовах проводили двічі. Екстракти об'єднували, охолоджували та фільтрували крізь паперовий фільтр у мірну колбу на 100,0 мл та доводили об'єм розчину 40 % етонолом до позначки. 1,0 мл отриманого розчину додавали у мірну колбу на 25,0 мл, доводили 40 % спиртом етиловим до мітки та перемішували, потім 2,0 мл цього розчину

вносили у нову мірну колбу на 25,0 мл та доводили 40 % спиртом етиловим до мітки.

Вимірювали оптичну густину за довжини хвилі 270 нм на спектрофотометрі Spesol-1500 (Швейцарія). Як розчин порівняння використовували 40 % етанол [97, 170, 198].

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

$$X = \frac{A \cdot 100 \cdot 25 \cdot 25 \cdot 100}{540 \cdot m \cdot 1 \cdot 2 \cdot (100 - w)}, \quad (2.1)$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

m – маса наважки сировини, г;

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

w – втрата в масі під час висушування сировини, %.

10.2. *Гідроксикоричні кислоти* у плодах, листях та стеблах лохини високорослої та її екстрактах визначали методом прямої спектрофотометрії, використовуючи як стандарт хлорогенову кислоту фірми «Fluka» (Німеччина) [173]. Її питомий показник поглинання дорівнює 505 нм за довжини хвилі 327 нм.

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

*Пробопідготовка для екстрактів:* близько 0,1 г (точна наважка) екстрактів розчиняли, постійно переміщуючи, у 5 мл 20 % розчину спирту етилового. Операцію повторювали тричі з новою порцією розчинника. Розчини об'єднували, фільтрували крізь паперовий фільтр і кількісно

вносили у мірну колбу ємністю 25,0 мл, доводили об'єм розчину в колбі до мітки цим же розчинником, перемішували (розчин Б).

1,0 мл розчину А (розчину Б) додавали у мірну колбу ємністю 25 мл, доводили об'єм 20 % спиртом до мітки та перемішували. Вимірювали оптичну густина отриманого розчину на спектрофотометрі Specol 1500 (Швейцарія) за довжини хвилі 327 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Паралельно 1,0 мл фармакопейного стандартного зразка (ФСЗ) хлорогенової кислоти вносили у мірну колбу ємністю 50,0 мл, доводили об'єм до мітки 20 % етиловим спиртом, перемішували та вимірювали оптичну густина за тих самих умов, що й дослідний розчин. Розчином порівняння був 20 % спирт етиловий.

Вміст суми похідних гідроксикоричної кислоти у досліджуваних зразках обчислювали у відсотках за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 1 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot a_1 \cdot 100 \cdot 1 \cdot 50 \cdot (100 - w)}, \quad (2.2)$$

де  $A_1$  – оптична густина дослідного розчину;

$A_0$  – оптична густина розчину ФСЗ кислоти хлорогенової;

$a_1$  – наважка сировини (екстракту), г;

$a_0$  – наважка ФСЗДФУ кислоти хлорогенової, г;

$w$  – втрата в масі під час висушування, %.

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

10.3. Суму флавоноїдів визначали методом диференціальної спектрофотометрії після реакції комплексоутворення з алюмінію хлоридом. Перерахунок здійснювали на рутин-стандарт (Фармакопейний центр, Україна) [32, 70].

*Пробопідготовка для сировини:* 5,0 г (точна наважка) сировини лохини високорослої, подрібненої до розміру частинок, що проходять крізь

сито з отворами діаметром 2 мм, поміщали у колбу ємністю 200 мл зі шліфом, додавали 50 мл 50 % етилового спирту. Колбу з'єднували зі зворотним холодильником та нагрівали на водяній бані протягом 30 хв, періодично перемішуючи. Гарячий екстракт фільтрували крізь вату. Вату переносили у колбу для екстрагування та додавали нову порцію екстрагенту. Екстракцію проводили ще двічі в описаних вище умовах. Об'єднані витяжки упарювали до 1/4 попереднього об'єму. Упарений екстракт переносили в мірну колбу ємністю 50,0 мл, охолоджували та доводили об'єм 70 % спиртом етиловим до мітки. 2,0 мл отриманого розчину змішували у мірній колбі на 25 мл з 2,0 мл 3 % розчину алюмінію хлориду у 96 % етанолі, потім доводили об'єм 70 % етонолом до мітки і ретельно перемішували.

Оптичну густину суміші вимірювали на спектрофотометрі Spacol-1500 (Швейцарія) за довжини хвилі 415 нм у кюветі з товщиною 10 мм крізь 30 хв після фільтрації випробовуваних розчинів за кімнатної температури. Рутин використовували як стандарт.

Паралельно в тих же умовах проводили дослід із розчином ФСЗ рутину. До 1,0 мл розчину ФСЗДФУ рутину додавали 1,0 мл 3 % спиртового розчину алюмінію хлориду і доводили 70 % спиртом до 25,0 мл. Як розчин порівняння використовували розчин ФСЗ рутину, доведений у мірній колбі ємністю 25,0 мл до мітки 70 % спиртом етиловим.

Вміст суми флавоноїдів у плодах, стеблах та листях лохини високорослої, а також в екстрактах лохини високорослої досліджували у перерахунку на рутин та обчислювали у відсотках за формулою 2.3:

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

де  $A_1$  – оптична густина розчину, який досліджується;

$A_2$  – оптична густина розчину комплексу ДСЗ рутину з алюмінію хлоридом;

$a_1$  – наважка сировини або екстракту, г;

$a_0$  – наважка ДСЗ рутину;

w – втрата в масі під час висушування, %.

Примітки:

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

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

10.4. *Загальний вміст антоціанів* у плодах, листях та стеблах лохини високорослої визначали методом ванілін- $H_2SO_4$  із невеликими модифікаціями [125]. До 1,0 мл екстракту (1 мг/мл) додавали до 2,5 мл 1% розчину ваніліну в метанолі і 2,5 мл 30 % розчину  $H_2SO_4$  в метанолі. Реакцію проводили в темряві за температури 30 °С протягом 20 хв, а потім вимірювали оптичну густину за довжиною хвилі 500 нм. Катехін використовували як стандарт.

10.5. *Антоціани*. Із висушеної сировини отримували сумарну витяжку з використанням як екстрагенту 1% кислоти хлористоводневої. Кількісне визначення в об'єктах досліджень антоціанів проводили з використанням методу диференційної рН-спектрофотометрії. Контроль величини рН здійснювали за допомогою рН-метра рН – 150 М із комбінованим електродом ЕСК – 10601/4. Випробовуваний розчин і розчин порівняння мали вихідне рН 4,5. Додаючи до аналізованого розчину декілька крапель водного розчину аміаку, доводили рН до 4,5. За аналізом УФ-спектрів виявлено максимум поглинання за  $\lambda = 520$  нм, перерахунок проводили на ціанідин-3-О-глюкозид.

10.6. *Суму поліфенолів* у плодах, стеблах та листях лохини високорослої та її екстрактах визначали на спектрофотометрі HP 8453 UV-VIS фірми «Hewlett Packard» (США) методом адсорбційної спектрофотометрії в



ультрафіолетовій (УФ) та видимій ділянках спектра (ДФУ 2.0, 2.2.25) [10, 12, 126].

Пробопідготовка для сировини: 1,0 г сухої подрібненої на порошок сировини (2.9.12) поміщали у круглодонну колбу на 250 мл, додавали 150 мл води Р та нагрівали протягом 30 хв на водяній бані, охолоджують під проточною водою, проціджували крізь вату і кількісно переносили у мірну колбу місткістю 250 мл. Круглодонну колбу обполіскували водою Р, промивні води переносили в мірну колбу і доводили об'єм розчину водою Р до 250,0 мл. Дають осаду осісти та рідину фільтрували крізь фільтрувальний папір діаметром 125 мм. Відкидали перші 50 мл фільтрату, 5,0 мл розчину доводили водою Р до 25,0 мл. Суміш 2,0 мл одержаного розчиняли, 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву Р та 10,0 мл води Р доводили розчином 290 г/л натрію карбонату Р до об'єму 25,0 мл. Крізь 30 хв вимірювали оптичну густину (2.2.25) розчину за довжини хвилі 760 нм ( $A_1$ ), використовуючи як компенсаційний розчин воду Р.

Поліфеноли, що не адсорбуються шкірним порошком. До 10 мл фільтрату додавали 0,10 г ФСЗ шкірного порошку й енергійно струшували протягом 60 хв. Суміш фільтрували і доводили 5,0 мл фільтрату водою Р до об'єму 25,0 мл. Суміш 2,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву та 10,0 мл води доводили розчином 290 г/л натрію карбонату до об'єму 25,0 мл. Крізь 30 хв вимірювали оптичну густину (2.2.25) розчину за довжини хвилі 760 нм ( $A_2$ ), використовуючи як компенсаційний розчин воду Р.

Стандартний розчин. Безпосередньо перед випробовуванням 50,0 мг пірогалолу Р розчиняли у воді Р і доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл. 5,0 мл одержаного розчину доводили водою до об'єму 100,0 мл. Суміш 2,0 мл одержаного розчину, 1,0 мл фосфорно-молібденово-вольфрамового реактиву Р та 10,0 мл води Р доводили розчином 290 г/л натрію карбонату до об'єму 25,0 мл. Крізь 30 хв вимірювали оптичну густину (2.2.25) розчину за довжини хвилі 760 нм ( $A_3$ ), використовуючи як

компенсаційний розчин воду Р.

Вміст танінів, у перерахунку на пірогалол, у відсотках обчислювали за формулою:

$$X = \frac{62.5 \cdot (A_1 - A_2) \cdot m_2}{A_3 \cdot m_1}, \quad (2.4)$$

де  $m_1$  – маса випробуваного зразка, г;

$m_2$  – маса пірогалолу, г.

11. *Елементний склад* сировини визначали за допомогою атомно-емісійного спектрофотометра ДФС-8 на базі Інституту монокристалів НАН України.

Проби випарювали з кратерів графітових електродів у розряді дуги змінного струму силою 16 А за експозиції 60 с. Як джерело збудження спектрів було використано ІВС-28. Спектри реєстрували на фотоплівці за допомогою спектрографа ДФС-8 із дифракційною решіткою 600 штр/мм та трилінзовою системою освітлення щілини [32].

Калібрувальні графіки в інтервалі вимірюваних концентрацій елементів будували за допомогою стандартних проб розчинів солей металів (ІСОРМ-23-27). Для розчинення міді та ванадію використовували нітратну кислоту, а в аналізі інших елементів – реактиви кваліфікації х.ч. та двічі очищену воду. Фотометрували лінії спектрів за довжини хвилі від 240 до 347 нм у проба, порівняно з державними зразками суміші мінеральних елементів, що відповідають складу різнотрав'я, за допомогою мікрофотометра МФ-4. Відносне стандартне відхилення (для п'яти паралельних вимірів) не перевищувало 3 % під час визначення чисельних величин концентрацій елементів.

12. *Визначення легкої фракції методом хромато-мас-спектрометрії.* Ефірну олію з досліджуваної сировини отримували за методом, який дозволяє виділити ефірну олію з невеликої кількості рослинної сировини [21, 33, 81]. Для відгону використовували віали Agilent на 22 мл (part number 5183-4536) з відкритими кришками та силіконовим

ущільненням. 2,0-3,0 г (точна наважка) сировини лохини високорослої поміщали у віалу, додавали воду очищену до половини об'єму. Віалу закривали та кип'ятили з повітряним холодильником протягом години. Для запобігання втрат леткої фракції мікрокількості, які були адсорбовані на внутрішній поверхні холодильника, змивали 1-2 мл петролейного ефіру двічі; змиви збирали у віалу. Проба, яку вводили для аналізу, становила 0,001 мл.

*Аналіз леткої фракції* проводили на газовому хроматографі Agilent Technologies 6890 з мас-спектрометричним детектором 5973 із використанням колонки HP-5 довжиною 30 м і внутрішнім діаметром 0,25 мм за таких умов: температура термостата – від 50 до 250 °С (швидкість зміни – 4 °С/хв); температура інжектора – 250 °С; газ носій – гелій, швидкість потоку – 1 мл/хв; перенесення від ГХ до МС прогрівалося до 230 °С; температура джерела підтримувалась на рівні 200 °С; електрона іонізація проводилась за 70 eV у ранжуванні мас від 29 до 450 m/z. Ідентифікацію проводили на основі порівняння отриманих мас-спектрів з даними бібліотеки NIST05-WILEY (близько 500000 мас-спектрів). Індокси утримання компонентів визначали за результатами контрольних аналізів речовин з додаванням суміші нормальних алканів (C<sub>10</sub>-C<sub>18</sub>). Вміст терпенів визначали за сумою усіх площ піків на хроматограмі порівняно зі стандартом – n-деканом [39, 63, 115].

13. *Визначення органічних кислот* проводили з використанням хромато-мас-спектрометра 5973N/6890N MSD/DS Agilent Technologies (США) після отримання метилових естерів кислот.

Детектор мас-спектрометра – квадруполь, спосіб іонізації – електронний удар (EI), енергія іонізації – 70 eV, 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 введення проби – 250 °С. Температура термостата – від 50 до 250 °С. Ідентифікацію метилових естерів кислот проводили на основі розрахунку еквівалентної довжини аліфатичного ланцюга (ECL) із використанням даних

бібліотеки мас-спектрів NIST 05 і Willey 2007 і загальною кількістю спектрів більше 470000 у поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST. Також порівнювали час утримання зрозка з часом утримання стандартних сполук (Sigma).

Уведення до хроматографічної колонки проби 2 мкл проводили у режимі splitless (без розподілу потоку), що до 20 разів підвищує чутливість методики хроматографування та дозволяє ввести пробу без втрат на розділення. Швидкість уведення проби – 1 мл/хв, час – 0,2 хв.

*Пробопідготовка:* до 0,50 мг сухого спиртового екстракту у віалі на 2 мл додавали внутрішній стандарт (50 мкг тридекану в гексані) та 1,0 мл метилюювального агента – 14% розчин метиленхлориду в метанолі, Supelco № 3-3033. Суміш витримували за температури 65 °С у герметично закритій віалі протягом 8 год. За цей час відбувається переестерифікація жирних кислот і з екстракту повністю екстрагується жирна олія. Реакційну суміш зливали з осаду і розбавляли 1,0 мл дистильованої води. Для отримання метилових естерів жирних кислот додавали 0,2 мл хлористого метилену, струшували протягом 1 год та піддавали хроматографуванню.

14. *Визначення амінокислот методом ВЕРХ* проводили за допомогою Agilent 1260 Infinity HPLC System (дегазатор, бінарний насос, автосамплер; одноквадрупольний мас-спектрометр Agilent 6120 з іонізацією в електроспреї (ESI); OpenLAB CDS Software. Колонка Zorbax RX-SIL (1,8 мкм, 4,6 x 50 мм, Agilent) із захисним фільтром. За умовами проведення ВЕРХ дослідження використовували градієнтний режим з буферним розчином: А – H<sub>2</sub>O (НСООН 0,1 %) і розчину органічного модифікатора: В – CH<sub>3</sub>CN (НСООН 0,1 %). Швидкість потоку – 0,4 мл/хв. Об'єм уведення – 10 мкл. Температура колонки – 40 °С. Умови МС детектування: джерело іонів – API-ES; режим сканування іонів – 50-300 m/z; режим екстракції хроматограм – за індивідуальними іонами залежно від молекулярної маси, EIC; позитивна полярність. У роботі використано ацетонітрил HPLC Super gradient (Avantor performance materials inc, Польща) та форміатну кислоту (AppliChem GmbH,

Німеччина). Високоочищено вода (18 МΩ за температури 25 °С) було приготована з використанням системи очищення води Direct Q 3UV (Millipore, Molsheim, Франція).

*Пробопідготовка вивчення загальних амінокислот.* У віалу додавали 0,20 мл екстракту та 3 мл 6 N водного розчину хлоридної кислоти, який містить 0,4% β-меркаптоетанолу. Віалу герметично закривали та витримували на ультразвуковій бані за температури 110 °С протягом 24 год. Віалу зі зразками центрифугували та фільтрували. Відбирали 20 мкл фільтрату віалу для аналізу на 2 мл, поміщали у вакуумний ексікатор за температури 40-45 °С і тиску 1,5 мм рт.ст. до повного видалення хлоридної кислоти. Потім у віалу для аналізу послідовно додавали 200 мкл 0,8 М боратного буферу з рН 9,0, 200 мкл 20 мМ розчину 9-флуоренілметоксикарбоніл хлориду в ацетонітрилі, після 10-хвилинної витримки у віалу для аналізу додавали 20 мкл 150 мМ розчину амантадину гідрохлориду у 50 % водному ацетонітрилі.

15. *Визначення моноцукрів методом ВЕРХ* проводили на хроматографі фірми «Agilent Technologies» (модель 1100) з проточним вакуумним дегазатором G1379A, чотири каналним насосом градієнта низького тиску G13111A, автоматичним інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A та рефрактометричним детектором G1362A. Для проведення аналізу застосовувалась карбогідратна хроматографічна колонка розміром 7,8×300 мм Supelcogel-C610H, з таким режимом хроматографування: швидкість подачі рухомої фази – 0,5 мл/хв, елюент – 0,1 % водний розчин фосфатної кислоти, робочий тиск елюенту – 33-36 кПа, температура термостата колонки – 30 °С, об'єм проби – 5 мкл. Параметри рефрактометричного детектування: час сканування – 0,5 с, масштаб вимірювання – 1,0.

1,0 г екстракту (точна наважка) поміщали у віалу на 10 мл та додавали 10 мл 3% розчину хлоридної кислоти. Після чого віалу герметично закривали та витримували за кімнатної температури 45 хв на ультразвуковій бані. Вміст

віали центрифугували та фільтрували крізь мембранний тефлоновий фільтр із розміром пор 0,45 мкм у віалу для аналізу.

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

Ідентифікацію моноцукрів проводили за часом утримання стандартів.

16. *Визначення фенольних сполук* в об'єктах лохини високорослої проводили методом ВЕРХ за допомогою хроматографа Agilent Technologies (модель 1100), укомплектованим проточним вакуумним дегазатором G1379A, чотириканальним насосом градієнта низького тиску G13111A, автоматичним інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A та діодно-матричним детектором G1316A. Для проведення аналізу була використана хроматографічна колонка ZORBAX-SB C-18 розміром 2,1×150 мм, заповнена октадецилсилільним сорбентом зернистістю 3,5 мкм. Умови аналізу: температура термостата – 35 °C; швидкість потоку рухомої фази – 0,25 мл/хв; рухома фаза – розчин А (0,1 % фосфатна кислота, 180 мкл/л триетиламін, 3 мл/л тетрагідрофуран у воді) та розчин В (MeOH) у співвідношенні 90 : 10 (перші 8 хв), 70 : 30 (із 8 до 24 хв), а з 24 хв використовували тільки розчин В; робочий тиск елюенту – 240-300 кПа. За аналізом були встановлені такі параметри детектування: масштаб виміру – 1,0; час сканування – 0,5 с; параметри зняття спектра – кожен пік 190-600 нм. Ідентифікацію фенольних сполук проводили за часом утримання стандартів гідроксикоричних кислот і флавоноїдів та їх спектральними характеристиками, до та після гідролізу [48, 175].

*Пробопідготовка:* 500,0 мг (точна наважка) сировини зважували у мірній колбі на 5,0 мл і доводили до мітки 90 % водним метанолом. Після 30 хв екстракції на ультразвуковій бані зразок витримували за кімнатної

температури протягом 3-4 год, потім колбу знову екстрагували на ультразвуковій бані 15 хв, далі розчин фільтрували крізь тefлоновий фільтр із розміром пор 0,45 мкм у віалу для аналізу. Об'єм проби складав 2 мкл.

Для гідролізу 300 мкл 4% спиртового розчину сухого екстракту з листя лохини високорослої поміщали у віалу на 2 мл, додавали 300 мкл розчину 6N соляної кислоти в етанолі (1 : 1 за об'ємом). Герметично закриту віалу витримували в термостаті за температури 100 °C протягом 1 год. Після охолодження вміст віали центрифугували і переносили у віалу для аналізу.

17. *Визначення антоціанів методом ВЕРХ* проводили на хроматографічному приладі фірми «AgilentTechnologies 1200 Infinity» (США) з автоматичним пробовідбірником Agilent 1200, укомплектованим вакуумним мікродегазатором, градієнтним насосом і термостатом тієї ж серії. Електронні спектри поглинання реєстрували за допомогою спектрофотометричного детектора з діодною матрицею серії Agilent 1200 (діапазон довжин хвиль – від 190 до 950 нм, кювета з довжиною оптичного шляху – 10 мм, об'єм – 13 мкл), крок сканування – 2 нм. Для реєстрації та обробки спектральних даних і хроматограм використовували програмне забезпечення «AgilentChemStation».

Для випробувань використовували сталеву хроматографічну колонку, Ascentisex-press C182,7µм Ч 100 мм Ч 4,6 мм.

Антоціани піддавали хроматографічному поділу в таких умовах: рухома фаза: (А) – водний розчин кислоти ортофосфорної (рН ~ 2), (Б) – ацетонітрил або 0,5% водний розчин кислоти оцтової (А) – ацетонітрил (Б) у градієнтному режимі елюювання; швидкість рухомої фази – 0,5 мл/хв; температура колонки – +35 °C; об'єм уведеної проби – 1 µл.

Склад рухомої фази програмували в умовах, зазначених у табл. 2.1.

*Таблиця 2.1*

Умови градієнтного елюювання антоціанів

Час, хв	А,%	Б,%
0	90	10

10	80	20
20	70	30
30	50	50
40	10	90

Детектування здійснювали за довжини хвилі 520 нм.

Екстракти для визначення антоціанів готували настоюванням у 10 % розчині мурашиної кислоти. Екстракти фільтрували і розбавляли водою (або елюентом) від 1 : 5 до 1 : 10, перед аналізом.

Для гідролізу до виділених екстрактів антоціанів додавали концентровану хлористоводневу кислоту (у співвідношенні 1 : 10), кип'ятили протягом 45 хв на водяній бані. Охолоджені (2-5 мл) гідролізати для відділення від хлористоводневої кислоти сорбували на патронах Діапак С18, попередньо кондиціонованих пропусканням 2-2,5 мл ацетону і 2,5 мл екстрагенту. Патрони промивали 2 мл екстрагенту, антоціани елюювали розчином мурашина кислота – ацетонітрил – вода в співвідношенні 10 : 40 : 50 % об'ємно. Перед хроматографічним аналізом отримані екстракти розбавляли в 4 рази екстрагентом.

18. *HPLC-DAD-MS* аналіз досліджуваних екстрактів лохини високорослої проводили з використанням системи Ultimate 3000 RS (Dionex, США) в поєднанні з мас-спектрометром іонної пастки Amazon SL (Bruker Daltonik, Німечина) на кафедрі фармакогнозії та молекулярних основ фітотерапії фармацевтичного факультету Варшавського медичного університету під керівництвом Себастьяна Граніци. Поділ проводили на колонці Kinetex XB-C18 150 mm × 2.1 mm × 1.7 μm (Torrance, США). Колонку елюювали 0,1% мурашиною кислотою в деіонізованій воді (А) та 0,1% мурашиною кислотою в ацетонітрилі (В). Програма градієнта: використовували 0 хв – 1% В, 60 хв – 26% В. Швидкість потоку становила 0,3 мл/хв, а температура колонки підтримувалася на рівні 25 °С. Елюат вводили безпосередньо до джерела ESI мас-спектрометра. Параметри джерела ESI: тиск небулайзера – 40 фунтів на квадратний дюйм; витрата



сухого газу – 9 л/хв; температура сушіння – 300 °С, напруга капілярів – 4,5 кВ. Сполуки аналізували в режимах негативного та позитивного іонів. Режим MS/MS був активним, а найпоширеніший іон у записаному спектрі був підданий фрагментації. Сигнали, отримані в спектрі MS/MS, використовувались для подальшої фрагментації, коли це можливо, в режимі Smart Frag. За допомогою пристрою DAD моніторили УФ спектр виявлених сполук від 200 до 450 нм [70, 125, 129].

19. *Вивчення протизапальної активності in vivo на моделі карагенінового набряку.* Експерименти проводили на базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом професора І. В. Кіреєва на щурах-самцях масою 180-220 г, які були розділені на 6 груп по 6 тварин у кожній. Перша група – контроль, шоста група – інтактні тварини. Для вивчення впливу одержаних екстрактів лохини на хід ексудативної фази запалення була використана модель набряку лапи щура, викликана субпланарним уведенням флогогенного агенту – розчину карагеніну. Об'єм лапи вимірювали до уведення флогогену і щогодини після уведення до часу найбільшого розвитку набряку (4 год). За 2 год і відразу після уведення флогогенного агенту тваринам вводили внутрішньоочеревинно екстракти лохини у дозах 15, 25, 50, 75 і 100 мг/кг. Ефект екстрактів лохини оцінювався за здатністю пригнічувати набряк лапи щурів. Як препарат порівняння з відомим протизапальним ефектом використовували диклофенак натрію.

20. *Вивчення протизапальної активності in vitro екстрактів лохини високорослої* було проведено на базі Graduate Institute of Natural Products, College of Medicine, Chang Gung University (Тайвань) під керівництвом проф. Tsong-Long Hwang (Department of Anesthesiology, Chang Gung Memorial Hospital) та Michal Korinek (Department of Biotechnology, College of Life Science, Kaohsiung Medical University). Сухі екстракти лохини високорослої розчиняли в абсолютному етанолі і зберігали в атмосфері азоту за -20 °С перед використанням. Кінцева концентрація етанолу в клітинних експериментах не перевищувала 0,1% і не впливала на вимірювані

параметри.

*Підготовка нейтрофілів людини.* Кров брали у здорових донорів (віком 20-32 років) із вени з використанням протоколу, затвердженого наглядовою радою лікарні *Chang Gung Memorial Hospital* (Тайвань). Нейтрофіли виділяли стандартним методом осадження декстрану перед центрифугуванням у градієнті розчину фіколу (*Ficoll-Hyraque PLUS*) і гіпотонічного лізису еритроцитів. Очищені нейтрофіли, що містять > 98% життєздатних клітин, як визначено методом виключення трипанового синього, ресуспендували в буфері «збалансованого сольового розчину Хенкса», що не містить  $\text{Ca}^{2+}$  за рН 7,4 і витримували за температури 4 °С перед використанням.

Інгібування генерації супероксидних аніонів. Аналіз створення  $\text{O}_2^{\cdot-}$  заснований на інгібуванні супероксиддисмутазою відновлення ферицитохрому С. Після додавання 0,5 мг/мл ферицитохрому С і 1 мМ  $\text{Ca}^{2+}$  нейтрофіли ( $6 \times 10^5$  /мл) урівноважували при за температури 37 °С протягом 2 хв і інкубували з екстрактами лохини високорослої протягом 5 хв. Клітини активували 100 нМ *n*-форміл-метіоніл-лейцил-фенілаланіном (fMLP) протягом 10 хв. У разі використання fMLP як стимулятора 1 мкг/мл цитохалазин В (CB) інкубували протягом 3 хв перед активацією. Зміни абсорбції у разі зниження ферицитохрому С за довжини 550 нм безперервно контролювали в двопроменевій шестичарунковій позиціоною спектрофотометром, постійно перемішуючу (Hitachi U-3010, Японія). Розрахунки ґрунтувалися на різниці в реакціях із супероксиддисмутазою і без неї (100 Од/мл), поділеній на коефіцієнт екстинкції для відновлення ферицитохрому С ( $\epsilon = 21,1$  / мМ/10 мм).

Здатність екстрактів лохини високорослої до поглинання  $\text{O}_2^{\cdot-}$  визначали з використанням ксантину / ксантинооксидази в безклітинній системі. Після додавання 0,1 мМ ксантину в буфер для аналізу (50 мМ тріс, рН = 7,4, 0,3 мМ WST-1 і 0,02 Од/мл ксантинооксидази) протягом 15 хв за температури 30 °С, поглинання, пов'язане з  $\text{O}_2^{\cdot-}$  – індуковане відновлення WST-1 вимірювали за довжини хвилі 450 нм.

*Дослідження вивільнення еластази.* Дегрануляцію азурофільних гранул визначали за вивільненням еластази. Експерименти проводили з використанням MeO-Suc-Ala-Ala-Pro-Val-*p*-нітроаніліду як субстрату еластази. Після додавання MeO-Suc-Ala-Ala-Pro-Val-*p*-нітроаніліду (100 мкМ) нейтрофіли ( $6 \times 10^5$  / мл) врівноважували за температури 37 °С протягом 2 хв й інкубували з екстрактами лохини високорослої протягом 5 хв. Клітини активували fMLP (100 нМ) у присутності СВ (0,5 мкг / мл) і безперервно відстежували зміни оптичної щільності за довжини хвилі 405 нм для визначення вивільнення еластази. Результати виражали у відсотках від початкової швидкості вивільнення еластази в контрольному досліді, яка активується fMLP/СВ і не містить досліджуваних екстрактів.

Для визначення інгібіторної активності щодо еластази екстрактів лохини високорослої проводили прямий аналіз активності еластази в безклітинній системі. Нейтрофіли ( $6 \times 10^5$  / мл) інкубували протягом 20 хв в присутності fMLP (100 нМ) / СВ (2,5 мкг/мл) за температури 37 °С. Потім клітини центрифугували за 1000 g протягом 5 хв за температури 4 °С для збору еластази із супернатанту. Супернатант врівноважували за температури 37 °С протягом 2 хв та інкубували з або без екстрактів лохини високорослої протягом 5 хв. Після інкубації до реакційних сумішей додавали субстрат еластази MeO-Suc-Ala-Ala-Pro-Val-*p*-нітроаніліду (100 мкМ). Зміни оптичної щільності за довжини хвилі 405 нм безперервно відстежували протягом 10 хв для аналізу активності еластази.

21. *Визначення гіпоглікемічної активності* проводили на базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом к.б.н., доц. Г. Б. Кравченко, на 18-місячних самцях щурів лінії Wistar. Інсулінорезистентність моделювали утриманням тварин на дієті, збагаченій фруктозою (60,3 % фруктози, 18,3 % білка, 5,2 % жирів) [19, 89]. Тварин декапітували під хлоразолоуретановим наркозом. Об'єктом дослідження була сироватка крові.

Вміст глюкози, інсуліну і триацилгліцеролів (ТАГ) визначали з використанням стандартних наборів фірми «Фелісіт-Діагностика» (Україна) та

фірми «Lachema» (Чехія). Концентрації  $\alpha$ - і  $\beta$ -холестерину визначали за допомогою стандартних ферментативних холестеролоксидазних наборів фірми «Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica» (Німеччина), попередньо розділивши фракції ліпопротеїнів турбідиметричним методом. Вміст аргініну та цитруліну визначали фотометричними методами з використанням стандартних наборів реактивів. Для оцінки рівня ендогенного NO визначали вміст нітритів і нітратів спектрофотометрично за допомогою реактиву Грісса [18].

## РОЗДІЛ 3

### ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ВИВЧЕННЯ НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ЛОХИНИ ВИСОКОРОСЛОЇ

Вирощування лохини високорослої (*Vaccinium corymbosum* L.) є галуззю садівництва, що динамічно розвивається переважно в помірно теплих, субтропічних і тропічних регіонах світу. *Vaccinium corymbosum* вирощують з комерційною метою. Свіжі і перероблені плоди зазвичай споживають у Північній Америці, Європі, Канаді, Австралії, Новій Зеландії, Китаї, Чилі, Україні та інших країнах [177, 178, 186]. Як правило, для вирощування плодів потрібен відносно низький рівень добрив та хімічного захисту, тому плантації *Vaccinium corymbosum* легко отримують статус екологічного землеробства, що додатково збільшує цінність виду [109]. Крім того, *Vaccinium corymbosum* належать до функціональних продуктів харчування з високим вмістом, наприклад, флавоноїдів, дубильних речовин і фенольних кислот, що впливають на функціонування певних органів та систем [53, 86, 90, 149].

На території України вирощування *Vaccinium corymbosum* як ягідної культури динамічно розвивається. Плоди та листя лохини у народній медицині використовують для зміцнення стінок судин, нормалізації роботи органів травлення та серця, проте немає жодного нормативного документа (НД), гармонізованого з Європейською фармакопеєю. Тому для розроблення НД на ЛРС лохини високорослої потрібно було провести фітохімічне дослідження її плодів, стебел та листя, обрати найбільш перспективні для створення лікарських засобів та розробити проекти МКЯ.

3.1 Макро- та мікроскопічне дослідження сировини лохини високорослої

Дослідження пагонів лохини високорослої проводились на базі господарств м. Балаклії, Харківської області (GPS: 49°27'41.1" N,

36°50'42.7" E) та Садового центру «Садко», м. Княжичі Київської області (GPS: 50°45'84.4" N, 30°80'03.5" E) у 2018-2019 рр. у період вегетації рослин. Для проведення біометричних вимірювань були використані праці «Програма і методика сортовивчення плодових, ягідних і горіхоплідних культур» [45], «Методи біологічних та агрохімічних досліджень рослин і ґрунтів» [8], «Методика проведення експертизи сортів чорниці» [1] і «Методика проведення польових досліджень з плодовими культурами» [31]. Макро- та мікроскопічні дослідження сировини лохини високорослої проводилися закордонними ученими, тому актуальним було порівняльне вивчення сортів, які зростають в Україні.

Рослини були висаджені у 2017 р. за схемою розміщення 3 x 1 м за варіантом колекційного вивчення на мульчі з тирси під системою крапельного зрошення. Використовували традиційний метод вирощування, що включає внесення стандартних мінеральних добрив і хімічних засобів захисту рослин, а також субстрат з рН 4,0 (1 моль/л KCl). Дослідження було спрямоване на вивчення структури і параметрів кущів лохини високорослої сортів Блюголд і Шантеклер для подальшого аналізу та розроблення НД щодо визначення умов вирощування і заготівлі.

*Лохина високоросла сорту Шантеклер.* Є найбільш ранньостиглий сортом. Кущ середньорослий, піднятий, висотою до 1,6 м, ягоди середнього і великого розміру (1,7-2,1 г), близько 17 мм у діаметрі, світло-блакитні, округлої форми. Відрізняється приємним солодким смаком з тонкою нотою кислоти. Ягоди дозрівають на початку липня. Лохина дає регулярний урожай 3-5 кг з куща. Має достатню морозостійкість (до -30 °С) і може успішно вирощуватися в усіх регіонах України. Ягоди добре зберігаються і транспортуються.

*Лохина високоросла сорту Блю Голд* – середньопізнього строку дозрівання (кінець липня – початок серпня). Кущ середньої сили росту і дуже продуктивний, висотою 1,3-1,6 м. Ягоди великі (1,4-1,8 г), у діаметрі 15-17 мм, приємного солодкого смаку, під час дозрівання набувають темного забарвлення, дозрівають на початку серпня. Відрізняється хорошою

врожайністю (близько 10 кг з куща), стійка до захворювань та морозів (-32 °C), але не стійка до посухи. Цей сорт також можна віднести до невибагливих.

### 3.1.1 Дослідження біометричних показників надземної частини лохини високорослої

Під час вимірювання характеристик кущів встановлено, що досліджувані сорти лохини відрізняються за показниками: висотою, діаметром, кількістю пагонів і їх приростом (табл. 3.1).

У 2018 р. сорти розділили на дві групи, які істотно відрізнялися одна від одної за силою зростання кущів. До першої (слаборослі) віднесені Блюголд, сильніше зростання кущів у сорту Шантеклер. Дані табл. 3.1 свідчать, що кущ сорту Блюголд (2019 р.) значно вище, ніж Шантеклер. За результатами проведених за два роки біометричних обліків можна зробити висновок, що сорти лохини відрізняються за розвитком надземної частини кущів у двох регіонах. Показники висоти куща були більші у сорту Блюголд – 103,5-120,7 см (Харківський регіон) та 114,1-117,4 см (Київського регіон). У середньому за два роки найбільший приріст, майже 17 см, мала лохина з Балаклеї; дещо менше кущі сорту Шантеклер – 89,1-107,3 та 98,2-116,2 см у двох регіонах відповідно. Рослини досліджуваних сортів за діаметром куща (2018 р.) мають різні характеристики, але дисперсійний аналіз показав відсутність суттєвої різниці між варіантами. Максимальний показник спостерігався у сорту Блюголд (77,7-84,1 см), а Шантеклер мав показники дещо нижчі – 67,6-71,5 см (табл. 3.1). У 2019 р. порівняно з 2018 р. кущі сорту Блюголд відзначилися інтенсивним зростанням, що викликало значні розбіжності між досліджуваними варіантами. У 2019 р. діаметр куща сорту Блюголд збільшився на 18% порівняно з 2018 р., а сорту Шантеклер – на 15% відповідно. За дослідженням протягом 2018-2019 рр., форми кущів двох сортів відповідали за описом промисловим сортам, але сорт Блюголд тут мав

напіврозлогу форму куща. Пряморослі форми мають переваги у господарсько-біологічному плані: полегшується догляд за ґрунтом і рослинами, з'являється можливість механізувати процес збору сировини.



Таблиця 3.1

**Біометричні характеристики кущів лохини високорослої**

Показник	2018 р.								2019 р.							
	Харків				Київ				Харків				Київ			
	Блюголд		Шантеклер		Блюголд		Шантеклер		Блюголд		Шантеклер		Блюголд		Шантеклер	
	вимір	середнє значення	вимір	середнє значення	вимір	середнє значення	вимір	середнє значення	вимір	середнє значення	вимір	середнє значення	вимір	середнє значення	вимір	середнє значення
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Висота куща, см	111,2	103,5 ± 6,24	84,1	89,1 ± 3,83	117,3	114,1 ± 4,23	90,4	98,2 ± 6,13	123,3	120,7 ± 1,60	96,7	107,3 ± 8,38	120,3	117,4 ± 2,65	103,9	116,2 ± 9,49
	107,8		89,4		117,1		98,8		121,4		108,2		119,3		117,0	
	104,3		94,7		116,9		107,2		119,5		119,6		118,2		130,1	
	99,5		90,7		112,1		100,6		119,6		110,5		115,8		120,0	
	94,7		86,7		107,2		94,0		119,6		101,4		113,4		109,9	
Діаметр куща, см	79,2	77,9 ± 0,88	61,0	67,6 ± 6,20	86,0	84,1 ± 1,59	63,1	71,5 ± 6,92	92,8	91,9 ± 3,70	71,5	78,1 ± 5,22	100,8	99,4 ± 5,48	76,2	82,3 ± 5,36
	78,5		69,0		85,2		72,5		94,3		78,7		103,0		83,3	
	77,7		76,9		84,4		81,8		95,8		85,8		105,1		90,3	
	77,3		69,3		83,1		74,1		90,8		80,2		97,7		84,0	
	76,9		61,7		81,8		66,3		85,8		74,5		90,3		77,7	

Продовж. табл. 3.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Кількість однорічних пагонів на одному куці, шт	16	15,20 ± 0,80	13	12,60 ± 1,09	15	14,20 ± 0,80	11	11,80 ± 0,80	27	28,20 ± 1,24	25	26,60 ± 1,09	29	29,20 ± 0,80	22	24,00 ± 1,51
	15		12		14		12		29		26		28		25	
	14		14		13		13		27		28		30		23	
	15		13		15		11		30		27		29		26	
	16		11		14		12		28		27		30		24	
Середня довжина однолітнього пагона на куцах, см	30,0	30,2 ± 1,10	19,0	21,6 ± 1,76	33,0	33,5 ± 3,53	26,0	29,4 ± 2,51	36,0	40,0 ± 3,01	34,0	32,6 ± 2,51	47,0	48,4 ± 2,19	34,0	40,0 ± 3,87
	29,5		21,5		35,5		29,5		38,0		31,5		49,0		42,0	
	29,0		24,0		38,0		33,0		40,0		29,0		46,0		39,0	
	30,5		22,5		33,0		30,5		42,0		32,5		52,0		45,0	
	32,0		21,0		28,0		28,0		44,0		36,0		48,0		40,0	

Аналіз пагоноутворювальної здатності рослин лохини, зокрема кількості і якісних біометричних показників однорічних пагонів, свідчить про тенденцію наростання вегетативної маси плодоносних кущів. За кількістю однорічних пагонів (табл. 3.1) у 2018 р. сорт Блюголд істотно перевершував сорт Шантеклер, у якого їх менше – всього 12 шт. на одному кущі.

Але на наступний рік на кушах сорту Блюголд була найбільша кількість однорічних пагонів – 28-29 шт., що на 14 більше, ніж у 2018 р. й істотно вище, ніж у сорту Шантеклер, у яких кількість пагонів у 2019 р. збільшилася порівняно з попереднім роком на 12-14 шт. і склала 24-27 на кущі.

Що стосується довжини однорічних пагонів (табл. 3.1), то сорт Блюголд має стабільно й істотно більш високий показник щорічного приросту і за два роки склав: 30-33,5 см у 2018 р., 40-48 см у 2019 р., за середнього показника 38 см. Пагони сорту Шантеклер за 2 роки досліджень мали довжину 31 см; із різницею в 11 см (21,6 і 32,6 см у Харківському регіоні та 29,4-40,0 см у Київському) були однорічні пагони у 2018 і 2019 рр. За з даними табл. 3.1, найбільш перспективним для заготівлі листя і подальшого вивчення є сорт Блюголд.

Визначення загальної площі листової пластини має важливе значення для процесу фотосинтезу. Від роботи асиміляційної поверхні листка залежать інтенсивність проходження ростових процесів і ступінь плодоношення. Заготівля листя лохини високорослої сортів Блюголд та Шантеклер проводилася у серпні 2019 р. під час обрізання кущів (табл. 3.2).

Кількість листів на одному кущі (2019 р.) для двох сротів коливалася від 791 до 1136 шт., що свідчить про залежність цього показника від особливостей сорту рослин та кліматичних умов. Так, сорт Шантеклер мав суттєво меншу кількість листя (791-1035 шт.) на кущі порівняно із сортом Блюголд (1062-1136 шт.), так само встановлені суттєві відмінності площі листка. Площа листків на кущі залежить від їх кількості на рослині і від площі одного листка. У сорту Блюголд цей показник істотно вище, ніж у

сорту Шантеклер. Площа асиміляційної поверхні на одиниці площі у 2019 р. була вищою у сорту Блюголд – 4949 і 5322 м<sup>2</sup>/га відповідно у Київському і Харківському регіонах; значно менші показники були у сорту Шантеклер – 3833 і 4132 м<sup>2</sup>/га.

Таблиця 3.2

### Характеристики листя лохини високорослої

Показник	Харків				Київ			
	Блюголд		Шантеклер		Блюголд		Шантеклер	
	вимір	середнє значення	вимір	середнє значення	вимір	середнє значення	вимір	середнє значення
Кількість листків на кущі, шт.	1062	1062,20 ± 1,41	791	895,90 ± 67,20	1100	1136,40 ± 22,80	1060	1011,00 ± 36,90
	1063		858		1132		1035,5	
	1064		926		1164		1011	
	1062		943		1150		986,5	
	1060		962		1136		962	
Площа одного листка, см <sup>2</sup>	13,9	14,72 ± 0,49	10,55	10,59 ± 0,25	14,9	15,70 ± 0,60	13,9	11,97 ± 1,30
	14,55		10,725		15,3		12,05	
	15,2		10,9		15,7		10,2	
	15,05		10,55		16,1		11,3	
	14,9		10,2		16,5		12,4	
Площа листків на 1 кущі, м <sup>2</sup>	1,3	1,37 ± 0,04	1,2	1,16 ± 0,04	1,5	1,49 ± 0,07	1,2	1,30 ± 0,08
	1,35		1,15		1,45		1,25	
	1,4		1,1		1,4		1,3	
	1,4		1,15		1,5		1,35	
	1,4		1,2		1,6		1,4	
Сумарна площа листків, м <sup>2</sup> /га	5320	5322,40 ± 16,95	3906	4132,30 ± 147,35	4980	4949,40 ± 35,66	3882	3833,40 ± 87,53
	5332		4115		4938		3894	
	5344		4324		4896		3906	
	5320		4213,5		4943		3797	
	5296		4103		4990		3688	

Результати досліджень свідчать, що площа листкової поверхні, яку формують сорти лохини, значною мірою залежить від їх біологічних особливостей, місця вирощування і кліматичних умов. У подальших дослідженнях використовувався сорт лохини високорослої Блюголд, який мав більшу сировинну масу.

### 3.1.2 Макроскопічне дослідження листя лохини високорослої

Листки дрібні оберненоовальні або оберненояйцеподібні, короткочерешкові 0,5-2 мм (рис. 3.1.), жорсткі, шкірясті, на верхівці злегка загострені, край листкової пластинки цілий або дрібнопилчастий, із трохи загорнутими вниз краями, довжиною 7-30 мм, шириною 5-15 мм.



Рис. 3.1 Морфологічні ознаки листя лохини високорослої

Листки зверху світло-зелені, знизу – сизі, іноді мають блакитний відтінок. Восени листя червоніє та обпадає.

Подрібнена сировина: шматочки листя різної форми від світло-зеленого до темно-зеленого кольору з блакитним відтінком, що проходять крізь сито з отворами діаметром 3 мм, товсті та шкірясті. Запах відсутній. Смак гіркий, терпкий [59].

### 3.1.3 Макроскопічне дослідження стебел лохини високорослої

Молоді стебла злегка ребристі, блискучі або матові, світло-зелені, буро-

жовті, коричневі або червоні; хвилясті, голі або злегка опушені, часто залозисто-бородавчасті (рис. 3.2).



Рис. 3.2 Морфологічні ознаки стебла лохини високорослої

Старіші стебла мають корок від сірого до сіро-коричневого кольору, злегка рваний.

#### 3.1.4 Макроскопічне дослідження плодів лохини високорослої

Під час збирання, транспортування та підготовки плодів (за мікроскопією) особлива увага приділялася тому, щоб не торкатися поверхні плодів, призначеної для спостереження, з метою уникнення стирання і руйнування воскового шару. Плоди лохини високорослої є так звані «м'які плоди» [95, 104, 150, 180].

За формою плоди лохини округлі, рідше витягнуті, довжиною до 1,2 см, дуже схожі на мініатюрні яблучка, увінчані чітко вираженими хвостиками, що мають вигляд корони; сині із сизувато-блакитним відтінком та сизим нальотом, соковиті, їстівні. У розрізі плоди лохини мають прозору з трохи зеленуватим відтінком серединку (рис. 3.3).



Рис. 3.3 Морфологічні ознаки плодів лохини високорослої

Відсутність природного пігменту насиченого темно-синього кольору усередині плодів лохини робить сік, у разі розчавлювання, абсолютно чистим та безбарвним. Зрілі плоди характеризуються різним розміром рубця від збору і формою рубця від нектарника. Зі свого боку, нектарний рубець має форму п'ятикутної зірки, у деяких плодів – форму 5-стороннього багатокутника, поверхня плодів покрита епікутикулярним воском (рис. 3.4).



Рис. 3.4 Морфологічні ознаки нижньої та верхньої поверхні плода лохини високорослої

Плоди *Vaccinium corymbosum* містять багато насіння [78, 80, 111], але воно розрізняється за розміром – від 0,49 до 1,02 мм у довжину і від 0,44 до 0,61 мм у ширину, забарвленням і ступенем зрілості; зріле має зморшкуватий епісперм з темно-коричневою насінневою оболонкою (рис. 3.5).



Рис. 3.5 Насіння лохини високорослої

Смак лохини багато в чому обумовлений особливостями її м'якоті, для якої здебільшого характерна водяниста структура, плоди мають незвичайну

кислинку, що на рідкість гармонійно поєднується з легкою і ненав'язливою солодкістю з присмаком ноток брусниці та смородини.

### 3.1.5 Мікроскопічне дослідження лохини високорослої

*Листя лохини високорослої* на поперечному розрізі дорзивентрального типу (рис. 3.6), стовпчаста паренхіма 1-шарова, губчаста – 2-3-шарова, черешок однопучковий.



Рис. 3.6 Поперечний зріз листкової пластинки лохини високорослої

Будова центральної жилки (рис. 3.7. А) не відрізняється від будови черешка. Пучок один з добре розвиненими флоемою і ксилемою. Паренхіма пухка. Склеренхіма міститься з одного боку. На верхній і нижній епідермі трапляються зрідка дворядні довгі покривні волоски (рис. 3.7. А, 1).



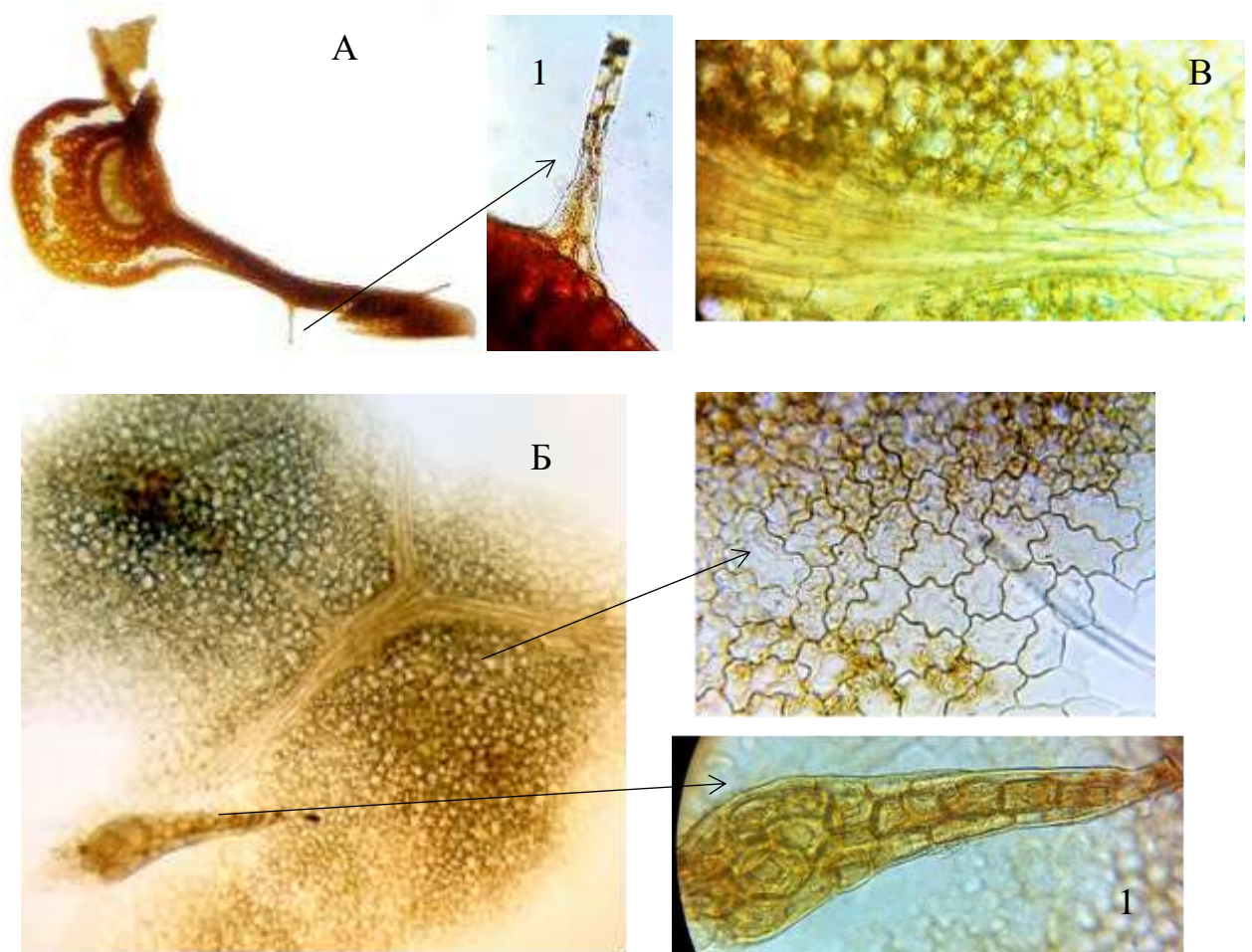


Рис. 3.7 Листок лохини високорослої: А – центральна жилка; Б – верхня епідерма; 1 – покривний дворядний волосок; В – епідерма над жилкою

Верхня епідерма складається з паренхімних лопатевих клітин зі звивистими оболонками (рис. 3.7, Б). Клітини вздовж жилок видовжені, прямокутні. Вздовж жилок містяться великі багатоклітинні волоски (рис. 3.7, Б, 1) із розширеною основою і видовженим тілом. На верхівці розташована дрібна ампулоподібна верхівка.

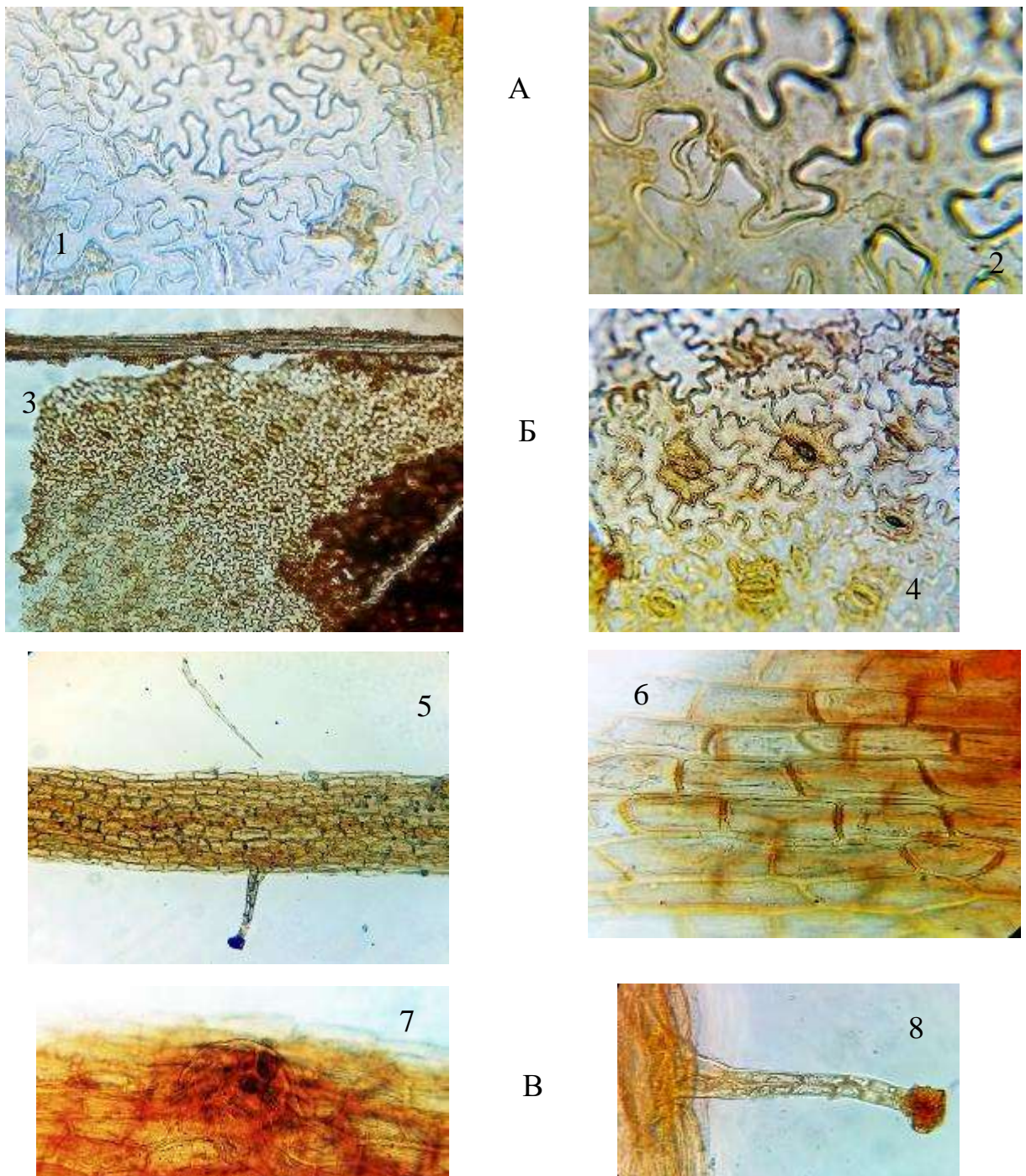


Рис. 3.8 Нижня епідерма листка: А – в основі листка; Б – у центральній частині листка: 1, 3 – за малого збільшення; 2, 4 – за великого збільшення; В – над жилкою: 5 – загальний вид; 6 – за великого збільшення; 7 – горбкуватий волосок; 8 – головчастий волосок

Нижня епідерма (рис. 3.8. А, Б) складається з паренхімних клітин з дуже звивистими оболонками. В основі пластинки зрідка трапляються продихи (рис. 3.8. А, 1, 2), а в центральній частині вони численні, великі



овальні. Типи продихових апаратів аномоцитний та парацитний (рис. 3.8. А, Б).

Над жилкою клітини слабо видовжені, прямостінні, оболонки незначно потовщені (рис. 3.8. В, 5, 6). На епідермі містяться горбкуваті багатоклітинні волоски з широкою основою (рис. 3.8. В, 7) і довгі залозисті волоски з дворядною ніжкою (рис. 3.8. В, 8).

По краю листка часто розташовані залозисті волоски на дворядній ніжці, рідко покривні багатоклітинні волоски з розширеною основою й одноклітинні тонкі дуже загнуті волоски (рис. 3.9).

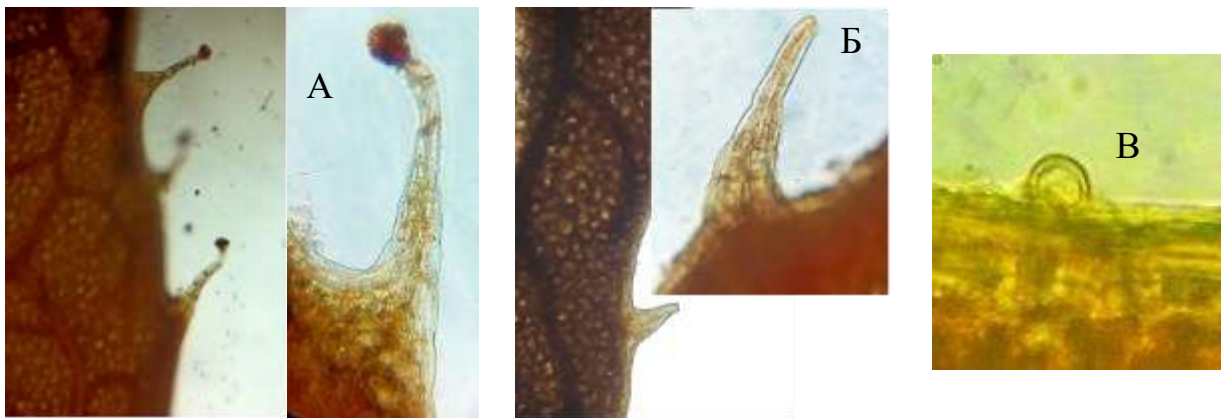


Рис. 3.9 Край листка: А – залозистий волосок; Б – конічний покривний волосок; В – простий загнутий волосок

Пучок півмісячної форми (рис. 3.10, 2), великий з добре розвиненими флоемою і ксилемою. Судини ксилеми розташовані рівними рядами. Склеренхіма підстеляє флоему (рис. 3.10, 3).

На верхній епідермі рідко трапляються прості одноклітинні волоски з тонкою загнутою верхівкою (рис. 3.10, 1) і довгі дворядні (рис. 3.10, 2). Основна паренхіма складається з невеликих паренхімних клітин, з нижнього боку з досить великими порожнинами. У паренхімі трапляються великі друзи оксалату кальцію (рис. 3.10, 4). Судини ксилеми розташовані рівними ланцюгами (рис. 3.10, 5).

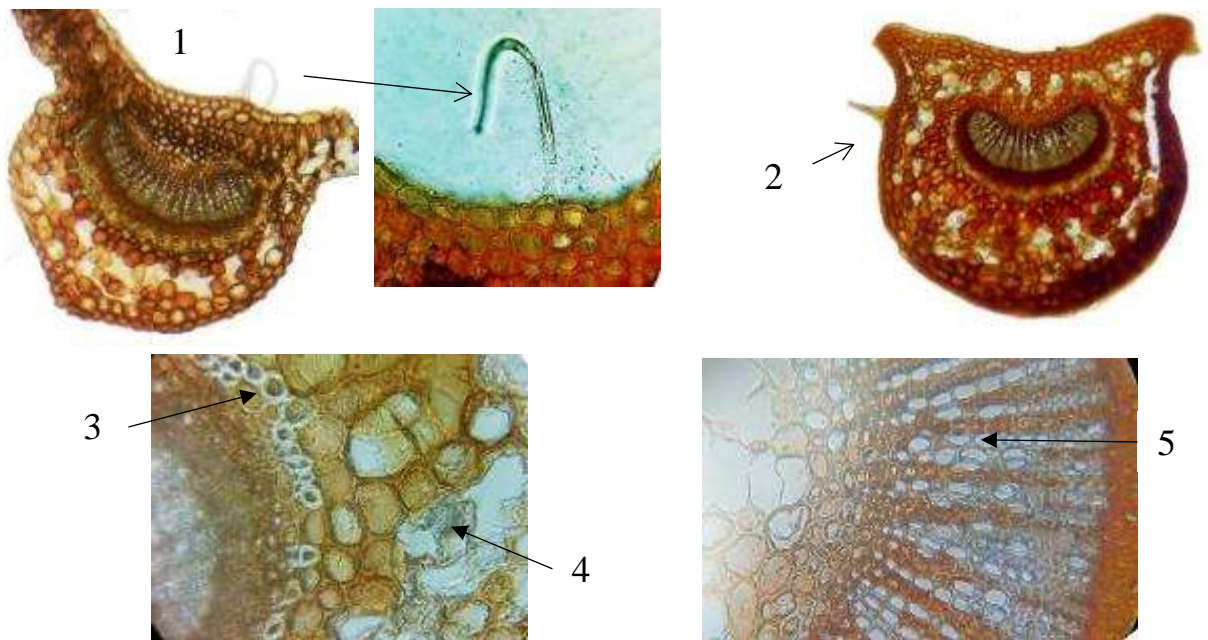


Рис. 3.10 Поперечний зріз черешка: 1 – простий крючкоподібний волосок; 2 – дворядний покривий волосок; 3 – склеренхімне кільце; 4 – друзи; 5 – ксилема

Поперечні зрізи стебла мають вторинну структуру, типову для будь-якої дводольної рослини, хоча і з дуже тонким епідермісом, який пропускає світло. Крім це хлоропласти знаходяться в паренхімі кори. Судинні пучки відкриваються за колатеральним типом за наявності судинного камбію, виділяється велика кількість склеренхіми між судинами флоєми і ксилеми, що додає жорсткості стеблу (рис. 3.11).



Рис. 3.11 Поперечний зріз стебла *V. corymbosum*, що демонструє тонкий перідерміс і паренхіму з хлоропластом і великою склеренхімою

Кортикальна паренхіма не дуже велика, за нею йде флоєма, що містить резервні продукти, які також спостерігаються уздовж радіуса мозкового шару в ксилемі. Ділянка ксилеми є найширшою з великою кількістю склеренхіми, що також додає великої жорсткості стеблу (рис. 3.11).

На поздовжньому зрізі стебла видно два типи метаксилематичних судин ксилеми, точкових і лускатних (рис. 3.12).



Рис. 3.12 Поздовжній розріз стебла *V. corymbosum*

### 3.2 Визначення числових показників сировини лохини високорослої

Проби лікарської рослинної сировини для аналізу відбирали відповідно до вимог ДФУ 2.0, 2.8.20 [10]. Розмір первинної проби зменшують шляхом квартування, що дозволяє отримати гомогенний зразок, упевнюючись у тому, що кожна відібрана порція залишається репрезентативною для всієї проби. Повторюють процедуру квартування, доки мінімальна кількість, що залишилася, буде не більше 250 г.

Встановлюючи доброякісність надземної сировини лохини високорослої визначали втрату в масі під час висушування; вміст золи загальної та золи, не розчинної в 10% розчині кислоти хлористоводневої, у сухій сировини (табл. 3.3). Вологість визначали за методикою «Визначення втрати в масі під час висушування», наведеною в ДФУ [10].

Таблиця 3.3

#### Результати визначення числових показників

Сировина	Втрата в масі під час висушування, %	Загальна зола, %	Зола, не розчинна в 10 % HCl, %
Листя	9,09 ± 0,26	8,72 ± 0,25	2,72 ± 0,08
Стебла	8,88 ± 0,24	9,77 ± 0,28	3,14 ± 0,09
Плоди	14,60 ± 0,45	7,78 ± 0,41	3,04 ± 0,09

У результаті досліджень визначено, що втрата в масі під час висушування надземної сировини лохини високорослої складає не більше 9 % для листя і стебла та не більше 15 % для сухих плодів; вміст загальної золи – складає не більше 10 %, золи, не розчинної в 10 % розчині хлористоводневої кислоти – не більше 3,2 %. Одержані результати були використані для розроблення проєкту МКЯ на сировину.

### 3.3 Дослідження якісного складу та кількісного вмісту БАР сировини лохини високорослої

Для ідентифікації БАР у плодах, стеблах та листях лохини високорослої використовували методи паперової (ПХ) та тонкошарової (ТШХ) хроматографії (розд. 2, п. 8), атомно-емісійний спектрографічний метод (розд. 2, п. 11), спектрофотометричні методи, газової та ВЕРХ (розд. 2, п. 14-17).

#### 3.3.1 Мінеральний склад

Вивчення вмісту макро- та мікроелементів надземної частини лохини високорослої має практичне значення для повної оцінки корисних властивостей сировини. Особливо це стає актуальним в умовах незадовільного екологічного стану деяких районів України, якщо доведена специфіка акумуляції для важких металів, що входять до складу міських фітоценозів. Мінеральні речовини беруть участь у здійсненні усіх життєво важливих функцій організму, без них неможливі функції м'язового скорочення, нервової системи, внутрішньотканинного дихання та ін. Вони разом з водою забезпечують сталість осмотичного тиску, залучаються до реакцій обміну речовин.

Для вивчення елементного складу сировини надземної частини лохини високорослої був використаний атомно-емісійний спектрографічний метод, що ґрунтується на випарюванні золи рослин у дуговому розряді, фотографічній

реєстрації розкладеного у спектр випромінювання і вимірюванні інтенсивності спектральних ліній окремих елементів (розд. 2, п. 11). Для проведення дослідження брали зразки плодів, стебел та листя лохини високорослої. Результати аналізу елементного складу сировини наведені у табл. 3.4.

Таблиця 3.4

**Елементний склад сировини лохини високорослої**

Елемент	Вміст елемента, мг/100г		
	Листя	Стебла	Плоди
Fe	2,10 ± 0,04	1,60 ± 0,03	1,4 ± 0,03
Si	50,03 ± 1,03	33,02 ± 0,68	16,01 ± 0,33
P	45,02 ± 0,90	19,01 ± 0,39	27,01 ± 0,55
Mn	14,01 ± 0,29	6,60 ± 0,14	1,40 ± 0,03
Al	5,60 ± 0,11	3,80 ± 0,08	2,90 ± 0,06
Pb	<0,03	0,066 ± 0,01	<0,03
Mg	85,04 ± 1,75	33,02 ± 0,68	45,02 ± 0,92
Ni	0,03 ± 0,01	1,30 ± 0,03	0,13 ± 0,01
Ca	180,09 ± 3,07	77,04 ± 1,58	80,04 ± 1,64
Mo	<0,03	<0,03	<0,03
Cu	0,49 ± 0,01	0,55 ± 0,01	0,64 ± 0,01
Zn	4,20 ± 0,09	3,50 ± 0,07	2,40 ± 0,05
K	980,51 ± 20,12	400,21 ± 8,21	510,27 ± 10,47
Na	22,01 ± 0,45	16,01 ± 0,33	30,02 ± 0,62
Sr	0,17 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,10 ± 0,01
Co	<0,03	<0,03	<0,03
Cd	<0,01	<0,01	<0,01
As	<0,01	<0,01	<0,01
Hg	<0,01	<0,01	<0,01

Як видно з табл. 3.4, у надземній частини лохини високорослої було виявлено 14 елементів. У плодах, стеблах та листях лохини високорослої спостерігався високий вміст калію, кальцію, мангану, сіліцію, фосфору, магнію та натрію.

Найбільша кількість елементів була в листі лохини високорослої. Так, калію в листі було більше у 2,45 рази, ніж у стеблах і в 1,8 разу ніж у плодах. Калій – важливий біоелемент, необхідний для підтримки нейромускулярної збудливості скорочення м'язів, проникності біомембран, внутрішньоклітинного осмотичного тиску і рН. Калій і натрій регулюють водно-електролітний баланс і осмотичний тиск у клітині [62]. При цьому вміст натрію в плодах лохини високорослої переважає порівняно з листям і стеблами, у плодах цього елемента більше, ніж фосфору і сіліцію. Фосфор виконує важливу роль в обміні речовин, входить до складу ферментів, які беруть участь у життєдіяльності мозку й інших органів. У стеблах і листках сіліцію більше, ніж фосфору, на відміну від плодів лохини високорослої. Кремній знижує проникність судинної стінки, підвищує опірність організму, бере участь в імунологічних процесах, має протизапальну дію. Щоденна потреба організму в кремнії складає 20-30 мг. Фізіологічна роль сіліцію пов'язана в основному із синтезом глікозаміногліканів і колагену. Кальцій і магній – необхідні макроелементи, при цьому вони знаходяться на другому і третьому місці за кількістю у плодах, стеблах та листях лохини високорослої. Обидва елементи ініціюють перебіг різних метаболічних і транспортних процесів у клітині. Так, вміст кальцію був менше, ніж калію, у 5 разів у листі, в 5,2 разів – у стеблах і 6,4 разів – плодах лохини високорослої. Кальцій, так само як і калій, бере участь у функціонуванні структурних компонентів різних рівнів організму: ферментів, органел, клітин та органів. Вміст магнію в сировині, порівняно з кальцієм, був менше в 2,1 рази у листі, в 2,3 рази – у стебел і в 1,7 разу – у плодів. Магній – важливий внутрішньоклітинний біоелемент, за вмістом – другий після калію. Він активує і регулює гліколіз, багато етапів синтезу білків, жирних кислот, фосфорний обмін [62]. Важливим елементом, за вивченням комплексних рослинних препаратів з гіпоглікемічною активністю, є цинк, вміст якого в листі лохини високорослої був в 1,75 разу більше, ніж в плодах. Цинк необхідний для нормального функціонування інсулярного апарату, імунних механізмів, кровотворення,



росту, розвитку і статевого дозрівання. Гігієнічні нормативи цього металу в харчових продуктах становить від 5 до 40 мкг/кг продукту [62].

Крім того, у надземній частині лохини високорослої виявлені такі елементи, як: арсен, кобальт, кадмій та плумбум, вміст яких не перевищує допустимий рівень для важких металів. Це актуально у зв'язку із впливом техногенних факторів на забруднення навколишнього середовища і для розроблення проєктів МКЯ на сировину лохини високорослої, що особливо актуально в умовах незадовільного екологічного стану деяких районів України [57].

### 3.3.2 Амінокислоти

Попереднє дослідження амінокислот проводили методом ПХ (розд. 2, п. 9.1) у водно-спиртовому екстракті, отриманому з надземних органів лохини високорослої (розд. 2, п. 8). Виявлено 6 амінокислот: глутамінову ( $R_f = 0,12$ ), аспарагінову ( $R_f = 0,16$ ), аргінін ( $R_f = 0,18$ ), аланін ( $R_f = 0,25$ ), валін ( $R_f = 0,59$ ) і фенілаланін ( $R_f = 0,71$ ) [20, 22, 32].

Якісний склад і кількісний вміст амінокислот у плодах, стеблах та листях лохини високорослої проводили за допомогою ВЕРХ на хроматографі Agilent 1260 Infinity HPLC System (розд. 2, п. 14). Результати дослідження наведені на рис. 3.13 та узагальнені в табл. 3.5.

В плодах, стеблах та листях лохини високорослої ідентифіковано 20 амінокислот (табл. 3.5), з-поміж яких 8 незамінних (валін, ізолейцин, лейцин, метіонін, треонін, фенілаланін, лізин, оксилізін) і 12 замінних (аланін, гліцин, серин, тирозин, цистеїн, аргінін, орнітин, гістидин, пролін, оксипролін, аспарагінова та глютамінова кислоти), відсотково переважали моноаміномонокарбонові кислоти (плоди –  $48,95 \pm 1,00$  %; стебла –  $51,02 \pm 1,05$  %; листя –  $57,3 \pm 1,18$  %); менше містилося моноамінодикарбонових (листя –  $22,12 \pm 0,45$  %; стебла –  $23,47 \pm 0,48$  %; плоди –  $26,32 \pm 0,54$  %), діаміномонокарбонових (листя –  $14,27 \pm 0,29$  %; стебла –  $16,33 \pm 0,34$  %; плоди –  $17,63 \pm 0,36$  %) і гетероциклічних (листя –  $6,30 \pm 0,13$  %; плоди –  $7,11 \pm 0,15$  %; стебла –  $9,18 \pm 0,20$

%) КИСЛОТ.

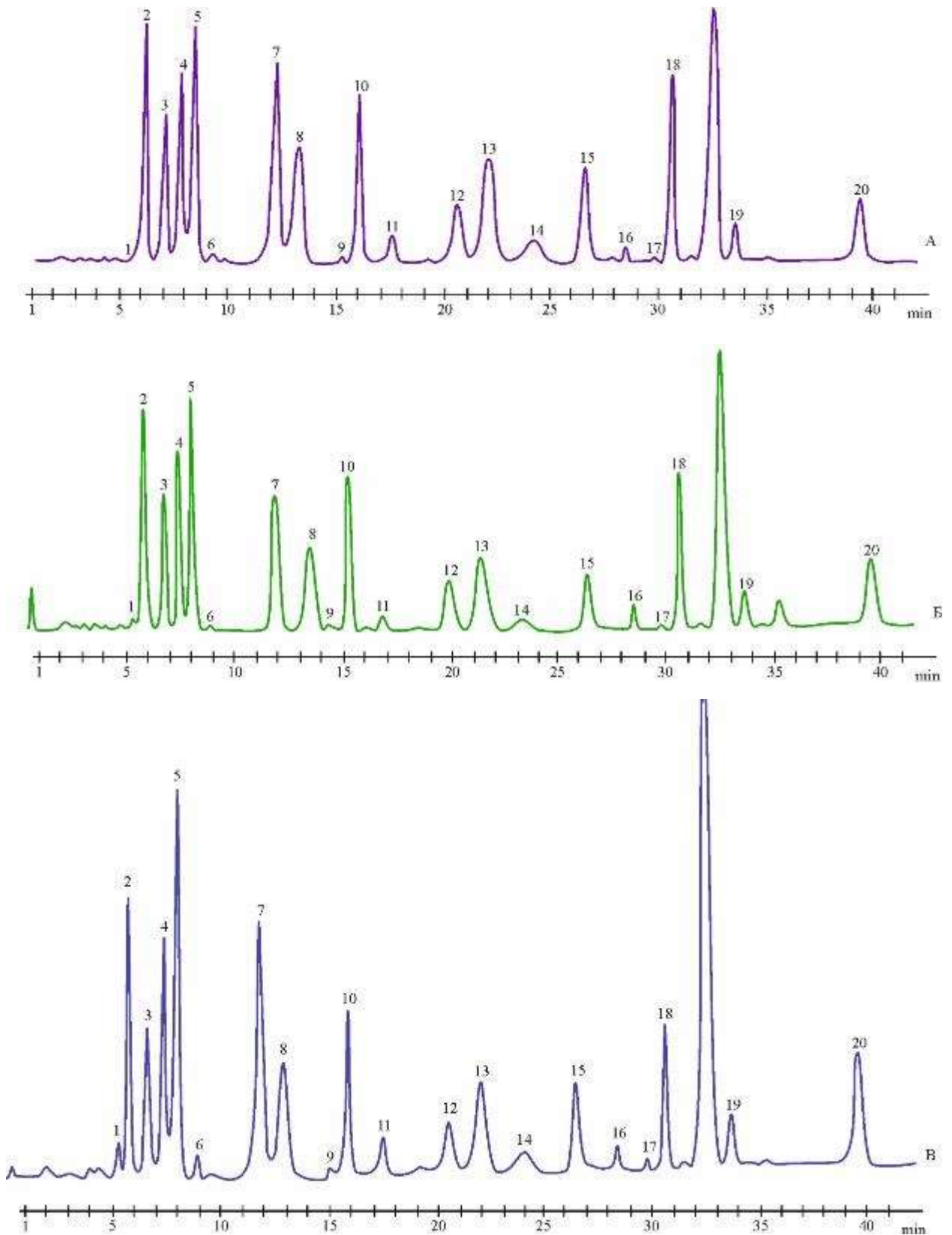


Рис. 3.13 Хроматограма амінокислот (А) листя, (Б) стебла, (В) плоди лохини високорослої: 1 – оксипролін; 2 – аспарагінова кислота; 3 – треонін; 4 – серин; 5 – глютамінова кислота; 6 – пролін; 7 – гліцин; 8 – аланін; 9 – цистеїн; 10 – валін; 11 – метіонін; 12 – ізолейцин; 13 – лейцин; 14 – тирозин; 15 –

фенілаланін; 16 – гідроксилізін; 17 – орнітин; 18 – лізин; 19 – гістидин; 20 – аргінін

Таблиця 3.5.

**Амінокислоти у плодах, стеблах та листях лохини високорослої**

Амінокислота	Листя		Стебла		Плоди	
	мг/100мг	% вміст	мг/100мг	% вміст	мг/100мг	% вміст
1	2	3	4	5	6	7
<b>Моноаміномонокарбонові кислоти</b>						
Аланін	0,64 ± 0,01	7,08 ± 0,15	0,12 ± 0,01	6,12 ± 0,13	0,22 ± 0,01	5,79 ± 0,12
Валін	0,53 ± 0,01	5,86 ± 0,12	0,12 ± 0,01	6,12 ± 0,13	0,19 ± 0,01	5,00 ± 0,10
Гліцин	0,59 ± 0,01	6,53 ± 0,13	0,11 ± 0,01	5,61 ± 0,12	0,25 ± 0,01	6,58 ± 0,14
Ізолейцин	0,43 ± 0,01	4,76 ± 0,10	0,09 ± 0,01	4,59 ± 0,09	0,12 ± 0,01	3,16 ± 0,06
Лейцин	0,94 ± 0,02	10,4 ± 0,21	0,17 ± 0,01	8,67 ± 0,18	0,28 ± 0,01	7,37 ± 0,15
Метіонін	0,14 ± 0,01	1,55 ± 0,03	0,02 ± 0,01	1,02 ± 0,02	0,07 ± 0,01	1,84 ± 0,04
Серин	0,51 ± 0,01	5,64 ± 0,12	0,12 ± 0,01	6,12 ± 0,13	0,23 ± 0,01	6,05 ± 0,12
Тирозин	0,39 ± 0,01	4,31 ± 0,09	0,05 ± 0,01	2,55 ± 0,05	0,13 ± 0,01	3,42 ± 0,07
Треонін	0,44 ± 0,01	4,87 ± 0,10	0,10 ± 0,01	5,10 ± 0,10	0,15 ± 0,01	3,95 ± 0,08
Фенілаланін	0,53 ± 0,01	5,86 ± 0,12	0,10 ± 0,01	5,10 ± 0,10	0,18 ± 0,01	4,74 ± 0,10
Цистеїн	0,04 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,00	0,00	0,04 ± 0,01	1,05 ± 0,02
Сума	5,18 ± 0,11	57,3 ± 1,18	1,00 ± 0,02	51,02 ± 1,05	1,86 ± 0,04	48,95 ± 1,00
<b>Моноамінодикарбонові кислоти</b>						
Аспарагінова	0,86 ± 0,02	9,51 ± 0,20	0,20 ± 0,01	10,20 ± 0,21	0,34 ± 0,01	8,95 ± 0,18
Глютамінова	1,14 ± 0,02	12,61 ± 0,26	0,26 ± 0,01	13,27 ± 0,27	0,66 ± 0,02	17,37 ± 0,36
Сума	2,00 ± 0,04	22,12 ± 0,45	0,46 ± 0,01	23,47 ± 0,48	0,51 ± 0,01	26,32 ± 0,54
<b>Диаміномонокарбонові кислоти</b>						
Аргінін	0,59 ± 0,01	6,53 ± 0,13	0,17 ± 0,01	8,67 ± 0,18	0,38 ± 0,01	10,00 ± 0,21
Лізин	0,58 ± 0,01	6,41 ± 0,13	0,13 ± 0,01	6,63 ± 0,14	0,17 ± 0,01	4,47 ± 0,09
Оксилізін	0,04 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,02 ± 0,01	1,02 ± 0,02	0,04 ± 0,01	1,05 ± 0,02
Орнітин	0,08 ± 0,01	0,88 ± 0,02	0,00	0,00	0,08 ± 0,01	2,11 ± 0,04
Сума	1,29 ± 0,02	14,27 ± 0,29	0,32 ± 0,01	16,33 ± 0,34	0,67 ± 0,01	17,63 ± 0,36
<b>Гетероциклічні кислоти</b>						

Гістидин	0,17 ± 0,01	1,88 ± 0,04	0,04 ± 0,01	2,04 ± 0,04	0,08 ± 0,01	2,11 ± 0,04
Пролін	0,39 ± 0,01	4,31 ± 0,09	0,10 ± 0,01	5,10 ± 0,10	0,18 ± 0,01	4,74 ± 0,09

*Продовж. табл. 3.5*

1	2	3	4	5	6	7
Гідроксипролін	0,01 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,04 ± 0,01	2,04 ± 0,04	0,01 ± 0,01	0,26 ± 0,01
Сума	0,57 ± 0,01	6,30 ± 0,13	0,18 ± 0,01	9,18 ± 0,20	0,27 ± 0,01	7,11 ± 0,15
Загальна сума амінокислот	9,04 ± 0,19		1,96 ± 0,04		3,80 ± 0,08	
Незамінні	3,63 ± 0,07	40,15 ± 0,82	0,75 ± 0,02	38,27 ± 0,79	1,20 ± 0,02	31,58 ± 0,65
Замінні	5,41 ± 0,11	59,85 ± 1,23	1,21 ± 0,03	67,73 ± 1,39	2,60 ± 0,05	68,42 ± 1,40

Листя, плоди і стебла характеризуються найбільшою часткою замінних амінокислот від загальної суми цих речовин (табл. 3.5). Найбільше амінокислот виявлено у листі лохини високорослої ( $9,04 \pm 0,19$  мг/100мг), що більше у 2,4 рази, ніж у плодах ( $3,80 \pm 0,08$  мг/100мг) та у 4,6 рази, ніж у стеблах ( $1,96 \pm 0,04$  мг/100мг).

Цистеїн та орнітин не виявлені у стеблах лохини високорослої, а у плодах та листях їх кількість складає  $0,04 \pm 0,01$  мг та  $0,08 \pm 0,01$  мг відповідно. Домінантними амінокислотами у плодах, стеблах та листях лохини високорослої є лейцин, аргінін, аспарагінова і глютамінова кислоти (табл. 3.5).

### 3.3.3 Полісахариди і моноцукри

Для аналізу цукрів у плодах, стеблах та листях лохини високорослої одержували водний екстракт за технологією відвару (співвідношення 1:10). Одержані екстракти фільтрували крізь складчастий фільтр та концентрували під вакуумом. У разі додавання 20 мл водного екстракту з плодів, стебел та листя лохини високорослої до чотирикратного об'єму 96% етанолу

утворювався аморфний осад, який центрифугували 10 хв за 5 тис. об/хв, надосадовий розчин деконтували. Осад промивали, висушували і використовували для проведення хроматографічного дослідження [32].

Ідентифікацію моноцукрів у екстрактах з надземних органів лохини високорослої до та після гідролізу проводили за допомогою ПХ низхідним способом у системі № 1 з достовірними зразками нейтральних моноцукрів. Хроматограми проявляли розчином анілінфталату [32]. Після обробки хроматограм реактивом Б (розд. 2, п. 8) було виявлено, що листя і плоди містили у вільній формі 2 цукри, які за забарвленням плям і значенням  $R_f$  співпадали зі зразками глюкози (значення  $R_f$  дорівнювало 0,21) і фруктози (значення  $R_f$  знаходилося в межах 0,30).

Вивчення кількісного вмісту та якісного складу моносахаридів у плодах, стеблах та листях лохини високорослої до та після гідролізу проводили методом ВЕРХ (розд. 2, п. 15). Ідентифікацію цукрів проводили за часом утримування стандартів (рис. 3.14 і табл. 3.6).

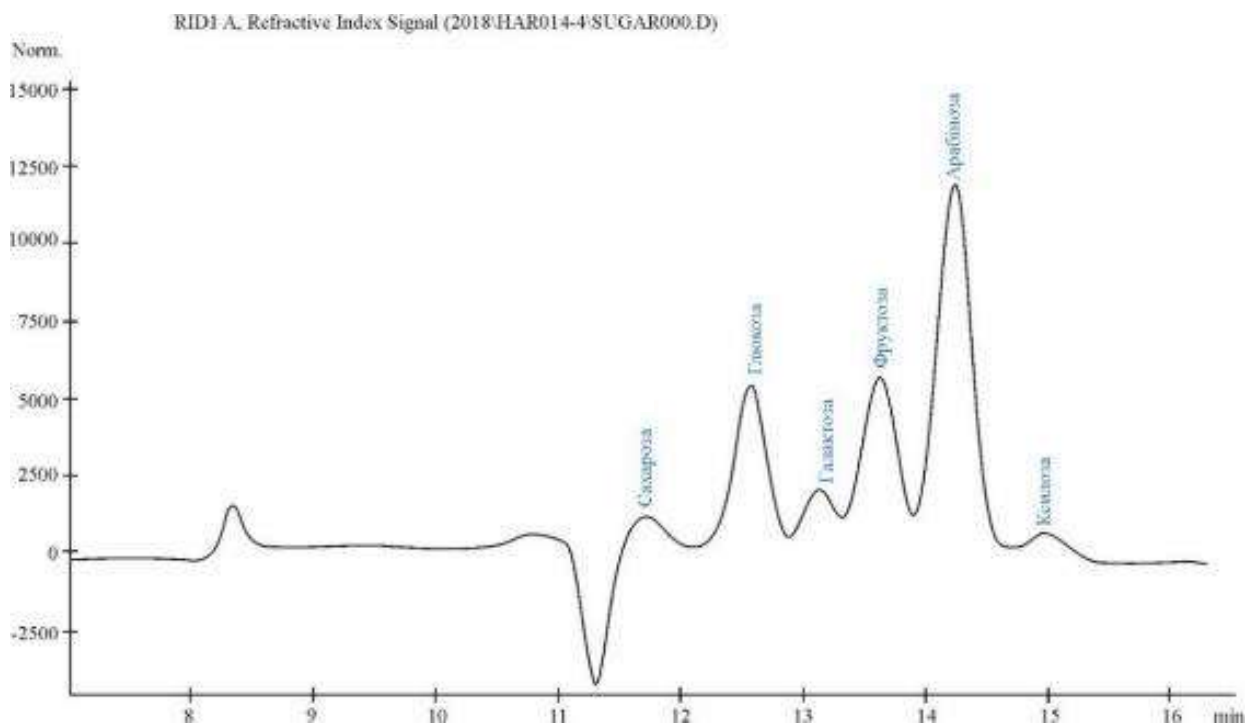


Рис. 3.14 Хроматограма визначення вмісту моноцукрів у плодах, стеблах та листях лохини високорослої

Із наведених даних (табл. 3.6) випливає, що вільні цукри не виявлені в

стеблах. У листі і плодах виявлені моноцукри фруктоза і глюкоза, дисахарид сахароза. Основним компонентом листя лохини високорослої була глюкоза (приблизно 51 % від загальної суми цукрів), дещо менше містилося фруктози (44 %) і найменше сахарози (близько 5 %). Найбільша кількість вільних цукрів відмічена у плодах. Серед них домінувала фруктоза (до 60 % від загальної суми цукрів), у менших концентраціях виявлялася глюкоза (38 %) та сахароза (2 %).

Таблиця 3.6

### Вільні і зв'язані цукри сировини лохини високорослої

Вуглеводи	Листя, %		Стебла, %		Плоди, %	
	вільні	зв'язані	вільні	зв'язані	вільні	зв'язані
1	2	3	4	5	6	7
Пентози						
Арабіноза	–	2,20 ± 0,05	–	0,89 ± 0,02	–	1,60 ± 0,03
Ксилоза	–	2,81 ± 0,06	–	3,43 ± 0,07	–	2,37 ± 0,05
Гексози						
Галактоза	–	1,80 ± 0,04	–	–	–	4,27 ± 0,09
Глюкоза	3,70 ± 0,08	4,45 ± 0,09	–	0,62 ± 0,01	9,20 ± 0,19	11,02 ± 0,23
Фруктоза	3,18 ± 0,07	–	–	–	14,33 ± 0,29	–
Дисахарид						
Сахароза	0,40 ± 0,01	–	–	–	0,50 ± 0,01	–
Сума	7,28 ± 0,15	11,26 ± 0,23	–	4,94 ± 0,1	24,03 ± 0,49	19,26 ± 0,40
Разом	18,54 ± 0,38		4,94 ± 0,1		43,29 ± 0,89	

У результаті дослідження (табл. 3.6) встановлено, що листя та плоди містили у вільному вигляді багато фруктози і глюкози з домінуванням фруктози у плодах. Серед вільних цукрів у листі лохини високорослої найбільше накопичувалося глюкози (3,7 ± 0,08 %), у плодах – фруктози (14,33 ± 0,29 %); серед зв'язаних – глюкози у листях (4,45 ± 0,09 %) та плодах

( $11,02 \pm 0,23$  %), а ксилози у стеблах ( $3,43 \pm 0,07$  %). Стебла не містили вільних цукрів, а загальна кількість цукрів була менше, ніж у листі у 3,75 рази та у 8,76 разів, ніж у плодах. Крім того, у листі та плодах виявлено дисахарид – сахарозу та моноцукор – галактозу.

Як і в разі вільних цукрів, у сумарному вираженні найбільше зв'язаних цукрів містилося в плодах, потім у листі і стеблах. У ряду зв'язаних цукрів у плодах, стеблах та листях лохини високорослої містилися пентози (арабіноза та ксилоза) і гексози (галактоза та глюкоза). Їх розподіл у сировині (табл. 3.6) свідчить, що як окремих пентоз, так і їх суми найбільше накопичувалося у листі, дещо менше – у стеблах і плодах (у 2,5 рази порівняно з листям і в 2 рази порівняно з плодами). Максимум гексоз знаходиться у плодах ( $38,82 \pm 0,69$  %), у листі в 3 рази менше, ніж у плодах, а в стеблах, лише  $0,62 \pm 0,01$  %. Вміст гексоз у стеблах у 7 разів менше, ніж пентоз. На підставі аналізу окремих цукрів видно, що максимальна кількість арабінози в листі, фруктози, галактози і глюкози – в плодах. Серед пентоз у всіх органах домінувала ксилоза. У стеблах її вміст був у 4 рази вище, ніж арабінози, тоді, як в листі і плодах – приблизно в 1,3-1,5 рази.

Найбільш високий вміст вільних гексоз виявлено в плодах ( $23,53 \pm 0,34$  %), тоді як зв'язаних –  $15,29 \pm 0,26$  %, у листі значно менше вільних та зв'язаних цукрів, ніж у плодах –  $6,88 \pm 0,15$  та  $6,25 \pm 0,14$  % відповідно, але співвідношення зв'язаних пентоз і гексоз досить близьке – 1,3 разу, а у плодів – 3,9 рази. Тому цілком виправдане використання листя і плодів лохини для лікування цукрового діабету.

#### 3.3.4 Карбонові кислоти

Визначення якісного складу та кількісного вмісту карбонових кислот у сировині лохини високорослої проводили за розд. 2, п. 13 [5, 15, 56, 58]. На рис. 3.15-3.17 наведено типові схеми хроматограм метилових ефірів

карбонових кислот у плодах, стеблах та листях лохини високорослої. Відсотковий вміст карбонових кислот у плодах, стеблах та листях лохини високорослої розраховували від загального вмісту (табл. 3.7).

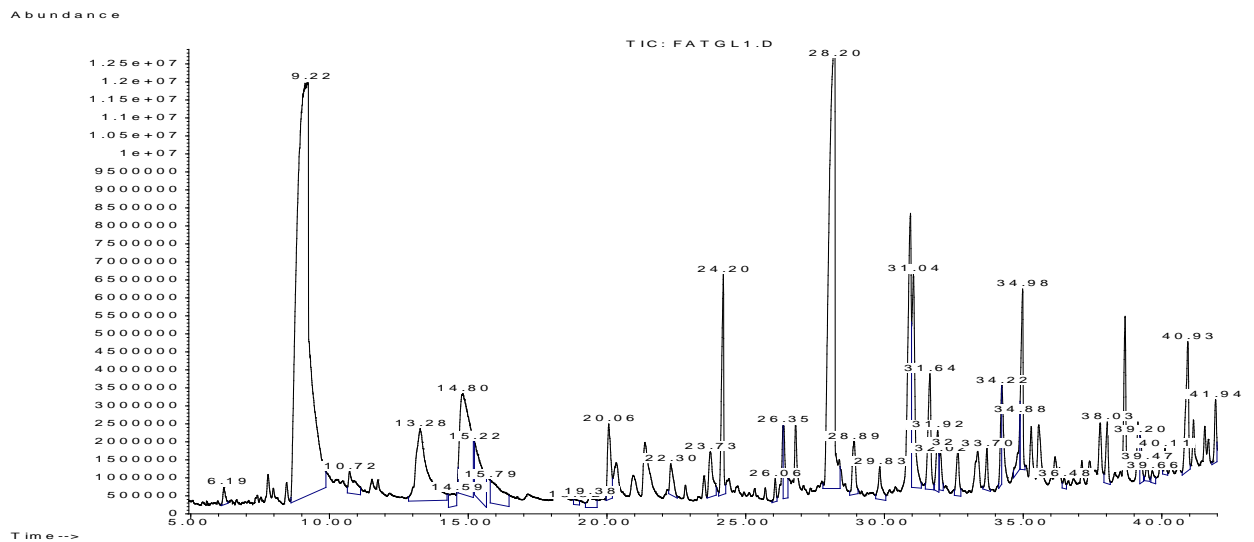


Рис. 3.15 Хроматограма метилових естерів карбонових кислот листя лохини

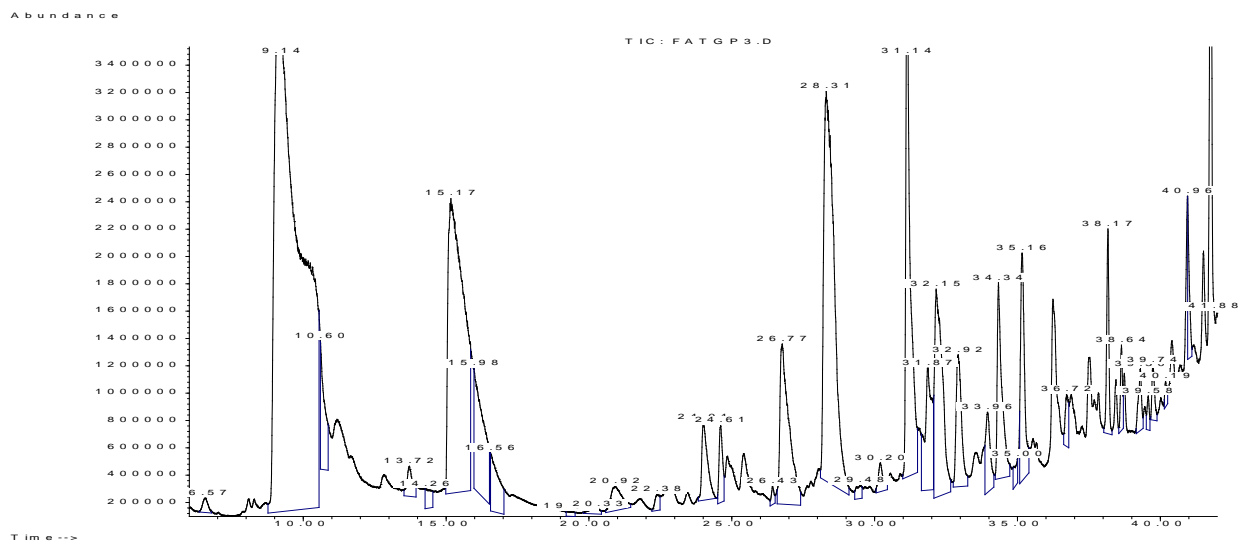


Рис. 3.16 Хроматограма метилових естерів карбонових кислот стебла лохини



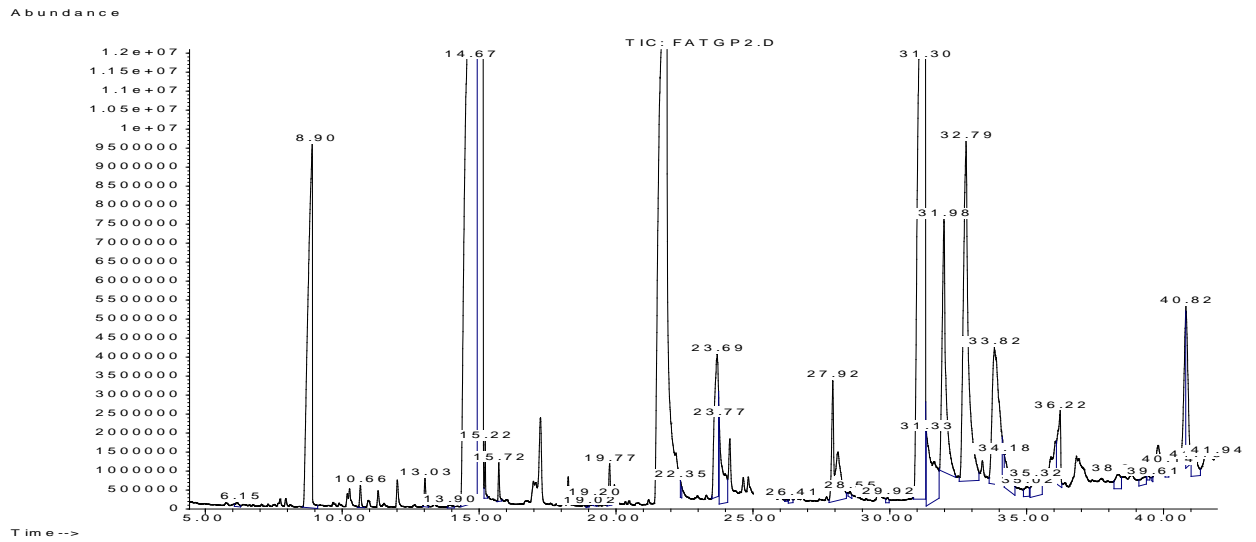


Рис. 3.17 Хроматограма метилових естерів карбонових кислот плодів лохини

Таблиця 3.7

## Вміст карбонових кислот у плодах, стеблах та листях лохини високорослої та лохини звичайної

Кислота	Лохина високоросла									Лохина звичайна		
	листя			стебла			плоди			листя	стебла	плоди
	час утримання	мг%	% вміст	час утримання	мг%	% вміст	час утримання	мг%	% вміст	мг%	мг%	мг%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Капронова	6.194	28,29 ± 0,58	0,48 ± 0,01	6.573	24,27 ± 0,50	0,30 ± 0,01	6.15	24,66 ± 0,51	0,10 ± 0,01	26,18 ± 0,35	26,37 ± 0,41	22,01 ± 0,29
Щавлева	10.723	89,01 ± 1,83	1,51 ± 0,03	10.6	181,17 ± 3,72	2,21 ± 0,05	10.662	58,69 ± 1,20	0,24 ± 0,01	80,88 ± 0,13	167,66 ± 0,43	51,01 ± 0,32
Малонова	13.277	468,76 ± 9,62	7,97 ± 0,16	13.717	60,25 ± 1,24	0,73 ± 0,02	13.026	70,88 ± 1,45	0,29 ± 0,01	493,17 ± 0,23	57,35 ± 0,43	64,40 ± 0,28
Фумарова	14.587	56,69 ± 1,16	0,96 ± 0,02	14.264	44,34 ± 0,91	0,54 ± 0,01	13.902	19,91 ± 0,41	0,08 ± 0,01	51,51 ± 0,51	41,03 ± 0,58	18,95 ± 0,37
Левулінова	14.799	690,73 ± 14,17	11,74 ± 0,24	15.168	1486,98 ± 30,51	18,12 ± 0,37	14.671	8398,91 ± 172,34	34,09 ± 0,70	600,32 ± 0,71	1564,42 ± 0,23	7994,77 ± 0,45
Бурштинова	15.223	223,98 ± 4,60	3,81 ± 0,08	15.976	348,42 ± 7,15	4,25 ± 0,09	15.223	75,19 ± 1,54	0,31 ± 0,01	235,64 ± 0,61	378,52 ± 0,52	71,57 ± 0,16

Продовж. табл. 3.7

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Бензойна	15.792	141,33 ± 2,90	2,40 ± 0,05	16.556	172,87 ± 3,55	2,11 ± 0,04	15.72	70,69 ± 1,45	0,29 ± 0,01	153,54 ± 0,24	154,27 ± 0,31	67,29 ± 0,28
Фенілоцтова	18.82	15,45 ± 0,32	0,26 ± 0,01	19.306	10,91 ± 0,22	0,13 ± 0,01	19.021	5,99 ± 0,12	0,02 ± 0,01	14,17 ± 0,35	11,48 ± 0,27	5,21 ± 0,51
Саліцилова	19.378	49,76 ± 1,02	0,85 ± 0,02	20.332	20,63 ± 0,42	0,25 ± 0,01	19.2	20,19 ± 0,41	0,08 ± 0,01	47,37 ± 0,37	18,41 ± 0,35	18,68 ± 0,32
Лауринова	20.064	166,95 ± 3,43	2,84 ± 0,06	20.923	99,69 ± 2,05	1,21 ± 0,02	19.769	105,52 ± 2,17	0,43 ± 0,01	145,10 ± 0,41	93,12 ± 0,48	96,76 ± 0,62
2-Гідрокси-3-метилглутарова	22.3	59,76 ± 1,23	1,02 ± 0,02	22.378	29,66 ± 0,61	0,36 ± 0,01	22.354	16,66 ± 0,34	0,07 ± 0,01	64,92 ± 0,50	25,78 ± 0,63	15,42 ± 0,64
Яблучна	23.728	110,75 ± 2,27	1,88 ± 0,04	24.007	176,28 ± 3,62	2,15 ± 0,04	23.689	822,73 ± 16,88	3,34 ± 0,07	105,42 ± 0,37	153,21 ± 0,52	783,14 ± 0,61
Міристинова	24.196	4,66 ± 0,10	0,08 ± 0,01	24.609	99,40 ± 2,04	1,21 ± 0,02	23.767	443,41 ± 9,10	1,80 ± 0,04	273,46 ± 0,32	91,99 ± 0,44	395,69 ± 0,21
Пентадеканова	26.065	27,59 ± 0,57	0,47 ± 0,01	26.427	19,48 ± 0,40	0,24 ± 0,01	26.221	6,37 ± 0,13	0,03 ± 0,01	25,07 ± 0,35	16,93 ± 0,54	6,70 ± 0,39

Продовж. табл. 3.7

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Азелаїнова	26.349	105,40 ± 2,16	1,79 ± 0,04	26.773	557,56 ± 11,44	6,79 ± 0,14	26.405	26,34 ± 0,54	0,11 ± 0,01	94,06 ± 0,23	497,56 ± 0,45	25,07 ± 0,58
Пальмітинова	28.201	1692,97 ± 34,74	28,78 ± 0,59	28.307	1476,86 ± 30,30	17,99 ± 0,37	27.917	694,71 ± 14,26	2,82 ± 0,06	1566,74 ± 1,88	1379,52 ± 3,58	730,89 ± 2,67
Пальмітолеїнова	28.892	113,19 ± 2,32	1,92 ± 0,04	29.478	27,20 ± 0,56	0,33 ± 0,01	28.547	24,62 ± 0,51	0,10 ± 0,01	101,01 ± 0,41	24,94 ± 0,67	21,40 ± 0,48
Гептадеканова	29.835	76,41 ± 1,57	1,30 ± 0,03	30.203	55,08 ± 1,13	0,67 ± 0,01	29.919	19,74 ± 0,41	0,08 ± 0,01	66,41 ± 0,52	48,72 ± 0,56	18,79 ± 0,29
Лимонна	31.045	395,30 ± 8,11	6,72 ± 0,14	31.14	759,23 ± 15,58	9,25 ± 0,19	31.296	6137,24 ± 125,93	24,91 ± 0,51	369,25 ± 0,28	798,77 ± 0,34	5841,93 ± 0,62
Стеаринова	31.642	215,50 ± 4,42	3,66 ± 0,08	31.87	313,36 ± 6,43	3,82 ± 0,08	31.33	668,10 ± 13,71	2,71 ± 0,06	197,60 ± 0,46	292,71 ± 0,50	702,89 ± 0,38
Олеїнова	31.92	81,89 ± 1,68	1,39 ± 0,03	32.155	624,51 ± 12,81	7,61 ± 0,16	31.977	1431,07 ± 29,36	5,81 ± 0,12	87,07 ± 0,48	542,77 ± 0,52	1362,21 ± 0,78
Додекадикарбонова	32.021	55,42 ± 1,14	0,94 ± 0,02	–	–	–	–	–	–	48,17 ± 0,50	–	–

Продовж. табл. 3.7

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Лінолева	32.645	85,19 ± 1,75	1,45 ± 0,03	32.924	230,85 ± 4,74	2,81 ± 0,06	32.785	2630,73 ± 53,98	10,68 ± 0,22	76,02 ± 0,53	245,46 ± 0,78	2504,14 ± 0,83
Ліноленова	33.7	0,92 ± 0,02	0,02 ± 0,01	33.956	136,04 ± 2,79	1,66 ± 0,03	33.822	1322,13 ± 27,13	5,37 ± 0,11	53,81 ± 0,39	125,9 ± 0,68	1390,99 ± 0,35
Ванілінова	34.224	76,25 ± 1,56	1,30 ± 0,03	34.335	346,44 ± 7,11	4,22 ± 0,09	34.179	218,13 ± 4,48	0,89 ± 0,02	72,58 ± 0,78	309,16 ± 0,61	236,97 ± 0,48
2- Гідроксипальмітинова	34.882	64,40 ± 1,32	1,09 ± 0,02	35.005	30,16 ± 0,62	0,37 ± 0,01	35.016	75,77 ± 1,55	0,31 ± 0,01	55,97 ± 0,37	27,40 ± 0,67	65,85 ± 0,60
Арахінова	34.982	232,13 ± 4,76	3,95 ± 0,08	35.161	320,10 ± 6,57	3,90 ± 0,08	35.323	226,34 ± 4,64	0,92 ± 0,02	214,82 ± 0,52	304,7 ± 0,49	209,46 ± 0,27
Хенейкозанова	36.477	17,08 ± 0,35	0,29 ± 0,01	36.722	63,16 ± 1,30	0,77 ± 0,02	36.221	311,39 ± 6,39	1,26 ± 0,03	15,24 ± 0,37	57,39 ± 0,52	327,61 ± 0,57
Бегенова	38.033	81,40 ± 1,67	1,38 ± 0,03	38.167	163,19 ± 3,35	1,99 ± 0,04	38.323	124,37 ± 2,55	0,50 ± 0,01	85,64 ± 0,56	155,34 ± 0,38	115,10 ± 0,73
Октадикарбонова	–	–	–	38.641	63,16 ± 1,30	0,77 ± 0,02	–	–	–	–	60,12 ± 0,62	–

Продовж. табл. 3.7

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<i>n</i> -Гідроксибензойна	39.204	56,88 ± 1,17	0,97 ± 0,02	39.304	73,61 ± 1,51	0,90 ± 0,02	39.371	70,28 ± 1,44	0,29 ± 0,01	51,68 ± 0,50	68,12 ± 0,61	66,90 ± 0,38
Трикозанова	39.466	0,45 ± 0,01	0,01 ± 0,01	39.578	26,91 ± 0,55	0,33 ± 0,01	39.394	16,90 ± 0,35	0,07 ± 0,01	26,66 ± 0,45	24,9 ± 0,71	14,82 ± 0,43
Сирингова	39.656	22,82 ± 0,47	0,39 ± 0,01	39.739	55,64 ± 1,14	0,68 ± 0,01	39.606	6,15 ± 0,13	0,03 ± 0,01	20,36 ± 0,18	51,02 ± 0,24	5,59 ± 0,41
Гентизинова	40.107	33,48 ± 0,69	0,57 ± 0,01	40.186	20,81 ± 0,43	0,25 ± 0,01	40.141	54,47 ± 1,12	0,22 ± 0,01	31,27 ± 0,44	18,91 ± 0,28	47,34 ± 0,21
<i>n</i> -Гідроксикорична	–	–	–	–	–	–	40.844	318,65 ± 6,54	1,29 ± 0,03	–	–	303,32 ± 0,89
Тетракозанова	40.933	237,43 ± 4,87	4,04 ± 0,08	40.955	93,17 ± 1,91	1,14 ± 0,02	41.156	131,76 ± 2,70	0,53 ± 0,01	219,73 ± 0,68	84,66 ± 0,78	117,58 ± 0,88
Ферулова	41.887	106,76 ± 2,19	1,82 ± 0,04	–	–	–	–	–	–	97,00 ± 0,65	–	112,92 ± 0,34
Загальний вміст		5884,98 ± 120,47	–	–	8211,42 ± 168,49	–	–	24648,69 ± 505,78	–	5867,8 ± 234,04	7918,6 ± 221,77	23833,3 ± 465,18

Як видно з результатів досліджень, у листі лохини високорослої та лохині звичайної визначено вміст 35 карбонових кислот, з-поміж яких 17 жирних (13 насичених і 4 ненасичені), 8 ароматичних, 2 гідроксикислоти, 7 двоосновних кислот і 1 кетокислота.

Загальний вміст кислот у листі лохини становить 5867,84 мг/%, з яких переважають пальмітинова (26,70 % від суми карбонових кислот), левулінова (10,23 %), малінова (8,40 %) та лимонна (6,29 %). Вміст інших карбонових кислот був менше 5 %, у незначній кількості (<0,5 %) виявлено 2 ароматичні кислоти – фенілоцтову (14,17 мг/%) та сириггову (20,36 мг/%), а також 4 жирні кислоти – трикозанову (26,66 мг/кг), капронову (26,18 мг/%), пентадеканову (25,07 мг/%) та хенейкозанову (15,24 мг/%).

У стеблах лохини високорослої та лохини звичайної визначено вміст 34 карбонових кислот, з-поміж яких 17 жирних (13 насичених і 4 ненасичені), по 7 ароматичних та двоосновних, 2 гідроксикислоти і 1 кетокислота. Загальний вміст ідентифікованих карбонових кислот у стеблах лохини становить 7918,61 мг/%, домінантними є левулінова (19,76 %), пальмітинова (17,42 %), лимонна (10,09 %) і олеїнова (6,85 %). У незначній кількості (<0,5%) у стеблах лохини також виявлено такі кислоти: 2-гідроксипальмітинова (27,40 мг/%), капронова (26,37 мг/%), пальмітолеїнова (24,94 мг/%), трикозанова (24,90 мг/%), гентизинова (18,91 мг/%), саліцилова (18,41 мг/%), пентадеканова (16,93 мг/%) та фенілоцтова (11,48 мг/%).

Загальний вміст ідентифікованих карбонових кислот у плодах лохини порівняно з листям і стеблами більший, ніж у 4 та 3 рази відповідно і становить 23833,4 мг/%. Ідентифіковано 35 карбонових кислот, з-поміж 17 жирних (13 насичених і 4 ненасичені), 9 ароматичних, 2 гідроксикислоти, 5 двоосновних і 1 кетокислота. Переважають у сировині левулінова (33,54 %), лимонна (24,51 %), лінолева (10,51 %), ліноленова (5,84 %), олеїнова (5,72 %) кислоти. Вміст інших карбонових кислот за їх загальною сумою був менше ніж 3,5 %; яблучна (3,29 %), пальмітинова (3,07 %), стеаринова (2,95 %), мирістинова (1,66 %), хенейкозанова (1,37 %), *n*-гідроксицинамова (1,27

%), ванілінова (0,99 %), арахінова (0,88 %). У незначній кількості (< 0,5 %) у плодах лохини також виявлено 7 ароматичних кислот (ферулову, *n*-гідроксибензойну, бензойну, гентизинову, саліцилову, фенілоцтову, бузкову), 6 двоосновних кислот (бурштинову, малонову, щавлеву, азелаїнову, фумарову, 2-гідрокси-3-метилглутарову) та 9 жирних кислот (тетракозанову, бегенову, лауринову, 2-гідроксипальмітинову, пальмітолеїнову, капронову, гептадеканову, трикозанову та пентадеканову).

Проведений аналіз якісного складу та кількісного вмісту карбонових кислот надземної частини лохини високорослої та лохини звичайної показав, що у листі лохини, на відміну від інших органів, було ідентифіковано додекадикарбонову кислоту, у стеблах – *n*-гідроксикоричну кислоту, у плодах – октадикарбонову кислоту. Ферулова кислота була виявлена у листях та плодах двох лохин.

### 3.3.5 Леткі сполуки

Визначення якісного складу та кількісного вмісту комплексного складу летких сполук [49] у сировині лохини високорослої проводили відповідно до розд. 2, п. 12, пробу лікарської рослинної сировини для аналізу відбирали відповідно до вимог ДФУ 2.0, 2.8.20 (розд. 2, п. 2).

Результати дослідження летких сполук сировини лохини високорослої наведено на рис. 3.18-3.20 та у табл. 3.8.

У складі легкої фракції листя лохини високорослої виявлено 49 сполук з яких ідентифіковано 47; 3 речовини були характерні для листя лохини і можуть використовуватися як маркери: 4-метилбензальдегід, 4-(2,6,6-триметилциклогекс-1,5-дієніл)бут-3-єн-2-он та 6-метилгепта-3,5-дієн-2-он. Сполук оцименол, дек-2-еналь, 4-вініл-2-метоксифенол, 3-(2,6,6-триметилциклогекс-1-єніл)проп-2-еналь, 1-(1,1-диметл-2,3-дигідро-1-Н-інден-4-іл)етанон, 4-(2,6,6-триметилциклогекс-1,3-диєніл)бут-3-єн-2-он характерні для листя и стебел лохини. Сполук *n*-мент-4(8)-єн-9-ол і 4-(2,2,6-триметил-біцикло[4,1,0]-гепт-1-іл)бутан-2-он характерні для листя та плодів рослини.



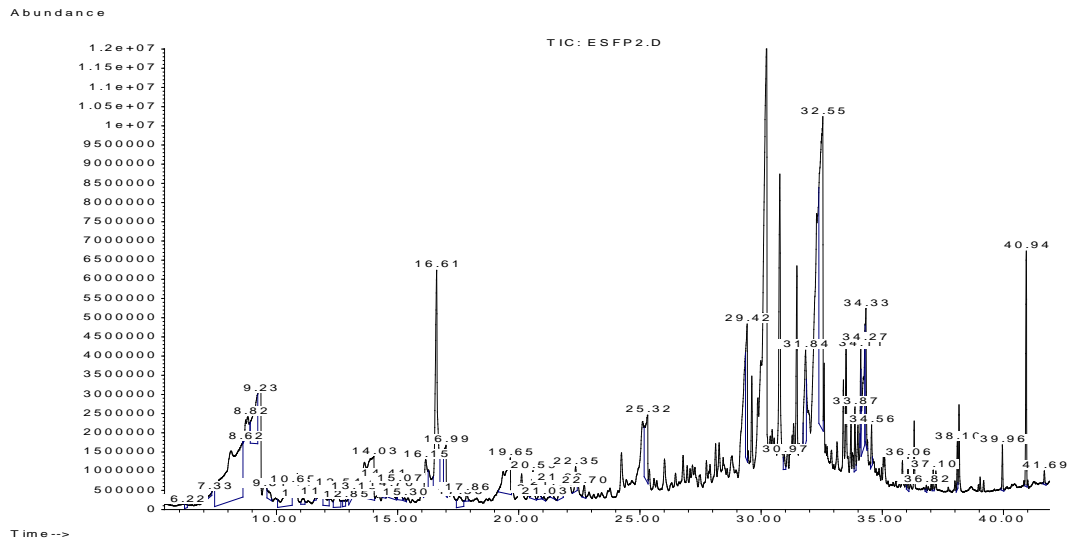


Рис. 3.18 Типова хроматограма легкої фракції листя лохини високорослої

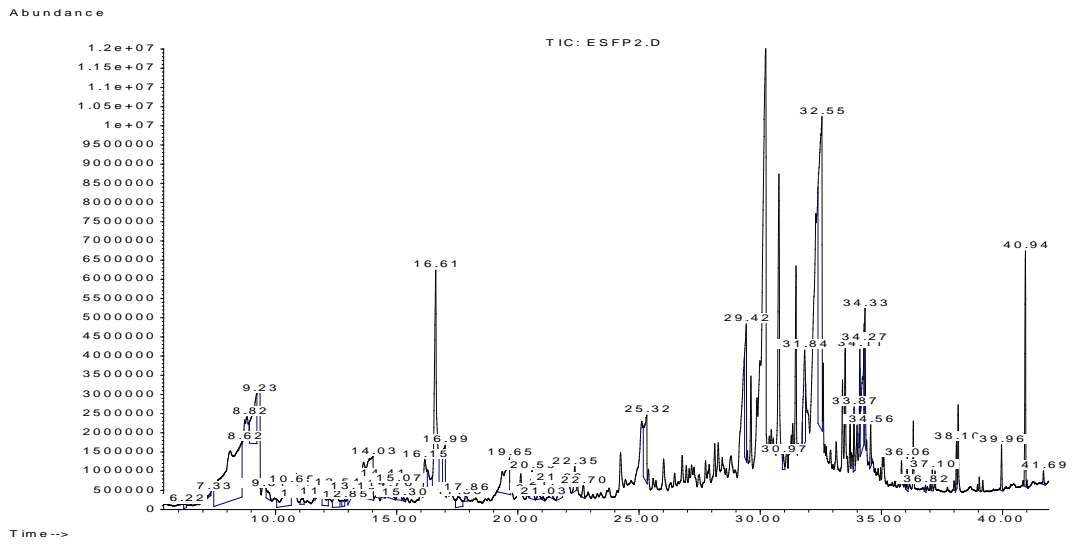


Рис. 3.19 Типова хроматограма легкої фракції стебел лохини високорослої

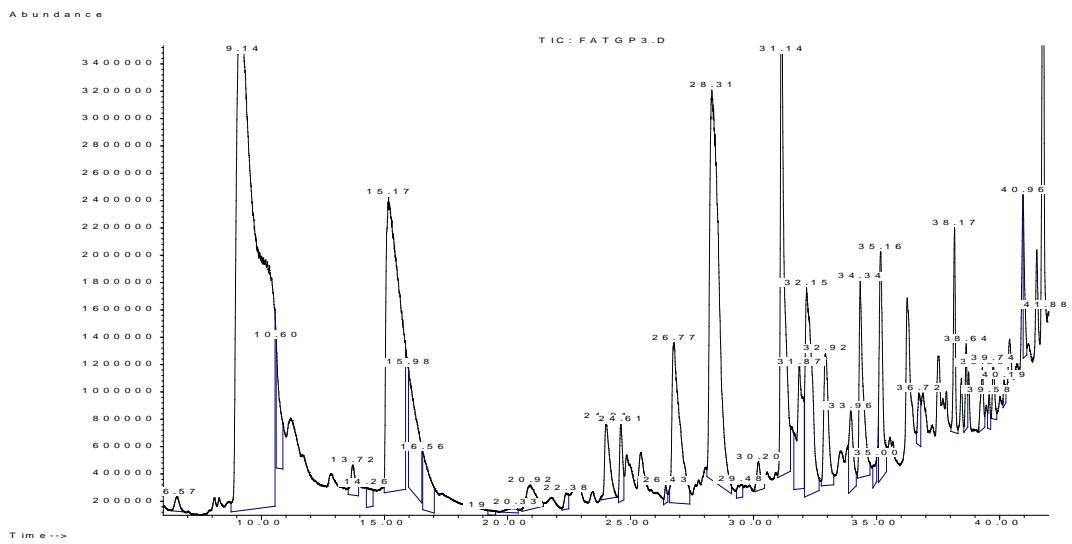


Рис. 3.20 Типова хроматограма легкої фракції плодів лохини високорослої

Таблиця 3.8

## Склад легкої фракції надземних органів лохини високорослої

Сполука	Листя			Стебла			Плоди		
	час	мг%	%	час	мг%	%	час	мг%	%
2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Гексеналь	6.29	0,48 ± 0,01	0,15 ± 0,01	6.24	0,46 ± 0,01	0,03 ± 0,01	6.24	0,82 ± 0,02	0,17 ± 0,01
Бензацетальдегід	7.33	0,59 ± 0,01	0,19 ± 0,01	7.23	3,93 ± 0,08	0,3 ± 0,01	7.33	0,72 ± 0,01	0,15 ± 0,01
Капронова кислота	7.6	2,54 ± 0,05	0,8 ± 0,02	7.4	19,03 ± 0,39	1,45 ± 0,03	8.62	86,92 ± 1,78	18,14 ± 0,37
4-Метилбензальдегід	8.14	0,44 ± 0,01	0,14 ± 0,01	–	–	–	–	–	–
<i>транс</i> -Ліналоол оксид	8.73	8,86 ± 0,18	2,79 ± 0,06	8.69	7,47 ± 0,15	0,57 ± 0,01	8.82	6,49 ± 0,13	1,35 ± 0,03
<i>цис</i> -Ліналоол оксид	9.17	4,42 ± 0,09	1,39 ± 0,03	9.14	5,28 ± 0,11	0,4 ± 0,01	9.23	20,45 ± 0,42	4,27 ± 0,09
6-Метилгепта-3,5-дієн-2-он	9.44	3,71 ± 0,08	1,17 ± 0,02	–	–	–	–	–	–
Триєнол	9.69	5,2 ± 0,11	1,64 ± 0,03	9.62	1,37 ± 0,03	0,1 ± 0,01	9.61	2,42 ± 0,05	0,51 ± 0,01
Гептанова кислота	10.18	0,93 ± 0,02	0,29 ± 0,01	10.18	1,24 ± 0,03	0,09 ± 0,01	10.65	13,66 ± 0,28	2,85 ± 0,06
β-Терпеніол	10.69	1,04 ± 0,02	0,33 ± 0,01	10.89	1,69 ± 0,03	0,13 ± 0,01	11.13	1,55 ± 0,03	0,32 ± 0,01
2-Етилкапронат	–	–	–	11.18	4,09 ± 0,08	0,31 ± 0,01	–	–	–
Оцименол	11.6	1,84 ± 0,04	0,58 ± 0,01	11.55	5,72 ± 0,12	0,43 ± 0,01	–	–	–
Неідентифікована речовина 1	–	–	–	–	–	–	11.64	0,55 ± 0,01	0,11 ± 0,01
4-Терпеніол	11.96	0,6 ± 0,01	0,19 ± 0,01	12.08	3,88 ± 0,08	0,3 ± 0,01	11.92	3,73 ± 0,08	0,78 ± 0,02

Продовж. табл. 3.8

2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>n</i> -Мент-1-єн-8-ол	12.43	12,83 ± 0,26	4,03 ± 0,08	12.35	11,47 ± 0,24	0,87 ± 0,02	12.54	8,26 ± 0,17	1,72 ± 0,04
Камфора	12.63	0,49 ± 0,01	0,15 ± 0,01	12.58	2,37 ± 0,05	0,18 ± 0,01	12.85	1,41 ± 0,03	0,29 ± 0,01
Каприлова кислота	13.29	1,77 ± 0,04	0,56 ± 0,01	13.27	14,32 ± 0,29	1,09 ± 0,02	14.03	34,19 ± 0,7	7,13 ± 0,15
Неідентифікована речовина 2	–	–	–	14.07	20,09 ± 0,41	1,53 ± 0,03	–	–	–
Неідентифікована речовина 3	14.32	1,86 ± 0,04	0,58 ± 0,01	–	–	–	–	–	–
Неідентифікована речовина 4	–	–	–	–	–	–	14.41	2,68 ± 0,06	0,56 ± 0,01
Дек-2-єналь	14.57	3,27 ± 0,07	1,03 ± 0,02	14.54	1,98 ± 0,04	0,15 ± 0,01	–	–	–
Гераніол	–	–	–	–	–	–	14.7	3,27 ± 0,07	0,68 ± 0,01
1-Бутилциклогекс-2-єн-1-ол	–	–	–	–	–	–	15.07	3,83 ± 0,08	0,8 ± 0,02
<i>n</i> -Мент-4(8)-єн-9-ол	15.04	3,08 ± 0,06	0,97 ± 0,02	–	–	–	15.3	0,44 ± 0,01	0,09 ± 0,01
Нонанова кислота	–	–	–	15.38	1,26 ± 0,03	0,1 ± 0,01	16.99	10,66 ± 0,22	2,22 ± 0,05
Вітиспіран	15.31	5,27 ± 0,11	1,66 ± 0,03	16.19	18,4 ± 0,38	1,4 ± 0,03	16.15	9,37 ± 0,19	1,96 ± 0,04
4-Вініл-2-метоксифенол	16.17	3,54 ± 0,07	1,11 ± 0,02	16.22	13,44 ± 0,28	1,02 ± 0,02	–	–	–
Євгенол	17.52	8,36 ± 0,17	2,63 ± 0,05	17.55	2,53 ± 0,05	0,19 ± 0,01	17.56	4,94 ± 0,1	1,03 ± 0,02
Ундек-2-єналь	17.86	3,22 ± 0,07	1,01 ± 0,02	17.87	1,22 ± 0,03	0,09 ± 0,01	17.86	1,31 ± 0,03	0,27 ± 0,01
3-(2,6,6-Триметилциклогекс-1-єніл)проп-2-єналь	18.97	2,51 ± 0,05	0,79 ± 0,02	18.92	14,37 ± 0,29	1,09 ± 0,02	–	–	–
Капринова кислота	19.4	2,45 ± 0,05	0,77 ± 0,02	19.33	16,77 ± 0,34	1,27 ± 0,03	19.65	19,05 ± 0,39	3,97 ± 0,08

Продовж. табл. 3.8

2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1-(1,1-Диметил-2,3-дигідро-1-Н-інден-4-іл)-етанон	19.72	2,2 ± 0,05	0,69 ± 0,01	19.76	11,15 ± 0,23	0,85 ± 0,02	–	–	–
Похідна 1-(1,1-диметил-2,3-дигідро-1-Н-інден-4-іл)-етанон)	–	–	–	20.12	6,99 ± 0,14	0,53 ± 0,01	–	–	–
4-(2,6,6-триметилциклогекс-1,5-дієніл)бут-3-єн-2-он	20	2,56 ± 0,05	0,8 ± 0,02	–	–	–	–	–	–
Неідентифікована речовина 5	20.13	3 ± 0,06	0,94 ± 0,02	–	–	–	–	–	–
4-(2,6,6-Триметилциклогекс-1,3-дієніл)пент-3-єн-2-ол	–	–	–	20.48	3,78 ± 0,08	0,29 ± 0,01	–	–	–
Геранілацетон	20.56	0,42 ± 0,01	0,13 ± 0,01	20.57	3,75 ± 0,08	0,29 ± 0,01	20.59	5,29 ± 0,11	1,1 ± 0,02
2-Метилкапринат	–	–	–	–	–	–	20.84	1,17 ± 0,02	0,24 ± 0,01
Неідентифікована речовина 6	–	–	–	–	–	–	21.03	0,49 ± 0,01	0,1 ± 0,01
1-(2,6,6-Триметилциклогекс-2-єніл) ацетон	–	–	–	–	–	–	21.39	1,78 ± 0,04	0,37 ± 0,01
2,6,10-Триметилдодекан	21.68	5,97 ± 0,12	1,88 ± 0,04	21.76	6,94 ± 0,14	0,53 ± 0,01	21.69	3,98 ± 0,08	0,83 ± 0,02
4-(2,2,6-Триметил-біцикло[4,1,0]-гепт-1-іл)бутан-2-он	22.35	–	–	–	–	–	22.35	4,1 ± 0,08	0,86 ± 0,02
Гексадекан	–	–	–	–	–	–	22.7	1,96 ± 0,04	0,41 ± 0,01
Лауринова кислота	25.34	21,44 ± 0,44	6,74 ± 0,14	25.14	93,99 ± 1,93	7,14 ± 0,15	25.32	16,97 ± 0,35	3,54 ± 0,07
Міристинова кислота	29.58	22,45 ± 0,46	7,06 ± 0,14	29.23	45,84 ± 0,94	3,48 ± 0,07	29.42	18,37 ± 0,38	3,83 ± 0,08
Пентадеканова кислота	30.98	1,13 ± 0,02	0,36 ± 0,01	30.87	12,29 ± 0,25	0,93 ± 0,02	30.97	1,8 ± 0,04	0,38 ± 0,01

Продовж. табл. 3.8

2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Пальмітолейнова кислота	31.95	9,41 ± 0,19	2,96 ± 0,06	31.8	64,95 ± 1,33	4,94 ± 0,1	31.84	17,72 ± 0,36	3,7 ± 0,08
Деканаль	32.18	2,19 ± 0,04	0,69 ± 0,01	31.92	5,54 ± 0,11	0,42 ± 0,01	13.18	2,99 ± 0,06	0,62 ± 0,01
Пальмітинова кислота	32.55	43,21 ± 0,89	13,59 ± 0,28	32.33	264,91 ± 5,44	20,14 ± 0,41	32.55	91,82 ± 1,88	19,16 ± 0,39
Метилліноленоат	–	–	–	33.46	34,64 ± 0,71	2,63 ± 0,05	–	–	–
Метиллінолеат	–	–	–	33.5	30,54 ± 0,63	2,32 ± 0,05	–	–	–
Метилолеат	–	–	–	33.57	11,78 ± 0,24	0,9 ± 0,02	–	–	–
Фітол	33.91	4,89 ± 0,1	1,54 ± 0,03	33.8	3,06 ± 0,06	0,23 ± 0,01	33.87	5,29 ± 0,11	1,1 ± 0,02
Лінолева кислота	34.17	13,97 ± 0,29	4,39 ± 0,09	34.26	68,75 ± 1,41	5,23 ± 0,11	34.11	4,87 ± 0,1	1,02 ± 0,02
Ліноленова кислота	34.21	15,23 ± 0,31	4,79 ± 0,1	34.28	167,87 ± 3,44	12,77 ± 0,26	34.27	19 ± 0,39	3,96 ± 0,08
Олеїнова кислота	34.37	19,11 ± 0,39	6,01 ± 0,12	34.37	60,68 ± 1,25	4,61 ± 0,09	34.33	11,06 ± 0,23	2,31 ± 0,05
Стеаринова кислота	34.6	2,24 ± 0,05	0,7 ± 0,01	34.57	15,1 ± 0,31	1,15 ± 0,02	34.56	3,34 ± 0,07	0,7 ± 0,01
Трикозан	36.09	5,85 ± 0,12	1,84 ± 0,04	36.05	11,41 ± 0,23	0,87 ± 0,02	36.06	2,42 ± 0,05	0,51 ± 0,01
Тетракозан	36.9	0,86 ± 0,02	0,27 ± 0,01	36.81	2,28 ± 0,05	0,17 ± 0,01	36.82	0,58 ± 0,01	0,12 ± 0,01
Пентакозан	37.11	4,38 ± 0,09	1,38 ± 0,03	37.1	6,54 ± 0,13	0,5 ± 0,01	37.1	1,48 ± 0,03	0,31 ± 0,01
4-(2,6,6-Триметилциклогекс-1,3-дієніл)бут-3-єн-2-он	38.09	3,21 ± 0,07	1,01 ± 0,02	18.34	0,57 ± 0,01	0,04 ± 0,01	–	–	–
Гексакозан	38.14	13,02 ± 0,27	4,09 ± 0,08	38.1	13,49 ± 0,28	1,03 ± 0,02	38.1	3,2 ± 0,07	0,67 ± 0,01
Гептакозан	39.98	7,39 ± 0,15	2,32 ± 0,05	39.96	12,5 ± 0,26	0,95 ± 0,02	39.96	3,33 ± 0,07	0,7 ± 0,01

Продовж. табл. 3.8

2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Сквален	40.99	32,99 ± 0,68	10,38 ± 0,21	40.96	150,48 ± 3,09	11,45 ± 0,23	40.94	18,44 ± 0,38	3,85 ± 0,08
Нонакозан	41.69	1,73 ± 0,04	0,54 ± 0,01	42.71	33,5 ± 0,69	2,55 ± 0,05	41.69	1,16 ± 0,02	0,24 ± 0,01
Разом		318,21 ± 6,53			1315,7 ± 27			479,36 ± 9,84	

Примітка. «-» – речовина не виявлена.

У складі легкої фракції плодів лохини високорослої виявлено 47 речовин, з яких ідентифіковано 44; характерними були 5 речовин: 2-метилкапринат, 1-(2,6,6-триметилциклогекс-2-єніл)ацетон, гексадекан, гераніол, 1-бутилциклогекс-2-єн-1-ол.

У складі легкої фракції стебел лохини високорослої виявлено 50 речовин, з яких неідентифіковано 1; характерними були 6 речовин: 4-(2,6,6-триметилциклогекс-1,3-дієніл)пент-3-єн-2-ол, 2-етилкапронат, похідна 1-(1,1-диметил-2,3-дигідро-1-Н-інден-4-іл)етанон, метилолеат, метиллінолеат та метилліноленоат.

Під час дослідження легкої фракції сировини лохини високорослої у листі виявлено 36 речовин терпенової природи, з яких домінантними були: сквален, гексакозан, *n*-мент-1-єн-8-ол, *транс*-ліналоол оксид та евгенол; у плодах – *цис*-ліналоол оксид, сквален, вітиспіран, *n*-мент-1-єн-8-ол, *транс*-ліналоол оксид; у стеблах вміст терпенових сполук був 468,46 мг/%, що у 2,9-3,6 рази більше, ніж у листях та плодах. Домінантними були сквален, нонакозан, вітиспіран, 3-(2,6,6-триметилциклогекс-1-єніл)проп-2-еналь, гексакозан, 4-вініл-2-метоксифенол, гептакозан, *n*-мент-1-єн-8-ол, трикозан та 1-(1,1-диметил-2,3-дигідро-1-*n*-інден-4-іл)етанон.

Методом хромато-мас-спектрометрії було виявлено 65 сполук, з яких ідентифіковано 59 сполук (табл. 3.9). Результати досліджень якісного складу та кількісного вмісту речовин легких фракцій у сировині лохини високорослої показали, що найбільший їх вміст був у стеблах рослини – 1315 мг/кг. Листя та плоди лохини високорослої містили відповідно у 4,1 та 2,7 рази менше легких компонентів, ніж стебла.

Таблиця 3.9

#### Характеристики легких сполук сировини лохини високорослої

Найменування	Листя	Стебла	Плоди
1	2	3	4
Кількість речовин	49	50	47
Не ідентифіковані речовини	2	1	3

1	2	3	4
Речовини маркери	3	6	5
Речовини терпенової природи, мг/%	162,23 ± 3,33	468,46 ± 9,62	129,88 ± 2,67
Органічні кислоти, мг/%	155,81 ± 3,32	846,55 ± 17,38	349,23 ± 7,17
Загальний вміст речовин, мг/%	318,04 ± 6,53	1315,01 ± 27,01	479,11 ± 9,84

Під час аналізу легкої фракції із сировини лохини було встановлено вміст 14 органічних кислот, з-поміж яких пальмітинова кислота домінувала в усіх вегетативних органах лохини високорослої. Крім пальмітинової кислоти, у стеблах лохини високорослої (20 мг/кг) виявлено міристинову, олеїнову, лінолеву, лауринову і ліноленову кислоти; для листя характерні лауринова і міристинова кислоти, а для плодів – каприлова і капронова кислоти.

### 3.3.6 Фенольні сполуки

Антиоксидантні властивості багатьох рослинних джерел в основному обумовлені поліфенолами, які відіграють важливу роль у нейтралізації вільних радикалів [54, 137]. Дослідження фенольних сполук надземної частини лохини високорослої проводили для плодів, стебел та листя лохини високорослої, зібраних у серпні 2018 р. на базі приватного господарства (м. Балаклея Харківської області).

#### 3.3.6.1 Прості феноли

Визначення простих фенолів та арбутину у водних екстрактах, отриманих за технологією відвару досліджуваної сировини, проводили ТШХ методом у суміші розчинників № 1, 3 та 4 з подальшою обробкою реактивами В та Г (розд. 2, п. 8). Хроматографічні пластини переглядали у видимому та УФ-світлі за довжини хвиль 254 і 366 нм до та після обробки хромогенними реактивами.



Оптимальний розподіл був у системі № 1, під час перегляду в денному світлі на хроматограмах спостерігались плями з характерним інтенсивним темно-коричневим забарвленням (рис. 3.21 А).

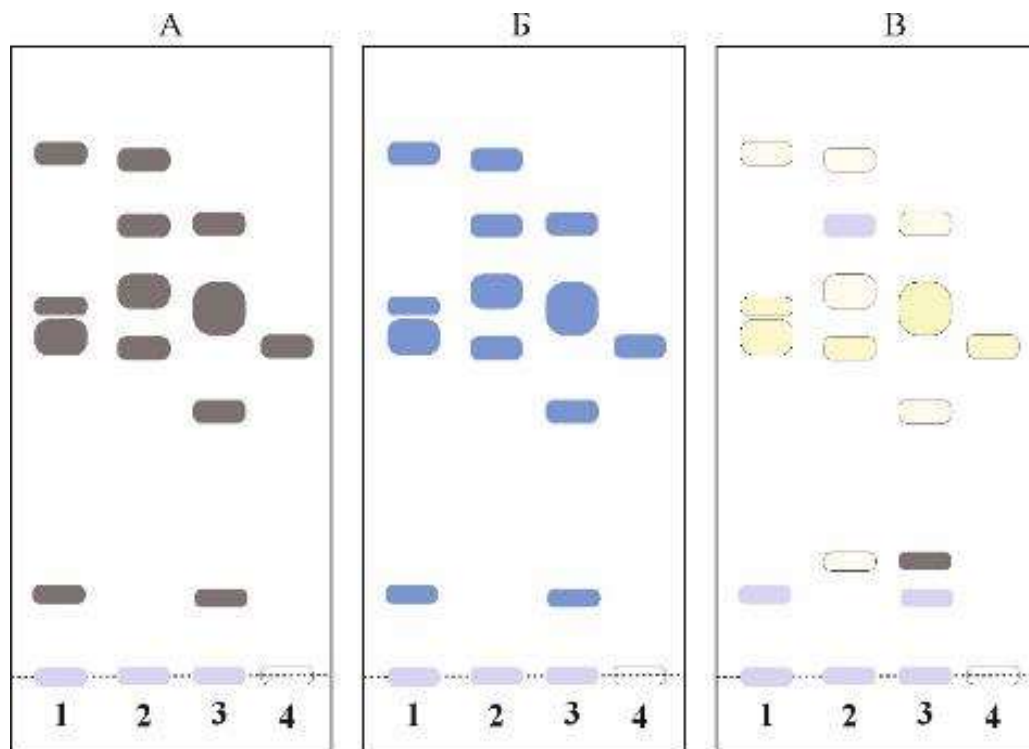


Рис. 3.21 Схема хроматограми у системі № 1 водного екстракту із сировини лохини високорослої: А – у денному світлі; Б – в УФ-254 нм; В – після обробки розчином діазобензолсульфокислоти; 1 – листя; 2 – плоди; 3 – стебла; 4 – арбутин

За переглядом в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм (рис. 3.21 Б) з досліджуваних зразків стебла лохини високорослої для водних екстрактів були встановлені характерні плями зі значеннями  $R_f \approx 0,71-0,72$ ,  $\approx 0,55-0,56$ ,  $\approx 0,41-0,42$  та  $\approx 0,15-0,16$ ; для екстракту з листя лохини високорослої – плями зі значеннями  $R_f \approx 0,81-0,82$ ,  $\approx 0,55-0,56$ ,  $\approx 0,58-0,59$  та  $\approx 0,15-0,16$ ; для екстракту з плодів –  $R_f \approx 0,79-0,80$ ,  $\approx 0,68-0,69$ ,  $\approx 0,61-0,62$  та  $\approx 0,50-0,51$ . Після обробки розчином В (розд. 2, п. 8) ці ж плями забарвлювалися в різні кольори від жовтого до темно-коричневого. У стеблах лохини високорослої додатково виявлялася пляма зі значенням  $R_f \approx 0,19-0,20$  (рис 3.21. В).

Відомо, що основним компонентом простих фенолів родини *Ericaceae* є арбутин ( $\beta$ -D-глюкопіранозид гідрохінону), але його присутність

маскується іншими сполуками, які також реагують з діазореактивом. Так, у стеблах лохини високорослої арбутин не виявлено (рис 3.21). За літературними джерелами відомо, що інші фенольні сполуки лохини високорослої представлені в основному поліфенолами, флавоноїдами та іншими, що зв'язуються з алюмінію оксидом [54, 72]. Тому для позбавлення водних екстрактів від супутніх фенольних сполук екстракти фільтрували крізь шар алюмінію оксиду. Аналіз водних екстрактів лохини проводили до і після фільтрування для різних систем розчинників (рис. 3.22).

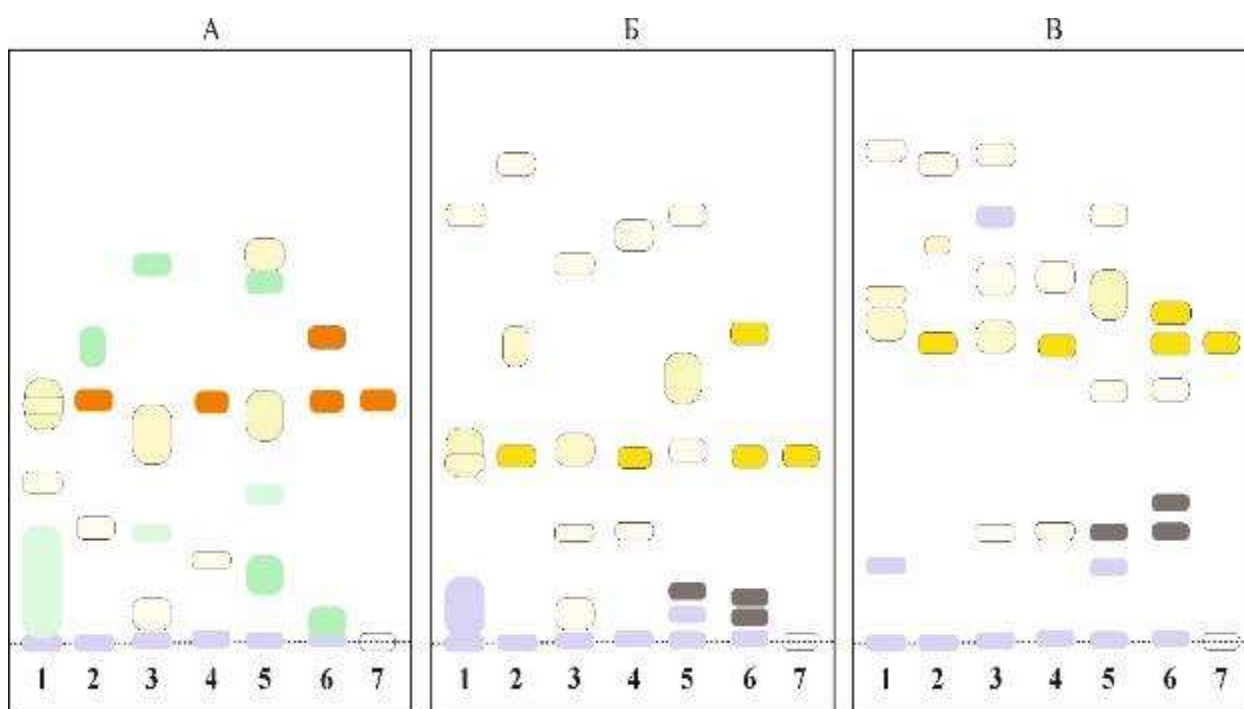


Рис. 3.22 Схеми хроматограми екстрактів лохини у системах розчинників: А – № 3, Б – №4, В – № 1, до та після фільтрування крізь шар алюмінію оксиду: 1 – екстракт листя до фільтрації; 2 – екстракт листя після фільтрації; 3 – екстракт плодів до фільтрації; 4 – екстракт плодів після фільтрації 5 – екстракт стебел до фільтрації; 6 – екстракт стебел після фільтрації; 7 – зразок арбутину

Значення  $R_f$  арбутину і метиларбутину у різних системах розчинників наведені у табл. 3.10.

Значення  $R_f$  метиларбутину та арбутину для різних систем

Система	Рухома фаза	Значення $R_f$		Реактиви для виявлення
		арбутин	метиларбутин	
№ 1	н-бутанол – кислота оцтова – вода (4 : 1: 2)	0,51-0,53	0,59-0,62	В
№ 3	хлороформ – спирт етиловий 96% (6 : 4)	0,39-0,41	0,52-0,54	Г
№ 4	хлороформ – спирт етиловий 96% - вода (26 : 16: 3)	0,31-0,33	0,55-0,57	В

Після фільтрації екстракту стебел лохини крізь шар алюмінію оксиду, крім плями, що відповідає арбутину, проявляється інша пляма з більш високим значенням  $R_f$ , яка забарвлюється у червоно-помаранчевий (рис. 3.22 Б, В) або червоний (рис. 3.22 А) колір після обробки хромогенним реактивом і ймовірно, є метиларбутином.

Хроматографічний аналіз водних екстрактів досліджуваних зразків сировини підтвердив не тільки достовірну присутність арбутину, але за інтенсивністю забарвлення плям дозволив судити про більший вміст арбутину у плодах та листі лохини, ніж у стеблах.

Визначення простих фенолів у плодах, стеблах та листі лохини високорослої методом ТШХ проводили за монографією ДФУ [10]. Водноспиртові та водні екстракти, отримані з плодів, стебел та листя лохини високорослої, хроматографували у системі розчинників № 10 висхідним способом.

Для цього до 2,0 г здрібненої на порошок сухої сировини додавали 20 мл 50 % метанолу та нагрівали на водяній бані протягом 10 хв зі зворотним холодильником. Одержані гарячі розчини фільтрували у колбу, фільтр обполіскували 50 % метанолом та доводили цим же розчинником до об'єму 20 мл.

Для ТШХ аналізу використовували зразки стандартів: галової кислоти, пірогалолу, пірокатехіну та арбутину, які розчиняли у 0,25 % метанолі. Випробовувані розчини наносили по 20 мкл, розчини порівняння – по 10 мкл. Пластинки з нанесеними пробами протягом 5 хв висушували на повітрі та поміщали у хроматографічну камеру. Хроматографування проводили у системі № 7, у камері, попередньо насиченій сумішшю розчинників, протягом 1 год. Пластинки з фронтом близько 15 см виймали з камери та висушували до видалення слідів розчинників за температури 100-105 °С під тягою. Хроматограми обробляли розчином 10 г/л дихлорхінонхлориміду у метанолі, а потім розчином 20 г/л натрію карбонату безводного.

На хроматограмах метанольних екстрактів плодів, стебел та листя лохини високорослої (рис. 3.23) під час перегляду в денному світлі були ідентифіковані коричневі плями на рівні зон галової кислоти та пірогалолу, блакитні зони різної інтенсивності на рівні зони арбутину; пірокатехін не виявлено.

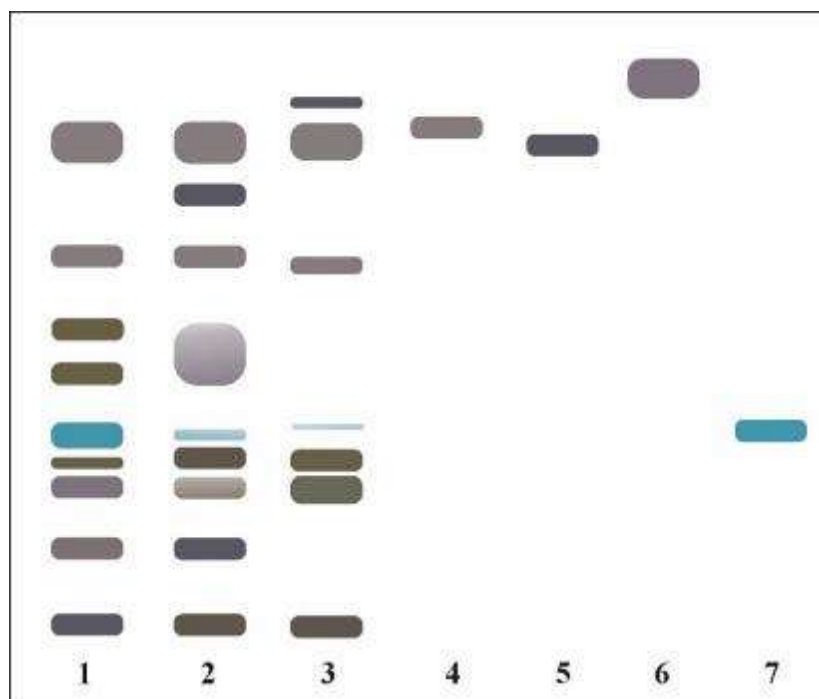


Рис. 3.23 Схема хроматограми у системі розчиннику № 7 у денному світлі екстрактів лохини високорослої: 1 – плоди; 2 – листя; 3 – стебла; хроматограми розчинів порівняння: 4 – галова кислота; 5 – пірогалол; 6 – пірокатехін; 7 – арбутин

Визначення вмісту простих фенолів у плодах, стеблах та листях лохини високорослої проводили спектрофотометричним методом [54, 173]. Як зразок стандартної речовини використовували арбутин. Наявність у молекулі арбутину залишку гідрохінону передбачає максимум поглинання за  $\lambda = 220$  нм (рис. 3.24).

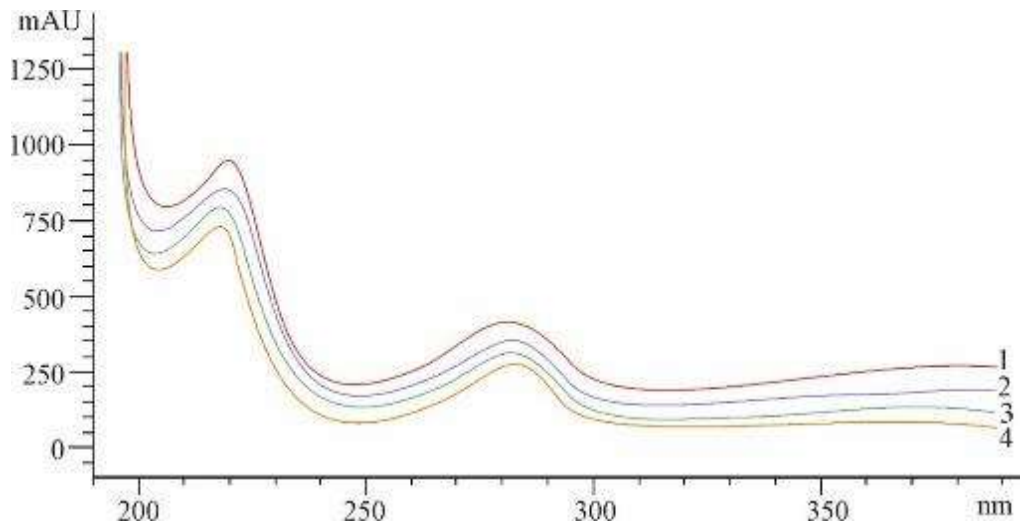


Рис. 3.24 УФ-спектри фенольних сполук екстрактів та арбутину лохини високорослої: 1 – арбутин; 2 – стебла; 3 – листя; 4 – плоди

Аналіз УФ-спектрів показав присутність 2 максимумів поглинання, характерних для арбутину – 220 і 284 нм [29, 34].

Загальний вміст фенологлікозидів у плодах, стеблах та листі лохини високорослої визначали з використанням питомого показника поглинання арбутину – стандарту фірми «Sigma» (США). Результати кількісного визначення наведені в табл. 3.11.

Таблиця 3.11

#### Кількісний вміст БАР у сировині лохини

Надземний орган	Фенольні сполуки	Гідроксикоричні кислоти	Флавоноїди	Антоціани	Поліфеноли
Плоди	$2,05 \pm 0,34$	$1,78 \pm 0,27$	$1,32 \pm 0,25$	$6,02 \pm 0,52$	$4,16 \pm 0,12$
Листя	$5,10 \pm 0,84$	$4,70 \pm 0,13$	$3,20 \pm 0,19$	$3,90 \pm 0,65$	$9,50 \pm 0,57$
Стебла	$0,20 \pm 0,03$	$1,20 \pm 0,12$	$0,90 \pm 0,02$	$1,10 \pm 0,24$	$13,60 \pm 0,97$

Максимум поглинання за довжини хвилі 285 нм мав питомий показник поглинання 72,23, коефіцієнт неповного елюювання – 1,14. Після обробки результатів статистичним методом установили, що плоди містять  $2,05 \pm 0,34$  %,

листя –  $5,1 \pm 0,84$  %, а стебла –  $0,20 \pm 0,03$  % суми простих фенолів у перерахунку на арбутин.

### 3.3.6.2 Гідроксикоричні кислоти

Гідроксикоричні кислоти (ГКК) вивчали методом одновимірної та двовимірної ПХ і ТШХ у системах № 1 і 2 з вірогідними зразками (Sigma Chemical Company, США) та реакціями з розчинами реактивів З і К (розд. 2, п. 8). Під час хроматографування етилацетатної фракції (розд. 2, п. 9.3) були ідентифіковані кофейна, *n*-кумарова, хлорогенова та неохлорогенова кислоти [13, 32].

Крім того, рутин, гіперозид, хлорогенова та кофейна кислоти проявлялися ТШХ у системі розчинника № 9. Ці сполуки проявляли за флуоресценцією в УФ-світлі після обробки хроматограм реактивами Г, Д та Е (розд. 2, п. 8).

Установлено, що в листі та стеблах лохини високорослої міститься не менше 4 сполук, які є похідними гідроксикоричних кислот (рис. 3.25).

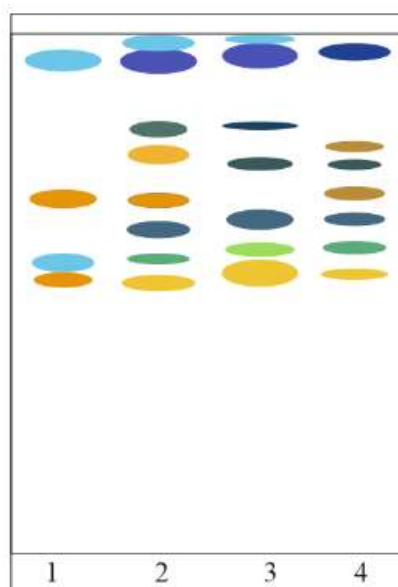


Рис. 3.25 Схема ТШХ гідроксикоричних кислот під час перегляду в УФ-світлі: 1 – рутин, хлорогенова кислота, гіперозид, кофейна кислота (порівняння); 2 – листя лохини високорослої; 3 – стебла лохини високорослої; 4 – плоди лохини високорослої

Під час детектування фенолокіслот за довжини хвилі 365 нм відмічено кілька зон адсорбції з блакитною, блакитно-зеленою і блакитно-фіолетовою флуоресценцією, які після проявлення хроматограм реактивом Г набували різного забарвлення в УФ-світлі (рис. 3.25). За хроматографічними характеристиками (забарвленням плям в УФ-світлі, забарвленням у видимому світлі після обробки реактивом Г, значенням  $R_f$  порівняно зі стандартними речовинами) ідентифіковано кофейну, *n*-кумарову, ферулову та хлорогенову кислоти (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

**Хроматографічна характеристика гідроксикоричних кислот  
лохини високорослої**

Фенолокіслоти	Забарвлення плям		Значення $R_f$
	УФ-світло	видиме світло, реактив Г	
Кофейна	Світло-блакитне	Коричневе	0,80-0,81
<i>n</i> -Кумарова	Блакитно-фіолетове	Червоно-коричневе	0,74-0,75
Ферулова	Блакитне	Фіолетове	0,32-0,33
Хлорогенова	Блакитне	Жовто-коричневе	0,29-0,30

Сполуки етилацетатної фракції на хроматограмі дають позитивну реакцію з розчином З, що свідчить про їх фенольну природу. Сіро-зелений колір, що утворюється при цьому, доводить присутність у молекулах ортодіоксигрупи. Із розчином К ці сполуки утворюють синьо-зелене забарвлення, що підтверджує їхню кислотну природу. Під час хроматографування речовини етилацетатної фракції мають в УФ-світлі блакитне забарвлення різної інтенсивності, яке підсилюється або змінюється на зелено-блакитне під дією парів аміаку. Це характерно для похідних коричної кислоти.

Кількісне визначення суми ГКК у плодах, стеблах та листі лохини високорослої проводили спектрофотометричним методом за довжини хвилі 327 нм у перерахунку на хлорогенову кислоту (Фармакопейний центр, Україна), питомий показник поглинання – 504,43 (розд. 2, п. 10.2). Після

обробки результатів статистичним методом (табл. 3.11) установили, що плоди містять  $1,78 \pm 0,27$  %, листя –  $4,70 \pm 0,13$  %, а стебла –  $1,20 \pm 0,12$  % суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту.

### 3.3.6.3 Флавоноїди

Флавоноїди є найбільшою групою з потужними антиоксидантними властивостями [129]. Визначення цієї групи сполук у водно-спиртових екстрактах проводили за загальновідомими якісними реакціями: ціанідиною пробою за Бріантом, реакцією із 3 % розчином хлориду заліза. За результатами було встановлено присутність глікозидів і агліконів флавоноїдної природи [4, 32].

Ідентифікацію флавоноїдів у водно-спиртовому екстракті надземних органів лохини високорослої проводили ПХ і ТШХ у системах органічних розчинників: № 1, 2, 5, 6 та 9 [6]. Наявність цієї групи сполук виявляли за флуоресценцією в УФ-світлі до і після обробки хромогенними реактивами Д, Е, З та Л (розд. 2, п. 8) рис. 3.26 і табл. 3.13.

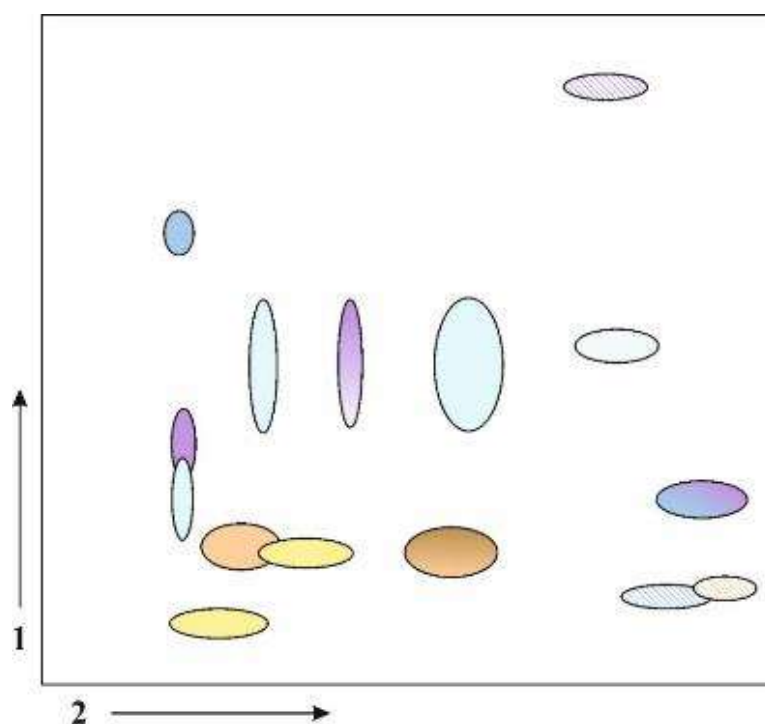


Рис. 3.26 Схема хроматограми екстракту сировини лохини високорослої: 1-й напрямок – 15% оцтова кислота; 2-й напрямок – н-бутанол – оцтова кислота – вода (БОВ) (4 : 1 : 2)



Під час детектування в УФ-світлі та за якісними реакціями зі спиртовими розчинами натрію гідроксиду, алюмінію хлориду та діазореактивом на хроматограмах було виявлено не менше 15 речовин фенольної природи, з яких 6 ідентифіковано як флавоноїди (за літературними даними): лютеолін, кверцетин, кемпферол, мірицетин, глюкозид кверцетину, дигідрокверцетин (рис. 3.26 і табл. 3.12). Речовини, що мають жовту флуоресценцію, можна віднести до агліконів флавоноїдів. Інші плями мали темно-коричневе забарвлення в УФ-світлі, що характерно переважно для глікозидів – похідних флавону і флавонолу. Решта речовин на хроматограмах проявлялася у вигляді блакитних, синіх або синьо-фіолетових плям. Таке забарвлення характерне для кумаринів, гідроксикоричних кислот. Після обробки хроматограм парами аміаку та 2% спиртовим розчином алюмінію хлориду плями агліконів набували яскраво-жовтої флуоресценції, темно-коричневі плями набували жовто-зеленого забарвлення, що характерно для флавонових глікозидів.

Таблиця 3.13

### Хроматографічна характеристика флавоноїдів лохини високорослої

Речовини	Забарвлення плятен в УФ	Система		
		№ 1	№ 2	№ 7
Кемпферол	Жовто-зелена	0,90-0,91	0,09-0,10	0,55-0,56
Лютеолін	Темно- жовта	0,84-0,58	-	0,80-0,81
Мірицетин	Золотисто-жовта	0,43-0,44	-	0,41-0,42
Кверцетин	Жовта	0,78-0,79		0,41-0,42
Глюкозид кверцетину	Жовта	0,32-0,33	0,10-0,11	-
Дигідрокверцетин	Світло-пурпурна	0,78-0,79	0,13-0,14	1

Для установлення природи флавоноїдних глікозидів проводили їх кислотний гідроліз. Для цього з хроматограми вирізали плями темно-коричневої флуоресценції, подрібнювали, заливали 8% соляною кислотою і нагрівали на водяній бані.

Хід гідролізу флавоноїдів контролювали за допомогою ПХ у системі розчинників № 1 та 7 (розд.2, п. 8). Вуглеводи, що утворюються в результаті гідролізу флавоноїдних глікозидів, аналізували в системі розчинників № 8, та проявляли розчином М (розд. 2, п. 8) з наступним нагріванням хроматограм у сушильній шафі за температури 105 °С до прояву плям. Вуглеводи, що утворюються в результаті гідролізу флавоноїдних глікозидів, ідентифіковані як глюкоза, рамноза і арабіноза.

Установлено, що у плодах, стеблах та листі лохини високорослої міститься не менше 5 сполук флавоноїдної природи [13, 32].

*Загальний вміст флавоноїдів* у плодах, стеблах та листях лохини високорослої досліджували спектрофотометричним методом [70]. Для цього 500 мкл екстракту (1 мг/мл) змішували з 0,1 мл 0,1 г / л хлориду алюмінію і 0,1 мл 1 М ацетату калію, потім розбавляли дистильованою водою до 3 мл і ретельно перемішували. Оптичну густину суміші вимірювали за довжини 415 нм крізь 30 хв за кімнатної температури. Рутин використовували як стандарт (Фармакопейний центр, Україна), питомий показник поглинання якого з алюмінію хлоридом дорівнював 187,36. Вміст флавоноїдів у сировині лохини високорослої наведено в табл. 3.11 у перерахунку на рутин, він становить для плодів –  $1,32 \pm 0,25$  %, листя –  $3,20 \pm 0,19$  % та стебел –  $0,90 \pm 0,02$  %.

#### 3.3.6.4 Антоціани

Антоціани поширені в природних рослинах і діють як активний компонент лікарських рослин [129]. Для проведення ТШХ використовували систему розчинників № 1. Застосування пластин із силікагелем 60 марки F254 викликає утворення антоціанових хвостів, що не дозволяє чітко розрізнити антоціани. Водночас пластинки з целюлозою марки SILCEL-Mix UV254 забезпечують краще розділення та форму зон (рис. 3.27).

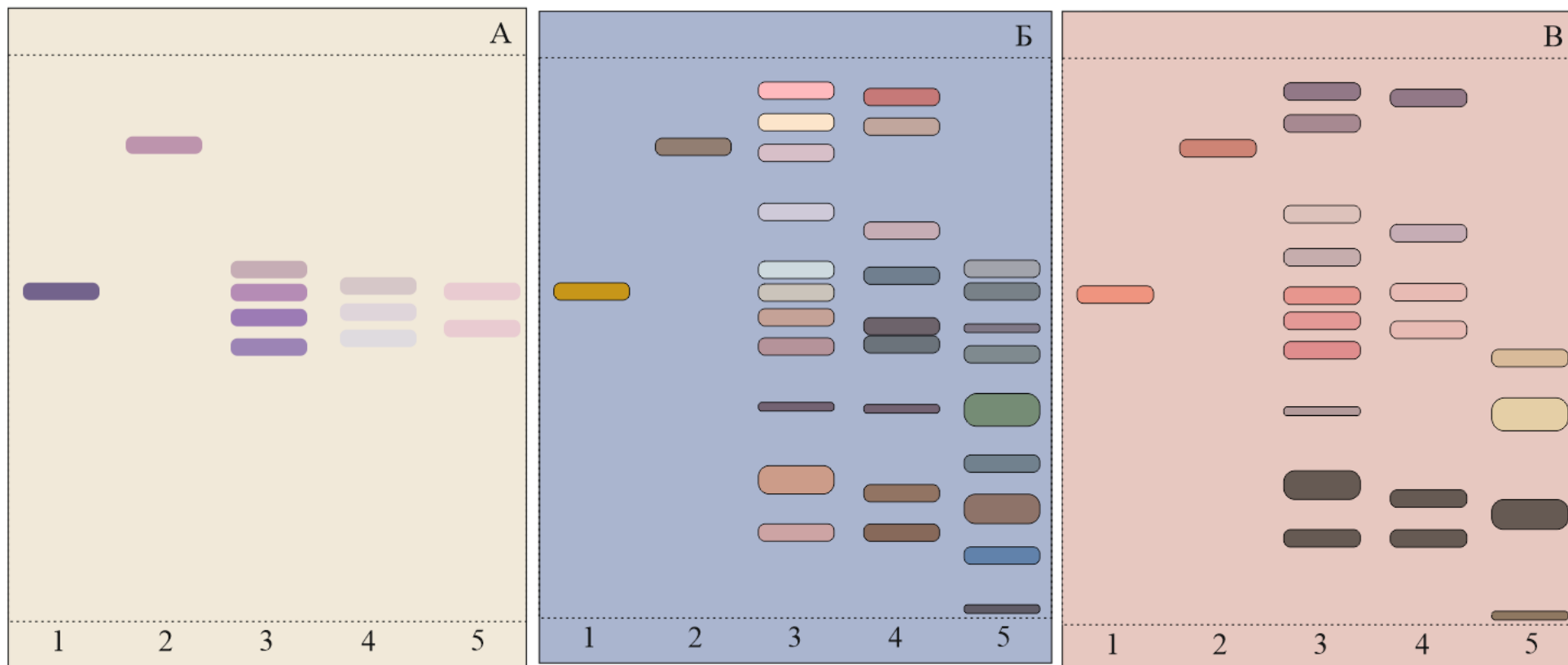


Рис. 3.27 ТШХ хроматограми сировини лохини високорослої: А – хроматограма до дериватизації у видимому світлі; Б – хроматограма після дериватизації в УФ-світлі за 366 нм; В – хроматограма після дериватизації у видимому світлі; 1 – ціанідин-3-О-глюкозиду хлорид; 2 – ціанідину хлорид; 3 – плоди; 4 – листя; 5 – стебла

Підготовка зразків полягає в розчиненні сухих водно-спиртових екстрактів лохини високорослої в метанолі шляхом струшування протягом 10-15 хв з подальшою фільтрацією, що дозволяє приготувати тестові зразки з використанням невеликої кількості розчинника менш ніж за 30 хв. Як розчини порівняння використовували по 2 мг ціанідин-3-О-глюкозиду хлорид та ціанідину хлорид у 5 мл метанолу.

Виявлення антоціанів проводили до і після дериватизації реактивом Н (рис. 3.27). Спостерігали у видимому та в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

На хроматографічних пластинах антоціани плодів та листя (рис. 3.27, А) проявляються у вигляді 3 фіолетово-синіх зон з  $R_f \approx 0,59-0,6$ ,  $\approx 0,53-0,54$ ,  $\approx 0,48-0,49$  різної інтенсивності, тоді як на хроматограмах стебел було 2 рожево-фіолетові зони з  $R_f \approx 0,58-0,59$ ,  $\approx 0,51-0,52$ . За характером забарвлення та літературними даними вони належать до похідних пеларгоніну (від червоного до помаранчевого), сполуки з  $R_f \approx 0,59-0,6$  були ідентифіковані як ціанідин-3-О-глюкозид.

Після проведення дериватизації хроматограми мали більшу кількість зон, а їх забарвлення та інтенсивність змінювалися в УФ-світлі (рис. 3.27, Б, В). Так, у видимому світлі зони ціанідин-3-О-глюкозиду та ціанідину мали яскраво-моркв'яний колір, за довжини хвилі 365 нм темно-жовта зона була тільки у ціанідин-3-О-глюкозиду. Під час дериватизації цукровий склад екстрактів надземних органів лохини високорослої стає видимим, що дає додаткову інформацію про тип антоціанів в екстракті.

Кількісне визначення антоціанів (розд. 2, п. 10.5) у плодах, стеблах та листях лохини високорослої наведено у табл. 3.11. Перерахунок проводили на ціанідин-3-О-глюкозид. Для листя кількість антоціанів становить  $3,90 \pm 0,65$  %, для стебел –  $1,10 \pm 0,24$  %, для плодів –  $6,02 \pm 0,52$  %.

### 3.3.6.5 Дубильні речовини

Наявність дубильних речовин у водних екстрактах плодів, стебел та листя лохини високорослої підтверджували якісною реакцією з 1 % розчином

залізоамонійних галунів.

Кількісне визначення танінів у плодах, стеблах та листі лохини високорослої проводили методом спектрофотометрії у перерахунку на пірогалол (розд. 2, п. 10.6) за методикою ДФУ 2.8.14 «Визначення танінів у лікарській рослинній сировині» [12]. Вміст суми поліфенолів у плодах, стеблах та листі лохини високорослої наведено в табл. 3.11. Для листя їх вміст становить  $9,5 \pm 0,57$  %, для стебел –  $13,6 \pm 0,97$  %, для плодів –  $4,16 \pm 0,12$  %.

### 3.3.6.6 Дослідження фенольних сполук методом ВЕРХ

Вивчення якісного складу та кількісного вмісту фенольних сполук методом ВЕРХ проводили за розд. 2, п. 16. Хроматограми фенольних сполук листя лохини високорослої до та після гідролізу наведені на рис. 3.28-3.29 і табл. 3.14.

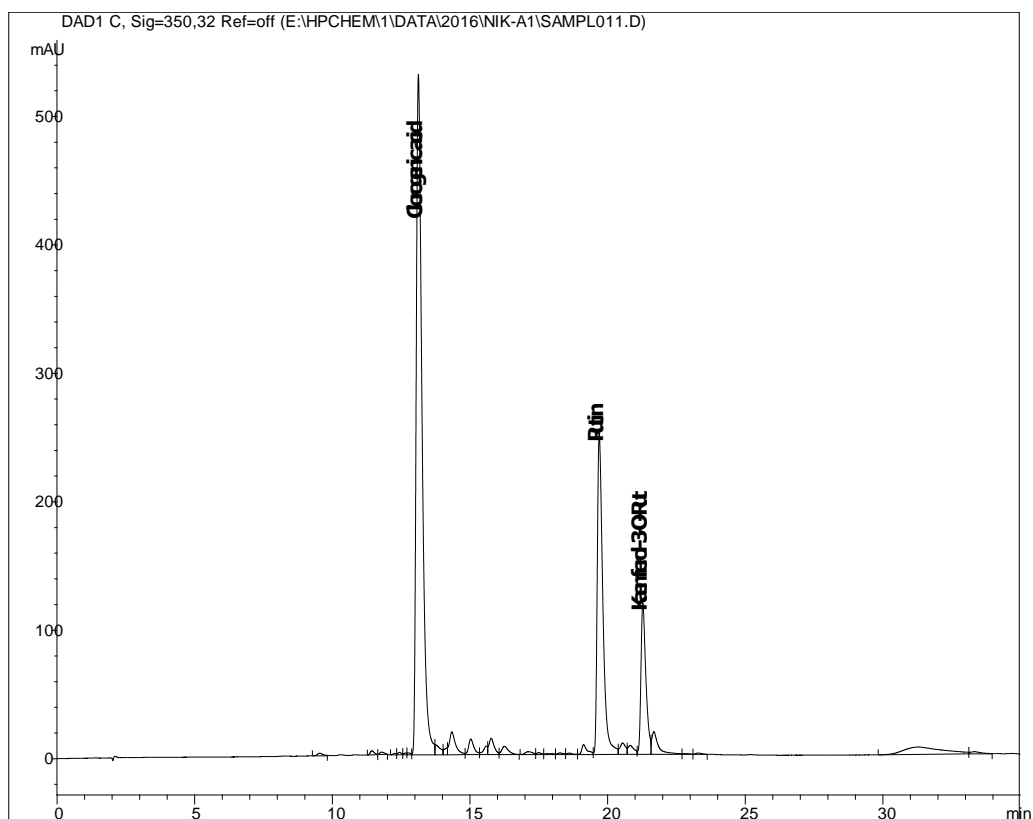


Рис. 3.28 Типова хроматограма фенольних сполук листя лохини високорослої до гідролізу

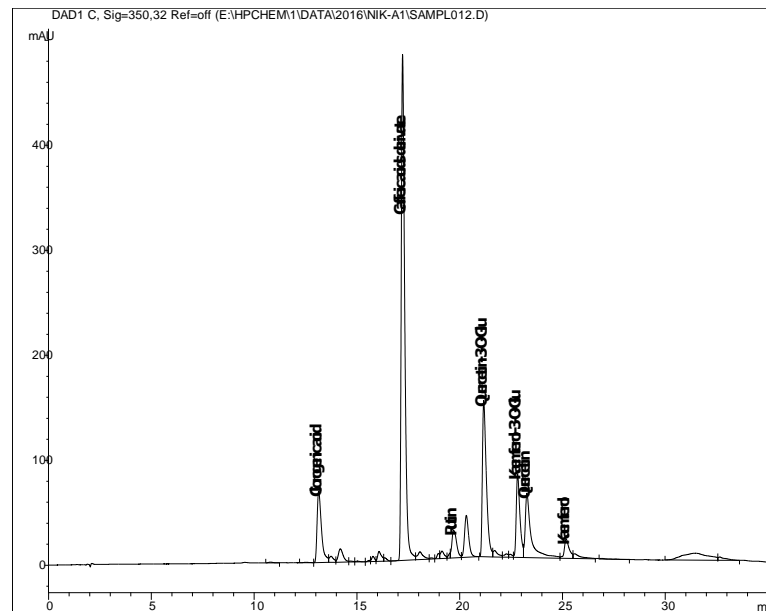
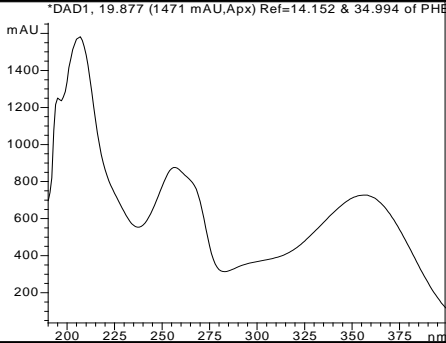
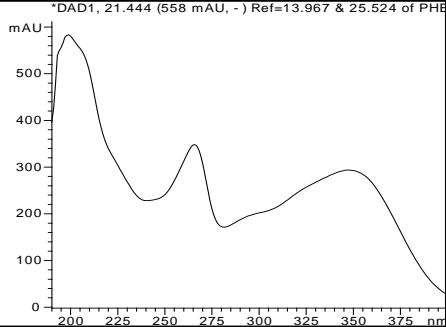
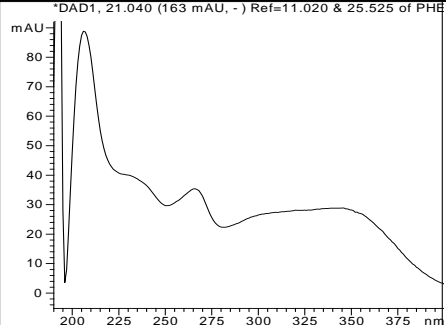
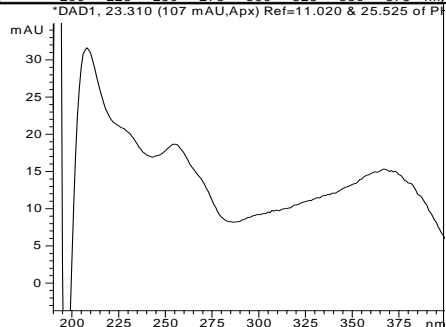
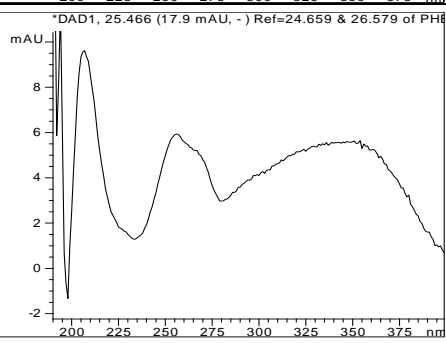


Рис. 3.29 Типова хроматограма фенольних сполук листя лохини високорослої після гідролізу

Таблиця 3.14

### Фенольні сполуки листя лохини

Сполука	Час утримування, хв	Кількісний вміст, мг/100 г		УФ-спектр
		до гідролізу	після гідролізу	
2	3	4	5	6
Хлорогенова кислота	13.14	3907,6 ± 80,22	523,4 ± 10,75	
Кофейна кислота	17.22	—	1343,6 ± 27,58	

2	3	4	5	6
Рутин	19.70	1660,4 ± 34,09	204,2 ± 4,19	 <p>*DAD1, 19.877 (1471 mAU,Apх) Ref=14.152 &amp; 34.994 of PHE</p>
Кверцетин-3-О-глюкозид	21.17	—	987,1 ± 20,27	 <p>*DAD1, 21.444 (558 mAU, -) Ref=13.967 &amp; 25.524 of PHE</p>
Кемпферол-3-О-глюкозид	22.82	699,8 ± 14,37	488,8 ± 10,04	 <p>*DAD1, 21.040 (163 mAU, -) Ref=11.020 &amp; 25.525 of PHE</p>
Кверцетин	23.27	—	382,1 ± 7,84	 <p>*DAD1, 23.310 (107 mAU,Apх) Ref=11.020 &amp; 25.525 of PHE</p>
Кемпферол	25.18	—	88,9 ± 1,83	 <p>*DAD1, 25.466 (17.9 mAU, -) Ref=24.659 &amp; 26.579 of PHE</p>
Разом		6271,09 ± 128,68	4020,21 ± 82,49	

У результаті дослідження методом ВЕРХ у листі лохини високорослої було виявлено 7 сполук фенольної природи після гідролізу та 3 до гідролізу (табл. 3.14).

Результати дослідження складу фенольних сполук до та після гідролізу екстракту зі стебел лохини високорослої наведені на рис. 3.30, 3.31 відповідно й у табл. 3.15.

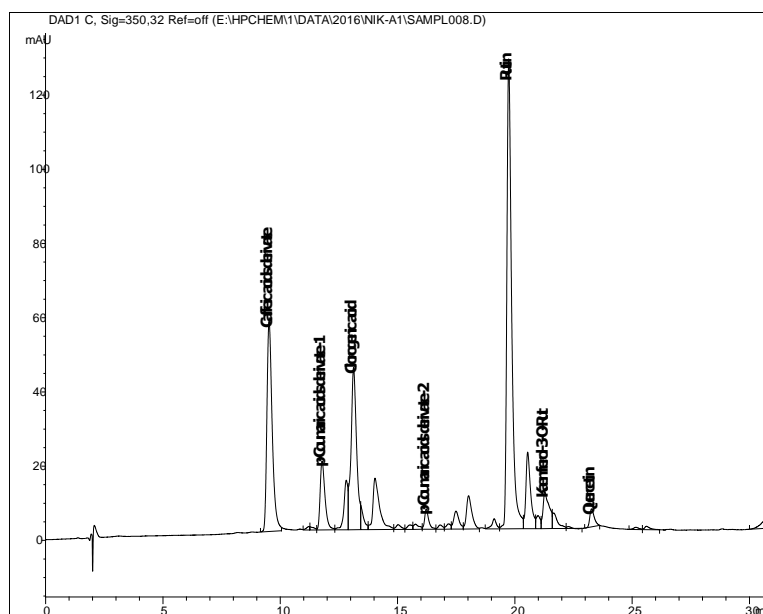


Рис. 3.30 Типова хроматограма фенольних сполук стебел лохини високорослої до гідролізу

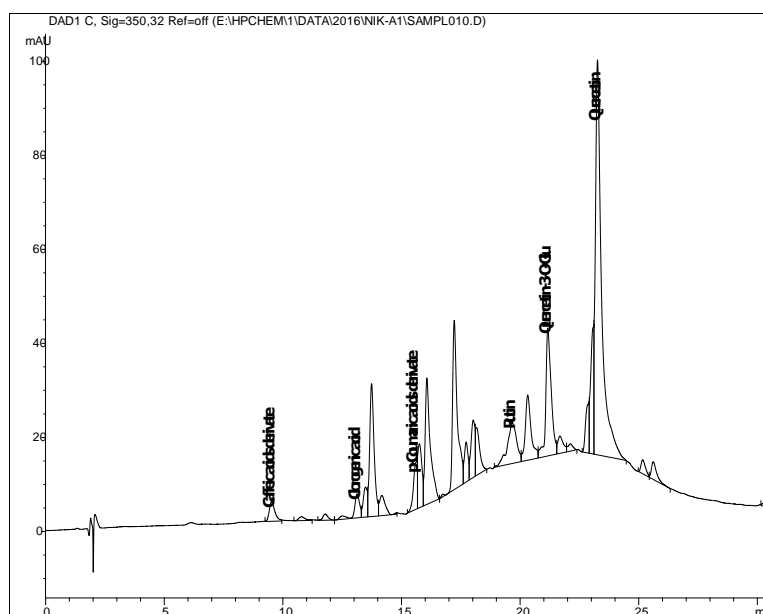
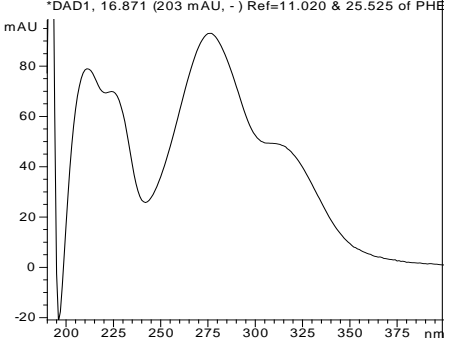
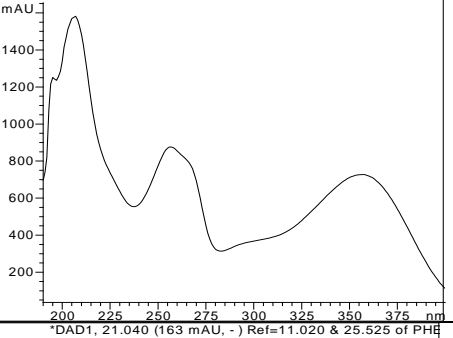
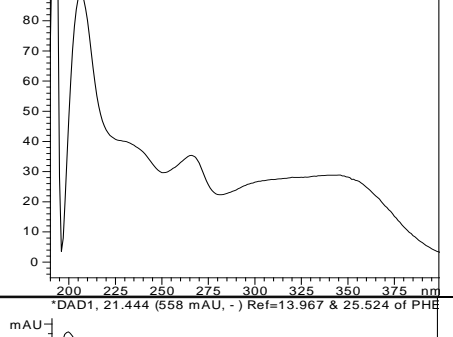
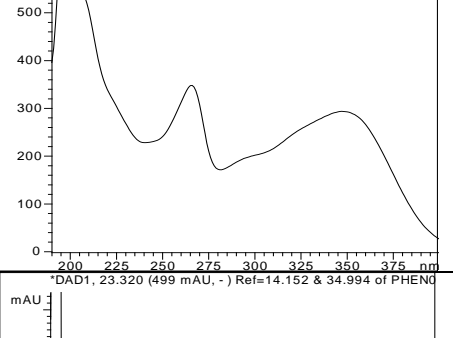
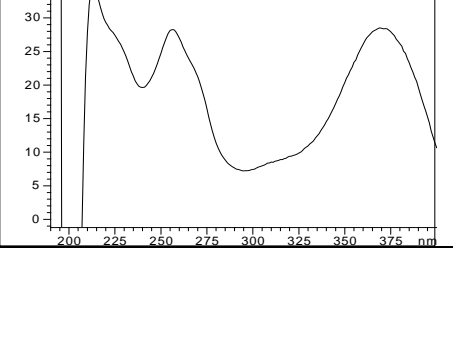


Рис. 3.31 Типова хроматограма фенольних сполук стебел лохини високорослої після гідролізу



## Фенольні сполуки стебел лохини високорослої

Сполука	Час утримування, хв	Кількісний вміст, мг/100 г		Спектральні характеристики
		гідроліз після	гідроліз у	
2	3	4	5	6
Кофейна кислота	9.52	62,0 ± 1,27	5,0 ± 0,10	
<i>n</i> -Кумарової кислоти похідна 1	11.7	47,4 ± 0,97	—	
Хлорогенова кислота	13.12	100,1 ± 2,06	9,8 ± 0,20	
<i>n</i> -Кумарова кислота	15.59	—	25,5 ± 0,52	

2	3	4	5	6
<i>n</i> -Кумарової кислоти похідна 2	16.2	1,7 ± 0,03	—	
Рутин	19.74	212,5 ± 4,36	28,8 ± 0,59	
Кемпферол- 3-О- рутинозид	21.28	21,4 ± 0,44	—	
Кверцетин- 3-О- ГЛЮКОЗИД	21.7	—	53,1 ± 1,09	
Кверцетин	23.7	7,7 ± 0,16	144,0 ± 2,96	
Разом		453,04 ± 9,30	266,34 ± 5,47	

У стеблах лохини високорослої (табл. 3.15) виявлено 9 сполук фенольної природи, до гідролізу було встановлено 7 сполук, а після гідролізу – 6. Так, похідні 1 та 2 *n*-кумарової кислоти ( $47,4 \pm 0,97$  мг/100 г та  $1,7 \pm 0,03$  мг/100 г відповідно) були виявлені тільки до гідролізу, а після гідролізу встановлено вміст *n*-кумарової кислоти був майже у 2 рази менший, ніж сума похідних

*n*-кумарової кислоти. Фенольний склад листя та стебел лохини високорослої відрізняється, листя містять кемпферол  $88,9 \pm 1,83$  мг/100 г і кемпферол-3-О-глікозид  $699,8 \pm 14,37$  мг/100 г до гідролізу та  $488,8 \pm 10,04$  мг/100 г після гідролізу (табл. 3.14), тоді як стебла містять кемпферол-3-О-рутинозид  $21,4 \pm 0,44$  мг/100 г і *n*-кумарову кислоту  $25,5 \pm 0,52$  мг/100 г та її похідні.

За результатами дослідження методом ВЕРХ кількісний вміст фенольних сполук листя лохини високорослої складає  $6271,09 \pm 128,68$  мг/100 г до гідролізу,  $4020,21 \pm 82,49$  мг/100 г після гідролізу (табл. 3.11), що на порядок більше ніж у стеблах до гідролізу  $453,04 \pm 9,30$  мг/100 г та  $266,34 \pm 5,47$  мг/100 г після гідролізу (табл. 3.15), тому листя є перспективним джерелом отримання фенольних сполук лохини високорослої.

Відомості про склад антоціанів та фенольних сполук плодів лохини високорослої, що трапляються у науковій літературі [69], досить суперечливі. Дослідження фенольного складу плодів проводили методом ВЕРХ [116], які представлені на рис. 3.32 та табл. 3.16

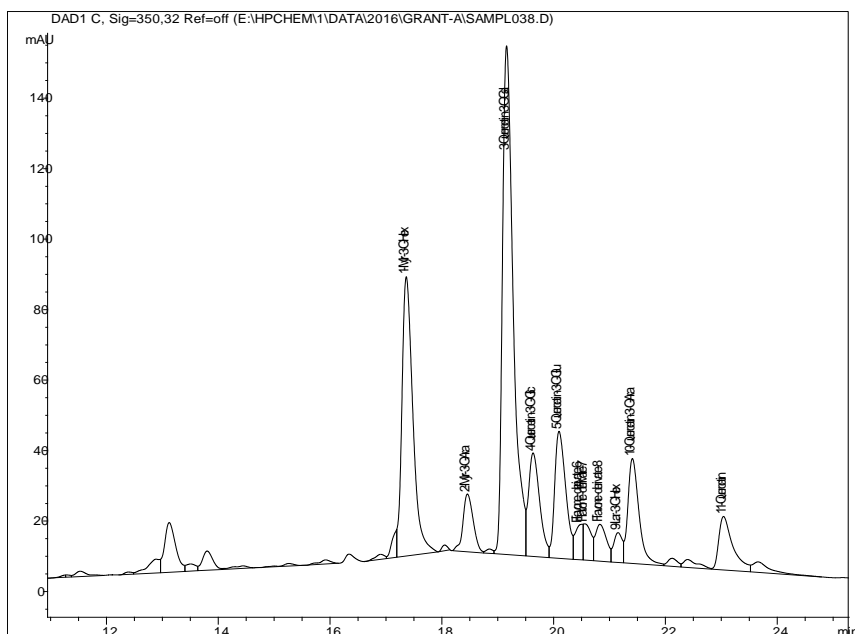


Рис. 3.32 Типова хроматограма фенольних сполук плодів лохини

Таблиця 3.16

**Фенольні сполуки плодів лохини високорослої**

Речовина	Час утримання	Кількісний вміст, мг/100 г
Мірицетин-3-О-гексозид	17.36	122,6 ± 2,52
Мірицетин-3-О-арабінозид	18.46	3,0 ± 0,06
Кверцетин-3-О-галактозид	19.16	296,2 ± 6,08
Кверцетин-3-О-глюкуронідин	19.63	46,5 ± 0,95
Кверцетин-3-О-глюкозид	20.10	56,6 ± 1,16
Флавоноїд 1	20.46	10,8 ± 0,22
Флавоноїд 2	20.55	11,3 ± 0,23
Флавоноїд 3	20.83	16,5 ± 0,34
Ларицитрин-3-О-гексозид	21.15	10,2 ± 0,21
Кверцетин-3-О-арабінозид	21.41	46,8 ± 0,96
Кверцетин	23.05	18,2 ± 0,37

У плодах лохини виявлено 11 флавоноїдів, переважають є мірицитин-3-О-гексозид – 19,2 % і кверцетин-3-О-галактозид – 46,4 % від загальної суми флавоноїдів (табл. 3.16).

Екстракти з плодів лохини для визначення антоціанів методом ВЕРХ (розд. 2, п. 17). Результати наведені на рис. 3.33 та у табл. 3.17.

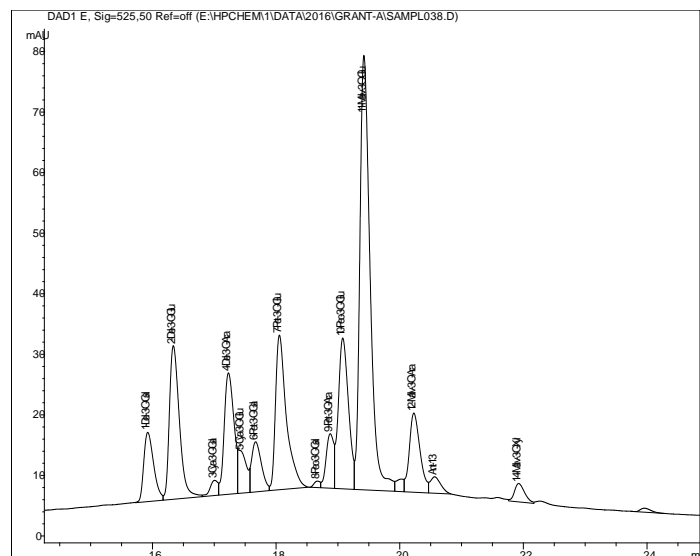


Рис. 3.33 Типова хроматограма антоціанів плодів лохини високорослої

Таблиця 3.17

**Антоціани плодів лохини високорослої**

Речовина	Час утримування, хв	Кількісний вміст, мг/100 г
Дельфінідин-3-О-галактозид	15.92	9,30 ± 0,19
Дельфінідин-3-О-глюкозид	16.34	21,01 ± 0,43
Ціанідин-3-О-галактозид	17.01	1,60 ± 0,03
Дельфінідин-3-О-арабінозид	17.23	16,11 ± 0,33
Ціанідин-3-О-глюкозид	17.44	5,00 ± 0,10
Петуїдин-3-О-галактозид	17.67	6,60 ± 0,14
Петуїдин-3-О-глюкозид	18.05	23,11 ± 0,47
Пенідин-3-О-галактозид	18.67	0,50 ± 0,01
Петуїдин-3-О-арабінозид	18.88	5,60 ± 0,11
Пеонідин-3-О-глюкозид	19.08	21,01 ± 0,43
Мальвідин-3-О-глюкозид	19.42	61,23 ± 1,26
Мальвідин-3-О-арабінозид	20.23	11,61 ± 0,24
Антоціан неідентифікований	20.56	2,40 ± 0,05
Мальвідин-3-О-ксилозид	21.92	2,50 ± 0,05

У плодах лохини домінують аглікони: мальвідин – 75,3 мг/100 г, дельфінідин – 46,4 мг/100 г, петунідин – 35,3 мг/100 г, пеонідин – 21,5 мг/100 г, ціанідину – 6,6 мг/100 г. Цукрова частина антоціанів представлена 3-О-глюкозою, 3-О-галактозою, 3-О-арабінозою і 3-О-ксилозою.

#### 3.4 Установлення динаміки накопичення фітомаси та БАР лохини високорослої

Вивчення динаміки накопичення БАР у ЛРС має особливе значення, тому що дозволяє визначити оптимальні терміни заготівлі сировини з урахуванням біологічних особливостей розвитку рослин [15, 24, 75].

Ці відомості мають теоретичний та практичний інтерес і можуть бути використані у рекомендаціях щодо заготівлі лікарської рослинної сировини.

Об'єктами дослідження була надземна частина лохини високорослої, зібрана в 2018 р. у Харківській області. Заготовляли сировину, зрізуючи по 3 пагони з 5 кущів на різних стадіях вегетації рослини: на початку сокоруху, бутонізації, цвітіння, плодоносіння, припинення сокоруху. Результати дослідження динаміки сухої сировини надземної частини лохини високорослої наведені у табл. 3.18.

Таблиця 3.18

**Динаміка накопичення фітомаси сировини лохини високорослої  
залежно від терміну заготівлі**

Сировина	Маса сухої сировини, г						
	Квітень	Травень	Червень	Липень	Серпень	Вересень	Жовтень
Бруньки	0,56 ± 0,03						
Плоди					703,78 ± 37,12		
Стебла	22,42 ± 1,18	21,27 ± 1,12	31,34 ± 1,65	31,65 ± 1,67	31,95 ± 1,69	28,45 ± 1,50	21,22 ± 1,12
Листя		1,27 ± 0,07	94,34 ± 4,98	94,34 ± 4,98	95,75 ± 5,05	33,69 ± 1,78	15,52 ± 0,82*
Співвідношення Стебла/лист		16,728	0,337	0,335	0,333	0,844	1,367

Примітка. \*— листя мало два кольори: жовтий – 40 %; червоний – 60 %.

Листя збирали з молодих пагонів (від початку розвитку листкової пластинки до її опадання) з травня по жовтень включно у перший тиждень кожного місяця. Обрізані облиствені пагони лохини високорослої різних місяців обмолочували і сушили за температури 60 °С окремо від листя. Плоди збирали з 5 кущів окремо на стадії повного дозрівання. Для

досліджень використовували середню пробу сировини. За результатами дослідження (табл. 3.18), кількість бруньок по відношенню до стебел складала лише 2,5 %, що вказує на неперспективність сировини. Найбільша маса листя у перерахунку на стебла була у червні – серпні (0,34), у разі дозрівання плодів маса листя зменшується. Так, у жовтні коефіцієнт співвідношення стебло/листок складає 1,37, при цьому листя мало різні кольори, з переважанням жовтого (60%) та червоного (40%).

Результати накопичення простих фенолів, флавоноїдів, антоціанів, дубильних речовин та гідроксикоричних кислот (розд. 2, п. 10.1, 10.3, 10.4, 10.6) у листях та стеблах лохини високорослої наведені у табл. 3.19

Для отримання екстрактів 3 г сухого порошку листя або стебел лохини високорослої екстрагували 90 мл 60% метанолу на водяній бані за температури 80 °C протягом 120 хв. Настій охолоджували до кімнатної температури, фільтрували крізь фільтрувальний папір і залишок повторно екстрагували в тих же умовах для повноти екстракції. Об'єднаний фільтрат упарювали на роторному вакуумному випарнику за температури 40 °C.

Аналіз даних показав, що протягом вегетаційного періоду вміст БАР у плодах, стеблах та листях лохини коливався, але у листі залишався на досить високому рівні та перевищував вміст БАР у стеблах.

У найбільших кількостях у сировині міститься сума дубильних речовин. У листі, зібраному у жовтні, був найвищий вміст поліфенолів ( $425,24 \pm 8,73$  мг/г), потім листя вересня ( $388,64 \pm 7,98$  мг/г). Вміст антоціанів у листі лохини в різні місяці коливався від  $102,2 \pm 2,10$  до  $243,4 \pm 4,99$  мг/г, але динаміка накопичення аналогічна накопиченню поліфенолів. Збільшення антоціанів за вегетаційний період в 2,4 рази обумовлено кольором листкової пластини і появою великої кількості червоного листя (до 60 % від загальної кількості листя) у жовтні. Загальний вміст флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у листі лохини різних місяців у серпні був найвищими ( $114,3 \pm 2,34$  і  $189,2 \pm 3,88$  мг/г відповідно), у вересні вміст цих груп БАР був нижчим. Крізь два тижні після збору плодів загальний вміст поліфенолів у тканинах

зеленого листа був вище, ніж у тканинах червоного листа.

Сезонні зміни чинять помітний вплив на процес росту рослин, види і склад компонентів у рослині змінюються з плином сезону.



Таблиця 3.19

## Кількісний вміст БАР у сирови лохини високорослої різних термінів заготівлі

Сировина	Од. вим.	Вміст БАР, %, $\bar{x} \pm D_x$ , $n = 5$					
		Травень	Червень	Липень	Серпень	Вересень	Жовтень
1	2	3	4	5	6	7	8
Флавоноїди							
Листя	мг/г	63,32 ± 1,30	74,72 ± 1,53	86,14 ± 1,77	114,32 ± 2,34	95,54 ± 1,96	76,76 ± 1,57
	%	1,81 ± 0,16	2,14 ± 0,19	2,46 ± 0,22	3,20 ± 0,19	2,75 ± 0,24	2,27 ± 0,19
Стебла	мг/г	8,13 ± 0,17	9,62 ± 0,20	11,08 ± 0,23	14,64 ± 0,30	12,24 ± 0,25	9,82 ± 0,20
	%	2,71 ± 0,59	3,25 ± 0,70	3,71 ± 0,80	4,90 ± 0,12	4,13 ± 0,89	3,34 ± 0,21
Гідроксикоричні кислоти							
Листя	мг/г	104,82 ± 2,15	123,61 ± 2,54	142,52 ± 2,92	189,23 ± 3,88	158,11 ± 3,24	126,91 ± 2,60
	%	2,63 ± 0,10	3,16 ± 0,18	3,54 ± 0,15	4,70 ± 0,13	3,92 ± 0,11	3,23 ± 0,19
Стебла	мг/г	7,07 ± 0,14	8,35 ± 0,17	9,63 ± 0,20	12,75 ± 0,26	10,67 ± 0,22	8,54 ± 0,17
	%	2,35 ± 0,11	2,84 ± 0,20	3,26 ± 0,19	4,20 ± 0,12	3,55 ± 0,17	2,82 ± 0,12
Поліфенольні сполуки							
Листя	мг/г	300,34 ± 6,16	288,93 ± 5,93	277,53 ± 5,69	318,46 ± 6,53	388,81 ± 7,98	425,54 ± 8,73
	%	9,09 ± 0,48	8,65 ± 0,42	8,32 ± 0,37	9,50 ± 0,57	11,62 ± 1,92	12,71 ± 0,12
Стебла	мг/г	38,56 ± 0,79	37,07 ± 0,76	35,65 ± 0,73	40,82 ± 0,84	49,91 ± 1,02	54,55 ± 1,12
	%	12,83 ± 0,80	12,35 ± 0,69	11,82 ± 0,59	13,60 ± 0,97	16,64 ± 0,62	18,12 ± 0,97

Продовж. табл. 3.19

1	2	3	4	5	6	7	8
Прості феноли							
Листя	мг/г	128,82 ± 2,64	134,91 ± 2,77	140,21 ± 2,88	170,32 ± 3,49	186,61 ± 3,83	197,07 ± 4,04
	%	3,83 ± 0,63	4,08 ± 0,66	4,23 ± 0,69	5,10 ± 0,84	5,65 ± 0,92	5,93 ± 0,97
Стебла	мг/г	16,51 ± 0,34	17,37 ± 0,35	17,94 ± 0,37	21,83 ± 0,45	23,92 ± 0,49	25,24 ± 0,52
	%	5,55 ± 0,20	5,75 ± 0,26	6,07 ± 0,30	7,20 ± 0,58	7,91 ± 0,74	8,43 ± 0,83
Антоціани							
Листя	мг/г	102,24 ± 2,10	110,38 ± 2,26	114,91 ± 2,36	132,24 ± 2,71	184,23 ± 3,78	243,42 ± 4,99
	%	3,09 ± 0,50	3,36 ± 0,54	3,43 ± 0,57	3,90 ± 0,65	5,55 ± 0,91	7,35 ± 0,20
Стебла	мг/г	2,67 ± 0,05	2,83 ± 0,06	2,94 ± 0,06	3,42 ± 0,07	4,72 ± 0,10	6,26 ± 0,13
	%	0,98 ± 0,19	0,92 ± 0,20	1,09 ± 0,21	1,10 ± 0,24	1,6 ± 0,34	2,13 ± 0,45

За отриманими результатами кількісного визначення флавоноїдів, дубильних речовин та гідроксикоричних кислот у листі та стеблах лохини високорослої в різні терміни заготівлі, листя можна збирати протягом літа в період повного розкриття листкової пластинки, але доцільно це робити після заготівлі плодів під час сезонного обрізання кущів до зміни кольору на жовтий та червоний.

### Висновки розділу 3

1. Визначено основні числові показники для плодів, стебел та листя лохини високорослої.

2. Установлено морфологічні ознаки та проведено фармакогностичне дослідження лохини високорослої двох вітчизняних сортів Шантеклер та Блюголд. Визначено морфолого-анатомічну будову кущів, плодів, стебел та листя. Проведено мікроскопічне вивчення стебел та листя лохини високорослої й установлено характерні діагностичні ознаки. Результати досліджень використано для розроблення МКЯ «Лохини високорослої листя».

3. Проведено порівняльне вивчення якісного складу та кількісного вмісту БАР (цукрів, амінокислот, карбонових кислот, летких сполук, простих фенолів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та дубильних речовин) плодів, стебел та листя лохини високорослої. Установлено, що вміст основних БАР фенольної природи у листі більший, що свідчить про перспективність використання цієї сировини.

4. У плодах, листях та стеблах лохини високорослої було виявлено 14 мікро- та макроелементів, спостережено високий вміст калію, натрію, кальцію, сіліцію, магнію та цинку; 17 амінокислот; прості феноли – арбутин; дубильні речовини конденсованої групи; похідні гідроксикоричних кислот: кофейної, *n*-кумарової, ферулової, хлорогенової; 11 сполук флавоноїдної природи, з

яких переважають кверцетин, кемпферол, рутин, кемпферол-3-О-глюкозид; ідентифіковано 37 карбонових кислот, 65 речовин легкої фракції, з яких домінували сквален, нонакозан, вітиспіран, 4-вініл-2-метоксифенол, гексакозан, 3-(2,6,6-триметилциклогекс-1-еніл)проп-2-еналь, гептакозан, *n*-мент-1-ен-8-ол, 1-(1,1-диметил-2,3-дигідро-1-*n*-інден-4-іл)етанон та трикозан. У плодах лохини встановлено вміст вільних та зв'язаних цукрів, 14 антоціанів, з яких домінували мальвідин-3-О-глюкозиду, петуїдин-3-О-глюкозиду, дельфінідин-3-О-глюкозиду. Кількісний вміст фенольних сполук у листі лохини високорослої був більший, ніж у плодах та стеблах, що свідчить про доцільність його використання для подальшого дослідження.

5. Проведено вивчення динаміки накопичення БАР у плодах, стеблах та листях лохини високорослої залежно від стадії вегетації; встановлено оптимальні терміни заготівлі.

*Результати експериментальних досліджень розділу відображені в таких публікаціях:*

1. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Дослідження жирних та органічних кислот листя лохини звичайної. *Вісник фармації*. 2016. № 4 (88). С. 31–33.
2. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Бородіна Н. В., Криворучко О. В. Порівняльне дослідження карбонових кислот надземної частини лохини звичайної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 1 (54). С. 46–50.
3. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Гонтова Т. М., Комісаренко М. А., Бородіна Н. В. Елементний склад, морфологічні та анатомічні ознаки листя лохини високорослої. *Фітотерапія. Часопис*. 2020. № 1. С. 50–56. DOI:10.33617/2522-9680-2020-1-50
4. Стремоухов О. О. Дослідження біологічно активних речовин легкої фракції вегетативних органів лохини високорослої. / О. О.

Стремоухов,

О. М. Кошовий, М. А. Комісаренко // *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Том 14. № 2(36). С. 185-193.

5. Стремоухов А. А., Кошевой О. Н. Исследование фенольного состава листьев голубики. *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку* : матеріали І наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, 24-25 берез. 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. С. 139.

6. Стремоухов О. О. Перспективи використання листя лохини для створення нових дієтичних добавок. *Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту* : матеріали ІІІ наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 квіт. 2016 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 19.

7. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Бородіна Н. В. Дослідження жирних та органічних кислот пагонів лохини звичайної. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 282–284. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

8. Пешкова О. С., Кіреєв І. В., Кошовий О. М., Стремоухов О. О. Вивчення антибактеріальної активності екстрактів плодів та листя *Vaccinium uliginosum*. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали І Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 30-31 берез. 2017 р. Харків : НФаУ, 2017. Т. 2. С. 392.

9. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Король В. В., Сербін А. Г. Дослідження жирних та органічних кислот плодів лохини звичайної. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : Вид-во НФаУ, 2017. Вип. 3. С. 276–279.

10. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Фітохімічне дослідження фенольного складу плодів *Vaccinium corymbosum*. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження* :

матеріали наук.-практ. дистанційної міжнар. конф., м. Івано-Франківськ, 19-20 трав. 2020 р. Івано-Франківськ, 2020. С. 181–182.

**РОЗДІЛ 4**  
**ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ, КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ**  
**БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ТА ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ**  
**АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТІВ З ЛИСТЯ ТА ПЛОДІВ ЛОХИНИ**  
**ВИСОКОРОСЛОЇ**

Плоди лохини використовують у свіжому, замороженому або сушеному вигляді. Листя та сухі плоди застосовують для приготування чаю. На сьогодні препарати, що містять БАР лохини, не представлені на фармацевтичному ринку України [16, 52, 91]. Тому доцільно розробляти нові екстракти з цієї сировини для створення сучасних лікарських засобів.

За результатами фітохімічного вивчення сировини лохини високорослої для подальшого досліджень обрано плоди та листя, оскільки за вмістом БАР ця сировина є найбільш перспективною.

**4.1 Установлення оптимальних параметрів екстракції БАР із сировини лохини високорослої**

Для досліджень було використано плоди та листя *Vaccinium corymbosum* (розд. 2, п. 1), яке було зібране в м. Балаклеї Харківської області. Плоди лохини м'ясисті і соковиті, в промислових масштабах з них отримують сік, при цьому залишається велика кількість шроту, який викидають (табл. 4.1).

*Таблиця 4.1*

**Вихід сухої сировини з плодів лохини високорослої**

Сировина	Вихід		Вихід сухої сировини
	маса, г	%	%
Плоди свіжі	550,0 ± 11,29		28,95 ± 0,39
Шрот плодів	99,19 ± 5,23	18,3 ± 0,38	29,01 ± 0,60

Сок плодів	442,94 ± 23,36	81,7 ± 1,68	17,60 ± 0,36
------------	----------------	-------------	--------------

Для установлення доцільності комплексного перероблення 550,0 г плодів лохини високорослої їх подрібнювали та за допомогою центрифугування зі швидкістю 5 тис. об/хв протягом 10 хв розділяли на сік та шрот. Плоди та шрот сушили у вакуум-сушильній шафі за температури 60°C, сік упарювали за допомогою ротаційного вакуум-випарного апарата Heidolph 2 WBeCo, Laborata 400 efficient (Німеччина) до сухого залишку.

За однакових наважок сировини по 49-50 г найбільший вихід був у шроту з плодів лохини (29,01 ± 0,60%), вміст сухого залишку соку був у межах 18 % (табл. 4.1), при цьому колір сухого залишку соку та шроту був темно-червоним, у разі додавання луку синів, що свідчило про наявність антоціанів.

Плоди лохини покриті восковим нальотом, який забезпечує збереження плодів протягом тривалого часу без консервації. Для екстракції цього воскового нальоту був використаний органічний розчинник – гексан. Цілі свіжі плоди лохини (15,0 г) поміщали у конічну колбу з притертою кришкою і заливали гексаном до рівня дзеркала (~ 100 мл), екстракцію проводили методом 3 кратної мацерації протягом 8 год, екстрагент декантували, а витяжки об'єднували. Отриманий екстракт упарювали за допомогою ротаційного вакуум-випарного апарата Heidolph 2 WBeCo, Laborata 400 efficient (Німеччина) до сухого екстракту жовто-зеленого кольору, вихід складав 0,87 %.

Для приготування екстрактів 5,0 г сухої сировини (листя, сухого соку, шроту та плодів лохини високорослої), подрібненої до розміру частинок 2-3 мм, заливали 50 мл розчинника (для екстракції листя – 96, 70, 50 % етанол та вода; для екстракції з сухого соку, шроту та плодів – гексан, 1 % розчин HCl у 96, 80, 60, 40, 30 % етанолі та воді) і настоювали за кімнатної температури протягом доби. Водні екстракти одержували за технологією відвару, екстракти фільтрували крізь складчастий фільтр, концентрували під



вакуумом до сухого залишку. З одержаних екстрактів готували 1 % розчини в етанолі, які в подальшому використовували для вивчення хімічного складу (табл. 4.2-4.5) [25].

Таблиця 4.2

## Вміст БАР в екстрактах із плодів лохини високорослої

Екстрагент	Вихід екстракту, %	Кількісний вміст БАР в перерахунку на сировину, %			
		гідроксикоричні кислоти в перерахунку на хлорогенову кислоту	флавоноїди в перерахунку на рутин	сума фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту	сума антоціанів у перерахунку на ціанідин-3О-глюкозид
Гексан	0,87 ± 0,02	–	–	–	–
1% розчин НСl у воді	25,21 ± 0,52	0,55 ± 0,01	0,21 ± 0,01	1,59 ± 0,03	2,49 ± 0,05
1% розчин НСl у 30% спирті етиловому	23,45 ± 0,48	0,94 ± 0,02	0,35 ± 0,01	2,74 ± 0,06	4,29 ± 0,09
1% розчин НСl у 40% спирті етиловому	26,55 ± 0,54	1,27 ± 0,03	0,48 ± 0,01	3,68 ± 0,08	5,77 ± 0,12
1% розчин НСl у 60% спирті етиловому	27,88 ± 0,57	1,46 ± 0,03	0,55 ± 0,01	4,23 ± 0,09	6,62 ± 0,14
1% розчин НСl у 80% спирті етиловому	25,13 ± 0,52	1,45 ± 0,03	0,54 ± 0,01	4,21 ± 0,09	6,59 ± 0,14
1% розчин НСl у 96% спирті етиловому	24,54 ± 0,50	1,44 ± 0,03	0,54 ± 0,01	4,18 ± 0,09	6,55 ± 0,13

Таблиця 4.3

## Вміст БАР у сухому залишку соку плодів лохини високорослої

Екстрагент	Вихід екстракту, %	Кількісний вміст БАР в перерахунку на сировину, %			
		гідроксикоричні кислоти в перерахунку на хлорогенову кислоту	флавоноїди в перерахунку на рутин	сума фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту	сума антоціанів у перерахунку на ціанідин-3O-глюкозид
1% розчин HCl у воді	49,74 ± 0,20	0,18 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,53 ± 0,01	0,74 ± 0,02
1% розчин HCl у 30% спирті етиловому	30,46 ± 0,21	0,31 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,91 ± 0,02	0,99 ± 0,02
1% розчин HCl у 40% спирті етиловому	22,78 ± 0,22	0,42 ± 0,01	0,16 ± 0,01	1,23 ± 0,03	1,09 ± 0,02
1% розчин HCl у 60% спирті етиловому	12,00 ± 0,25	0,49 ± 0,01	0,18 ± 0,01	1,41 ± 0,03	1,17 ± 0,02
1% розчин HCl у 80% спирті етиловому	10,60 ± 0,22	0,48 ± 0,01	0,18 ± 0,01	1,40 ± 0,03	1,32 ± 0,03
1% розчин HCl у 96% спирті етиловому	10,82 ± 0,22	0,48 ± 0,01	0,18 ± 0,01	1,39 ± 0,03	1,09 ± 0,02

Таблиця 4.4

## Вміст БАР в екстрактах зі шроту плодів лохини високорослої

Екстрагент	Вихід екстракту, %	Кількісний вміст БАР у перерахунку на сировину, %			
		гідроксикоричні кислоти в перерахунку на хлорогенову кислоту	флавоноїди в перерахунку на рутин	сума фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту	сума антоціанів у перерахунку на ціанідин-3О-глюкозид
1 % розчин НСl у воді	15,48 ± 0,32	0,37 ± 0,01	0,14 ± 0,01	1,06 ± 0,02	1,53 ± 0,03
1 % розчин НСl у 30 % спирті етиловому	13,00 ± 0,27	0,63 ± 0,01	0,24 ± 0,01	1,82 ± 0,04	2,91 ± 0,06
1 % розчин НСl у 40 % спирті етиловому	15,79 ± 0,32	0,85 ± 0,02	0,32 ± 0,01	2,46 ± 0,05	4,15 ± 0,09
1 % розчин НСl у 60 % спирті етиловому	15,90 ± 0,33	0,97 ± 0,02	0,36 ± 0,01	2,82 ± 0,06	4,85 ± 0,10
1 % розчин НСl у 80 % спирті етиловому	14,54 ± 0,30	0,97 ± 0,02	0,36 ± 0,01	2,80 ± 0,06	4,67 ± 0,10
1 % розчин НСl у 96 % спирті етиловому	13,74 ± 0,28	0,96 ± 0,02	0,36 ± 0,01	2,79 ± 0,06	4,86 ± 0,10

Таблиця 4.5

## Вміст БАР у екстрактах з листя лохини високорослої

Екстрагент	Вихід екстракту, %	Кількісний вміст БАР в перерахунку на сировину, %			
		гідроксикоричні кислоти в перерахунку на хлорогенову кислоту	флавоноїди в перерахунку на рутин	сума фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту	сума антоціанів у перерахунку на ціанідин-3O-глюкозид
Вода	29,57 ± 0,61	2,64 ± 0,05	1,63 ± 0,03	2,91 ± 0,06	1,94 ± 0,04
50 % етанол	26,82 ± 0,96	4,52 ± 0,09	5,06 ± 0,10	3,88 ± 0,08	2,59 ± 0,05
70 % етанол	24,01 ± 0,82	3,96 ± 0,08	3,09 ± 0,06	3,32 ± 0,07	2,21 ± 0,05
96 % етанол	20,66 ± 0,42	2,15 ± 0,04	1,35 ± 0,03	3,04 ± 0,06	2,03 ± 0,04

Для визначення якісного складу екстрактів використовували загальноприйняті методи досліджень: якісні реакції, ПХ, ТШХ (розд. 2, п. 8). У водних та спиртових екстрактах листя лохини високорослої були ідентифіковані гідроксикоричні кислоти та флавоноїди. У 96, 80, 60, 40, 30 % підкисленому спиртовому та водному екстрактах із сухого соку та шроту плодів лохини високорослої визначили антоціани.

Для подальшого виявлення оптимального екстрагенту в одержаних екстрактах проводили визначення кількісного вмісту основних груп БАР: фенологлікозидів (розд. 2, п. 10.1), гідроксикоричних кислот (розд. 2, п. 10.2), флавоноїдів (розд. 2, п. 10.3), антоціанів (розд. 2, п. 10.5). Для статистичної достовірності досліди проводили не менше п'яти разів. Результати кількісного визначення основних груп БАР наведені в табл. 4.2-4.4.

За виходом сухих екстрактів листя лохини високорослої та вміст різних груп фенольних сполук встановлено, що 50 та 70 % спирт етиловий є оптимальним екстрагентом для одержання екстрактів, багатих на фенольні сполуки з листя лохини високорослої (табл. 4.5), а враховуючи економічний чинник, у подальшому для одержання екстрактів використовували 50 % етанол. Для отримання сухих екстрактів з плодів, шроту та соку лохини високорослої (табл. 4.2-4.4) визначили, що оптимальним екстрагентом є 1 % розчин HCl у 60 % спирті етиловому.

## 4.2 Розроблення технологічних схем одержання екстрактів

Ефективність екстракції оцінювали за результатами кількісного визначення флавоноїдів, гідроксикоричних кислот та суми поліфенольних сполук (розд. 4, п. 4.1). Саме 50 % етанолом забезпечується оптимальна екстракція комплексу фенольних сполук із сировини, які зумовлюють фармакологічну дію [25, 37, 42].

Шляхом експериментальних досліджень визначили оптимальне співвідношення листя та плодів лохини високорослої й екстрагенту – 1:10 (без урахуванням коефіцієнта поглинання екстрагенту). Наведене

співвідношення є оптимальним і в технологічному плані з погляду одержання екстрактів у промислових умовах та раціонального використання спирту.

*Сухий екстракт листя лохини високорослої*

Для одержання сухого екстракту з листя лохини високорослої 166,0 г листя лохини високорослої, подрібненого до розміру частинок 1-2 мм, поміщали у колбу, яку заливали 2935,0 мл 50% етанолу, екстрагували протягом доби за кімнатної температури. Екстракцію повторювали тричі з новими порціями екстрагенту по 1,0 л. Одержані витяжки об'єднували, відстоювали за кімнатної температури протягом доби та відфільтровували кріз лійку Бюхнера. Фільтрат упарювали за допомогою ротаційного вакуум-випарного апарата Heidolph 2 WBeCo, Laborata 400 efficient (Німеччина) до сухого екстракту коричнево-жовтого кольору (Екстракт-1, під умовною назвою «Вацінол»). Вихід сухого екстракту становив – 30-34 %. Схема технологічного процесу отримання сухого екстракту з листя лохини високорослої зображена на рис. 4.1.

Новизна розробленого екстракту з листя лохини високорослої підтверджена патентом України на корисну модель № 145107 [46].

*Сухий екстракт листя лохини високорослої, модифікований аргініном*

Модифікація БАР шляхом їх кон'югації з амінокислотами є відомою стратегією модифікації їх біологічних властивостей – це підхід, який уже використовувався для ізольованих молекул, а також їх сумішей, таких, як фракції або екстракти рослин. Наприклад, синтетичний препарат Valtrex був створений шляхом поєднання ацикловіру з амінокислотою валін [122]. За допомогою модифікації  $\beta$ -есцину (суміші тритерпенових сапонінів кінського каштана) з амінокислотою L-лізин отримали препарат, відомий як L-лізину есцинат, який є одним з основних ліків для лікування та профілактики інсультів і порушень периферичного кровообігу у Східній Європі [122, 147].

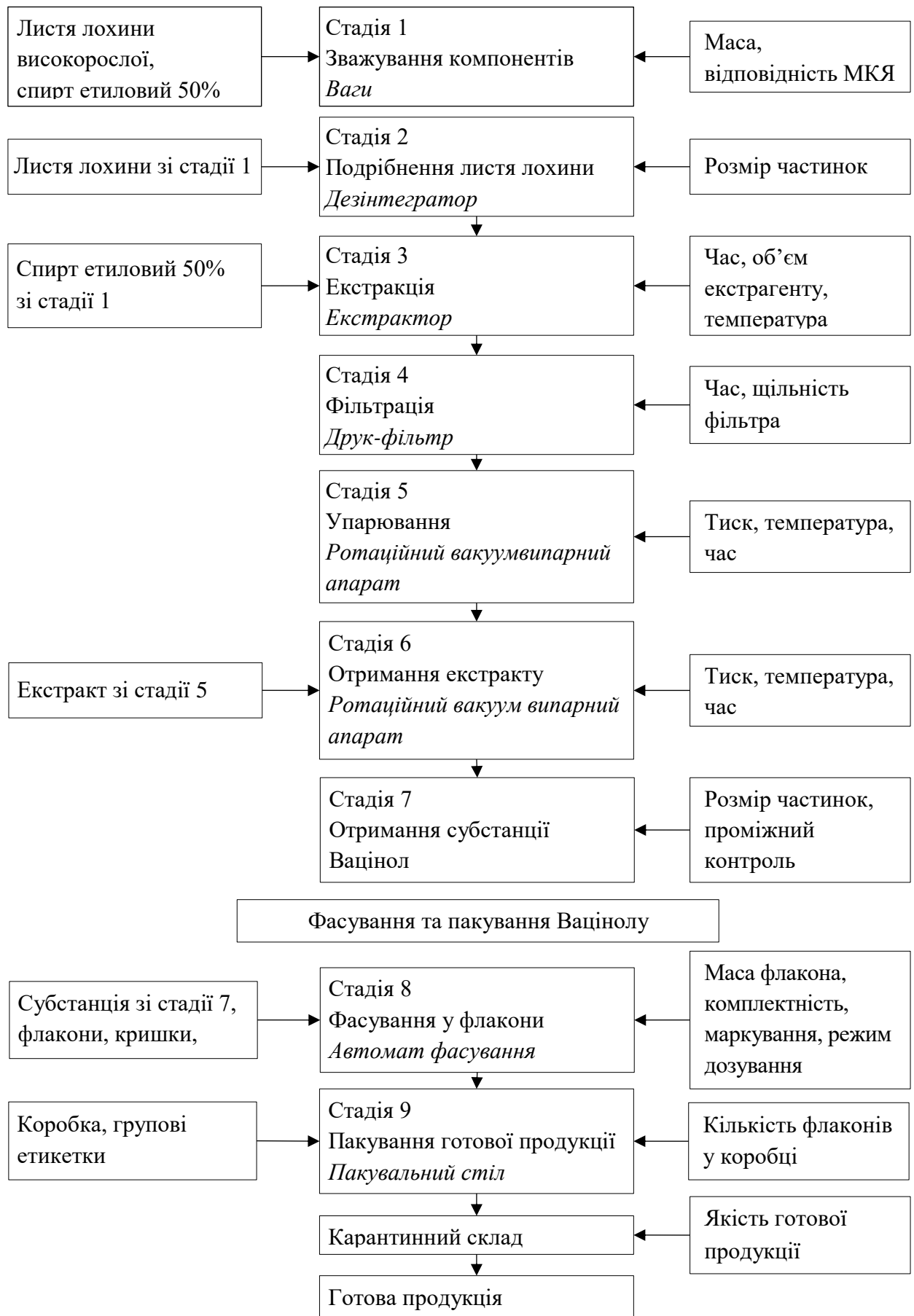


Рис. 4.1 Схема одержання сухого екстракту з листя лохини високорослої під умовною назвою «Вацінол»



Було цікаво, чи може такий підхід до модифікації загального екстракту рослин поліпшити його біологічні властивості. Раніше було доведено, що за допомогою модифікації настоянки *Leonurus cardiaca L.* амінокислотами були створені нові засоби з вищою анксиолітичною активністю [118]. Модифікація екстракту листя чорниці з аргініном дозволила створити речовину з вираженою гіпоглікемічною та гіполіпідемічною активністю [117]. Модифікація екстракту листя мучниці з фенілаланіном дозволила створити речовину з вираженою сечогінною та протизапальною дією [79]. Все це свідчить про життєздатність обраного напрямку.

Аргінін відіграє вирішальну роль у патогенезі цукрового діабету крізь його активність проти дисфункції ендотелію судин. Ключовим фактором, що регулює тонус судинного ендотелію, є найважливіший фізіологічний вазодилататор – оксид нітрогену. Цей медіатор утворюється з аргініну під дією  $\text{Ca}^{2+}$ -залежного ферменту ендотеліальної NO-синтази (eNOS) [68, 200]. Тому аргінін було обрано як модифікувальний агент.

У результаті отримали комплекс БАР з L-аргініном на основі сухого екстракту листя лохини високорослої «Вацінол».

L-Аргінін (52 г – 0,3 моль) додавали у триразовій еквімолярній кількості до фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту до отриманого екстракту лохини високорослої «Вацінол» (вміст фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту становив 17,01 г (0,1 моль еквівалентів галової кислоти) й отримували екстракти трьома різними способами.

До 5 г отриманого екстракту «Вацінол» додавали аргінін у три кратній еквімолярній кількості по відношенню до загальної суми фенольних сполук, що склало 2,61 г. Суміш змішували у ступці до однорідної маси (Екстракт-2) коричнево-жовтого кольору, подекуду з білими вкраплення аргініну.

5 г отриманого екстракту «Вацінол» розчиняли у 50 мл 50 % етанолу, додавали 15 % розчин оцтової кислоти до рН 4. У колбу з отриманим розчином додавали 2,61 г аргініну, з подальшим нагріванням на водяній бані

зі зворотним холодильником до повного розчинення та залишали для настоювання протягом доби. Після чого розчин упарювали до сухого екстракту за допомогою ротаційного вакуум-випарного апарата (Екстракт-3).

5 г отриманого екстракту «Вацінол» розчиняли у 50 мл 50 % розчину етанолу, додавали лимонну кислоту до рН 5, постійно перемішуючи, нагрівали на водяній бані. У колбу з одержаним розчином додавали 2,61 г аргініну, з подальшим нагріванням на водяній бані зі зворотним холодильником до повного розчинення та залишали для настоювання протягом доби. Після чого розчин упарювали до сухого екстракту за допомогою ротаційного вакуум-випарного апарата (Екстракт-4, під умовною назвою «Лохарин»). Екстракти-3 та -4 були однорідного світло-коричневого кольору. Схема отримання екстрактів лохини високорослої зображена на рис. 4.2.



Рис. 4.2 Схема отримання модифікованих сухих екстрактів листя лохини високорослої

Новизна розроблених оригінальних модифікованих екстрактів листя

лохини високорослої підтверджена патентом України на корисну модель № 145107 [46].

#### *Екстракт плодів лохини високорослої*

Для одержання сухого екстракту з плодів лохини високорослої 180,0 г сухих плодів, подрібнених до розміру частинок 1-2 мм, поміщали у колбу, заливали 2387,0 мл розчином 1% HCl у 60% етанолі, екстрагували протягом доби за кімнатної температури. Екстракцію повторювали тричі з новими порціями екстрагенту по 2,0 л. Одержані витяжки об'єднували, відстоювали та відфільтровували кріз лійку Бюхнера. Фільтрат упарювали за допомогою ротаційного вакуум-випарного апарата Heidolph 2 WBeCo, Laborata 400 efficient (Німеччина) до сухого екстракту темно-червоного кольору (Екстракт-5). Вихід сухого екстракту становив 48,6-50,4 г, або 27-28 %.

### 4.3 Фітохімічне дослідження екстрактів

Для ідентифікації БАР в одержаних екстрактах лохини високорослої використовували методи ПХ і ТШХ хроматографії (розд. 2, п. 8), атомно-емісійний спектрографічний (розд. 2, п. 11), ВЕРХ (розділ 2, п. 14, 16, 17) [120].

#### 4.3.1 Мінеральний склад

Вивчення вмісту макро- та мікроелементів екстрактів з листя лохини високорослої має значення для повної оцінки його корисних властивостей, подальшої стандартизації та розроблення проєкту МКЯ, що особливо актуально в умовах незадовільного екологічного стану деяких районів України.

Для вивчення *елементного складу* екстрактів листя та плодів лохини високорослої порівняно із сировиною був використаний атомно-емісійний спектрографічний метод (розд. 2, п. 11). Результати елементного аналізу наведені у табл. 4.6 та 4.7.

Як видно з табл. 4.6, в екстрактах лохини високорослої було виявлено 13 елементів. Спостерігався високий вміст калію, кальцію, мангану, сіліцію, фосфору та магнію.

Таблиця 4.6

## Елементний склад екстрактів лохини високорослої

Зразок	Вміст елементів, мг/100г														
	Fe	Si	P	Al	Mn	Mg	Pb	Ni	Mo	Ca	Cu	Zn	Na	K	Sr
Екстракт-1 «Вацінол»	4,20 ± 0,09	125,07 ± 2,57	97,05 ± 1,99	11,71 ± 0,24	40,02 ± 0,82	250,13 ± 5,13	<0,03	0,07 ± 0,01	<0,03	520,27 ± 10,68	0,16 ± 0,01	3,60 ± 0,07	160,08 ± 3,28	1951,02 ± 40,03	0,45 ± 0,01
Екстракт-2	2,80 ± 0,06	82,04 ± 1,68	64,03 ± 1,31	7,70 ± 0,16	26,31 ± 0,54	164,09 ± 3,37	<0,03	0,04 ± 0,01	<0,03	342,18 ± 7,02	0,11 ± 0,01	2,40 ± 0,05	105,06 ± 2,16	1268,67 ± 26,03	0,30 ± 0,01
Екстракт-3	2,70 ± 0,06	81,04 ± 1,66	63,03 ± 1,29	7,60 ± 0,16	26,01 ± 0,53	163,09 ± 3,35	<0,03	0,04 ± 0,01	<0,03	338,18 ± 6,94	0,10 ± 0,01	2,30 ± 0,05	104,05 ± 2,14	1268,67 ± 26,03	0,29 ± 0,01
Екстракт-4 «Лохарин»	2,70 ± 0,06	81,04 ± 1,66	63,03 ± 1,29	7,60 ± 0,16	26,01 ± 0,53	162,09 ± 3,33	<0,03	0,04 ± 0,01	<0,03	338,18 ± 6,94	0,10 ± 0,01	2,30 ± 0,05	104,05 ± 2,14	1267,66 ± 26,01	0,29 ± 0,01
Екстракт-5	2,80 ± 0,06	40,02 ± 0,82	58,03 ± 1,19	6,10 ± 0,13	4,00 ± 0,08	132,47 ± 2,72	<0,03	0,25 ± 0,01	<0,03	231,12 ± 4,74	0,21 ± 0,01	2,10 ± 0,04	218,11 ± 4,48	1015,53 ± 20,84	0,26 ± 0,01

Після екстракції 50 % спиртом сумарний вміст елементів збільшився порівняно із сировиною у 2,3 рази (табл. 4.7), але збільшення було не пропорціональним за макро- та мікроелементами. За результатами досліджень (табл. 4.6, 3.4) вміст натрію в екстракті лохини збільшилось у 7,3 разів порівняно з листям, також майже у 2,85-2,94 рази збільшився вміст магнію, мангану, фосфору та кальцію. Вміст елементів у всіх модифікованих екстрактах лохини з аргініном був однаковий та коливався в межах статистичної похибки, а сумарна кількість елементів у 100 г була менше ніж у екстракті листя лохини, на 35% за рахунок додавання аргініну.

Таблиця 4.7

**Сума елементного складу та зольність плодів, листя та екстрактів  
лохини високорослої**

Зразок	Сума елементів, г/100г	Вміст золи, %
Листя лохини	1,39 ± 0,03	3,17 ± 0,03
Вацінол	3,16 ± 0,06	6,71 ± 0,05
Екстракт-2	2,07 ± 0,04	5,73 ± 0,08
Екстракт-3	2,06 ± 0,04	5,45 ± 0,03
Лохарин	2,06 ± 0,04	5,59 ± 0,07
Плоди лохини	0,72 ± 0,01	1,48 ± 0,04
Екстракт-5	1,71 ± 0,04	5,30 ± 0,02

Крім того, в листі та екстрактах лохини високорослої в межах можливостей цього методу, не виявлено арсен, ртуть, кобальт, кадмій та свинець. Це актуально у зв'язку із впливом техногенних факторів на навколишнє середовище і для розроблення проєктів МКЯ на листя та екстракти лохини високорослої.

#### 4.3.2 Амінокислотний склад

Амінокислоти в екстрактах лохини високорослої здатні утворювати кон'югати, солі та комплекси з фенольними сполуками, що змінює їх фізико-

хімічні властивості та сумарну фармакологічну активність. Тому доцільно було вивчити, які саме амінокислоти містяться в сухих екстрактах з листя та плодів лохини високорослої [20, 26, 102].

Якісний склад та кількісний вміст вільних амінокислот в екстрактах з листя та плодів лохини вивчали методом ВЕРХ (розд. 2, п. 14) з використанням амінокислот (кваліфікації ч.д.а): гліцину, аланіну, серину, валіну, треоніну, метіоніну, гістидину, фенілаланіну, аргініну, триптофану [31, 108, 114]. В одержаних екстрактах з листя та плодів лохини високорослої методом ВЕРХ було виявлено 7 амінокислот (табл. 4.8), з них 3 незамінні: аргінін, гістидин та фенілаланін.

Таблиця 4.8

**Амінокислоти екстрактів з листя та плодів лохини високорослої**

Амінокислота	Вацінол	Екстракт-2	Екстракт-3	Лохарин	Екстракт-5
Гліцин	1,02 ± 0,03	0,63 ± 0,06	0,67 ± 0,06	0,81 ± 0,04	2,51 ± 0,05
Аланін	0,66 ± 0,03	0,66 ± 0,03	0,66 ± 0,03	0,65 ± 0,02	2,20 ± 0,05
Серин	1,50 ± 0,04	0,98 ± 0,07	0,93 ± 0,04	0,95 ± 0,06	2,39 ± 0,05
Валін	0,53 ± 0,04	0,33 ± 0,05	0,35 ± 0,02	0,34 ± 0,03	1,90 ± 0,04
Гістидин	0,22 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,80 ± 0,02
Фенілаланін	0,33 ± 0,04	0,23 ± 0,02	0,19 ± 0,01	0,21 ± 0,03	1,86 ± 0,04
Аргінін	1,16 ± 0,04	35,09 ± 1,18	32,1 ± 0,95	31,82 ± 0,76	3,83 ± 0,08

Домінантними амінокислотами в екстракті «Вацінол» були гліцин, серин та аргінін. У зв'язку з тим, що для одержання Екстрактів-2, -3 та екстракту «Лохарин» додавався аргінін у значній кількості, його вміст підвищувався, однак не пропорційно: у разі механічного змішування пропорція зберігалась, але в разі додавання кількість вільного аргініну в розчині була нижче за додану, що можна пояснити утворенням кон'югатів аргініну з іншими БАР екстрактів. При цьому співвідношення інших амінокислот також змінювалось.

### 4.3.3 Фенольні сполуки

У результаті попереднього вивчення БАР у сухих екстрактах з листя лохини високорослої методами ПХ та ТШХ у системах органічних розчинників: № 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 та 10 [32], з достовірними зразками було встановлено наявність таких груп БАР: фенолкарбонові кислоти (галова кислоти), похідні гідроксикоричних кислот, зокрема кофейної, хлорогенової, і флавоноїди рутин і кемпферол-3-О-глюкозиду [121].

Цю групу речовин виявляли за флуоресценцією в УФ-світлі до і після обробки хроматограм реактивами В, Г, Д, Е, З, і Л (розд. 2, п. 8). Установлено, що в екстрактах з листя лохини високорослої міститься не менше 5 сполук флавоноїдної природи.

Кількісне визначення вмісту основних груп фенольних сполук (загальних поліфенолів, флавоноїдів та гідроксикоричних кислот) в екстрактах з листя та плодів лохини високорослої проводили методом спектрофотометрії за фармакопейними методами (табл. 4.9).

Таблиця 4.9

#### Кількісний вміст фенольних сполук в екстрактах лохини високорослої.

##### Спектрофотометричний метод, ( $M \pm m$ , $n = 5$ )

Група БАР	Кількісний вміст екстракту, %				
	Вацінол	Екстракт-2	Екстракт-3	Лохарин	Екстракт-5
Похідні гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту	10,05 ± 0,21	6,61 ± 0,14	6,30 ± 0,13	6,57 ± 0,13	6,41 ± 0,13
Флавоноїди у перерахунку на рутин	6,84 ± 0,14	4,49 ± 0,09	4,00 ± 0,08	4,45 ± 0,09	4,75 ± 0,10
Фенольні сполуки у перерахунку на пірогалол	20,31 ± 0,42	13,34 ± 0,27	13,08 ± 0,27	13,20 ± 0,27	14,97 ± 0,31



В одержаних екстрактах з листя та плодів лохини високорослої методом спектрофотометрії було визначено кількісний вміст основних груп БАР за методиками ДФУ (табл. 4.9). Вміст фенольних сполук під час кількісного визначення коливався в усіх екстрактах лохини. Так, в Екстракті-5 вміст основних груп БАР був менший, ніж в екстракті «Вацінол»: для гідроксикоричних кислот – на 36 %, флавоноїдів – на 30 %, фенольних сполук – на 26 %, що вказує на перспективність екстракту «Вацінол». У всіх випадках додавання L-аргініну до сухого екстракту «Вацінол» приводило до зменшення кількості кожної групи фенольних сполук [90, 149, 179]. Екстракти «Вацінол» та «Лохарин» показали вищий вміст флавоноїдів ( $6,84 \pm 0,14$  % та  $4,45 \pm 0,09$  % відповідно), загальний вміст фенолів становив  $20,31 \pm 0,42$  % для екстракту «Вацінол» і  $13,20 \pm 0,27$  % для екстракту «Лохарин». Обидва екстракти показали меншу загальну кількість фенольних сполук порівняно з аналогічними препаратами, отриманими раніше з різних плодів родини *Ericaceae* [100, 157].

Оскільки спектрофотометричні методи аналізу доступніші, легші у виконанні і легко відтворюються, вони є більш зручними та доцільними для розроблення методів стандартизації екстрактів. Результати аналізу показали, ту саму тенденцію, що і ВЕРХ аналіз стосовно вмісту основних груп БАР в одержаних екстрактах, тому вони будуть використані для розроблення нормативної документації на екстракти. Визначення якісного складу та кількісного вмісту фенольних сполук в об'єктах дослідження проводили методом ВЕРХ (табл. 4.10).

Таблиця 4.10

#### Фенольні сполуки екстрактів лохини високорослої

Сполука	Час утримування, хв.	Вміст в екстракті, мг/100 г				
		Вацінол	Екстракт-2	Екстракт-3	Лохарин	Екстракт-5
1	2	3	4	5	6	7
Хлорогенова кислота	13.14	1217,8 $\pm 24,99$	799,52 $\pm 16,41$	719,57 $\pm 14,77$	759,49 $\pm 15,58$	2442,04 $\pm 50,11$

Кофейна кислота	17.22	3126,3 ± 64,15	2052,41 ± 42,11	1847,17 ± 37,90	1949,65 ± 40,01	1227,00 ± 25,18
--------------------	-------	-------------------	--------------------	--------------------	--------------------	--------------------

*Продовж. табл. 4.10*

1	2	3	4	5	6	7
Рутин	19.70	475,1 ± 9,75	311,92 ± 6,40	280,74 ± 5,76	296,31 ± 6,08	465,91 ± 9,56
Кверцетин-3- О-глюкозид	21.17	2294,9 ± 47,09	1507,84 ± 30,94	1357,05 ± 27,85	1432,35 ± 29,39	2963,87 ± 60,82
Кемпферол-3- О-глюкозид	22.82	1137,3 ± 23,34	746,66 ± 15,32	672,00 ± 13,79	709,28 ± 14,55	1115,27 ± 22,88
Кверцетин	23.27	889,1 ± 18,24	583,68 ± 11,98	525,31 ± 10,78	554,45 ± 11,38	566,87 ± 11,63
Кемпферол	25.18	206,8 ± 4,24	135,80 ± 2,79	122,21 ± 2,51	129,00 ± 2,65	202,84 ± 4,16
Сума		9347,4 ± 191,80	6137,83 ± 125,94	5524,05 ± 113,35	5830,54 ± 119,64	8983,81 ± 184,34

У результаті дослідження методом ВЕРХ в екстрактах з листя та плодів лохини високорослої було виявлено 7 фенольних сполук (табл. 4.10): 5 флавоноїдів – рутин, кверцетин-3-О-глюкозид, кемпферол-3-О-глюкозид, кверцетин та кемпферол, і 2 гідроксикоричні кислоти – хлорогенова та кофейна. З-поміж гідроксикоричних кислот домінантною для екстракту «Вацінол» була кофейна кислота ( $3126,3 \pm 64,15$  мг/100 г), вміст якої був у 2,6 рази більший за вміст хлорогенової кислоти, з-поміж флавоноїдів – кверцетин-3-О-глюкозид ( $2294,9 \pm 47,09$  мг/100 г) та кемпферол-3-О-глюкозид ( $1137,3 \pm 23,34$  мг/100 г). Ця тенденція характерна і для екстрактів листя лохини високорослої, модифікованих аргініном. Сумарний вміст фенольних сполук в екстракті «Лохарин» ( $5830,54 \pm 119,64$  мг/100 г) в 1,1 разу менше, ніж в Екстракті-2 ( $6137,83 \pm 125,94$  мг/100 г) та в 1,7 разу менше, ніж в екстракті «Вацінол» ( $9347,4 \pm 191,80$  мг/100 г), що свідчить про хімічну взаємодію фенольних сполук екстракту листя лохини високорослої та L-аргініну. Вміст фенольних сполук в Екстракті-5 ( $8983,81 \pm 184,34$  мг/100 г) з плодів лохини високорослої

був на 3,9 % менше, ніж в екстракті «Вацінол». З-поміж гідроксикоричних кислот домінантною була хлорогенова кислота ( $2442,04 \pm 50,11$  мг/100 г), вміст якої був у 2 рази більший, ніж вміст кофейної кислоти; з-поміж флавоноїдів – кверцетин-3-О-глюкозид ( $2963,87 \pm 60,82$  мг/100 г) та кемпферол-3-О-глюкозид ( $1115,27 \pm 22,88$  мг/100 г).

#### 4.4 Фармакологічна активність екстрактів з листя лохини високорослої

Дослідження проводилось відповідно до основних принципів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації і схвалено Комітетом з етики Національного фармацевтичного університету (протокол № 3 від 10.09.2020 р.); а також відповідно до міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей [173].

##### 4.4.1 Визначення антимікробної активності

Вивчення антибактеріальної активності досліджуваних екстрактів проводили за методом дифузії в агар шляхом вимірювання зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки з розчином екстракту [41]. Критерії ефективності досліджуваних речовин: відсутність зон затримки росту мікроорганізмів та зони затримки росту до 10 мм – мікроорганізм не чутливий до досліджуваної речовини, що внесена у лунку; зони затримки росту діаметром 10-15 мм – мала чутливість культури до досліджуваної речовини; зони затримки росту діаметром 15 -25 мм – наявність достатньої чутливості мікроорганізму до речовини, що вивчається. Дослідження *антибактеріальної активності* екстрактів лохини високорослої проводили за методом дифузії в агар, на базі Інституту мікробіології та імунології ім. І. І. Мечнікова під керівництвом к.б.н., ст.н.с. Т. П. Осолодченко. Відповідно до рекомендацій ВООЗ для оцінки активності екстракту використовували референс-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 та *Candida albicans* ATCC 885/653. Для

дослідження використовували 1% водні та спиртові розчини екстрактів листя і плодів лохини високорослої (табл. 4.11).

Таблиця 4.11

## Антимікробна активність водних розчинів екстрактів лохини високорослої

Мікроорганізм	Діаметр зони затримки росту, мм													
	контроль	препарат порівняння			водний розчин екстракту					спиртовий розчин екстракту				
		Уромакс	Інурек	Фурамаг	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Ріст	Ріст	17,34 ± 0,35	25,25 ± 0,51	17,22 ± 0,35	Ріст	Ріст	Ріст	16,25 ± 0,33	Ріст	Ріст	Ріст	12,25 ± 0,25	15,34 ± 0,31
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Ріст	Ріст	17,25 ± 0,35	22,34 ± 0,45	17,34 ± 0,35	15 ± 0,31	Ріст	Ріст	15,51 ± 0,31	Ріст	Ріст	Ріст	Ріст	16,35 ± 0,33
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	Ріст	Ріст	15,55 ± 0,31	23,25 ± 0,47	14,51 ± 0,29	Ріст	Ріст	Ріст	Ріст					
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	Ріст	Ріст	18,54 ± 0,37	26,52 ± 0,53	18,34 ± 0,37	Ріст	Ріст	Ріст	19,25 ± 0,39	Ріст	Ріст	Ріст	Ріст	19,51 ± 0,39
<i>Pr. vulgaris</i> ATCC 4636	Ріст	Ріст	Ріст	Ріст	13,34 ± 0,27	Ріст	Ріст	Ріст	19,51 ± 0,39	Ріст	Ріст	Ріст	17,24 ± 0,35	19,34 ± 0,39
<i>C. albicans</i> ATCC 885/653	Ріст	Ріст	Ріст	Ріст	14,52 ± 0,29	Ріст	Ріст	Ріст	Ріст	Ріст	Ріст	Ріст	Ріст	Ріст

Як препарати порівняння використовували Інурек та Уромакс на основі екстрактів плодів журавлини,; Фурамаг (містить фуразідин калію) – протимікробний засіб широкого спектра дії, що належить до групи нітрофуранів і є синтетичним препаратом [30, 47].

У результаті проведених досліджень (табл. 4.11) встановлено, що екстракт листя лохини високорослої без додавання аргініну має здатність затримувати ріст мікроорганізмів і виявляє бактеріостатичну дію по відношенню до *P. aeruginosa*, *E. coli*, *St. aureus* на рівні препарату порівняння Інурек, а також затримує ріст *Pr. vulgaris* та *C. albicans*. Після додавання аргініну антимікробну активність не виявляє жоден модифікований екстракт листя лохини, як і препарат порівняння Уромакс. У разі додавання аргініну, який вступає у взаємодію з фенольними сполуками, екстракти лохини знижують антимікробну активність.

За результатами проведеного експерименту було з'ясовано, що найбільшу антибактеріальну активність виявив екстракт плодів *V. corymbosum*: як водний, так і спиртовий розчини виявили помірну антибактеріальну активність щодо штамів *St. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *Pr. vulgaris*. Водний розчин екстракту «Вацінол» з листя лохини високорослої мав помірну антибактеріальну дію щодо усіх досліджуваних штамів, тоді як тільки спиртовий розчин екстракту «Лохарин» з листя лохини високорослої мав помірну чутливість до *S. aureus* та *Pr. vulgaris*. Достатньої затримки росту мікроорганізмів під дією інших досліджуваних екстрактів, а також контрольних розчинів встановлено не було. За підсумками проведеного експерименту можна говорити про помірну антибактеріальну активність окремих досліджуваних екстрактів до найбільш поширених інфекційних збудників. Ця фармакологічна властивість екстрактів *V. corymbosum* має значення для визначення мікробіологічної чистоти субстанцій.

#### 4.4.2 Визначення протизапальної активності

##### *Вивчення in vivo на моделі карагенінового набряку*

Вивчення протизапальної активності екстрактів лохини високорослої (розд. 2, п. 19) було проведено на базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом проф. І. В. Кіреєва. Експериментальна робота проводилася в обсязі простого фармакологічного скринінгу. Тварини були стандартизовані за фізіологічними та біохімічними параметрами і перебували в умовах віварію відповідно до санітарно-гігієнічних норм на стандартному раціоні.

Дослідження протизапальної активності екстрактів лохини високорослої проводили відповідно до методичних рекомендацій «Доклінічні дослідження лікарських засобів» [173].

Отримані результати експериментальних досліджень протизапальної активності екстрактів лохини на моделі карагенінового набряку задньої кінцівки у щурів наведені в табл. 4.12.

Альтерація є першою фазою запального процесу, запускає весь каскад запалення, зумовлюючи деструктивні зміни в ураженій тканині [96]. Саме тому пригнічення запалення на стадії його ініціації є важливою складовою успіху протизапальної терапії.

Модель карагенінового набряку є однією з фармакологічних моделей для оцінки протизапальної активності субстанцій та лікарських препаратів. Саме ця модель була використана у проведених фармакологічних дослідженнях щурів [173].

Уперше досліджено протизапальну дію екстрактів з листя лохини високорослої (табл. 4.12). Виявлено, що найбільшу протизапальну активність мають екстракт «Вацінол» у дозі 50 мг/кг та екстракт «Лохарин», модифікований з аргініном, у дозі 25 мг/кг.

Таблиця 4.12

## Результати розвитку запалення задньої кінцівки у щурів на моделі карагенінового набряку

Група тварин	Доза, мг/кг	Об'єм кінцівки, у.од.					Протизапальна активність, %			
		вихідний	1 год	2 год	3 год	4 год	1 год	2 год	3 год	4 год
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Контрольна патологія		42,5 ± 1,47	57,5 ± 1,47	57,5 ± 1,47	62,5 ± 1,47	59,5 ± 1,47				
Диклофенак натрію	8	36 ± 0,98	46 ± 0,98	41 ± 0,98	47 ± 0,98	37 ± 0,98	33 ± 0,68	67 ± 1,38	45 ± 0,92	94 ± 1,93
Екстракт-1	15	35,5 ± 1,47	45,5 ± 4,42	47,5 ± 4,42	46,5 ± 4,42	44 ± 6,88	33 ± 0,68	20 ± 0,41	45 ± 0,92	50 ± 1,03
	25	36 ± 2,95	44,5 ± 0,49	45,5 ± 1,47	46,5 ± 4,42	48,5 ± 5,41	43 ± 0,88	37 ± 0,76	48 ± 0,99	26 ± 0,53
	50	36,5 ± 2,46	43 ± 2,95	41,5 ± 1,47	41,5 ± 1,47	41 ± 0,98	57 ± 1,17	67 ± 1,38	75 ± 1,54	74 ± 1,52
	75	33 ± 0,98	50,5 ± 1,47	50,5 ± 4,42	53,5 ± 5,41	48 ± 2,95	17 ± 0,35	17 ± 0,35	2 ± 0,04	12 ± 0,25
	100	36 ± 0,98	49 ± 4,91	49,5 ± 4,42	50,5 ± 0,49	49,5 ± 0,49	13 ± 0,27	10 ± 0,21	28 ± 0,57	21 ± 0,43
Екстракт-2	15	37,5 ± 3,44	45,5 ± 4,42	44,5 ± 5,41	47 ± 4,91	46,5 ± 5,41	47 ± 0,96	53 ± 1,09	53 ± 1,09	47 ± 0,96
	25	34 ± 0,98	45 ± 4,91	41,5 ± 2,46	44 ± 1,97	46 ± 0,98	27 ± 0,55	50 ± 1,03	50 ± 1,03	29 ± 0,60
	50	33 ± 0,98	43 ± 2,95	41,5 ± 1,47	43,5 ± 0,49	43,5 ± 2,46	33 ± 0,68	43 ± 0,88	48 ± 0,99	38 ± 0,78
	75	35,5 ± 4,42	44 ± 0,98	45 ± 0,98	47,5 ± 2,46	42 ± 0,98	43 ± 0,88	37 ± 0,76	40 ± 0,82	62 ± 1,27
	100	36 ± 0,98	44,5 ± 0,49	46 ± 0,98	53 ± 0,98	46 ± 0,98	43 ± 0,88	33 ± 0,68	15 ± 0,31	41 ± 0,84
Екстракт-3	15	24,5 ± 2,46	36 ± 0,98	34 ± 0,98	30,5 ± 1,47	32 ± 1,97	23 ± 0,47	37 ± 0,76	70 ± 1,44	56 ± 1,15
	25	26 ± 0,98	37,5 ± 1,47	35 ± 2,95	33 ± 0,98	34 ± 1,97	23 ± 0,47	40 ± 0,82	65 ± 1,33	53 ± 1,09
	50	27,5 ± 2,46	39,5 ± 0,49	37 ± 0,98	37,5 ± 0,49	32,5 ± 0,49	20 ± 0,41	37 ± 0,76	50 ± 1,03	71 ± 1,46



Продовж. табл. 4.12

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	75	28 ± 0,98	36 ± 0,98	33 ± 0,98	31,5 ± 0,49	30,5 ± 1,47	47 ± 0,96	67 ± 1,38	83 ± 1,70	85 ± 1,75
	100	24 ± 1,97	39 ± 1,97	37 ± 3,93	35,5 ± 0,49	35 ± 0,98	0 ± 0,00	13 ± 0,27	43 ± 0,88	35 ± 0,72
Екстракт-4	15	29,5 ± 3,44	39 ± 2,95	37 ± 2,95	36 ± 0,98	33 ± 1,97	37 ± 0,76	50 ± 1,03	68 ± 1,40	79 ± 1,62
	25	26 ± 0,98	35 ± 0,98	36,5 ± 0,49	32,5 ± 1,47	27,5 ± 0,49	40 ± 0,82	30 ± 0,62	68 ± 1,40	91 ± 1,87
	50	25 ± 0,98	34,5 ± 0,49	36 ± 0,98	34 ± 0,98	32 ± 0,98	37 ± 0,76	27 ± 0,55	55 ± 1,13	59 ± 1,21
	75	30 ± 0,98	40 ± 2,95	39 ± 1,97	38 ± 0,98	36 ± 0,98	33 ± 0,68	40 ± 0,82	60 ± 1,23	65 ± 1,33
	100	25 ± 1,97	38 ± 0,98	38 ± 0,98	32,5 ± 1,47	29,5 ± 1,47	13 ± 0,27	13 ± 0,27	63 ± 1,29	74 ± 1,52
Екстракт-5	15	35,5 ± 0,49	40,5 ± 0,49	45,5 ± 0,49	46,5 ± 1,47	50,5 ± 6,39	67 ± 1,38	33 ± 0,68	45 ± 0,92	12 ± 0,25
	25	35,5 ± 2,46	40 ± 2,95	43,5 ± 3,44	47,5 ± 0,49	40,5 ± 0,49	70 ± 1,44	47 ± 0,96	40 ± 0,82	71 ± 1,46
	50	36,5 ± 0,49	41 ± 1,97	46 ± 1,97	52 ± 3,93	46 ± 6,88	70 ± 1,44	37 ± 0,76	23 ± 0,47	44 ± 0,90
	75	34,5 ± 0,49	49 ± 0,98	46 ± 4,91	50,5 ± 1,47	48 ± 2,95	3 ± 0,06	23 ± 0,47	20 ± 0,41	21 ± 0,43
	100	39 ± 1,97	45,5 ± 1,47	48,5 ± 1,47	49 ± 2,95	47 ± 4,91	57 ± 1,17	37 ± 0,76	50 ± 1,03	53 ± 1,09
Аргінін	15	42 ± 1,97	48 ± 2,95	60 ± 9,83	59,5 ± 9,34	60,5 ± 10,32	60 ± 1,23	-20 ± 0,41	13 ± 0,27	-9 ± 0,18
	25	39,5 ± 0,49	44 ± 1,97	47 ± 2,95	49 ± 1,97	54,5 ± 4,42	70 ± 1,44	50 ± 1,03	53 ± 1,09	12 ± 0,25
	50	36 ± 0,98	49,5 ± 2,46	55 ± 0,98	64 ± 0,98	62 ± 0,98	10 ± 0,21	-27 ± 0,55	-40 ± 0,82	-53 ± 1,09
	75	41 ± 0,98	50,5 ± 5,41	51 ± 0,98	67,5 ± 2,46	63,5 ± 3,44	37 ± 0,76	33 ± 0,68	-33 ± 0,68	-32 ± 0,66
	100	35 ± 0,98	46 ± 0,98	52,5 ± 2,46	57 ± 1,97	61,5 ± 8,35	27 ± 0,55	-17 ± 0,35	-10 ± 0,21	-56 ± 1,15

Примітка:  $p < 0,05$ , у порівнянні з контрольною патологією.

Вплив чистого аргініну на альтерацію був незначний і, навпаки, у дозах 50 та 100 мг/кг викликав збільшення набряку, тоді як екстракти з листя лохини високорослої виявляли протизапальну дію.

У складі екстракту «Лохарин» наявний аргінін, що додався під час одержання, тому в ефективній дозі 25 мг/кг вміст БАР з листя лохини високорослої складає лише 16,7 мг/кг, тоді як без аргініну ці БАР ефективні у дозі 50 мг/кг, що свідчить про потенціювання дії фенольних сполук лохини високорослої аргініном. При цьому така доза (16,7 мг/кг) дозволяє зняти запалення на рівні з препаратом порівняння диклофенаком у дозі 8 мг/кг. Враховуючи побічну дію диклофенаку натрію на організм людини, вважаємо перспективним використання модифікованого екстракту «Лохарин» з листя лохини високорослої для створення нового лікарського засобу.

#### *Оцінка протизапальної активності за допомогою аналізу in vitro*

Вивчення протизапальної активності *in vitro* екстрактів лохини високорослої було проведено за розд. 2, п. 20. Експериментальна робота проводилася в обсязі простого фармакологічного скринінгу. Кров брали у здорових людей-донорів за протоколом, затвердженим наглядовою радою лікарні *Chang Gung Memorial Hospital* (Тайланд). Нейтрофіли виділяли за стандартною процедурою, описаною раніше [74]. Інгібування генерації супероксидних аніонів вимірювали відновленням ферицитохрому С, як описано раніше [195]. Вивільнення еластази, що представляє дегрануляцію з азурофільних гранул, оцінювали, як описано раніше [99]. Експериментальні умови були детально описані раніше [143].

Головною функцією нейтрофілів є сплеск дихання, дегрануляція та утворення позаклітинних мішеней нейтрофілів, які служать першою лінією захисту від патогенних мікроорганізмів і є важливими для підтримки здоров'я людини. Супероксид-аніон є основним радикалом, що виробляється нейтрофілами, тоді як еластаза належить до основних компонентів азурофільних гранул [83], а їх неконтрольована кількість спричиняє низку

гострих та хронічних захворювань, включаючи сепсис, гострий респіраторний дистрес-синдром, пошкодження легенів, артрит або псоріаз [82]. Було доведено, що на ці маркери нейтрофільного запалення впливають кілька рослинних екстрактів [143].

Протизапальна активність екстрактів лохини високорослої проти утворення супероксид-аніону та вивільнення еластази в нейтрофілах людини наведена в табл. 4.13.

Зразки сухих екстрактів «Вацінол» та «Лохарин» розчиняли у ДМСО або воді, Екстракт-2 та -3 не тестували крізь низьку розчинність.

Таблиця 4.13

**Вплив екстрактів на утворення супероксидного аніону та вивільнення еластази у нейтрофілах людини, що викликано fMLP/CB**

Екстракт	Супероксидний аніон			Еластаза	
	IC <sub>50</sub> , мкг/мл	інгібування, %		IC <sub>50</sub> , мкг/мл	інгібування, %
		3 мкг/мл	10 мкг/мл		
Вацінол	3,96 ± 0,21	44,08 ± 1,07	70,39 ± 2,39	–	49,34 ± 3,61
Лохарин	–	–	44,12 ± 1,73	–	13,51 ± 3,93

Примітка. Концентрація, необхідна для 50% інгібування (IC<sub>50</sub>). Результати наведені як середнє значення ± S.E.M. (n = 3); \* – p <0,05, \*\* – p <0,01, \*\*\* – p <0,001 порівняно з контролем (fMLP/CB).

Екстракти лохини високорослої оцінювали за впливом на нейтрофіли людини під час утворення супероксид-аніонів та вивільнення еластази, що спричинено трипептидом *n*-форміл-метіоніл-лейцил-фенілаланін (fMLF), у нейтрофілах людини, ґрунтованих цитохалазину В. Екстракт «Вацінол» чинив сильний вплив на утворення супероксид-аніонів з IC<sub>50</sub> 3,96 мкг/мл (табл. 4.13). Установлено, що екстракт «Вацінол» чинив посилюючий вплив на вивільнення еластази нейтрофілами людини і може виявляти імуностимулювальний ефект, що пов'язано з процесом дегрануляції. Екстракт «Лохарин» мав низьку активність порівняно з екстракт «Вацінол» в

обох дослідженнях. Під час дослідження екстрактів з листя лохини високорослої

*in vitro* на нейтрофілах крові людини активність виявили тільки екстракти «Вацінол» та «Лохарин», тому в подальшому їх і досліджували [176].

#### 4.5 Дослідження фенольних сполук найбільш перспективних екстрактів «Вацінол» та «Лохарин» з листя лохини методом HPLC-DAD-MS

Кількісне визначення виявлених сполук проводили за допомогою режиму негативних іонів мас-спектрометра (розд. 2, п. 18). Були встановлені калібрувальні криві для хлорогенової кислоти (5-О-кофеїлхінова кислота) та кверцетину 3-О-галактозиду (гіперозид). Суміш стандартів готували в концентрації 50 мкг/мл для обох хімічних речовин. Розчин вводили в систему ВЕРХ. За допомогою мас-спектрометра аналіз контролювали для двох наборів характерних сигналів. Для хлорогенової кислоти  $m/z = 353$  та  $707$  і для гіперозиду  $m/z = 463$  та  $927$ , що відповідають  $[M-H]^-$  і  $[2M-H]^-$  відповідно. Калібрувальні криві наносили на графік площі під піком порівняно з кількістю сполуки, що вводиться в колонку, в межах від 25 до 800 нг на ін'єкцію. Отримано такі криві: хлорогенова кислота –  $y = -360.39x^2 + 3133799.32x$ ; гіперозид –  $y = -13387.79 + 8737090.12x$ .  $R^2$  в обох випадках був вище 0,999.

Для кількісного визначення 10,0 мг кожного екстракту («Вацінол» і «Лохарин») розчиняли в 1 мл суміші метанол – вода (1 : 1) у трьох зразках. Одержані зразки фільтрували крізь фільтри PVDF 0,45 мкм і вводили в систему ВЕРХ. Виявлені сполуки класифікували за однією з двох фітохімічних груп (похідні фенольних кислот або флавоноїди) і для кількісного визначення використовували відповідний стандарт (табл. 4.14 і 4.15, рис. 4.3 і 4.4). Кількісну оцінку сполук, що містяться в екстракті «Вацінол», проводили за допомогою MS детектування. Іони, що використовуються для розрахунку вмісту кожної хімічної речовини, наведені у табл. 4.14. Результати свідчать, що екстракт містить значну кількість похідних кофеїлхінової кислоти.

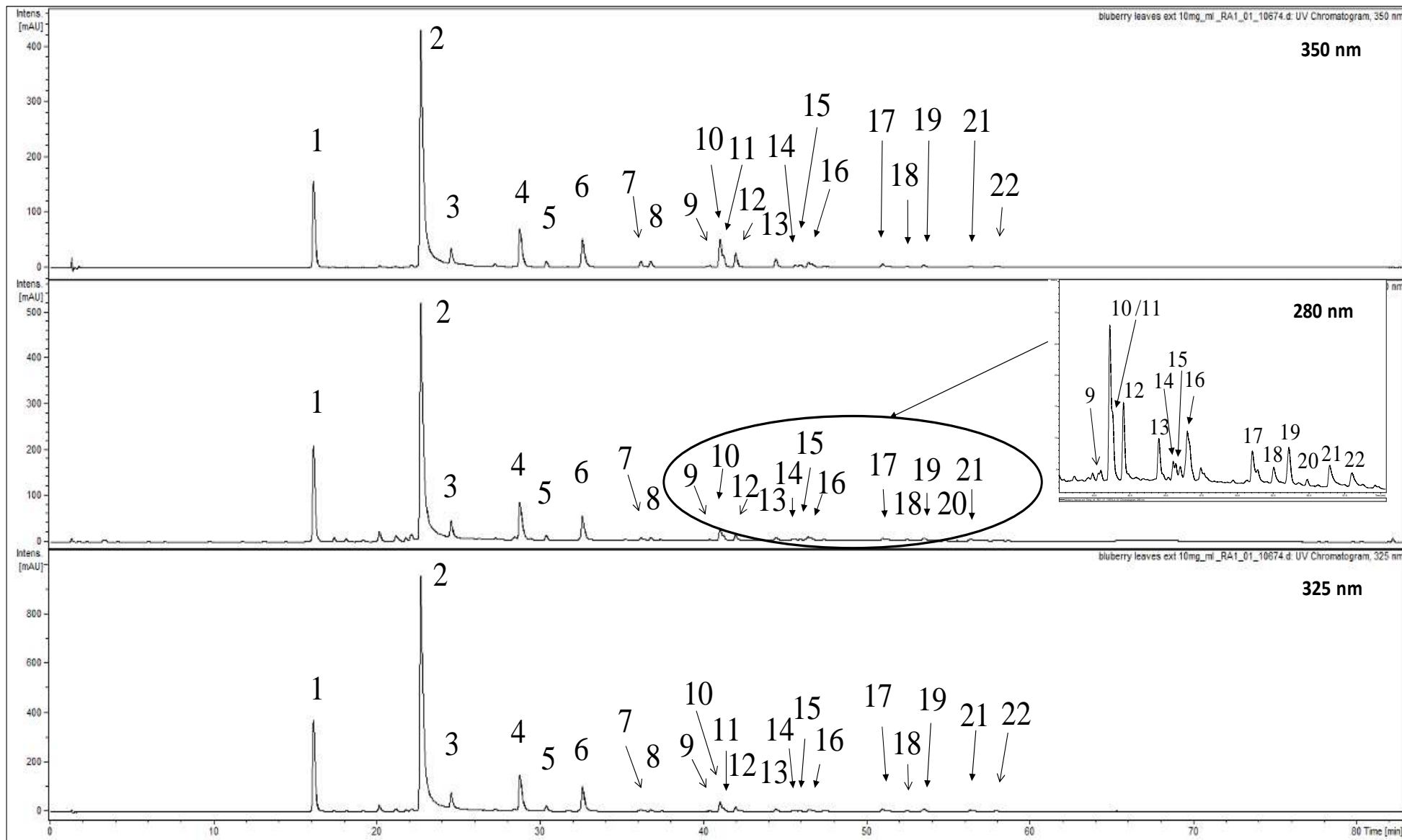


Рис. 4.3 HPLC-DAD-MS хроматограма екстракту «Вацінол» (350, 280 та 325 нм)

Таблиця 4.14.

## Результати дослідження фенольних сполук сухого екстракту листя лохини високорослої «Вацінол»

№	Сполука	Час, хв	УФ- спектр, нм	MS <sup>-</sup> іони	MS <sup>2-</sup> іони	MS <sup>3-</sup> іони	MS <sup>+</sup> іони	MS <sup>2+</sup> іони	MS <sup>3+</sup> іони	Вміст, мкг/мг	Кількісне визначення	
											стандарт	іони
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<b>1</b>	3-О-Кофеїлхінна кислота (неохлорогенова кислота) <sup>s</sup>	16,2	242, 302, 324	353	191 <sup>b</sup> , 179, 135	–	355	163 <sup>b</sup> , 135	–	29,45 ± 0,57	Хлорогенова кислота	353, 707
<b>2</b>	5-О-Кофеїлхінна кислота (хлорогенова кислота) <sup>s</sup>	22,8	242, 300, 325	353	191 <sup>b</sup> , 179, 135	–	355	163	–	136,47 ± 4,26	Хлорогенова кислота	353, 707
<b>3</b>	4-О-Кофеїлхінна кислота (криптохлорогенова кислота)	24,7	300, 324	353	191, 179, 173 <sup>b</sup>	–	355	163	–	6,09 ± 0,17	Хлорогенова кислота	353, 707
<b>4</b>	О-Малоніл-О-кофеїлхінна кислота (ізомер)	28,9	300, 324	439	233, 395 <sup>b</sup> , 353	–	441	423 <sup>b</sup> , 404, 163	–	17,85 ± 0,56	Хлорогенова кислота	439, 879
<b>5</b>	О-Кофеїлшикімова кислота (ізомер)	30,5	300, 326	335	135, 179 <sup>b</sup>	–	337	163	–	2,53 ± 0,07	Хлорогенова кислота	335, 667

Продовж. табл. 4.14

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
6	О-Малоніл-О-кофеїлхінна кислота (ізомер)	32,7	305, 326	439	233, 353, 395 <sup>b</sup>	–	441	163, 193, 244, 396, 423, 645	–	13,07 ± 0,77	Хлорогенова кислота	439, 878
7	Мірицетин-3-О-галактозид <sup>s</sup>	36,3	265, 353	479	179, 316 <sup>b</sup> , 461	–	481	319	165	0,91 ± 0,03	Гіперозид	479, 959
8	Мірицетин-3-О-глюкозид <sup>s</sup>	36,9	265, 353	479	179, 205, 297, 271, 316 <sup>b</sup> , 383, 461	–	481	319	–	1,03 ± 0,02	Гіперозид	479, 959
9	Кверцетин рамногексозид	40,5	264, 353	609	301 <sup>b</sup>	–	611	303 <sup>b</sup> , 345	–	0,41 ± 0,01	Гіперозид	609, 1219
10	Кверцетин-3-О-галактозид (гіперозид) <sup>s</sup>	41,1	254, 262 <sup>sh</sup> , 353	463	301 <sup>b</sup> , 343, 179, 151, 229, 283, 255	–	465	303 <sup>b</sup> , 345	165 <sup>b</sup> , 195, 284	4,29 ± 0,10	Гіперозид	463, 927
11	Кверцетин-3-О-рутинозид (рутин) <sup>s</sup>	41,4	Схил	609	301 <sup>b</sup> , 179, 271, 343,	–	611	465, 303 <sup>b</sup>	447, 303 <sup>b</sup>	1,97 ± 0,05	Гіперозид	609, 1219

					395, 457							
--	--	--	--	--	----------	--	--	--	--	--	--	--

Продовж. табл. 4.14

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
12	Кверцетин-3-О-глюкозид (ізокверцитрин) <sup>s</sup>	42,1	253, 264 <sup>sh</sup> , 353	463	301 <sup>b</sup> , 151, 179, 255, 273, 298, 344	–	465	303	–	2,33 ± 0,04	Гіперозид	463, 927
13	Кверцетин-3-О- арабінозид (авікулірин) <sup>s</sup>	44,5	265, 354	433	301	–	435	303	137, 229 <sup>b</sup> , 257, 285	1,17 ± 0,04	Гіперозид	433, 867
14	Кемпферол-О- рамногексозид	45,8	265, 342	593	199, 257, 284, 327, 486, 565, 286 <sup>b</sup>	–	595	287 <sup>b</sup> , 449	287	0,72 ± 0,01	Гіперозид	593, 1187
15	Кверцетин-О- мамонілгесозид	46,1	264, 353	549	505	–	551	303	–	0,26 ± 0,01	Гіперозид	549, 1099
16	Кемпферол-3-О-глюкозид (астрагалін) <sup>s</sup>	46,5	265, 343	447	284	–	449	287 <sup>b</sup> , 303	137, 191, 229 <sup>b</sup>	0,41 ± 0,01	Гіперозид	447, 895
17	4,5-О-Дикофеїлхінна кислота <sup>s</sup>	51	328, 389	515	173, 203, 255, 299, 351,	135, 173 <sup>b</sup>	517	163, 296,	–	2,80 ± 0,30	Хлорогенова кислота	515, 1031



					353 <sup>b</sup> , 404			499 <sup>b</sup>			
--	--	--	--	--	------------------------	--	--	------------------	--	--	--

Продовж. табл. 4.14

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
18	Мірицетин <i>n</i> -кумароїлгексозид	52,6	274, 281, 319, 321	625	317, 479 <sup>b</sup>	179, 316 <sup>b</sup> , 461	627	309, 319 <sup>b</sup> , 489, 609	–	0,36 ± 0,02	Гіперозид	625, 1251
19	Кофейна кислота, похідна	53,6	296, 324	207	–	–	209	–	–	1,44 ± 0,04	Хлорогенова кислота	207, 415
20	Невизначена фенольна кислота	54,8	281, 335	451	341	–	453	191, 301, 343b, 435	191	0,58 ± 0,02	Хлорогенова кислота	451, 905
21	<i>n</i> -Кумароїл- кофеїлхінна кислота	56,5	287, 315	499	173, 337 <sup>b</sup>	173	501	321, 483b	147,303b	1,17 ± 0,20	Хлорогенова кислота	499, 999
22	Кверцетин <i>n</i> -кумароїлгексозид	58	281, 321	609	463, 301 <sup>b</sup>	–	303	165, 221, 267b, 393, 428, 459	–	0,65 ± 0,02	Гіперозид	609, 301

Примітка: b – пік основи (найбільш поширений іон у записаному спектрі); s м проведено порівняння часу утримування зі стандартом; sh – плече в ультрафіолетовому спектрі.

HPLC-DAD-MS аналіз екстракту «Вацінол», одержаного з листя лохини високорослої, дозволив виявити 22 речовини (рис. 4.3, табл. 4.14). На основі записаних даних сполуки були класифіковані за відповідною фітохімічною групою. У цьому розділі ідентифікацію проводили на основі сигналів MS, що виникають у режимі негативних іонів. Крім того, табл. 4.14 містить дані, записані в режимі позитивних іонів.

Сполуки **1-6**, **17** та **19-21** були попередньо ідентифіковані як похідні та ізомери кофеїлхіної кислоти на основі спостережень максимумів поглинання УФ-спектрів за довжин хвилі 240 і 310-325 нм. Сполуки **1-3** показали псевдомолекулярний іон за  $m/z = 353$ . Фрагментація цього іона привела до базового піку в спектрі  $MS^{2-}$  за  $m/z = 191$  для сполук **1** і **2** та за  $m/z = 173$  для сполуки **3**. На основі порівняння моделей фрагментації з літературними джерелами та порівняння часу утримування з хімічними стандартами сполуки **1-3** були визначені як 3-О-, 5-О- та 4-О-кофеїлхіні кислоти відповідно [84]. Сполуки **4** і **6** демонстрували сигнали за  $m/z = 439$ . Фрагментація цього іона привела до утворення головного піка за  $m/z = 395$ , що відповідає швидкому декарбоксілюванню  $[M-44]^-$ . Крім того, сигнал від залишку кофеїлхіної кислоти спостерігався за  $m/z = 353$ . Після порівняння отриманих даних з літературними джерелами обидві сполуки були віднесені до ізомерів О-малоніл-О-кофеїлхіної кислоти [135]. Однак повне з'ясування структури сполук **4** і **6** було неможливим крізь відсутність хімічних стандартів. Сполука **5** показала піковий іон на основі MS у спектрі за  $m/z = 335$ . Подальша фрагментація привела до отримання основного фрагмента за  $m/z = 179$ , що відповідає залишку кофейної кислоти. Порівняння записаних даних дозволило ідентифікувати сполуку **5** як ізомер О-кофеїлшикімової кислоти, швидше за все, похідне 3-О або 4-О [101]. Сполука **17** виявляла псевдомолекулярний іон при  $m/z = 515$ . Фрагментація привела до появи основного іона за  $m/z = 173$ . Порівняння профілю фрагментації з

літературними джерелами дозволило ідентифікувати сполуку **17** як 4,5-О-дикофеїлхінну кислоту [85]. Сполука **21** з основним піковим іоном за  $m/z = 499$  демонструє структуру фрагментації з основними іонами за  $m/z = 337$  і 173. Крім того, максимум поглинання УФ-спектрів за приблизно 315 нм припускає наявність *n*-кумароїльної частини в структурі сполуки **21**. Порівняння з літературними даними дозволило віднести сполуку **21** до ізомеру *n*-кумароїл-кофеїлхінної кислоти [101]. Під час аналізу дві інші сполуки (**19** та **20**) були попередньо визначені як похідні фенольної кислоти на основі їх УФ-спектрів. Однак аналіз їх спектрів МС не дозволив провести подальше визначення.

Сполуки **7-16**, **18** і **22** були попередньо віднесені до флавоноїдів або їх похідних на основі максимумів поглинання УФ-спектрів, що спостерігаються приблизно за 260 і 350 нм. Сполуки **7**, **8** та **18** демонстрували базові пікові іони в їх MS-спектрах за  $m/z = 479$ , 479 та 625 відповідно. Фрагментація цих іонів привела до спостереження агліконової частини за  $m/z = 317$  для всіх трьох сполук. Вони були визначені як похідні мірицетину. Визначення нейтральних втрат вихідних іонів і фрагментів [M-162] для сполук **7** та **8** свідчить, що обидва флавоноїди є гексозидами. Порівняння з хімічними стандартами дозволило ідентифікувати сполуки **7** та **8** як мірицетин-3-О-галактозид та мірицетин-3-О-глюкозид. На схемі фрагментації сполука **18** має потужний сигнал за  $m/z = 479$ , що також був виявлений як фрагмент продукту гідролізу з молекулярною масою 146. Додатковий максимум у поглинанні УФ-спектра за довжини хвилі 315 нм дозволяє попередньо віднести цей фрагмент до залишку *n*-кумарової кислоти. Отримані дані дозволили установити, що сполука **18** – мірицетин-*n*-кумароїлгексозид.

Сполуки **10-13**, **15** і **22** демонстрували у своїх фрагментах сильний сигнал за  $m/z = 301$ , що відповідає агліконовій частині. Тому вони були визначені як похідні кверцетину. Сполуки **10** і **12** мали псевдомолекулярні іони за  $m/z = 463$ . Подальша фрагментація сполук показала розщеплення

гексозної частини, що викликало агліконовий сигнал  $[M-162] = 301$ . У випадку сполук **9**, **11** і **22** піки основних іонів у спектрі МС спостерігалися за  $m/z = 609$ . Фрагментація сполук показала втрату нейтрального фрагмента 146, що привело до появи сигналів за  $m/z = 463$  для всіх трьох сполук. Подальша фрагментація сполук показала розщеплення гексозної частини ( $-162$ ) та утворення залишку аглікону за  $m/z = 301$ . Порівняння з хімічними стандартами дозволило ідентифікувати сполуки **10**, **11** та **12** як кверцетин-3-О-галактозид, кверцетин 3-О-рутинозид та кверцетин 3-О-глюкозид відповідно. Фрагментація сполук **9** і **22** свідчить, що обидві сполуки можуть бути кверцетиновими О-рамногексозидами. Сполука **22** має додатковий максимум в УФ-спектрі поглинання за 315 нм і велике значення часу утримування (приблизно 58 хв), що свідчить про те, що залишок масою 146 є не рамнозою, а *n*-кумароїльним фрагментом. Тому сполука **22** була визначена як кверцетин-*n*-кумароїлгексозид, тоді як сполука **9** була визначена як ізомер рутин,у а саме кверцетин-О-рамногексозид [156]. Сполука **13** мала псевдомолекулярний іон за  $m/z = 433$ . Фрагментація сполуки виявила пентозну частину, зв'язану з агліконом (спостерігалася нейтральна втрата 132). Порівняння з хімічним стандартом довело, що сполука **13** є кверцетин-3-О-арабінозидом (авікулярином). Сполука **15** мала базовий пік-іон за  $m/z = 549$ . Фрагментація сполуки викликала сильний сигнал за  $m/z = 505$  після швидкого декарбоксілювання ( $-44$ ) батьківського іону та появи агліконового сигналу при  $m/z = 301$ . Селективне декарбоксілювання є характерним для присутності малоїльної одиниці в хімічній структурі сполуки **15**, подібної до раніше описаних сполук **4** і **6**. Установлені дані МС з подальшим розрахунком, свідчать, що сполука **15** є кверцетин-О-малонілгексозидом.

HPLC-DAD-MS аналіз показав, що екстракти лохини високорослої також містять два похідні кемпферолу (сполуки **14** та **16**). Обидві сполуки показали характерний сигнал іонів аглікону за  $m/z = 285$  у своїх спектрах фрагментації. Сполука **16** мала базовий пік-іон за  $m/z = 447$ , який під час

фрагментації розщеплював гексозну одиницю (-162). Порівняння з хімічним стандартом дозволило ідентифікувати сполуку **16** як кемпферол-3-О-глюкозид. Сполука **14** відображала основний іон у спектрі МС за  $m/z = 593$ . Фрагментація сполуки продемонструвала сигнали за  $m/z = 447$  (М-146) і  $m/z = 285$  (М-146-162). Крім відсутність додаткового максимуму в УФ-спектрі, типового для похідних *n*-кумарової кислоти, сполуку **14** визначили як кемпферол-О-рамногексозид.

Домінантними сполуками були хлорогенова (сполука **2**, 136,5 мкг/мг) та неохлорогенова (сполука **1**, 29,5 мкг/мг) кислоти. Слід зазначити, що Екстракт-1 також містить значну кількість малоніл-кофеїлхінних кислот (сполуки **4** і **6**), які були виявлені у кількості 17,9 і 13,1 мкг/мг відповідно. Інші похідні фенольних кислот були виявлені у незначній кількості (табл. 4.14). Другою групою сполук, що містяться в екстракті «Вацінол», були флавоноїди. Вміст їх був значно нижчий порівняно з кофеїлхінними кислотами. Основним флавоноїдом тут був гіперозид (сполука **10**, 4,3 мкг/мг). Крім цього, встановлено помітний вміст ізокверцитрину (сполука **12**, 2,3 мкг/мг) й авікулярину (сполука **13**, 1,2 мкг/мг).

У результаті аналізу методом HPLC-DAD-MS в екстракті «Вацінол» з листя *V. corymbosum* було виявлено 22 речовини фенольної природи: 8 похідних гідроксикоричної кислоти та 14 флавоноїдів. Дослідження підтвердило наявність раніше виявлених фенолів у рослинних матеріалах, отриманих шляхом вирощування *V. corymbosum* у Румунії, таких, як хлорогенова та дикокофеїлхінна кислоти, рутин, ізокверцитрин та авікулярин [172]. Було встановлено, що хлорогенова та неохлорогенова кислоти домінують у групі гідроксикоричних кислот, тоді як серед флавоноїдів домінують кверцетин-3-О-галактозид (гіперозид), кверцетин-3-О-рутинозид (рутин) та кверцетин-3-О-глюкозид (ізокверцитрин).

Методом HPLC-DAD-MS в екстракті «Лохарин» виявлено 25 сполук (рис. 4.4, табл. 4.15). Сполуки ідентифікували на основі їх УФ-спектрів та

МС профілів. Аналіз показав, що модифікація екстракту «Вацінол» з аргініном у разі нагрівання у присутності лимонної кислоти викликає до значні зміни у хімічному складі екстракту «Лохарин».

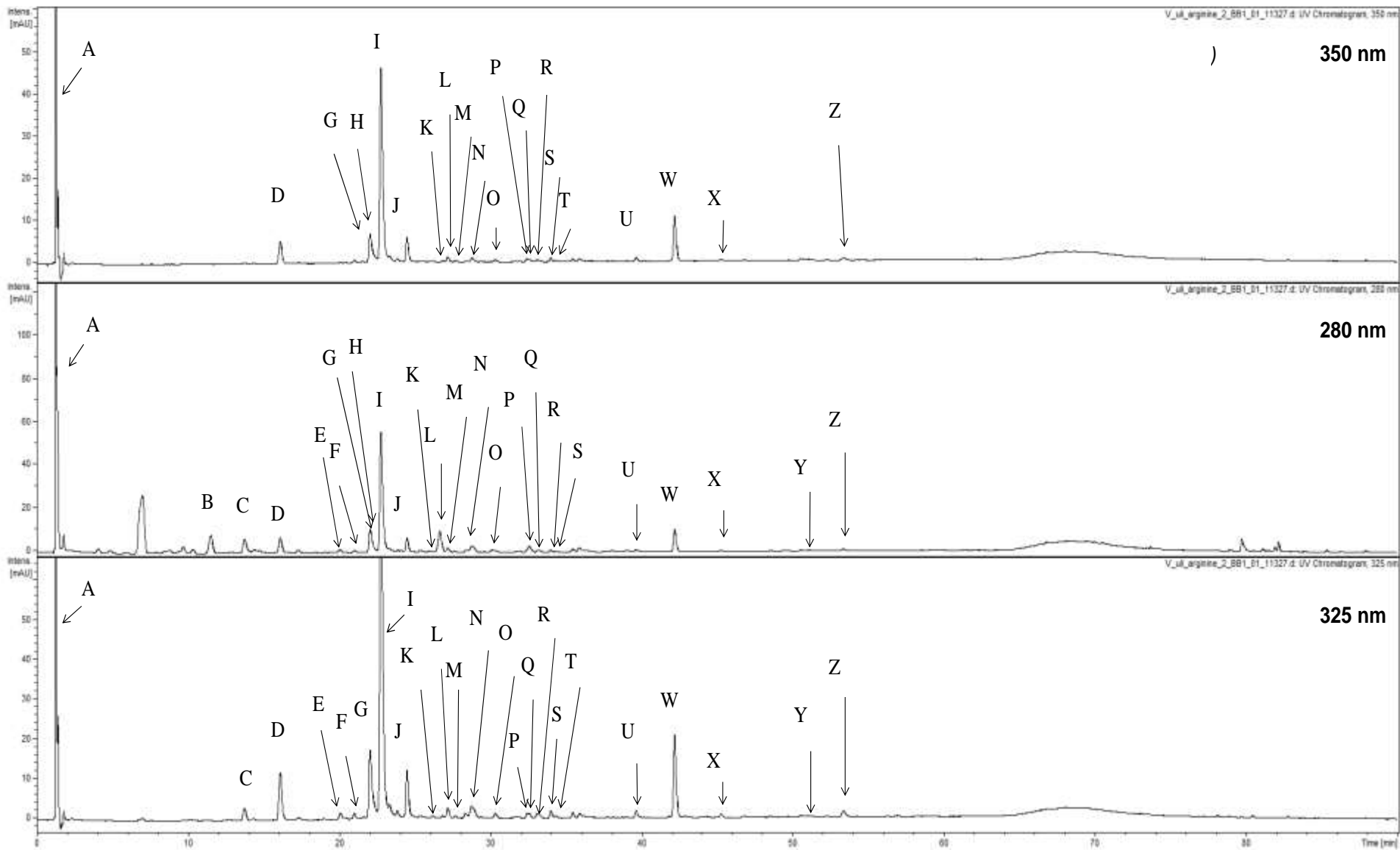


Рис. 4.4 HPLC-DAD-MS хроматограма екстракту «Лохарин» (350, 280 та 325 нм)

Таблиця 4.15

**Хімічний склад екстракту «Лохарин», кон'югованого з аргініном, і кількісне визначення  
основних сполук за допомогою HPLC-DAD-MS**

№	Сполука	Час, хв	УФ- спектр, нм	MS <sup>-</sup> іони	MS <sup>2-</sup> іони	MS <sup>+</sup> іони	MS <sup>2+</sup> іони	Вміст, мкг/мг	Кількісне визначення	
									стандарт	іони
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<b>A</b>	Хінна кислота <sup>s</sup>	1,4	227, 275	191	–	193	–	0,23 ± 0,21	Хлорогенова кислота	–
<b>B</b>	Фенольна кислота (ізомер 1)	11,7	278	299	111, 173 <sup>b</sup> , 255	301	109, 224 <sup>b</sup> , 255	3,79 ± 0,05	Хлорогенова кислота	–
<b>C</b>	Фенольна кислота (ізомер 2)	14	279, 311	299	109, 149, 173 <sup>b</sup> , 262, 281	301	–	0,06 ± 0,04	Хлорогенова кислота	–
<b>D</b>	3-О-Кофеїлхінна кислота (неохлорогенова кислота) <sup>s</sup>	16,3	300, 324	353	135, 179, 191 <sup>b</sup>	355	145, 163 <sup>b</sup> , 337	1,06 ± 0,20	Хлорогенова кислота	–
<b>E</b>	3-О- <i>n</i> - Кумароїлхінна кислота	20,2	314	337	163 <sup>b</sup> , 173, 290	339	147 <sup>b</sup>	0,14 ± 0,02	Хлорогенова кислота	–
<b>F</b>	Фенольна кислота (ізомер 3)	21,1	288, 326	533	179, 191, 353, 489 <sup>b</sup>	535	163, 355, 517 <sup>b</sup>	0,17 ± 0,08	Хлорогенова кислота	–
<b>G</b>	Кофейна кислота <sup>s</sup>	22,3	243, 300 <sup>sh</sup> , 324	179	–	709	355 <sup>b</sup> , 447, 499, 517, 691	0,27 ± 0,06	хлорогенова кислота	–



Продовж. табл. 4.15

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<b>H</b>	Кон'югат кафеїлхінної кислоти та аргініну I	22,5	280, 325	527	365, 353 <sup>b</sup> , 191	529	–	0,58 ± 0,14	Хлорогенова кислота	–
<b>I</b>	5-О-Кофеїлхінна кислота (хлорогенова кислота) <sup>s</sup>	22,9	245, 300 <sup>sh</sup> , 325	353	215, 191 <sup>b</sup> , 173	355	145, 163 <sup>b</sup>	9,57 ± 1,89	Хлорогенова кислота	–
<b>J</b>	4-О-Кофеїлхінна кислота (криптохлорогенова кислота) <sup>s</sup>	24,7	243, 300 <sup>sh</sup> , 326	353	173 <sup>b</sup> , 191	355	117, 163 <sup>b</sup>	1,30 ± 0,26	Хлорогенова кислота	–
<b>K</b>	Кон'югат кафеїлхінної кислоти та аргініну II	26	280, 324	533	179, 191 <sup>b</sup> , 353, 489	535	–	0,43 ± 0,02	Хлорогенова кислота	–
<b>L</b>	Хлорогенова кислота (ізомер)	26,7	283	527	353 <sup>b</sup> , 191	529	–	0,20 ± 0,05	Хлорогенова кислота	–
<b>M</b>	Кофеїлхінна кислота (ізомер)	27,3	242, 300 <sup>sh</sup> , 324	353	215, 191 <sup>b</sup> , 173	353	–	0,15 ± 0,07	Хлорогенова кислота	–
<b>N</b>	Невизначена сполука	28,9	312	439	233, 395 <sup>b</sup>	441	–	0,12 ± 0,01	Хлорогенова кислота	439
<b>O</b>	Кофеїлшикімова кислота (ізомер 1)	30,5	326	335	135, 179 <sup>b</sup>	337	114, 209, 322 <sup>b</sup>	0,18 ± 0,03	Хлорогенова кислота	335
<b>P</b>	Кофеїлшикімова кислота (ізомер 2)	32,5	240, 324	335	135, 179 <sup>b</sup>	337	–	0,16 ± 0,02	Хлорогенова кислота	335

Продовж. табл. 4.15

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<b>Q</b>	Хлорогенова кислота (ізомер 2)	32,7	280	543	353 <sup>b</sup> , 335, 191	545	–	0,08 ± 0,04	Хлорогенова кислота	543
<b>R</b>	Хлорогенова кислота (ізомер 3)	33,2	280	543	353 <sup>b</sup> , 289, 191	545	–	0,26 ± 0,13	Хлорогенова кислота	543
<b>S</b>	Кофеїлхінної кислоти етилловий ефір (ізомер 1)	34,1	243, 300 <sup>sh</sup> , 326	381	135, 161 <sup>b</sup> , 207, 335	383	–	0,52 ± 0,11	Хлорогенова кислота	381, 763
<b>T</b>	Кофеїлшикімова кислота (ізомер 3)	34,5	243, 300 <sup>sh</sup> , 323	335	135, 179 <sup>b</sup>	337	–	0,11 ± 0,01	Хлорогенова кислота	335
<b>U</b>	Кофеїлхінної кислоти етилловий ефір (ізомер 2)	39,7	243, 300 <sup>sh</sup> , 326	381	161 <sup>b</sup> , 207, 335	383	163 <sup>b</sup> , 221	0,56 ± 0,14	Хлорогенова кислота	381, 763
<b>W</b>	Кофеїлхінної кислоти етилловий ефір (ізомер 3)	42,3	243, 300 <sup>sh</sup> , 326	381	135, 179 <sup>b</sup> , 191	383	145, 163 <sup>b</sup> , 221, 365	6,23 ± 0,97	Хлорогенова кислота	381, 763
<b>X</b>	Кофеїлхінної кислоти етилловий ефір (ізомер 4)	45,5	243, 300 <sup>sh</sup> , 326	381	135, 179 <sup>b</sup> , 191, 335	383	163 <sup>b</sup> , 221	0,07 ± 0,01	Хлорогенова кислота	381, 763
<b>Y</b>	Невизначена сполука 2	51,4	370	489	243, 269, 287 <sup>b</sup>	–	–	0,15 ± 0,04	Хлорогенова кислота	489
<b>Z</b>	Невизначена сполука 3	53,5	293, 333	207	–	227	–	0,24 ± 0,06	Хлорогенова кислота	207

Примітка: b – пік основи (найбільш поширений іон у записаному спектрі); s – проведено порівняння часу утримання зі стандартом; sh – плече в ультрафіолетовому спектрі.

Важливо зазначати, що екстракт «Лохарин» містив лише кілька тих же сполук, що й екстракт «Вацінол», а саме хлорогенові кислоти (сполуки *D*, *I* та *J*). Деякі продукти розпаду можна ідентифікувати як хінну (сполука *A*) із псевдомолекулярним іоном за  $m/z = 191$  та кофейну (сполука *G*) кислоти, що демонструє домінуючий пік-іон основи в МС спектрі за  $m/z = 179$ . За допомогою взаємодії сполук екстракту «Вацінол» з етанолом, що використовується як розчинник, отримують чотири ізомерні етилові ефіри кофейлхінічних кислот (сполуки *S*, *U*, *W* та *X*) із псевдомолекулярними іонами за  $m/z = 381$  та  $[M-OC_2H_5]^-$  фрагментах, що трапляються у спектрах за фрагментації  $m/z = 335$ .

Етилові ефіри дикофеїлхінічної кислоти було визначено як сполуки *Q* і *R*, що демонструють піки основних іонів у їх МС-спектрах за  $m/z = 543$ . Розщеплення етилового фрагмента та одного залишку кофейної кислоти зі сполук *Q* і *R* сприяє появі кофейлхінічної кислоти із сигналом фрагмента за  $m/z = 353$ . Хімічні зміни також приводять до появи двох додаткових ізомерів кофейної та шикімової кислот (сполуки *P* і *T*), крім сполук, виявлених в екстракті «Вацінол» (сполука *O*). Сполука *E*, яка не спостерігалася в екстракті «Вацінол», була ідентифікована як 3-*O*-*n*-кумароїлхінічна кислота на основі порівняння отриманих МС-спектрів із відповідними літературними джерелами [84]. Три сполуки – *H*, *K* та *L* – були визначені як можливі кон'югати кофейлхінічної кислоти та аргініну в екстракті «Лохарин». Усі три сполуки показали псевдомолекулярні іони за  $m/z = 527$ . Фрагментація цих іонів привела до спостереження кофейлхінічних фрагментів за  $m/z = 353$ . За проміжним розрахунком у хімічній структурі сполук *H*, *K* і *L* встановлено присутність залишку аргініну. Окрім сполук, для яких було попередньо встановлено хімічну структуру і які були виявлені та кількісно визначені в екстракті «Вацінол», не вдалося ідентифікувати крізь обмежені дані сполук *B*, *C*, *F*, *M*, *N*, *Y* та *Z*. Деякі з них можна охарактеризувати як похідні фенольної кислоти на основі максимумів, які спостерігаються в їх УФ-спектрах. Під час аналізу в екстракті «Лохарин» не виявлено флавоноїдів або їх похідних (рис. 4.4,

табл. 4.15). Ці сполуки, швидше за все, розклалися.

Кількісний аналіз екстракту «Лохарин» також проводили у перерахунку на хлорогенову кислоту. Невизначені похідні фенольної кислоти (сполука **B**) та хлорогенова кислота (сполука **I**) були доміантними компонентами (приблизно 3,8 та 9,6 мкг/мг відповідно). Значний вміст (приблизно 6,0 мкг/мг) мав етиловий ефір кофеїлхінної кислоти (сполука **W**, була також ідентифікована). Вміст інших виявлених похідних фенольних сполук був у діапазоні від 0,06 до 1,30 мкг/мг.

Якісний і кількісний аналіз модифікованого екстракту «Лохарин» продемонстрував значні зміни в хімічному складі порівняно з екстрактом «Вацінол». Вміст хлорогенової кислоти знизився з 136,47 до 9,57 мкг/мг, неохлорогенової – з 29,45 до 1,06 мкг/мг, криптохлорогенова – з 6,06 до 1,30 мкг/мг, що не пропорційно кількості доданого аргініну. Порівняно з екстрактом «Вацінол» в екстракті «Лохарин» було виявлено кілька нових сполук, класифікованих як продукти гідролізу, етилові ефіри гідроксикоричних кислот (сполуки **Q**, **R**, **S**, **W** і **X**), кон'югати фенольних речовин з аргініном (сполуки **H**, **K** і **L**) та кілька нових невизначених сполук (сполуки **N**, **Y** та **Z**). Усе це свідчить про зміни, що відбуваються під час розчинення екстракту «Вацінол» та взаємодії з аргініном у розчині, утворення кон'югатів з амінокислотами і появу нових та модифікованих речовин, що, ймовірно, може чинити значний вплив на біологічні властивості екстракту.

Уперше були виявлені такі сполуки у листі *V. corymbosum*, які раніше не були знайдені у *V. corymbosum*, як похідні гідроксикоричної кислоти: 3-О-кофеїлхінна (неохлорогенова), 4-О-кофеїлхінна (криптохлорогенова), О-малоніл-О-кофеїлхінна, О-кофеїлшикімова, О-малоніл-О-кофейна, *n*-кумароїл-кофеїлхінна; а також такі флавоноїди, як мірицетин-3-О-галактозид, мірицетин-3-О-глюкозид, кверцетин-рамногексозид, кемпферол-О-рамногексозид, кверцетин-О-малонілгексозид, мірицетин *n*-кумароїлгексозид і кверцетин *n*-кумароїлгексозид.

#### 4.6 Визначення гіпоглікемічної та гіполіпідемічної активності екстрактів лохини високорослої

Метаболічний синдром (МС) – це група аномалій, що поєднує інсулінорезистентність, ожиріння, гіпертонію, атеросклеротичну гіперліпідемію та деякі інші метаболічні порушення [98]. З 1998 року Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) уперше визначила МС (інсулінорезистентний синдром) та опублікувала критерії. Було запропоновано декілька різних визначень, але всі вони включають непереносимість глюкози, інсулінорезистентність, дисліпідемію та гіпертонію [161]. Наразі експерти ВООЗ вважають МС пандемією [64, 92, 140, 163]. Хоча існують статеві, вікові та расові відмінності, кожен четвертий громадянин у розвинених країнах страждає на МС. Протягом наступних 25 років зростання очікуваної захворюваності буде на рівні 50 % [67, 96]. Крім того, МС дуже асоціюється з цукровим діабетом 2 типу та серцево-судинними захворюваннями, які є провідною причиною смертності [162].

Коригування способу життя, правильне харчування та вживання дієтичних добавок можуть значно знизити ризик розвитку метаболічного синдрому. Тому рекомендовано включати до раціону різноманітні харчові продукти, спеції,  $\Omega$ -жирні кислоти та речовини, багаті на фенольні сполуки та їх похідні [161]. Доведено, що кілька дієтичних факторів запобігають розвитку метаболічного синдрому. З-поміж них можна відзначити оливкову олію, капсаїцин, лютеолін, куркумін, корицю, розмарин тощо. Нещодавно проведений системний огляд впливу поліфенолів на метаболічний синдром показав, що за порівняно високих доз багато поліфенолів сприятливо впливають на різні параметри здоров'я, пов'язані з ним. Соевий ізофлавоон, флавоноїди з цитрусових, гесперидин та кверцетин покращують ліпідний обмін, тоді як добавки какао знижують високий кров'яний тиск та підвищений рівень глюкози в крові. Вживання зеленого чаю значно зменшує індекс маси тіла та окружність талії, покращує ліпідний обмін [162].

Експериментально було показано, що плоди чорниці та брусниці у 18-річних пацієнтів з діабетом 2 типу значно покращують показники крові [160]. Екстракти *V. myrtillus* знижують рівень глюкози, підвищують чутливість до інсуліну та нормалізують ліпідний профіль крові у щурів [117, 199].

Гіпоглікемічну та гіполіпідемічну активність екстрактів «Вацінол» та «Лохарин» вивчали на 18-місячних самцях щурів лінії Wistar на базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом к.б.н., доц. Г. Б. Кравченко. Дослідження було проведено згідно з рекомендаціями Гельсінської декларації та схвалено Комітетом з етики Національного фармацевтичного університету (затвердження №3/10092020). Експеримент проводився відповідно до міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях. Інсулінорезистентність моделювали утриманням тварин на дієті, збагаченою фруктозою (60,3% фруктози, 18,3% білка, 5,2% жирів) (розділ 2, п. 21) [10, 14, 18, 119, 155].

Піддослідні тварини були розділені на групи: 1) інтактні тварини, які утримувалися на стандартному раціоні віварію НФаУ (Інтакт); 2) тварини, які утримувалися шість тижнів на високофруктозній дієті (ВФД); 3) тварини, які утримувалися шість тижнів на ВФД і яким, починаючи з четвертого тижня, два тижні щоденно внутрішньошлунково вводили емульсію (твін-80) екстракту «Вацінол» з листя лохини високорослої в дозі 250 мг/кг маси тіла (ВФД\_E1); 4) тварини, які утримувалися шість тижнів на ВФД, та яким, починаючи з четвертого тижня, два тижні щоденно внутрішньошлунково вводили емульсію (твін-80) екстракту «Лохарин» у дозі 250 мг/кг маси тіла (ВФД\_E4); 5) тварини, які утримувалися шість тижнів на ВФД і яким, починаючи з четвертого тижня, два тижні щоденно внутрішньошлунково вводили розчин L-аргініну (Sigma-Aldrich, Німеччина) у дозі 200 мг/кг маси тіла (ВФД\_Арг); 6) тварини, які утримувалися шість тижнів на ВФД, та яким починаючи з четвертого тижня два тижні щоденно внутрішньошлунково

уводили емульсію (твін-80) кверцетину (Борщагівський ХФЗ, Україна) у дозі 50 мг/кг маси тіла (ВФД\_К).

По закінченню шостого тижня тварин декапітували під тіопенталовим наркозом. Об'єктом дослідження була сироватка крові. Під час експериментів дотримувалися «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» [43], гармонізованих з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей [17].

У сироватці крові визначали вміст глюкози, холестерол ліпопротеїнів високої щільності (ХС-ЛПВЩ) і холестерол ліпопротеїнів низької щільності (ХС-ЛПНЩ) (Фелісіт-Діагностика, Україна), інсуліну (DRG, Німеччина) і триацилгліцеролів (ТАГ) (Lachema, Чехія) з використанням стандартних наборів реактивів. Результати наведені в табл. 4.16.

Аналіз отриманих результатів свідчить, що утримання щурів на збагаченій фруктозою дієті викликає майже трикратне збільшення рівня глюкози у сироватці крові. Водночас спостерігається гіперінсулінемія, що разом з гіперглікемією свідчить про нечутливість клітин до інсуліну, тобто про розвиток інсулінорезистентності. Відомо, що надходження фруктози в клітину та її метаболічні перетворення не контролюються інсуліном [68]. У разі надмірного надходження фруктози в організм, її метаболізм у гепатоцитах призводить до перепродукції ацетил-КоА, яка, зі свого боку, буде брати участь у процесі ліпогенезу, а також буде використовуватися разом із синтезом холестерину.

Зростання концентрації ТАГ, що спостерігається крізь 6 тижнів експерименту, є наслідком мобілізації жиру з жирової тканини та посилення ендogenous синтезу ТАГ і ЛПНЩ печінкою крізь ослаблення інгібувальної дії інсуліну на ліполіз. Згодом ТАГ і холестерин виділяються клітинами печінки в кров шляхом утворення ЛПНЩ. Дані, отримані у дослідженні щодо підвищених рівнів ТАГ і ХС-ЛПВЩ (табл. 4.16), не суперечать літературним даним.

Таблиця 4.16

## Гіпоглікемічна та гіполіпідемічна активність досліджуваних екстрактів лохини високорослої

Показники	Інтакт	ВФД	ВФД_Е1 (Вацінол)			ВФД_Е4 (Лохарин)			ВДФ_Арг	ВДФ_К,
			150 мг/кг	250 мг/кг	350 мг/кг	150 мг/кг	250 мг/кг	350 мг/кг		
Глюкоза, ммоль/л	4,4 ± 0,09	14,2 ± 0,19*	11,4 ± 0,17*#	9,1 ± 0,10*#	9,0 ± 0,21*#	11,6 ± 0,19*#	8,5 ± 0,10*#	8,7 ± 0,15*#	10,7 ± 0,25*	11,2 ± 0,10*#
Інсулін, мг/мл	1199 ± 25	3005 ± 48*	2986 ± 37*	2347 ± 21*#	2325 ± 35*#	2793 ± 41*#	2207 ± 19*#	2211 ± 23*#	2604 ± 32*	2734 ± 19*#
ТГ, ммоль/л	0,78 ± 0,03	2,26 ± 0,06*	2,23 ± 0,12*	1,85 ± 0,09*#	1,93 ± 0,15*#	1,96 ± 0,12*	1,56 ± 0,09*#	1,63 ± 0,13*#	1,98 ± 0,06*	2,24 ± 0,18*
Х α-ЛП, ммоль/л	1,31 ± 0,03	0,69 ± 0,03*	0,77 ± 0,11*	0,79 ± 0,02*	0,75 ± 0,07*	0,79 ± 0,08*#	0,93 ± 0,08*#	0,91 ± 0,08*#	0,73 ± 0,05*	0,8 ± 0,08*
Х β-ЛП, ммоль/л	2,73 ± 0,06	3,56 ± 0,06*	3,05 ± 0,09*	3,44 ± 0,14*	3,35 ± 0,07*	3,41 ± 0,12*	3,31 ± 0,10*#	3,29 ± 0,09*	3,58 ± 0,08*	3,39 ± 0,11*

Примітка. У разі дієти з високим вмістом фруктози ( $M \pm m$ ,  $n = 6$ ), триацилгліцериди (ТГ), холестерол α-ліпопротеїнів (Х α-ЛП) і холестерол β-ліпопротеїнів (Х β-ЛП).; \* – вказує на значущу різницю щодо норми ( $p < 0,05$ ); # – вказує на значущу різницю щодо ВФД ( $p < 0,05$ ).



Уведення екстракту «Вацінол» уже у дозі 250 мг/кг маси тіла (ВФД\_E1) приводить до значного зниження рівня глюкози, інсуліну і ТАГ у сироватці крові. Ефект, що виникає, може бути викликаний активацією і транслокацією транспортерів глюкози GLUT4 у м'язових клітинах під дією глікозидів петунідину та мальвідину [71]. Разом з тим вміст ХС-ЛПНЩ та ХС-ЛПВЩ суттєво не змінився порівняно з ВФД.

Кон'югація екстракту «Вацінол» з листя *V. corymbosum* з L-аргініном (екстракт «Лохарин») привела до зміни його фармакологічних властивостей. Екстракт «Лохарин» мав більш виражений нормалізувальний ефект порівняно з контрольною групою, що розглядається як зниження рівня глюкози та ХС-ЛПНЩ та покращення рівня ХС-ЛПВЩ. Результати можуть бути зумовлені комплексним впливом поліфенолів екстракту, а дія L-аргініну, який, як відомо, знижує рівень ЛПНЩ, запобігає окисненню ЛПНЩ, а отже, має корисний потенціал щодо профілактики атеросклерозу [97].

Падіння рівня ХС-ЛПВЩ і підвищення рівня ХС-ЛПНЩ у щурів пов'язане з посиленням перенесення естерів холестеролу від ЛПВЩ до атерогенних АпоВ-ЛП й обумовлено накопиченням ТАГ. У результаті цих та інших змін розвивається атерогенна дисліпідемія, характерна для метаболічного синдрому [18, 23].

Установлено, що уведення сухого екстракту з листя лохини високорослої сприяє нормалізувальній дії на метаболічні порушення на тлі високофруктозної дієти. Установлені ефекти обумовлені гіпоглікемічними, гіполіпідемічними й антиоксидантними властивостями компонентів. Спостерігається більш значний вплив екстракту «Лохарин», що, вочевидь, обумовлено протекторними властивостями аргініну [28].

Екстракти «Вацінол» та «Лохарин» чинили знижувальний вплив на рівень глюкози та нормалізували ліпідний профіль крові щурів на рівні, який можна порівняти з раніше дослідженими екстрактами *Vaccinium myrtillus* [117, 199]. Тобто була встановлена їх виражена гіпоглікемічна дія. Екстракт-

4, модифікований аргініном, мав більш сильний ефект і виявився перспективним засобом для комплексного застосування у профілактиці інсулінорезистентності, атеросклерозу та метаболічного синдрому.

Виявлені під час експериментальних досліджень переваги екстракту «Лохарин» листя лохини високорослої з додаванням аргініну підтверджують перспективність упровадження його у фармацевтичну практику, що дозволить розширити номенклатуру лікарських засобів рослинного походження з гіпоглікемічною та гіполіпідемічною дією.

#### Висновки розділу 4

1. Визначено оптимальні екстрагенти для екстракції БАР плодів та листя лохини високорослої. Установлено, що для отримання сухих екстрактів з плодів, шроту та соку лохини високорослої оптимальним екстрагентом є 1 % розчин HCl у 60 % спирті етиловому. Для листя лохини високорослої 50 % спирт етиловий є найкращим екстрагентом для отримання лікарських засобів на основі фенольних сполук.

2. Розроблено схеми одержання сухого екстракту з плодів лохини високорослої та листя лохини під умовною назвою «Вацінол» і трьох модифікованих екстрактів листя лохини з аргініном – «Лохарин», які захищено патентом України на корисну модель № 145107.

3. Проведено фітохімічне дослідження п'яти екстрактів з сировини лохини високорослої. Установлено мінеральний склад екстрактів. У результаті дослідження сухих екстрактів лохини було виявлено 7 амінокислот, з яких домінантними є гліцин, аланін, серин, аргінін.

4. Визначено кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та фенольних сполук у сухих екстрактах лохини високорослої методами СФ та ВЕРХ. Було виявлено 7 фенольних сполук: 5 флавоноїдів – рутин, кверцетин-3-О-глюкозид, кемпферол-3-О-глюкозид, кверцетин та кемпферол; 2 гідроксикоричні кислоти – хлорогенової та кофейної. 3-поміж

гідроксикоричних кислот доміантною була кофейна, з-поміж флавоноїдів – кверцетин-3-О-глюкозид та кемпферол-3-О-глюкозид.

5. Установлено антибактеріальну активність для сухих екстрактів листя та плодів лохини високорослої методом дифузії в агар. Екстракти виявили помірну антибактеріальну активність до *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* та *Candida albicans*.

6. Установлено протизапальну активність екстрактів лохини високорослої. Найбільшу активність мав модифікований екстракт листя лохини з аргініном (екстракт «Лохарин») у дозі 25 мг/кг, тоді як без додавання аргініну ці БАР ефективні у дозі 50 мг/кг, що свідчить про потенціювання дії фенольних сполук лохини високорослої з аргініном. При цьому така доза (16,7 мг/кг) дозволяє зняти запалення на рівні з препаратом порівняння диклофенаком у дозі 8 мг/кг, а враховуючи побічну дію диклофенаку натрію, екстракт «Лохарин» є перспективним для створення нового лікарського засобу. Під час дослідження екстрактів з листя лохини високорослої *in vitro* на нейтрофілах крові людини найбільшу активність виявили екстракти «Вацінол» та «Лохарин».

7. Уперше методом HPLC-DAD-MS в екстракті «Вацінол» з листя *V. corymbosum* було виявлено 22 речовин фенольної природи: 8 похідних гідроксикоричної кислоти та 14 флавоноїдів. Було встановлено, що хлорогенова та неохлорогенова кислоти домінують у групі гідроксикоричних кислот, тоді як з-поміж флавоноїдів домінують гіперозид, рутин та ізокверцитрин. За отриманими результатами встановлено, що у листі *V. corymbosum* уперше виявлені такі сполуки: неохлорогенова, криптохлорогенова, О-малоніл-О-кофеїлхінна, О-кофеїлшикімова, О-малоніл-О-кофейна, *n*-кумароїл-кофеїлхінна кислоти; а також флавоноїди: мірицетин-3-О-галактозид, мірицетин-3-О-глюкозид, кверцетин-

рамногексозид, кемпферол-О-рамногексозид, кверцетин-О-малонілгексозид, мірицетин-*n*-кумароїлгексозид і кверцетин-*n*-кумароїлгексозид.

8. Уперше проведено порівняльне дослідження складу екстракту з листя лохини (екстракт «Вацінол»), модифікованого екстракту «Лохарин» та встановлено вміст фенольних сполук; підтверджено утворення кон'югатів кофеїлхінної кислоти та аргініну.

9. Проведені дослідження показали високий потенціал сухого екстракту «Вацінол» з листя лохини високорослої для корекції метаболічного синдрому, який може бути додатково посилено шляхом додавання L-аргініну (екстракт «Лохарин»). Отримані екстракти з листя лохини високорослої виявили знижувальний ефект щодо рівня глюкози та нормалізували ліпідний профіль крові щурів. Екстракт «Лохарин», модифікований аргініном, мав більш сильний ефект і виявився перспективним агентом для комплексного застосування у профілактиці інсулінорезистентності, атеросклерозу та метаболічного синдрому.

10. У результаті вивчення хімічного складу та фармакологічної дії екстракту з листя лохини високорослої доведена перспективність створення нових лікарських засобів або дієтичних добавок з гіпоглікемічною та гіполіпідемічною активністю.

*Результати експериментальних досліджень розділу відображені в таких публікаціях:*

1. Stremoukhov A., Koshovyi O., Kravchenko G., Krasilnikova O., Dimova G., Zhelev I. Phytochemical and pharmacological study of the northern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaves dry extract. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2021. Vol. 10, Issue 4. P. 1-8. DOI: 10.20959/wjpr20214-20032.

2. Stremoukhov O., Koshovyi O., Komisarenko M., Kireyev I., Gudzenko A., Korinek M., Tsong-Long Hwang, Meng-Hua Chen, Mykhailenko O.

Phytochemical research and anti-inflammatory activity of the dry extracts from northern highbush blueberry leaves. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2021. № 2 (30). P. 40–48. DOI: 10.15587/2519-4852.2021.230288

3. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя лохини для корекції та профілактики метаболічного синдрому : пат. 145107 України. / О. М. Кошовий, О. О. Стремоухов, Г. Б. Кравченко, О. А. Красільнікова, А. Л. Загайко, М. А. Комісаренко. № у 202002993 ; заявл. 20.05.2020 ; опубл. 25.11.2020.

4. Стремоухов О. О. Перспективи використання листя лохини для створення нових дієтичних добавок. *Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту* : матеріали III наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 квіт. 2016 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 19.

5. Пешкова О. С., Кіреєв І. В., Кошовий О. М., Стремоухов О. О. Вивчення антибактеріальної активності екстрактів плодів та листя *Vaccinium uliginosum*. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали I Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 30-31 берез. 2017 р. Харків : НФаУ, 2017. Т. 2. С. 392.

6. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Перспективи створення нових засобів на основі БАР *Vaccinium corymbosum*. *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. 195-196.

7. Kostenko Y., Stremoukhov O., Granica S., Koshovyi O. Phytochemical study of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) leaves extracts. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 23-24 верес. 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 20–21.

8. Kostenko Y., Stremoukhov O., Granica S., Koshovyi O. Study of quantitative and qualitative composition of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) leaves extractive and qualitative composition. *International e-*

*conference contemporary pharmacy: issues, challenges and expectations* 23rd of October 2020, Kaunas – p. 15.

9. Kostenko Y. O., Stremoukhov O. O., Kravchenko G. B., Koshovyi O. M., Sebastian Granica. Highbush blueberry leaves extract as a promising agent for the correction of metabolic syndrome. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів присвяч. 150-річчю з дня народж. М. О. Валяшка, м. Харків, 18-19 берез. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 51.

## РОЗДІЛ 5

### СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЕКСТРАКТІВ ТА ЛИСТЯ ЛОХИНИ ВИСОКОРОСЛОЇ

Оскільки в попередніх розділах обґрунтовано, що листя лохини високорослої є перспективною сировиною для одержання екстрактів та лікарських засобів, необхідно було розробити параметри його стандартизації.

У розділі 4 було доведено доцільність використання 50 % спиртового розчину для одержання сухого екстракту з листя лохини високорослої та модифікованого екстракту з аргініном, досліджено їх хімічний склад, антимікробну, гіпоглікемічну та протизапальну активність. Тому, продовжуючи ці дослідження, доцільно було провести стандартизацію одержаних екстрактів.

Об'єктами досліджень були шість серій листя лохини високорослої, три серії сухого екстракту листя лохини високорослої і три серії модифікованого з аргініном сухого екстракту листя лохини високорослої, одержаних за умов, описаних у розд. 4, п. 4.2.

Для розроблення нормативної документації на листя лохини високорослої було проведено аналіз показників якості та дослідження зразків згідно з методиками ДФУ [10].

#### 5.1 Стандартизація листя лохини високорослої

##### 5.1.1 Проєкт МКЯ на листя лохини високорослої

### ЛОХИНИ ЛИСТЯ

*Vaccinium folium*

Висушені цілі або ламані листки *Vaccinium corymbosum* L.

*Вміст:* не менше 1,5 % флавоноїдів у перерахунку на рутин ( $C_{27}H_{30}O_{16}$ ; *М.м.* 610,517 г/моль), не менше 4 % гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту ( $C_{16}H_{18}O_9$ ; *М.м.* 354,31 г/моль) і суху сировину.

### ІДЕНТИФІКАЦІЯ

**А.** Сировина – цілі або ламані листки, значно менше ламаних стебел. Листки прості, короткочерешкові, жорсткі, шкірясті, з тонкою яйцеподібною або еліптичною пластинкою, 0,7-3 см завдовжки та 0,51-1,5 см завширшки; з цілими, трохи загорнутими донизу краями, на верхівці злегка загострені, із серцеподібною або округлою основою. Молоді листки від світло-зеленого до зеленого кольору, знизу – сизі, старі листки зелено-червоні або зелено-блакитні. Жилкування перисто-сітчасте, що помітно виступає на нижньому боці пластинки. Запах відсутній.

**В.** Мікроскопічне дослідження (2.8.23). Переглядають під мікроскопом, використовуючи *хлоральгідрату розчин Р*. На зрізах листка виявляються такі діагностичні структури: на поперечному розрізі – листок дорзивентрального типу, 1-шарова стовпчаста та 2-3-шарова губчаста паренхіма, черешок однопучковий. Пучок півмісячної форми, великий, з добре розвиненими флоемою і ксилемою. Судини ксилеми розташовані рівними рядами. Склеренхіма підстеляє флоему. Основна паренхіма складається з невеликих паренхімних клітин, з нижнього боку з досить великими порожнинами. У паренхімі трапляються великі друзі оксалату кальцію. Судини ксилеми розташовані рівними ланцюгами. На верхній епідермі рідко трапляються прості 1-клітинні волоски з тонкою загнутою верхівкою і довгі дворядні. Будова центральної жилки не відрізняється від будови черешка. Пучок один із добре розвиненими флоемою і ксилемою. Паренхіма пухка. Склеренхіма міститься з одного боку. На верхній і нижній епідермі трапляються зрідка дворядні довгі покривні волоски. Верхня епідерма складається з паренхімних лопатевих клітин зі звивистими оболонками. Клітини вздовж жилок видовжені, прямостінні. Вздовж жилок містяться великі багатоклітинні волоски з розширеною основою і видовженим тілом. На верхівці розташована дрібна ампулоподібна верхівка. Нижня епідерма складається з паренхімних клітин з дуже звивистими оболонками. В основі пластинки



зрідка трапляються продихи, а в центральній частині вони численні великі овальні. Типи продихових апаратів аномоцитний та парацитний. Над жилкою клітини слабо-видовжені, прямокутні, оболонки незначно потовщені. На епідермі містяться горбкуваті багатоклітинні волоски з широкою основою і довгі залозисті волоски з дворядною ніжкою. По краю листка часто розташовані залозисті волоски на дворядній ніжці, рідко – покривні багатоклітинні волоски з розширеною основою й одноклітинні тонкі дуже загнуті волоски.

#### С. Тонкошарова хроматографія (2.2.27).

*Випробовуваний розчин.* До 1,0 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) додають 10 мл метанолу *P*, нагрівають у водяній бані за температури 60 °С зі зворотним холодильником протягом 10 хв, охолоджують і фільтрують.

*Розчин порівняння.* 3,0 мг гіперозиду *P*, 1,0 мг кофейної кислоти *P*, 1,0 мг хлорогенової кислоти *P* та 3,0 мг рутину *P* розчиняють у 10 мл метанолу *P*.

*Пластинка:* ТШХ пластинка з шаром силікагелю *P*.

*Рухома фаза:* етилацетат *P* – вода *P* – кислота мурашина безводна *P* – кислота оцтова безводна *P* (72 : 14 : 7 : 7).

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

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

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

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

*Результати:* нижче наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть проявлятися також інші флуоресцентні зони.

*Результати:* у середній частині хроматограми розчину порівняння

проявляється жовтувато-оранжева флуоресцентна зона, що відповідає рутину, а також вище неї жовтувато-оранжева флуоресцентна зона, що відповідає гіперозиду. Блакитна флуоресцентна зона, що відповідає кофейній кислоті, проявляється у верхній частині хроматограми. На хроматограмі випробовуваного розчину вище рівня розчину порівняння рутину має проявлятися інтенсивна жовто-оранжева флуоресцентна зона, перекрита світло-блакитною зоною, що відповідає хлорогеновій кислоті. На рівні розчину порівняння гіперозиду має проявлятися жовто-оранжева флуоресцентна зона і на рівні розчину порівняння хлорогенової та кофейної кислот має проявлятися блакитна флуоресцентна зона. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть проявлятися також інші флуоресцентні зони.

<b>Верхня частина пластинки</b>	
кофейна кислота: блакитна флуоресцентна зона	блакитна флуоресцентна зона (кофейна кислота)  _____
гіперозид: жовтувато-оранжева флуоресцентна зона	жовтаво-оранжева флуоресцентна зона (гіперозид)
хлорогенова кислота: блакитна флуоресцентна зона	блакитна флуоресцентна зона (хлорогенова кислота)
рутин: жовтувато-оранжева флуоресцентна зона  _____	інтенсивна жовтаво-оранжева флуоресцентна зона (рутин)  _____
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробуваний розчин</b>

## ВИПРОБУВАННЯ

**Сторонні домішки (2.8.2).** Коричневих стебел – не більше 5 %; інших сторонніх домішок – не більше 2 %.

**Втрата в масі під час висушування (2.2.32).** Не більше 10,0 %. 1.000 г здрібненої на порошок сировини сушать за температури 105 °С протягом 2 год.

**Загальна зола (2.4.16).** Не більше 6 %.

## КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

### Гідроксикоричних кислот

**Вихідний розчин.** 1,5 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) поміщають у колбу, додають 80 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*, кип'ятять на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 30 хв, охолоджують і фільтрують у мірну колбу місткістю 100 мл. Колбу та фільтр промивають 10 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*. Одержаний фільтрат і промивну рідину об'єднують і доводять *етанолом (50 %, об/об) Р* до об'єму 100,0 мл.

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

Відразу вимірюють оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм, використовуючи як компенсаційну рідину розчин, приготований таким чином: у мірну колбу місткістю 10 мл поміщають, перемішуючи після кожного додавання, 1,0 мл вихідного розчину, 2 мл 0,5 М розчину *хлористоводневої кислоти Р*, 2 мл *натрію гідроксиду розчину розведеного Р* і доводять *водою Р* до об'єму 10 мл.

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

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

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

$m$  – маса наважки випробовуваної сировини, г.

Використовують питомий показник поглинання хлорогенової кислоти за довжини хвилі 525 нм, що дорівнює 188.

### **Сума флавоноїдів (у перерахунку на рутин)**

*Вихідний розчин.* 2,0 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) поміщають у картридж апарата безперервної екстракції (Soxhlet type), додають 100 мл *гептану Р*, нагрівають зі зворотним холодильником до знебарвлення рідини, що екстрагується, охолоджують і відкидають гептан. Додають 90 мл *метанолу Р* і продовжують екстракцію з нагріванням зі зворотним холодильником до знебарвлення рідини, що екстрагується; витримують до охолодження. Метанольний розчин переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, обполіскуючи екстракційну колбу кількома мілілітрами *метанолу Р*. Метанольні розчини об'єднують і доводять об'єм розчину *метанолом Р* до 100,0 мл. 10,0 мл одержаного розчину доводять *водою Р* до об'єму 100,0 мл і ретельно струшують.

*Випробовуваний розчин.* 10,0 мл вихідного розчину доводять розчином 20 г/л *алюмінію хлориду Р* у *метанолі Р* до об'єму 100,0 мл.

*Компенсаційний розчин.* 10,0 мл вихідного розчину доводять *метанолом Р* до об'єму 100,0 мл.

Оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину вимірюють кріз 15 хв відносно компенсаційного розчину за довжини хвилі 425 нм.

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на рутин, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 1000}{37 \cdot m}, \quad (5.2)$$

де  $A$  – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 425 нм;

$m$  – маса наважки випробовуваної сировини, г.

Використовують питомий показник поглинання рутину, що дорівнює 370.

### 5.1.2 Стандартизація листя лохини

#### Ідентифікація А

Морфологічний аналіз дослідження зразків листя лохини високорослої показав, що сировина складається з цілого або ламаного висушеного листя (рис. 5.1.-5.3), значно рідше з ламаних стебел (рис. 5.4).



Рис. 5.1 Листок (вигляд зверху)

Рис. 5.2 Листок (вигляд знизу)



Рис. 5.3 Загальний вигляд сировини

Рис. 5.4 Фрагмент стебла

### *Макроскопія (зовнішні ознаки)*

*Листки* лохини високорослої чергові, складаються з короткого черешка та пластинки з трохи округлою основою та загостреною верхівкою. Молоді листки лохини високорослої від світло-зеленого до зеленого кольору, старі листки темнішого кольору (рис. 5.1-5.3). *Пластинка листка* лохини високорослої тонка, від ланцетної до оберненояйцеподібної, завдовжки від 0,75 до 5 см та завширшки до 3 см, край листка лохини високорослої цілий, жилкування виступає на нижньому боці листка лохини високорослої перисто-сітчасте (рис. 5.1-5.3). *Стебла* лохини високорослої та їх фрагменти гостроребристі, прямостоячі, зелено-коричневі (рис. 5.4).

### **Ідентифікація В**

*Поперечний зріз листка* лохини високорослої дорзивентрального типу, паренхіма губчаста з 2-3-шарів та стовпчаста одношарова (рис. 3.6, п. 3.1.2). *Черешок* листка лохини високорослої півмісячної форми, однопучковий, великий з добре розвиненими ксилемою та флоемою, судини ксилеми розташовані рівними рядами ланцюгів, паренхіма складається з невеликих клітин, з нижнього боку є досить великі порожнини, трапляються друзи оксалату кальцію, склеренхіма підстеляє флоему (рис. 3.7, п. 3.1.2). *Верхня епідерма листка* складається з паренхімних лопатевих зі звивистими оболонками клітин, уздовж жилок розташовані видовжені прямоствінні клітини, спостерігаються великі багатоклітинні з розширеною основою та видовженим тілом волоски, на верхівці розташовані дрібні волоски з ампулоподібною верхівкою (рис. 3.7, п. 3.1.2). *Нижня епідерма листка* складається з паренхімних клітин з дуже звивистими стінками, при основі зрідка трапляються продихи, а до центра – великі овальні продихи аномоцитного та парацитного типу; на епідермі містяться горбкуваті багатоклітинні волоски з широкою основою та довгі залозисті волоски з дворядною ніжкою, над жилкою клітини слабковидовжені, прямоствінні, оболонки незначно потовщені (рис. 3.8, п. 3.1.2). *Край листка* лохини високорослої має часто розташовані залозисті волоски на дворядній ніжці,

рідко – покривні багатоклітинні волоски з розширеною основою та одноклітинні тонкі дуже загнуті волоски (рис. 3.9, п. 3.1.2)

За результатами досліджень зразків за мікро- та макроскопічними ознаками встановлено, що усі зразки листя лохини високорослої відповідають вимогам проєкту МКЯ (табл. 5.1).

### Ідентифікація С

*Ідентифікацію методом ТШХ* проводили з використанням ФСЗ ДФУ рутину, гіперозиду, хлорогенової та кофейної кислот. Після обробки пластинки розчиняє аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти та макрогону 400 під час перегляду пластинки в УФ-світлі ідентифікували зони з блакитною флуоресценцією на рівні кофейної кислоти, зони хлорогенової кислоти у досліджуваних зразках мали блакитно-зелену флуоресценцію, а також зони з інтенсивно жовто-оранжевою флуоресценцією вище зони рутину і нижче зони гіперозиду, ніж на хроматограмі порівняльного розчину. На рис. 5.5 наведено типову хроматограму порівняльного розчину та листя лохини високорослої, одержаних у результаті досліджень.

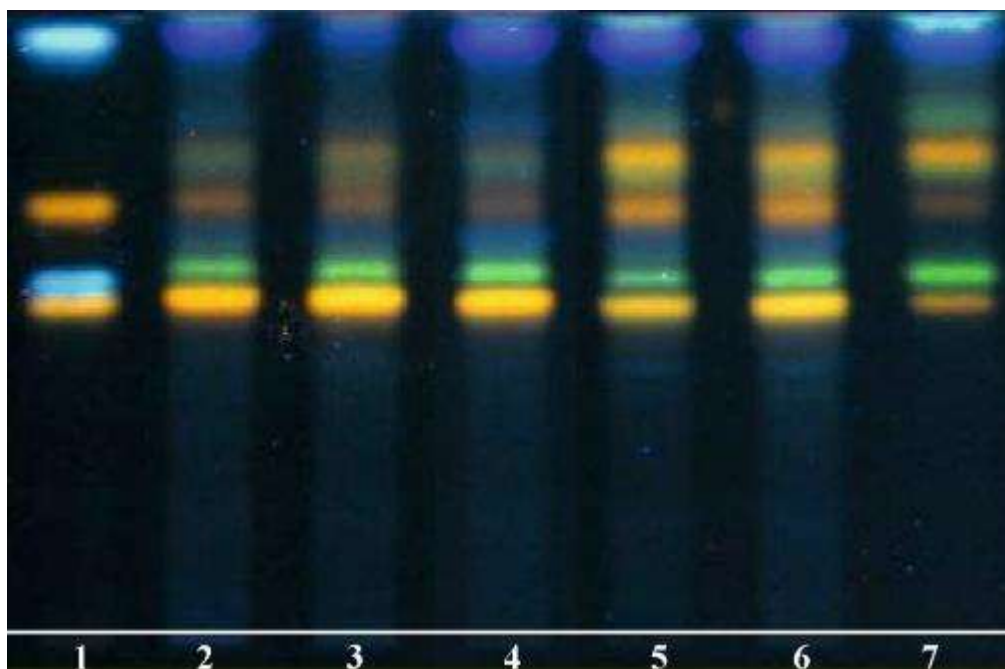


Рис. 5.5 Хроматограма листя лохини високорослої під час перегляду в УФ-світлі: 1 – хроматограма розчину порівняння рутину, хлорогенової кислоти, гіперозиду та кофейної кислоти; 2, 3, 4, 5, 6, 7 — хроматограми

випробовуваних екстрактів листя лохини високорослої

На хроматограмі випробовуваних розчинів листя лохини високорослої можуть проявлятися також інші зони флуоресценції.

За показниками визначення «Загальна зола», «Сторонні домішки та частинки» та «Втрата в масі під час висушування» всі зразки відповідали вимогам проєкту МКЯ (табл. 5.1).

### **Кількісне визначення**

Кількісне визначення БАР листя лохини високорослої за вмістом флавоноїдних сполук у перерахунку на рутин і гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорагеноу кислоту проводили спектрофотометричним методом за ДФУ 2.2.25.

#### Сума гідроксикоричних кислот

1,5 г здрібненого на порошок листя лохини високорослої поміщають у колбу, додають 80 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*, кип'ятять на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 30 хв, охолоджують і фільтрують у мірну колбу місткістю 100 мл. Колбу та фільтр промивають 10 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*. Одержаний фільтрат і промивну рідину об'єднують і доводять *етанолом (50 %, об/об) Р* до об'єму 100,0 мл, отримують випробувальний розчин з листя лохини високорослої. До мірної колби місткістю 10 мл додають, перемішуючи після кожного додавання, 1,0 мл розчину з листя лохини високорослої, 2 мл *0,5 М розчину хлористоводневої кислоти*, 2 мл розчину, приготованого розведенням 10 г *натрію нітриту Р* і 10 г *натрію молібдату Р* у 100 мл *води Р*, і 2 мл *натрію гідроксиду розчину розведеного Р*. Одержаний розчин доводять *водою Р* до об'єму 10,0 мл. Розчин порівняння приготують таким чином: у мірну колбу місткістю 10 мл поміщають, перемішуючи після кожного додавання, 1,0 мл вихідного розчину, 2 мл *0,5 М розчину хлористоводневої кислоти*, 2 мл *натрію гідроксиду розчину розведеного Р* і доводять *водою Р* до об'єму 10 мл.

Оптичну густина випробовуваного розчину та розчину порівняння вимірюють відразу за довжини хвилі 525 нм, питомий показник поглинання



хлорогенової кислоти дорівнює 188.

Вміст суми гідроксикоричних кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту, у відсотках, обчислюють за формулою 5.1. результати дослідження шести зразків листя лохини високорослої у перерахунку на хлорогенову кислоту має бути не менше 4 % (табл. 5.1).

#### Сума флавоноїдів

1,5 г здрібненого на порошок листя лохини високорослої поміщають у колбу, додають 80 мл *етанолу* (50 %, об/об) *P*, кип'ятять на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 30 хв, охолоджують і фільтрують у мірну колбу місткістю 100 мл. Колбу та фільтр промивають 10 мл *етанолу* (50 %, об/об) *P*. Одержаний фільтрат і промивну рідину об'єднують і доводять *етанолом* (50 %, об/об) *P* до об'єму 100,0 мл. 10,0 мл вихідного розчину з листя лохини високорослої доводять розчином 20 г/л *алюмінію хлориду P* у *метанолі P* до об'єму 100,0 мл. Компенсаційний розчин – 10,0 мл вихідного розчину доводять *метанолом P* до об'єму 100,0 мл.

Оптичну густина випробовуваного розчину з листя лохини високорослої вимірюють крізь 15 хв відносно компенсаційного розчину за довжини хвилі 425 нм. Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на рутин, у відсотках, обчислюють за формулою 5.2, питомий показник поглинання рутину – 370.

На рис. 5.6, 5.7 наведено спектри поглинання, які мають чітко виражений максимум поглинання за довжини хвилі  $425 \pm 2$  нм. Тому як стандарт використовували ФЗС ДФУ рутину.

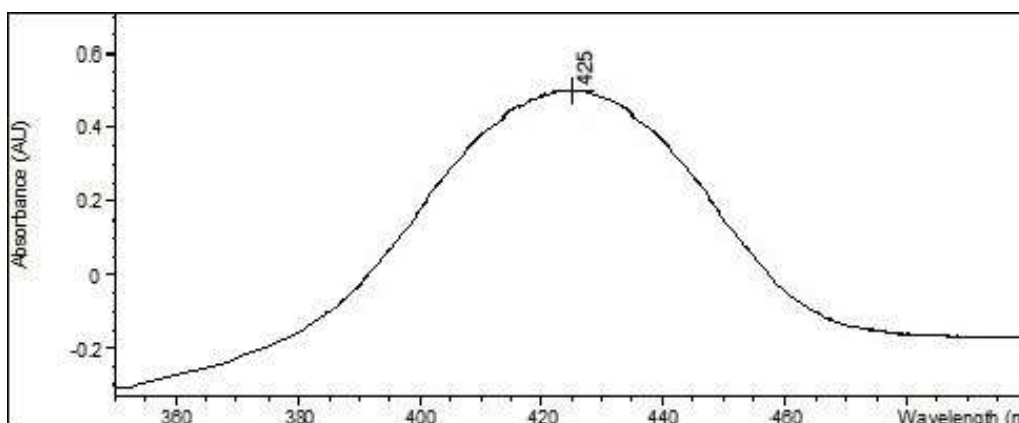


Рис. 5.6 УФ-спектр розчину ФСЗ ДФУ рутину

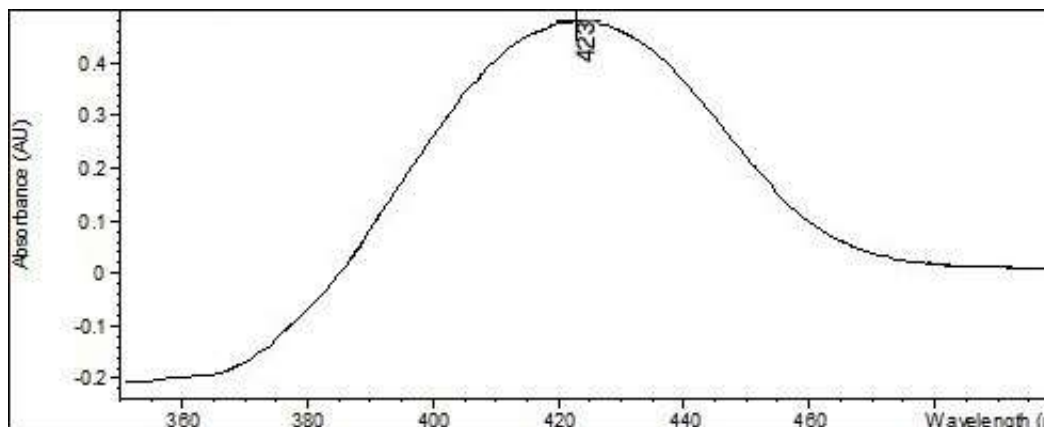


Рис. 5.7 УФ-спектр випробовуваного розчину, одержаного з листя лохини високорослої

Установлено, що вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин для 6 зразків листя лохини високорослої був не менше 1,5 %, вміст гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту був не менше 4 % (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

**Результати аналізу зразків листя лохини високорослої  
на відповідність до проєкту МКЯ**

Показники	Нормування	Зразки сировини, %					
		1	2	3	4	5	6
Визначення	Відповідно до проєкту МКЯ	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.
Зовнішні ознаки – макроскопія	Відповідно до проєкту МКЯ	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.
Мікроскопія	Відповідно до проєкту МКЯ	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.
Ідентифікація методом ТШХ	Відповідно до проєкту МКЯ	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.
Сторонні домішки	Коричневих стебел – не більше 5 %	4	4,5	4,5	3	3,5	2,5

	Сторонніх домішок – не більше 2 %	1	1,5	1,5	1	1,5	0,5
Втрата в масі під час висушування	Не більше 10 %	6,1	6,8	7,9	6,7	7,5	7,2
Загальна зола	Не більше 6 %	3,2	3,1	2,6	3,3	3,8	3,7
Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на рутин	Не менше 1,5 %	2,02	2,09	2,07	2,05	2,07	2,07
Вміст гідроксикоричних кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту	Не менше 4 %	5,1	4,3	4,5	4,8	4,6	4,5

*Пакування.* У полімерні або скляні банки, обов'язково з етикеткою.

*Маркування.* На етикетці зазначені субстанція, країна, підприємство-виробник та його адреса, рік, місяць виготовлення, маса нетто, номер серії, термін придатності.

*Зберігання.* У сухому, захищеному від світла місці, відповідно до ГОСТ 29186-91. Термін придатності – 2 року.

## 5.2 Проєкт МКЯ сухих екстрактів «Вацінол» та «Лохарин»

З метою стандартизації сухих екстрактів «Вацінол» та «Лохарин» з листя лохини високорослої визначали числові показники 3 серій екстрактів, одержаних за експериментальними умовами, описаними у розд. 4, п. 4.2. Подальше розроблення стандартизації одержаних екстрактів та методик проводили відповідно до загальних методик і статей кількісного визначення БАР, викладених у ДФУ [12] (табл. 5.2).

**Опис.** Екстракти являють собою аморфні гігроскопічні порошки від світло-коричневого до темно-коричневого кольору, зі специфічним запахом.

**Розчинність.** Екстракти «Вацінол» та «Лохарин» легко розчиняються у 50 % етанолі, помірно розчиняються у 96 % етанолі та воді, дуже мало розчиняються в ефірі та хлороформі.

**Ідентифікація.** Дослідження екстрактів «Вацінол» та «Лохарин» проводили методом ТШХ за методикою ДФУ (2.2.27) [12].

Метод А (екстракти «Вацінол» та «Лохарин»).

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

*Розчин порівняння.* 3,0 мг гіперозиду Р, 1,0 мг кофейної кислоти Р, 1,0 мг хлорогенової кислоти Р та 3,0 мг рутину Р розчиняють у 10 мл метанолу Р.

*Пластинка:* ТШХ пластинка з шаром силікагелю Р.

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

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

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

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

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

*Результати:* під час перегляду пластинки в УФ-світлі вище середньої частини хроматограми проявляється дві жовтувато-оранжеві зони флуоресценції, що відповідають зонам рутину та гіперозиду, що знаходиться вище зони рутину. Було ідентифіковано зони з блакитною флуоресценцією на рівні кофейної кислоти, зони хлорогенової кислоти на досліджуваних зразках мали блакитно-зелену флуоресценцію, а також ідентифіковані зони зі слабкою жовто-оранжевою флуоресценцією вище зони рутину та гіперозиду, ніж на хроматограмі порівняльного розчину. На хроматограмі випробовуваного розчину можуть проявлятися також інші флуоресцентні зони.

Метод В (екстракт «Лохарин»)

*Випробовуваний розчин.* 0,5 г екстракту розчиняють у кислоті

*хлористоводневій розведеній Р* і доводять об'єм розчину тією самою кислотою до 10 мл. 1 мл розчину доводять *водою Р* до об'єму 50 мл.

*Розчин порівняння.* 10,0 мг *аргініну Р* розчиняють у 0,1 М розчині *кислоти хлористоводневої Р* та доводять об'єм розчину тією самою кислотою до 50,0 мл.

*Пластинка:* ТШХ пластинка із шаром силікагелю.

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

*Об'єм проби, що наноситься:* випробуваного розчину – 50 мкл, розчину порівняння – 5 мкл, смугами.

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

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

*Виявлення:* обприскують розчином *нінгідрину Р*, сушать за температури від 100 до 105 °С протягом 15 хв і переглядають у денному світлі.

*Результати:* на хроматограмах випробовуваних розчинів на рівні основної плями хроматограмі розчину порівняння з'являється пляма відповідного стандартному зразку забарвлення.

### **Випробування**

*Втрата в масі під час висушування.* Не більше 5,0 %. Визначення проводять згідно з ДФУ 2.0 (2.8.17).

0,50 г здрібненого на тонкий порошок екстракту поміщають у бюкс та сушать за температури від 100 до 105 °С у сушильній шафі протягом 3 год. Охолоджують в ексікаторі та зважують.

*Залишкові кількості органічних розчинників (спирт етиловий).*

1,0 г (точна наважка) екстракту розчиняють у 7 мл *води Р* у мірній колбі ємністю 10 мл, додають 1 мл *ацетону Р* та *1,2-дихлоретану Р* (внутрішні стандарти), об'єм розчину доводять *водою Р* до мітки та перемішують.

По 1 мкл досліджуваного розчину та розчину стандартного зразка (СЗ) в *етанолі Р* хроматографують на ГХ із полуменево-іонізаційним детектором, одержують не менше 5 хроматограм за таких умов:

– колонка кварцова капілярна HP-FFAP фірми «Hewlett Packard» (США), розміром 30 м x 0,53 мм, нерухома фаза – поліетиленгліколь, модифікований терефталевою кислотою, з товщиною шару 1 мкм. Допустимо використовувати аналогічні колоноки за умови відповідності вимогам тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;

– температуру колонки програмують: 70 °С протягом 4 хв, підвищення температури зі швидкістю 20 °С/хв до 140 °С, витримують протягом 5 хв;

– температура випарника – 130 °С;

– температура детектора – 220 °С;

– об'ємна швидкість газу-носія (гелій) – 5 мл/хв;

– розподіл потоку – 1 : 5.

Вміст етанолу (X) у препараті, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{B_1 \cdot m_{01} \cdot 1 \cdot 10 \cdot 100}{B_{01} \cdot m_1 \cdot 10 \cdot 10} = \frac{B_1 \cdot m_{01} \cdot 10}{B_{01} \cdot m_1}, \quad (5.3)$$

де  $B_1$  – середнє значення відношення площ піків спирту етилового до площ смуг ацетону (внутрішній стандарт 1), обчислене з хроматограм дослідного розчину;

$B_{01}$  – середнє значення відносин площ піків спирту етилового до площ піків ацетону (внутрішній стандарт 1), обчислене з хроматограм розчину СЗ спирту етилового;

$m_1$  – маса наважки екстракту, г;

$m_{01}$  – маса наважки СЗ спирту етилового, г.

Вміст спирту етилового у препараті не має перевищувати 1,0 %.

Результати аналізу достовірні, якщо втримуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи».

*Важкі метали.* Для токсикологічної безпеки усі види фітохімічної продукції необхідно контролювати на вміст важких металів, за вимогами ДФУ(2.4.8) їх вміст має бути не більше 100 ppm.

0,2 г екстракту, у перерахунку на суху речовину, поміщають у попередньо прожарений кварцовий або порцеляновий тигель, змочують 1 мл

*сірчаної кислоти P* та обережно нагрівають на сітці чи піщаній бані, безперервному перемішуючи, повертаючи тигель щипцями, до видалення парів кислоти *сірчаної* і спалюють до зникнення темних частинок за температури 600 °С. У разі присутності темних частинок знову додають 1 мл *сірчаної кислоти P* і повторно спалюють. Залишок з тигля переносять у пробірку двома окремими порціями *хлористоводневої кислоти розведеної P* по 5 мл кожна і за необхідності нагрівають за температури від 50 до 60 °С до розведення осаду. Охолоджують і додають 0,1 мл *розчину фенолфталеїну P*, підлужують *розчином аміаку концентрованого P* поки не з'явиться рожеве забарвлення. Охолоджують, додають *кислоту оцтову льодяну P* до зникнення забарвлення розчину і ще 0,5 мл *кислоти оцтової льодяної P*. За необхідності проводять фільтрацію крізь паперовий фільтр (невеликого діаметра), попередньо обмитий розчином 10 г/л *оцтової кислоти льодяної P*, а після гарячою водою *P*, після фільтрування промивають фільтр водою *P*. Доводять об'єм одержаного розчину водою *P* до 20 мл і перемішують. До 12 мл фільтрату додають 2 мл буферного розчину рН 3,5 і перемішують, отриману суміш додають до 1,2 мл *реативу тіоацетаміду P* і негайно перемішують (допускається слабка опалесценція розчину).

Для приготування еталону *сірчану кислоту P* поміщають у тигель у кількості, використаній для спалювання екстракту, 2 мл *етанольного розчину свинцю (10 ppm Pb) P*. Спалюють за тих самих умов, що і випробовувану речовину, кількісно переносять кислотою *хлористоводневою*, додають розчин аміаку, після – *кислоту оцтову*. Доводять об'єм розчину водою *P* до 20 мл і перемішують. До 10 мл отриманого розчину додають 2 мл розчину, який був одержаний під час обробки випробовуваної речовини, і 2 мл буферного розчину рН 3,5 та перемішують. Отриману суміш додають до 1,2 мл *реативу тіоацетаміду P* і негайно перемішують.

Готують холостий розчин, використовуючи суміш 10 мл *води P* і 2 мл розчину, отриманого під час обробки випробовуваної речовини. Еталон має бути світло-коричневого кольору порівняно з холостим розчином. Після 2 хв

коричневе забарвлення випробовуваного розчину має бути не інтенсивнішим, ніж забарвлення еталона.

*Мікробіологічна чистота.* Фітохімічним засобом характерна мікробна контамінація, тому необхідно проводити контроль кількості життєздатних бактерій та грибів в екстракті. Випробування проводили згідно з вимогами ДФУ, 2.6.12, 2.6.13.

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

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

Для випробування на наявність ентеробактерій та деяких інших грамнегативних бактерій, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus* 10 г препарату поміщають у стерильну мірну посудину, доводять до 500 мл стерильною нейтралізуючою рідиною, що містить 10 % полісорбату-80 та 20 % ізопропілміристату. По 50 мл підготовленого зразка вносять 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.

Склад нейтралізувального реактиву, 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**

Вміст флавоноїдів та гідроксикоричних кислот в екстрактах лохини високорослої «Вацінол» та «Лохарин» визначали спектрофотометричним методом у перерахунку на рутин та хлорагеноу кислоту за ДФУ 2.2.25.

#### **Сума флавоноїдів**

*Вихідний розчин.* 0,2 г порошку екстракту розчиняють 90 мл метанолу *P*. Метанольний розчин розчиняють протягом 30 хв та фільтрують у мірну колбу місткістю 100 мл, обполіскуючи колбу та фільтр декількома мілілітрами метанолу *P* і доводять об'єм розчину метанолом *P* до 100,0 мл. 10,0 мл одержаного розчину доводять водою *P* до об'єму 100,0 мл і ретельно струшують.

*Випробовуваний розчин.* 10,0 мл вихідного розчину доводять розчином 20 г/л алюмінію хлориду *P* у метанолі *P* до об'єму 100,0 мл.

*Компенсаційний розчин.* 10,0 мл вихідного розчину доводять метанолом *P* до об'єму 100,0 мл.

Оптичну густину (2.2.25) випробовуваного розчину вимірюють крізь 15 хв відносно компенсаційного розчину за довжини хвилі 425 нм.

Вміст суми флавоноїдів, у перерахунку на рутин, у відсотках,

обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 1000}{37 \cdot m}, \quad (5.4)$$

де  $A$  – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 425 нм;

$m$  – маса наважки випробовуваної сировини, г.

Використовують питомий показник поглинання рутину, що дорівнює 370.

Вміст флавоноїдів в екстрактах лохини високорослої у перерахунку на рутин має бути не менше 6 % для екстракту «Вацінол» і не менше 4 % для екстракту, модифікованого аргініном, «Лохарин» (табл. 5.2).

Сума гідроксикоричних кислот

*Вихідний розчин.* 0,1 г сухого екстракту поміщають у колбу, додають 80 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*, розчиняють протягом 30 хв і фільтрують у мірну колбу місткістю 100 мл. Колбу та фільтр промивають 10 мл *етанолу (50 %, об/об) Р*. Одержаний фільтрат і промивну рідину об'єднують і доводять *етанолом (50 %, об/об) Р* до об'єму 100,0 мл.

*Випробовуваний розчин.* У мірну колбу місткістю 10 мл поміщають, перемішуючи після кожного додавання, 10 мл вихідного розчину, 2 мл 0,5 М *розчину хлористоводневої кислоти*, 2 мл *розчину, приготованого розведенням 10 г натрію нітрату Р і 10 г натрію молібдату Р у 100 мл води Р*, і 2 мл *натрію гідроксиду розчину розведеного Р*. Одержаний розчин доводять *водою Р* до об'єму 10,0 мл.

Відразу вимірюють оптичну густина (2.2.25) випробовуваного розчину за довжини хвилі 525 нм, використовуючи як компенсаційну рідину розчин, приготований таким чином: у мірну колбу місткістю 10 мл поміщають, перемішуючи після кожного додавання, 1,0 мл вихідного розчину, 2 мл 0,5 М *розчину хлористоводневої кислоти*, 2 мл *натрію гідроксиду розчину розведеного Р* і доводять *водою Р* до об'єму 10 мл.

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

$$X = \frac{A \cdot 1000}{188 \cdot m}, \quad (5.5)$$

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

$m$  – маса наважки випробовуваної сировини, г.

Використовують питомий показник поглинання хлорогенової кислоти за довжини хвилі 525 нм, що дорівнює 188.

Вміст гідрокислоричних кислот в екстрактах лохини високорослої у перерахунку на рутин має бути не менше 9 % для екстракту «Вацінол» і не менше 6 % для екстракту, модифікованих аргініном, «Лохарин» (табл. 5.2).

#### **Упаковка.**

Банки по 1 кг скляні з гвинтовою горловиною закупорюються пластмасовими кришками, які нагвинчуються, з картонними прокладками. Горловину банки з кришкою обгортають пергаментом, обв'язують шпагатом з луб'яних волокон, армованим хімічною або поліпропіленовою фібрильованою ниткою, на кінці якої наклеюють етикетку із самоклеючого паперу.

Таблиця 5.2

## Стандортизація екстрактів з лохини високорослої «Вацінол» та «Лохарин»

Показники якості	Допустимі межі	Результати визначення в екстрактах					
		Вацінол			Лохарин		
		1	2	3	1	2	3
1	2	3	4	5	6	7	8
Опис	Аморфний гігроскопічний порошок від світло-коричневого до коричневого кольору, зі специфічним запахом.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.
Розчинність у:							
– 96 % спирті	Помірно розчинний	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.
– 50 % спирті	Легко розчинний	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.
– ефірі	Дуже мало розчинний	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.
– хлороформі	Дуже мало розчинний	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.
– воді	Помірно розчинний	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.
Ідентифікація							
Метод А (ТШХ)	– пластинки із шаром <i>силікагелю Р</i> – розчин порівняння: <i>гіперозид Р, кофейна кислота Р, рутин Р</i> – рухома фаза: <i>етилацетат Р – вода Р – кислота мурашина безводна Р – кислота оцтова безводна Р (72 : 14 : 7 : 7)</i>	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.

Продовж. табл. 5.2

1	2	3	4	5	6	7	8
	<ul style="list-style-type: none"> <li>– пробіг: 15 см</li> <li>– розчинник: метанол</li> <li>– виявлення: <i>аміноетиловий ефір дифенілборної кислоти P</i>, <i>макрогол 400 P</i> та нагрівання за температури 100-105 °С</li> <li>– переглядання кріз 30 хв в УФ-світлі.</li> </ul>						
Метод В (ТШХ)	<ul style="list-style-type: none"> <li>– пластинках із шаром <i>силікагелю P</i></li> <li>– розчин порівняння: ФСЗ аргініну</li> <li>– рухома фаза: <i>етилацетат P – вода P – кислота мурашина безводна P – кислота оцтова безводна P (72 : 14 : 7 : 7)</i></li> <li>– пробіг: 15 см</li> <li>– виявлення: <i>розчин нінгідріну P</i> та нагрівання за температури 100-105 °С</li> <li>– переглядання в денному світлі</li> </ul>				Відп.	Відп.	Відп.
Випробування							
Втрата в масі під час висушування	Не більше 5 %	4,3	4,7	3,9	3,9	4,1	4,5

Продовж. табл. 5.2

1	2	3	4	5	6	7	8
Залишкові кількості органічних розчинників: спирт етиловий	Не більше 1,0 %	0,2	0,3	0,3	0,1	0,3	0,2
Важкі метали	Не більше 100 ppm	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.
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	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.	Відп.
Кількісне визначення							
Вміст флавоноїдів	Вміст флавоноїдів, у перерахунку на рутин: для екстракту «Вацінол» – не менше 6 % для екстракту «Лохарин» – не менше 4 %	6,21	6,57	6,86	4,52	4,50	4,58
Вміст гідроксикоричних кислот	Вміст гідроксикоричних кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту: для екстракту «Вацінол» – не менше 9 % для екстракту «Лохарин» – не менше 6 %	9,91	10,10	9,85	6,61	6,51	6,58

### Умови зберігання

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

Аналіз сухих екстрактів одержаного з листя лохини високорослої спиртовою екстракцією та екстракту модифікованих аргініном «Лохарин», були проведені згідно з розробленим Проектом МКЯ, результати наведені у табл. 5.2.

За результатами аналізу можна зробити висновок, що всі сухі екстракти «Вацінол» та «Лохарин» з листя лохини високорослої відповідають вимогам розроблених Проєктів МКЯ.

### Висновки розділу 5

1. Розроблено проєкт МКЯ лохини високорослої листя за такими показниками: визначення, зовнішні ознаки, мікроскопія, ідентифікація (ТШХ), сторонні домішки, втрата в масі під час висушування (не більше 10 %), загальна зола (не більше 3 %), важкі метали (не більше 10 ppm), мікробіологічна чистота та кількісне визначення (вміст флавоноїдів, у перерахунку на рутин, не менше 1,5 % та гідроксикоричних кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту, не менше 4 %).

2. Проєкт МКЯ «Вацінол», лохини листя екстракт сухий, розроблено за такими показниками: опис, розчинність, ідентифікація (ТШХ: метод А), втрата в масі під час висушування (не більше 5 %), залишкові кількості органічних розчинників (спирт етиловий – не більше 1,0 %), важкі метали (не більше 100 ppm), мікробіологічна чистота, вміст флавоноїдів, у перерахунку на рутин, (не менше 6 %) та гідроксикоричних кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту (не менше 9 %).

3. Проєкт МКЯ «Лохарин», лохини листя екстракт сухий, модифікований з аргініном, розроблено за такими показниками: опис, розчинність, ідентифікація (ТШХ: метод А (флавоноїди), В (аргінін)), втрата в масі під час висушування (не більше 5 %), залишкові кількості органічних розчинників (спирт етиловий – не більше 1,0 %), важкі метали (не більше

100 ppm), мікробіологічна чистота, вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин, (не менше 4 %) та гідроксикоричних кислот у перерахунок на хлорогенову кислоту (не менше 6 %).

4. Усі екстракти з листя лохини високорослої відповідали вимогам розробленої документації. Розроблені проекти МКЯ на сухі екстракти листя лохини та модифіковані екстракти листя лохини з аргініном відтворюються у лабораторних умовах ТОВ «КФК» Грін фарм Косметик» (Україна).

*Результати експериментальних досліджень розділу відображені в таких публікаціях:*

1. Stremoukhov A., Koshovyi O., Kravchenko G., Krasilnikova O., Dimova G., Zhelev I. Phytochemical and pharmacological study of the northern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaves dry extract. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2021. Vol. 10, Issue 4. P. 1-8. DOI: 10.20959/wjpr20214-20032.

2. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя лохини для корекції та профілактики метаболічного синдрому : пат. 145107 України. / О. М. Кошовий, О. О. Стремоухов, Г. Б. Кравченко, О. А. Красільнікова, А. Л. Загайко, М. А. Комісаренко. № u 202002993 ; заявл. 20.05.2020 ; опубл. 25.11.2020.

3. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Фармакогностичне вивчення *Vaccinium corymbosum*. *Матеріали XIV з'їзду Українського ботанічного товариства*, м. Київ, 25-26 квіт. 2017 р. Київ, 2017. С. 209.

4. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Перспективи створення нових засобів на основі БАР *Vaccinium corymbosum*. *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. 195-196.

5. Kostenko Y., Stremoukhov O., Granica S., Koshovyi O. Study of quantitative and qualitative composition of highbush blueberry (*Vaccinium*



corymbosum) leaves extractive and qualitative composition. *International e-conference contemporary pharmacy: issues, challenges and expectations* 23rd of October 2020, Kaunas – p. 15.

6. Kostenko Y. O., Stremoukhov O. O., Kravchenko G. B., Koshovyi O. M., Sebastian Granica. Highbush blueberry leaves extract as a promising agent for the correction of metabolic syndrome. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів присвяч. 150-річчю з дня народж. М. О. Валяшка, м. Харків, 18-19 берез. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 51.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено практичне вирішення наукової проблеми, що полягає у проведенні комплексного фармакогностичного дослідження плодів та листя лохини високорослої; одержанні сухих екстрактів з цієї сировини, їх фітохімічному вивченні та стандартизації для створення нових лікарських засобів з протизапальною, гіпоглікемічною та гіполіпідемічною активністю.

1. Проведено порівняльне вивчення якісного складу та вмісту БАР (цукрів, амінокислот, карбонових кислот, терпенів, простих фенолів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та дубильних речовин) плодів, стебел та листя лохини високорослої. Визначено основні числові показники якості сировини, виявлено 14 мікро- та макроелементів; 17 амінокислот; прості феноли: пірогалол та арбутин; дубильні речовини конденсованої групи; гідроксикоричні кислоти: кофейну, *n*-кумарову, ферулову, хлорогенову; 11 сполук флавоноїдної природи, з яких доміантними були: кверцетин, кемпферол, рутин, кемпферол-3-О-глюкозид; ідентифіковано 37 карбонових кислот; 65 речовин легкої фракції, з яких доміантними були: сквален, вітиспіран, гексакозан, 4-вініл-2-метоксифенол, *n*-мент-1-єн-8-ол. У плодах лохини високорослої встановлено вміст вільних та зв'язаних цукрів; 14 антоціанів, з яких доміантними були: мальвідин-3-О-глюкозид, петуїдин-3-О-глюкозид, дельфінідин-3-О-глюкозид. Установлено, що кількісний вміст фенольних сполук у листі лохини високорослої був найбільшим, що свідчить про доцільність та перспективність використання цієї сировини.

2. Установлено морфологічні ознаки сировини лохини високорослої, визначено анатомічні ознаки листя та стебел, вивчено динаміку накопичення БАР у сировині залежно від стадії вегетації рослини, встановлено оптимальні терміни її заготівлі.

3. Отримано екстракти з плодів, їх шроту, соку та листя лохини високорослої. Установлено, що оптимальним екстрагентом для плодів, шроту

та соку є 1 % розчин хлористоводневої кислоти у 60 % розчині спирту етилового, для сухих екстрактів листя лохини високорослої найкращим екстрагентом є 50 % розчин спирту етилового. Розроблено схеми одержання сухого екстракту з листя лохини високорослої під умовною назвою «Вацінол» та модифікованого екстракту листя лохини з аргініном «Лохарин», які захищено патентом України на корисну модель № 145107.

4. Проведено фітохімічне дослідження п'яти екстрактів із сировини лохини високорослої. Установлено мінеральний склад, основні числові показники. Визначено кількісний вміст БАР. Методом ВЕРХ виявлено 7 амінокислот: гліцин, аланін, серин, валін, гістидин, фенілаланін, аргінін; 7 фенольних сполук, а саме: 5 флавоноїдів – рутин, кверцетин-3-О-глюкозид, кемпферол-3-О-глюкозид, кверцетин та кемпферол; 2 гідроксикоричні кислоти – хлорогенову та кофейну. Уперше методом HPLC-DAD-MS в екстракті «Вацінол» виявлено 22 речовини фенольної природи: 8 похідних гідроксикоричних кислот та 14 флавоноїдів; в екстракті «Лохарин» виявлено 25 сполук фенольної природи. Установлено, що модифікація екстракту «Вацінол» з аргініном викликає значні зміни хімічного складу БАР в екстракті «Лохарин», що підтверджується ідентифікацією двох кон'югатів кофеїлхінної кислоти та аргініну у його складі. У листі *V. corymbosum* уперше виявлено 6 похідних гідроксикоричних кислот: 3-О-кофеїлхінну (неохлорогенову), 4-О-кофеїлхінну (криптохлорогенову), О-малоніл-О-кофеїлхінну, О-кофеїлшикімову, О-малоніл-О-кофейну, *n*-кумароїл-кофеїлхінну; 7 флавоноїдів: мірицетин-3-О-галактозид, мірицетин-3-О-глюкозид, кверцетин-рамногексозид, кемпферол-О-рамногексозид, кверцетин-О-малонілгексозид, мірицетин-*n*-кумароїлгексозид і кверцетин-*n*-кумароїлгексозид.

5. Розроблено проєкт МКЯ «Лохини високорослої листя» за такими показниками: визначення, ідентифікація А (макроскопія), ідентифікація В (мікроскопія), ідентифікація С (ТШХ), сторонні домішки, втрата в масі під час висушування (не більше 10 %), загальна зола (не більше 3 %), важкі

метали (не більше 10 ppm), мікробіологічна чистота та кількісне визначення – вміст флавоноїдів, у перерахунку на рутин (не менше 1,5 %) та гідроксикоричних кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту (не менше 4%). Проведено стандартизацію 6 серій листя лохини високорослої на відповідність розробленим параметрам.

6. Розроблено проекти МКЯ екстрактів лохини високорослої листя «Вацінол» та «Лохарин» за такими показниками: опис, розчинність, ідентифікація (ТШХ: метод А, В), втрата в масі під час висушування (не більше 5 %), залишкові кількості органічних розчинників (спирт етиловий – не більше 1,0 %), важкі метали (не більше 100 ppm), мікробіологічна чистота, вміст флавоноїдів, у перерахунку на рутин (не менше 6% в екстракті «Вацінол» та 4 % в екстракті «Лохарин») та гідроксикоричних кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту (не менше 9% в екстракті «Вацінол» та не менше 6 % в екстракті «Лохарин»). Проведено стандартизацію 3 серій кожного екстракту на відповідність розробленим параметрам.

7. Установлено помірну антибактеріальну активність для сухих екстрактів листя лохини високорослої по відношенню до *S. aureus*, *E. coli*, *Pr. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* та *C. albicans*. Вивчено протизапальну активність екстрактів з листя лохини високорослої. Установлено, що модифікація екстракту аргініном викликає зменшення ефективної дози вдвічі (екстракт «Лохарин» – у дозі 25 мг/кг, екстракт «Вацінол» – у дозі 50 мг/кг) на моделі карагенінового набряку та *in vitro*. Екстракти «Вацінол» та «Лохарин» показали високий потенціал щодо корекції метаболічного синдрому. Екстракт «Лохарин» мав більш сильний ефект і виявився перспективним агентом для профілактики інсулінорезистентності, атеросклерозу та метаболічного синдрому.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Андриющенко А. В., Павлюк В. А. Методика проведення експертизи сортів сортів чорниці. Київ : УІЕСР, 2006. 442 с.
2. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений СССР / под ред. Чиков П. С. Москва : Картография, 1983. 340 с.
3. Влияние экстракта листьев черники на показатели развития экспериментального сахарного диабета 2 типа / А. Л. Загайко и др. *Украинский биофармацевтический журнал*. 2015. № 1. С. 43–46.
4. Выращивание голубики с ориентацией на экспорт. URL: <https://inventure.com.ua/investments/vyrashivanie-golubiki> (дата обращения: 12.11.2020).
5. Георгиевский В. П., Рыбаченко А. И., Козаков А. Л. Физико-химические и аналитические характеристики флавоноидных соединений. Ростов : Изд-во Ростовского ун-та, 1988. 131 с.
6. Голубика высокорослая: оценка адаптационного потенциала при интродукции в условиях Беларуси / Ж. А. Рупасова и др. ; под ред. В. И. Парфенова. Минск : Белорус. наука, 2007. С. 442.
7. Горохова Т. А., Марсов М. Г., Соленникова С. М., Белоногова В. Д. Макро- і мікроелементи брусниці, буяхів, чорниці та мучниці. *Фармацевтичний журнал*. 2004. № 3. С. 102–104.
8. Гринкевич Н. И., Ладыгина Е. А. Фармакогнозия. Атлас. Москва : Медицина, 2009. С. 320.
9. Грицаєнко З. М., Грицаєнко А. О., Карпенко В. П. Методи біологічних та агрохімічних досліджень рослинні ґрунтів. Київ : НІЧЛАВА, 2003. 320 с.
10. Гродзінський А. М. Лікарські рослини. Енциклопедичний довідник. Київ : Голов. ред. УРЕ, 1991. 544 с.
11. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Харків : РІРЕГ, 2001. ; Допов. 1. 2004. 520 с.

12. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1126 с.
13. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
14. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 723 с.
15. Джафарова Р. Э. Исследование гипогликемического действия некоторых лекарственных растений, содержащих флавоноиды. *Проблемы физиологии и биохимии*. 2008. Т. 26. С. 237-248.
16. Динаміка накопичення поліфенольних речовин *Populus tremula* L. / Н. В. Бородіната ін. *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики* : зб. наук. ст. 2006. Вип. XV, Т. 1. С. 133-137.
17. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986 р. Верховна Рада України. Міжнародні документи (Рада Європи). URL: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/main?find=1&sp=i&user=c393&text=%F2%E2%E0>. (дата звернення: 12.11.2020).
18. Загайко А. Л., Вороніна Л. М., Стрельченко К. В. Метаболічний синдром: механізми розвитку та перспективи антиоксидантної терапії : монографія. Харків : Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2007. 216 с.
19. Западнюк В. Н., Купраш Л. П., Зника М. У. Аминокислоти в медицине. Київ, 1982. С. 58–61.
20. Значення та використання морфологічних ознак чорниці щиткової під час кваліфікаційної експертизи сортів на ВОС / Л. І. Улич та ін. *Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин*. 2011. № 2. С. 72–77.

21. Изопреноидный состав спиртового экстракта листьев *Eucalyptus viminalis* / О. Н. Кошевой и др. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2011. Вип. XXIV, № 2. С. 23–25.
22. Кейтс М. Техника липидологии. Москва : Мир, 1975. 322 с.
23. Ковальов В. М., Бородіна Н. В. Динаміка накопичення деяких фенольних сполук в корі *Populus tremula* L. *Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України* : матеріали VI Нац. з'їзду фармацевтів України. Харків : Вид-во НФаУ, 2005. С. 718–719.
24. Количев І. О., Краснікова Т. О., Кошовий О. М. Вибір оптимального екстрагенту для створення нового лікарського засобу з листя лохини високорослої. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2014. № 4. С. 287–291.
25. Количев І. О., Краснікова Т. О., Кошовий О. М. Дослідження амінокислотного складу спиртового екстракту з листя чорниці звичайної. *Вісник фармації*. 2016. № 2. С. 12–15.
26. Количев І. О., Краснікова Т. О., Кошовий О. М. Дослідження фенольних сполук листя лохини високорослої. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 22-23 квіт. 2014 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2014. С. 35.
27. Количев І. О., Краснікова Т. О., Кошовий О. М. Розробка параметрів стандартизації листя лохини високорослої. *Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій* : матеріали всеукр. наук.-практ. конф., м. Харків, 24-25 квіт. 2014 р. Харків : НФаУ, 2014. С. 110.
28. Компендиум 2014 – лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко. Київ : МОРИОН, 2014. 2700 с.
29. Кондратенко П. В., Бублик М. О. Методика проведення польових досліджень з польовими культурами. Киев : Аграрна наука, 1996. 96 с.

30. Кошовий О. М. Сучасні підходи до створення лікарських засобів на основі рослин родів Евкалипт та Шавлія : автореф. дис. ... канд. фармац. наук : 15.00.02. Харків, 2013. 246 с.
31. Кошовий О. М. Фенольний склад деяких представників підроду *Sclarea* роду *Salvia*. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. № 3. С. 11–14.
32. Краснов В. П., Орлов А. А. Урожайность основных ягодных растений из сем. Ericaceae на украинском полесье и возможность эксплуатации их ресурсов после Чернобыльской катастроф. *Растительные ресурсы*. 1996. Вып. 1-2. С. 41-47.
33. Лекарственные растения: Использование в народной медицине и быту / под ред. Л.В. Пастушенкова. Минск : Народная медицина, 2002. С. 380, 384.
34. Лекарственные средства на основе черники в современной офтальмологии / Г. Г. Воронов и др. *Медицинские новости*. 2007. № 4. С. 7–13.
35. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / за ред. А. М. Гродзінського. Київ : Українська Радянська Енциклопедія, 1990. 543 с.
36. Маршанова Л. М. Исследование состава и разработка биотехнологии получения биологически активных концентратов черники обыкновенной - *Vaccinium myrtillus* L. : автореф. канд. биол. наук : 03.00.23. Ставрополь, 2006. 27 с.
37. Машковский М. Д. Лекарственные средства. Изд. 16-е, перераб., испр. и доп. Москва : Новая Волна, 2012. 1216 с.
38. Методы фармакогностического анализа лекарственного растительного сырья, химический анализ : учебное пособие : в 2-х ч. Ч. II. Химический анализ / Г. И. Калинкина и др. Томск : Сибирский государственный медицинский университет, 2008. 55 с.



39. Мінарченко В. М., Бутко А. Ю. Дослідження вітчизняного ринку лікарських засобів рослинного походження. *Фармацевтичний журнал*. 2017. № 1. С. 30-36.
40. Осьмачко А. П., Ковальова А. М., Ільїна Т. В., Кошовий О. М. Хромато-мас-спектрометричне дослідження низькомолекулярних аліфатичних, жирних та ароматичних кислот кореневища *Veronica teucrium* L. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. № 2 (6). С. 22–25.
41. Перспективи створення нового гіпоглікемічного лікарського засобу на основі біологічно активних речовин листя чорниці звичайної / І. О. Количев та ін. *Фармаком*. 2016. № 1. С. 67–73.
42. Пешкова О. С., Кіреєв І. В., Кошовий О. М., Стремоухов О. О. Вивчення антибактеріальної активності екстрактів плодів та листя *Vaccinium uliginosum*. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали I Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 30-31 берез. 2017 р. Харків : НФаУ, 2017. Т. 2. С. 392.
43. Пономаренко Т. М. Вплив водорозчинної субстанції чорниці й одержаних з неї таблеток з різними термінами зберігання на перебіг експериментальної уремії. *Фармацевтичний журнал*. 2003. № 5. С. 98-102.
44. Попов А. И., Кравченко С. Н., Дементьев Ю. Н., Кожура А. Г. Химические элементы плодов голубики (*Vaccinium uliginosum* L.) семейства вересковые (*Ericaceae* Juss.). *Вестник Кемеровского государственного университета*. 2014. Т. 1, № 2 (58). С. 22–29.
45. Порівняльне фармакогностичне та фармакологічне дослідження листя *Salvia verticillata* та *Salvia officinalis* для встановлення перспективи створення нового лікарського засобу / М. М. Мига та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. № 1 (32). С. 61-71.

46. Резніков О. Г. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Перший національний конгрес з біоетики. *Ендокринологія*. 2003. Т. 8, № 1. С. 142–145.
47. Рупасова Ж. А., Решетников В. Н. Голубика высокорослая: оценка адапционного потенциала при интродукции в условиях Беларуси. Минск : Белорусская наука, 2007. 442 с.
48. Седов Е. Н. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Орел : ВНИИСПК, 1999. 608 с.
49. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя лохини для корекції та профілактики метаболічного синдрому : пат. 145107 України. / О. М. Кошовий, О. О. Стремоухов, Г. Б. Кравченко, О. А. Красільнікова, А. Л. Загайко, М. А. Комісаренко. № и 202002993 ; заявл. 20.05.2020 ; опубл. 25.11.2020.
50. Справочник Видаль «Лекарственные препараты в Беларуси 2009» Справочник Видаль. Лекарственные препараты в Беларуси / под ред. М. Д. Машковский. Москва : ЮБМ Медика Рус, 2013. 816 с.
51. Стремоухов А. А., Кошевой О. Н. Исследование фенольного состава листьев голубики. *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку* : матеріали І наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, 24-25 берез. 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. С. 139.
52. Стремоухов О. О. Перспективи використання листя лохини для створення нових дієтичних добавок. *Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту* : матеріали ІІІ наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 квіт. 2016 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 19.
53. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Дослідження жирних та органічних кислот листя лохини звичайної. *Вісник фармації*. 2016. № 4 (88). С. 31–33.
54. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Перспективи створення нових засобів на основі БАР *Vaccinium corymbosum*. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : матеріали ІІІ Міжнар. наук.–практ.

- internet-конф., м. Харків, 26-28 листоп. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 195–196.
55. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Фармакогностичне вивчення *Vaccinium corymbosum*. *Матеріали XIV з'їзду Українського ботанічного товариства*, м. Київ, 25-26 квіт. 2017 р. Київ, 2017. С. 209.
56. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Фітохімічне дослідження фенольного складу плодів *Vaccinium corymbosum*. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження* : матеріали наук.-практ. дистанційної міжнар. конф., м. Івано-Франківськ, 19-20 трав. 2020 р. Івано-Франківськ, 2020. С. 181–182.
57. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Бородіна Н. В. Дослідження жирних та органічних кислот пагонів лохини звичайної. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 282–284.
58. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Бородіна Н. В., Криворучко О. В. Порівняльне дослідження карбонових кислот надземної частини лохини звичайної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 1 (54). С. 46–50.
59. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Гонтова Т. М., Комісаренко М. А., Бородіна Н. В. Елементний склад, морфологічні та анатомічні ознаки листя лохини високорослої. *Фітотерапія. Часопис*. 2020. № 1. С. 50–56. DOI:10.33617/2522-9680-2020-1-50
60. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Комісаренко М. А. Дослідження біологічно активних речовин легкої фракції вегетативних органів лохини високорослої. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Т. 14, № 2 (36). С. 185–193.
61. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Король В. В., Сербін А. Г. Дослідження жирних та органічних кислот плодів лохини звичайної.

Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології : зб. наук. пр. Харків : Вид-во НФаУ, 2017. Вип. 3. С. 276–279.

62. Стремоухов О. О., Пешкова О. С., Кошовий О. М., Кіреєв І. В. Фармакогностичне дослідження *Vaccinium uliginosum*. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Національного з'їзду фармацевтів, м. Харків, 13-16 верес. 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. Т. 1. С. 141.
63. Фармацевтична енциклопедія / гол. ред. ради В. П. Черних. 3-тє вид., перероб. і допов. Київ : МОРІОН, 2016. 1952 с.
64. A Review of the Fruit Volatiles Found in Blueberry and Other *Vaccinium* Species / H. M. Sater et al. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2020. Vol. 21, № 68. P. 5777–5786. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01445> (Date of access: 14.12.2021).
65. About metabolic syndrome / American Heart Association. URL: <https://www.heart.org/en/health-topics/metabolic-syndrome/about-metabolic-syndrome> (Date of access: 12.02.2019).
66. Acylated Flavonoid Glycosides are the Main Pigments that Determine the Flower Colour of the Brazilian Native Tree *Tibouchina pulchra* (Cham.) Cogn. / F. M. Rezende et al. *Molecules*. 2019. Vol. 24, № 4. P. 718. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24040718> (Date of access: 14.12.2021).
67. Aguilar-Salinas C. A., Viveros-Ruiz T. Recent Advances in Managing/Understanding the Metabolic Syndrome. *F1000Research*. 2019. DOI: <https://doi.org/10.12688/f1000research.17122.1> (Date of access: 14.12.2021).
68. Anthocyanins in medicine / E. Kowalczyk et al. *Pol. J. Pharmacol.* 2003. Vol. 55, № 5. P. 699–702.
69. Anti-inflammatory and antinociceptive properties of blueberry extract (*Vaccinium corymbosum*) / E. Torri et al. *J. Pharm. Pharmacol.* 2007. Vol. 59, № 4. P. 591–596.

70. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species / R. L. Prior et al. *J. Agric. Food Chem.* 1998. Vol. 46. P. 2686–2693.
71. Antioxidant properties of proanthocyanidin fraction isolated from wild grape (*Vitis amurensis*) seed / H.-R. Lee et al. *J. Korean Soc. Appl. Bio. Chem.* 2009. Vol. 52. P. 539–544.
72. Antioxidative and cytotoxic components of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) / M. F. Wang et al. *Phytochemicals and Phytopharmaceuticals* / ed by F. Shahidi, C. T. Ho. Champaign : AOCS Press, 1999. P. 271–277.
73. Azzini E., Giacometti J., Russo G. L. Antiobesity Effects of Anthocyanins in Preclinical and Clinical Studies. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2017. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/2740364> (Date of access: 14.12.2021).
74. Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Small Berries / M. Zorzi et al. *Foods.* 2020. Vol. 9, № 5. P. 623.
75. Blueberry supplementation improves memory in older adults / R. Krikorian et al. *J. Agric. Food Chem.* 2010. Vol. 58, № 7. P. 3996–4000.
76. Blueberry supplemented diet reverses age-related decline in hippocampal HSP70 neuroprotection / R. L. Galli et al. *Neurobiol. Aging.* 2006. Vol. 27, № 2. P. 344–350.
77. Borges G., Degenève A., Mullen W., Crozier A. Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. *J. Agric. Food Chem.* 2010. Vol. 58. P. 3901–3909.
78. Boyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl.* 1968. Vol. 97. P. 77–89.
79. Brambilla A., Lo Scalzo R., Bertolo G., Torreggiani D. Steam-blanching highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) juice: phenolic profile and

- antioxidant capacity in relation to cultivar selection. *J. Agric. Food Chem.* 2008. Vol. 56, № 8. P. 2643–2648.
80. Castro C., Olarte Y., Rache L., Pacheco J. Development of a germination protocol for blueberry seeds (*Vaccinium meridionale* Swartz). *Agron. Colomb.* 2012. Vol. 30, № 2. P. 196–203.
81. Chaika N., Koshovyi O., Raal A., Kireyev I., Zupanets A., Odyntsova V. Phytochemical profile and pharmacological activity of the dry extract from *Arctostaphylos uva-ursi* leaves modified with phenylalanine. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2020. № 6 (28). P. 74–78.
82. Chaparro M., Becerra N. Anatomia del fruto de *Vaccinium floribundum* (Ericaceae). *Acta Biol. Colomb.* 1999. Vol. 4, № 1. P. 47–60.
83. Chemical constituents of the leaves of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) and characterisation of polymeric proanthocyanidins containing phenylpropanoid units and A-type linkages / Y. Matsuo et al. *Food Chem.* 2010. Vol. 121. P. 1073–1079.
84. Chena F., Dua X., Zua Y., Yanga L. A new approach for preparation of essential oil, followed by chlorogenic acid and hyperoside with microwave-assisted simultaneous distillation and dual extraction (MSDDE) from *Vaccinium uliginosum* leaves. *Industrial Crops and Products.* 2015. Vol. 77. P. 809–826. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.058> (Date of access: 14.12.2021).
85. Chiang C.-C., Korinek M., Cheng W.-J., Hwang T.-L. Targeting Neutrophils to Treat Acute Respiratory Distress Syndrome in Coronavirus Disease. *Front. Pharmacol.* 2020. Vol. 11. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.572009> (Date of access: 14.12.2021).
86. Chromatographic fingerprint analysis of *Cephalotaxus sinensis* from various sources by highperformance liquid chromatography-diodearray detection-electrospray ionization-tandem mass spectrometry / W. Li et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 2007. Vol. 45. P. 38–46.

87. Clifford M. N., Johnston K. L., Knight S., Kuhnert N. Hierarchical scheme for LC-MS<sup>n</sup> identification of chlorogenic acids. *J. Agric. Food Chem.* 2003. Vol. 51, № 10. P. 2900–2911. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf026187q> (Date of access: 14.12.2021).
88. Clifford M. N., Knight S., Kuhnert N. Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LC-MS(n). *J. Agric. Food Chem.* 2005. Vol. 53, № 10. P. 3821–3832. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf050046h> (Date of access: 14.12.2021).
89. Comparative study of anthocyanin composition, antimicrobial and antioxidant activity in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruits / D. Burdulis et al. *Acta Pol. Pharm.* 2009. Vol. 66, № 4. P. 399–408.
90. Compendium 2020 – Medicines. Kiiv : MORION, 2020. Valtrex – Uses, Side Effects, and More. *WebMD*. URL: <https://www.webmd.com/drugs/2/drug-14126/valtrex-oral/details> (Date of access: 14.12.2021).
91. Composition of phenolic compounds and antioxidant activity in the leaves of blueberry cultivars / L.-J. Wang et al. *Journal of Functional Foods*. 2015. Vol. 16. P. 295–304. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.027> (Date of access: 14.12.2021).
92. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits / V. R. De Souza et al. *Food Chem.* 2014. Vol. 156. P. 362–368. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.125> (Date of access: 14.12.2021).
93. Developmental anatomy of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L. ‘Aurora’) shoot regeneration / T. D. Pizzolato et al. *In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant*. 2014. Vol. 50. P. 722–728. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11627-014-9645-x> (Date of access: 14.12.2021).

94. Dietary blueberry attenuates whole-body insulin resistance in high fat-fed mice by reducing adipocyte death and its inflammatory sequelae / J. DeFuria et al. *J. Nutr.* 2009. Vol. 139, № 8. P. 1510–1516.
95. Dietary supplementation with fruit polyphenolics ameliorates age-related deficits in behavior and neuronal markers of inflammation and oxidative stress / B. Shukitt-Hale et al. *Age.* 2005. Vol. 27, № 1. P. 49–57.
96. Effect of blueberry feeding on plasma lipids in pigs / W. Kalt et al. *Br. J. Nutr.* 2008. Vol. 100, № 1. P. 70–78.
97. Effects of blueberry and cranberry consumption on type 2 diabetes glycemic control: A systematic review / D. M. U. P. Rocha et al. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2019. Vol. 59, № 11. P. 1816–1828. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1430019> (Date of access: 14.12.2021).
98. Ehlenfeldt M. K., Prior R. L. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. *J. Agric. Food Chem.* 2001. Vol. 49, № 5. P. 2222–2227.
99. Endothelial dysfunction in high fructose containing diet fed rats: increased nitric oxide and decreased endothelin-1 levels in liver tissue / M. Altas et al. *Dicle Medical Journal.* 2010. Vol. 37, № 3. P. 193–198.
100. Endothelial dysfunction in high fructose containing diet fed rats: increased nitric oxide and decreased endothelin-1 levels in liver tissue / M. Altas et al. *Dicle University Med. School.* Vol. 37, № 3. P. 193–198.
101. Etiology of Metabolic Syndrome and Dietary Intervention / X. Hu et al. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019. Vol. 20, № 1. P. 128. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20010128> (Date of access: 14.12.2021).
102. Fern K. *Vaccinium uliginosum. Temperate Plants.* 2020. URL: <http://temperate.theferns.info/plant/Vaccinium+uliginosum> (Date of access: 14.12.2021).
103. Ferri F. F. Metabolic syndrome. *Ferri's Clinical Advisor.* Philadelphia : Elsevier, 2019. URL: <https://www.clinicalkey.com> (Date of access: 12.02.2019).



104. Free radical scavenging activity, phenolic contents and cytotoxicity of selected Nigerian medicinal plants / F. M. Awah et al. *Food Chem.* 2012. Vol. 131. P. 1279–1286.
105. Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries / S. Y. Wang et al. *J. Agric. Food Chem.* 2008. Vol. 56, № 14. P. 5788–5794.
106. Gilbert B., Alves L. Synergy in plant medicines. *Current Medicinal Chemistry.* 2003. Vol. 10, № 1. P. 13–20.
107. Godoy C., Monterubbianesi G., Tognetti J. Analysis of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruit growth with exponential mixed models. *Sci. Hort.* 2008. Vol. 115. P. 368–376. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.10.018> (Date of access: 14.12.2021).
108. Grace M. H., Esposito D., Dunlap K. L., Lila M. A. Comparative Analysis of Phenolic Content and Profile, Antioxidant Capacity, and Anti-inflammatory Bioactivity in Wild Alaskan and Commercial *Vaccinium* Berries. *J. Agric. Food Chem.* 2014. Vol. 62, № 18. P. 4007–4017. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf403810y> (Date of access: 14.12.2021).
109. Gregory J. W. Prevention of Obesity and Metabolic Syndrome in Children. *Frontiers in Endocrinology.* 2019. Vol. 10. P. 669. DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00669> (Date of access: 14.12.2021).
110. Hancock J. F. Temperate Fruit Crop Breeding. *Blueberries and Cranberries* / J. F. Hancock et al. Dordrecht : Springer, 2008. P. 115–150.
111. Ilina T., Kashpur N., Granica S., Bazylko A., Shinkovenko I., Kovalyova A., Goryacha O., Koshovyi O. Phytochemical profiles and in vitro immunomodulatory activity of ethanolic extracts from *Galium aparine* L. *Plants.* 2019. Vol. 8, № 12. P. 541.
112. Improving nutritional value of dried blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) combining microwave-vacuum, hot-air drying and freeze drying technologies / E. I. Mejia-Meza et al. *Int. J. Food Eng.* 2008. Vol. 4, № 5. P. 1–6. DOI:<https://doi.org/10.2202/1556-3758.1364> (Date of access: 14.12.2021).

113. Jaiswal R., Sovdat T., Vivian F., Kuhnert N. Profiling and characterization by LC-MSn of the chlorogenic acids and hydroxycinnamoylshikimate esters in maté (*Ilex paraguariensis*). *J. Agric. Food Chem.* 2010. Vol. 58, № 9. P. 5471–5484. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf904537z> (Date of access: 14.12.2021).
114. Jámboř A., Molnár-Perl I. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. *Journal of Chromatography A.* 2009. Vol. 1216. P. 6218–6223.
115. Jorquera-Fontena E., Alberdi M., Franck N. Pruning severity affects yield, fruit load and fruit and leaf traits of ‘Brigitta’ blueberry. *J. Soil. Sci. Plant Nutr.* 2014. Vol. 14, № 4. P. 855–868. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0718-95162014005000068> (Date of access: 14.12.2021).
116. Kader F., Rovel B., Girardin M., Metche M. Fractionation and identification of the phenolic compounds of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum*, L.). *Food Chem.* 1996. Vol. 55, № 1. P. 35–40.
117. Kader F., Rovel B., Metche M. Role of invertase in sugar content in highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum*, L.). *Lebens Wissen Technol.* 1993. Vol. 26, № 6. P. 593–595.
118. Karpyuk U. V., Kislichenko V. S., Gur’eva I. G. HPLC Determination of Free and Bound Amino Acids in *Bryonia alba*. *Chemistry of Natural Compounds.* 2015. Vol. 51, № 2. P. 399–400.
119. Kesik T., Wach D. Estimation of growth and yielding of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivated on a soil developed from loamy sand. *Zeszyty Problemowe Postępyw Rolniczych.* 2010. Vol. 556. P. 711–716.
120. Kim S.-M., Shang Y. F., Um B.-H. Preparative separation of chlorogenic acid by centrifugal partition chromatography from highbush blueberry leaves (*Vaccinium corymbosum* L.). *Phytochemical Analysis.* 2010. Vol. 21, № 5. P. 457–462. DOI: <https://doi.org/10.1002/pca.1218> (Date of access: 14.12.2021).
121. Kloet V., Cabilio P. Magnitudinal asymmetries in seed production in *Vaccinium corymbosum*: anomaly or not? *Am. Midl. Nat.* 2010. Vol. 163. P.

- 463–472. DOI: <https://doi.org/10.1674/0003-0031-163.2.463> (Date of access: 14.12.2021).
122. Koleva I. I., Niederlander H. A. G., van Beek T. A. An on-Line HPLC method for detection of radical scavenging compounds in complex mixtures. *Analytical Chemistry*. 2000. Vol. 72. P. 2323–2328.
123. Konarska A. Development of fruit quality traits and comparison of the fruit structure of two *Vaccinium corymbosum* (L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*. 2015. Vol. 194. P. 79–90.
124. Konarska A. Morphological, anatomical, and ultrastructural changes in *Vaccinium corymbosum* fruits during ontogeny. *Botany*. 2015. Vol. 93. P. 589–602. DOI: [dx.doi.org/10.1139/cjb-2015-0050](https://doi.org/10.1139/cjb-2015-0050) (Date of access: 14.12.2021).
125. Koshevoi O. N. Amino-acid and monosaccharide compositions of *Salvia officinalis* leaves. *Chemistry of Natural Compounds*. 2011. Vol. 47, № 3. P. 492–493.
126. Koshovyi O. M., Zagayko A. L., Kolychev I. O., Akhmedov E. Yu., Komissarenko A. N. Phytochemical study of the dry extract from bilberry leaves. *Azerbaijan Pharmaceutical and Pharmacotherapy Journal*. 2016. Vol. 16, № 1. P. 18–23.
127. Koshovyi O., Raal A., Kireyev I., Tryshchuk N., Ilina T., Romanenko Y., Kovalenko S. M., Bunyatyan N. Phytochemical and Psychotropic Research of Motherwort (*Leonurus cardiaca* L.) Modified Dry Extracts. *Plants*. 2021. Vol. 10. P. 230. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10020230> (Date of access: 14.12.2021).
128. Koshovyi O., Raal A., Kovaleva A., Myha M., Ilina T., Borodina N., Komissarenko A. The phytochemical and chemotaxonomic study of *Salvia* spp. growing in Ukraine. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. 2020. Vol. 8, № 3. P. 29–36. DOI: <https://doi.org/10.7324/JABB.2020.80306> (Date of access: 14.12.2021).

129. Kostenko Y. O., Stremoukhov O. O., Kravchenko G. B., Koshovyi O. M., Granica S. Highbush blueberry leaves extract as a promising agent for the correction of metabolic syndrome. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів присвяч. 150-річчю з дня народж. М. О. Валяшка, м. Харків, 18-19 берез. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 51.
130. Kostenko Y., Stremoukhov O., Granica S., Koshovyi O. Phytochemical study of highbush blueberry (*vaccinium corymbosum*) leaves extracts. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 23-24 верес. 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 20–21.
131. Kostenko Y., Stremoukhov O., Granica S., Koshovyi O. Study of quantitative and qualitative composition of highbush blueberry (*vaccinium corymbosum*) leaves extractive and qualitative composition. *International e-conference contemporary pharmacy: issues, challenges and expectations*, Kaunas, 23 October 2020. Kaunas, 2020. P. 15.
132. La Rosa R., Sanchez M., Perez E. Internal morphology and histology of blueberry *Vaccinium corymbosum* L. (Ericaceae) in Lima, Peru. *Agronomia Colombiana*. 2017. Vol. 35, № 2. P. 176–181.
133. Łata B., Winska-Krysiak M. Cultivar and seasonal variation in bioactive compounds of highbush blueberry fruits (*Vaccinium corymbosum* L.). *Folia Horti*. 2010. Vol. 22, № 1. P. 31–35. DOI: <https://doi.org/10.2478/fhort-2013-0148> (Date of access: 14.12.2021).
134. LC/PDA/ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries / J. I. Nakajima et al. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2004. № 5. P. 241–247.
135. L-Citrulline and L-arginine supplementation retards the progression of high-cholesterol-diet-induced atherosclerosis in rabbits / T. Hayashi et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2005. Vol. 102, № 38. P. 13681–13686.

136. Li H., Zhang M., Ma G. Radical scavenging activity of flavonoids from *Trollius chinensis* Bunge. *Nutrition*. 2011. Vol. 27. P. 1061–1065.
137. Lim T. K. Edible medicinal and non-medicinal plants. Dordrecht : Springer Science+Business Media B. V., 2012. Vol. 2. Fruts. P. 452–464. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-94-007-1764-0\\_60](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1764-0_60) (Date of access: 14.12.2021).
138. Liu Bingbing, Hu Tiantian, Yan Weidong. Authentication of the Bilberry Extracts by an HPLC Fingerprint Method Combining Reference Standard Extracts. *Molecules*. 2020. Vol. 25, № 11. P. 2514. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25112514> (Date of access: 14.12.2021).
139. Lohachoopol V., Mulholland M., Srzednicki G., Craske J. Determination of anthocyanins in various cultivars of highbush and rabbiteye blueberries. *Food Chem*. 2008. Vol. 111, № 1. P. 249–254.
140. Lohachoopol V., Srzednicki G., Craske J. The change of total anthocyanins in blueberries and their antioxidant effect after drying and freezing. *J. Biomed. Biotechnol*. 2004. Vol. 5. P. 248–252.
141. Ma C., Dastmalchi K., Whitaker B. D., Kennelly E. J. Two new antioxidant malonated caffeoylquinic acid isomers in fruits of wild eggplant relatives. *J. Agric. Food Chem*. 2011. Vol. 59, № 17. P. 9645–9651. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf202028y> (Date of access: 14.12.2021).
142. Mazza G., Kay C. D., Cottrell T., Holub B. J. Absorption of anthocyanins from blueberries and serum antioxidant status in human subjects. *J. Agric. Food Chem*. 2002. Vol. 50, № 26. P. 7731–7737.
143. Metabolic syndrome / National Heart, Lung, and Blood Institute. URL: <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/metabolic-syndrome> (Date of access: 10.02.2019).
144. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds / Y. Rochlani et al. *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease*. 2017. Vol. 11, № 8. P. 215–225. <https://doi.org/10.1177/1753944717711379> (Date of access: 14.12.2021).

145. Migas P., Cisowski W., Dembińska-Migas W. Isoprene derivatives from the leaves and callus cultures of *Vaccinium corymbosum* var. Bluecrop. *Acta Pol. Pharm.* 2005. Vol. 62, № 1. P. 45–51.
146. Müller D., Schantz M., Richling E. High Performance Liquid Chromatography Analysis of Anthocyanins in Bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.), Blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.), and Corresponding Juices. *Journal of Food Science*. 2012. Vol. 77, № 4. P. 340–345. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02605.x> (Date of access: 14.12.2021).
147. Mykhailenko O., Korinek M., Ivanauskas L., Bezruk I., Myhal A., Petrikaitė V., El-Shazly M., Yen C.-H., Chen B.-H., Georgiyants V., Hwang T.-L. Qualitative and quantitative analysis of Ukrainian Iris species: A fresh look on their content and biological activities. *Molecules*. 2020. Vol. 25, № 19. P. 4588–4612.
148. Neto C. C. Cranberry and blueberry: evidence for protective effects against cancer and vascular diseases. *Mol. Nutr. Food Res.* 2007. Vol. 51, № 6. P. 652–664.
149. Neutrophils in Psoriasis / Chih-Chao Chiang et al. *Front. Immunol.* 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02376> (Date of access: 14.12.2021).
150. Noda Y., Kaneyuki T., Mori A., Packer L. Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: Delphinidin, cyanidin, and pelargonidin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002. Vol. 50. P. 166–171.
151. Parfenov V. A. Use of L-lysine aescinate in central nervous system diseases. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2011. Vol. 3, № 4. P. 99–104. DOI: <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2011-355> (Date of access: 14.12.2021).
152. Patel S. Blueberry as functional food and dietary supplement: The natural way to ensure holistic health. *Med. J. Nutr. Metab.* 2014. Vol. 7, № 2. P. 133–

143. DOI: <https://doi.org/10.13140/2.1.1875.0088> (Date of access: 14.12.2021).
153. Perkins-Veazie P. Blueberry. *The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks: Agricultural Handbook* / ed. by K. C. Gross, C. Y. Wang, M. Saltveit. Beltsville : Agricultural Research Service, 2004. Vol. 66. P. 240.
154. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening / A. D. R. Castrejyn et al. *Food Chemistry*. 2008. Vol. 109. P. 564–572.
155. Phenolics profiling by HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> aided by principal component analysis to classify Rabbiteye and Highbush blueberries / P. B. Pertuzatti et al. *Food chemistry*. 2021. Vol. 340. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127958> (Date of access: 14.12.2021).
156. Piljac-Žegarac J., Belščak A., Piljac A. Antioxidant capacity and polyphenolic content of Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaf infusions. *J. Med. Food*. 2009. Vol. 12, № 3. P. 608–614.
157. Polyphenols, anthocyanins, and flavonoids contents and the antioxidant capacity of various cultivars of highbush and half-high blueberries / D. Lia et al. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2017. Vol. 62. P. 84–93.
158. Propofol inhibits superoxide production, elastase release, and chemotaxis in formyl peptide-activated human neutrophils by blocking formyl peptide receptor 1 / S. C. Yang et al. *J. Immunol*. 2013. Vol. 190. P. 6511–6519.
159. Resveratrol in raw and baked blueberries and bilberries / M. M. Lyons et al. *J. Agric. Food Chem*. 2003. Vol. 51, № 20. P. 5867–5870.
160. Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol in *Vaccinium* berries / A. M. Rimando et al. *J. Agric. Food Chem*. 2004. Vol. 52, № 15. P. 4713–4719.
161. Review of plants which exhibit hypoglycemic activity / L. V. Vronska et al. *Pharmaceutical review*. 2013. № 2. P. 142–148.
162. Rigolon T. C. B., Barros F. A. R., Vieira N. R., Stringheta P. C. Prediction of total phenolics, anthocyanins and antioxidant capacity of blackberry (*Rubus*

- sp.), blueberry (*Vaccinium* sp.) and jaboticaba (*Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel) skin using colorimetric parameters. *Food Sci. Technol.* 2020. Vol. 40, № 2. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/fst.34219> (Date of access: 14.12.2021).
163. Riihinen K., Jaakola L., Karenlampi S., Hohtola A. Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and ‘northblue’ blueberry (*Vaccinium corymbosum* x *V. angustifolium*). *Food Chem.* 2008. Vol. 110, № 1. P. 156–160.
164. Saklaeyn M. G. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current Hypertension reports.* 2018. Vol. 20, № 12. P. 8. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z> (Date of access: 14.12.2021).
165. Samson S. L., Garber A. J. Metabolic syndrome. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America.* 2014. Vol. 43, № 1. P. 1–23.
166. Schmidt B. M., Erdman J. W. Jr., Lila M. A. Effects of food processing on blueberry antiproliferation and antioxidant activity. *J. Food Sci.* 2005. Vol. 70, № 6. P. 19–26.
167. Sellappan S., Akoh C. C., Krewer G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *J. Agric. Food Chem.* 2002. Vol. 50, № 8. P. 2432–2438.
168. Senevirathne M., Kim S. H., Jeon Y. J. Protective effect of enzymatic hydrolysates from highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in Chinese hamster lung fibroblast cell line. *Nutr. Res. Pract.* 2010. Vol. 4, № 3. P. 183–190.
169. Short-dietary supplementation of blueberry polyphenolics: beneficial effect on aging brain performance and peripheral tissue function / K. A. Youdim et al. *Nutr. Neurosci.* 2000. Vol. 3, № 6. P. 383–397.
170. Song G. Q. Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Agrobacterium Protocols. Methods in Molecular Biology* / ed. by K. Wang. New York : Springer, 2015. P. 1224. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1658-0\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1658-0_11) (Date of access: 14.12.2021).



171. Spectrum-effect relationships between ultra performance liquid chromatography fingerprints and anti-bacterial activities of *Rhizoma coptidis* / W. J. Kong et al. *Analytica Chimica Acta*. 2009. Vol. 634. P. 279–285.
172. Starchenko G., Hrytsyk A., Raal A., Koshovyi O. Phytochemical profile and pharmacological activities of water and hydroethanolic dry extracts of *Calluna vulgaris* (L.) Hull. herb. *Plants*. 2020. Vol. 9. P. 751. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9060751> (Date of access: 14.12.2021).
173. Stefanov O. V. Preclinical studies of drugs. Kiev, 2001. 528 p.
174. Stremoukhov A., Koshovyi O., Kravchenko G., Krasilnikova O., Dimova G., Zhelev I. Phytochemical and pharmacological study of the northern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaves dry extract. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2021. Vol. 10, № 4. P. 1–8. DOI: <https://doi.org/10.20959/wjpr20214-20032> (Date of access: 14.12.2021).
175. Stremoukhov O., Koshovyi O., Komisarenko M., Kireyev I., Gudzenko A., Korinek M., Tsong-Long Hwang, Meng-Hua Chen, Mykhailenko O. Phytochemical research and anti-inflammatory activity of the dry extracts from northern highbush blueberry leaves. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2021. № 2 (30). P. 40–48. DOI: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2021.230288> (Date of access: 14.12.2021).
176. Strik B. C. Blueberry: an expanding world berry crop. *Chron. Hortic*. 2005. Vol. 45. P. 7–12.
177. Strik B. C., Finn C. E., Moore P. P. Blueberry cultivars for the Pacific Northwest. Corvallis : Oregon State University Extension Service, 2014. Vol. 656. P. 1–13.
178. Stull A. J. Blueberries' Impact on Insulin Resistance and Glucose Intolerance. *Antioxidants*. 2016. Vol. 5, № 4. P. 44. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox5040044> (Date of access: 14.12.2021).
179. Suppression of superoxide anion and elastase release by C18 unsaturated fatty acids in human neutrophils / T. L. Hwang et al. *J. Lipid. Res*. 2009. Vol. 50. P. 1395–1408.

180. Suzuki A., Kikuchi T., Aoba K. Effects of ethylene on fruit set and maturation of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 1997. Vol. 66. P. 267–272. DOI: <https://doi.org/10.2503/jjshs.66.267> (Date of access: 14.12.2021).
181. Sweet cherry (*Prunus avium* L.) 'Giorgia', adventitious regeneration from leaves of microplants / F. Blando et al. *Eur. J. Hortic. Sci.* 2007. Vol. 72. P. 138–143.
182. Tacquemart A.-L. *Vaccinium Uliginosum* L. *Journal of Ecology*. 1996. Vol. 84, № 5. P. 771–785.
183. Takeshita M., Ishida Y., Akamatsu E., Ohmori Y., Sudoh M., Uto H., Tsubouchi H., Kataoka H. Proanthocyanidin from blueberry leaves suppresses expression of Subgenomic hepatitis C Virus RNA. *J. Biol. Chem.* 2009. № 284. P. 21165–21176.
184. The Chemical and Biological Profiles of Leaves from Commercial Blueberry Varieties / B. E. Stefanescu et al. *Plants*. 2020. Vol. 9, № 9. P. 1193. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9091193> (Date of access: 14.12.2021).
185. The influence of harvest seasons on antioxidant activity and constituents of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) leaves / Liancai Zhu et al. *J. Agric. Food Chem.* 2013. Vol. 61, № 47. P. 11477–11483.
186. Triterpenoids and Other Non-Polar Compounds in Leaves of Wild and Cultivated *Vaccinium* Species / R. Vrancheva et al. *Plants*. 2021. Vol. 10. P. 94. <https://doi.org/10.3390/plants10010094> (Date of access: 14.12.2021).
187. USDA national nutrient database for standard reference, release 23 / U. S. Department of Agriculture ; Agricultural Research Service. 2010. URL: <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl> (Date of access: 14.12.2021).
188. *Vaccinium corymbosum* leaves, a potential source of polyphenolic compounds / R. Ștefănescu et al. *Rom. Biotechnol. Lett.* 2019. Vol. 24, № 5. P. 755–760. DOI: <https://doi.org/10.25083/rbl/24.5/755.760> (Date of access: 14.12.2021).

189. Vaughan J. G., Geissler C. A. Rorsliny jadalne. Warszawa : Pryszy rnski i Spyłka, 2001. 243 s.
190. Volatiles released from *Vaccinium corymbosum* were attractive to *Aegorhinus superciliosus* (Coleoptera: Curculionidae) in an olfactometric bioassay / L. Parra et al. *Environ. Entomol.* 2009. Vol. 38, № 3. P. 781–789.
191. Wang C. Y., Wang S. Y., Chen C. Increasing antioxidant activity and reducing decay of blueberries by essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 2008. Vol. 56, № 10. P. 3587–3592.
192. Wang S. Y., Chen C. Effect of allyl isothiocyanate on antioxidant enzyme activities, flavonoids and fruit quality of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L., cv. Duke). *Food Chem.* 2010. Vol. 122, № 4. P. 1153–1158.
193. Wang S. Y., Jiao H. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J. Agric. Food Chem.* 2000. Vol. 48, № 11. P. 5677–5684.
194. Wu X., Gu L., Prior R. L., McKay S. Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of ribes, aronia, and sambucus and their antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2004. Vol. 52. P. 7846–7856.
195. Yao Y., Vieira A. Protective activities of *Vaccinium* antioxidants with potential relevance to mitochondrial dysfunction and neurotoxicity. *Neurotoxicol.* 2007. Vol. 28, № 1. P. 93–100.
196. Yi W., Akoh C. C., Fischer J., Krewer G. Absorption of anthocyanins from blueberry extracts by caco-2 human intestinal cell monolayers. *J. Agric. Food Chem.* 2006. Vol. 54, № 15. P. 5651–5658.
197. Zagayko A. L., Kolisnyk T. Y., Chumak O. I., Ruban O. A., Koshovyi O. M. Evaluation of anti-obesity and lipid-lowering properties of *Vaccinium myrtillus* leaves powder extract in a hamster model. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology.* 2018. Vol. 29, № 6. P. 697–703.

198. Zagayko A. L., Voronina L. M., Strelchenko K. V. Metabolic Syndrom: Mechanisms of Development and Prospects for Antioxidant Therapy. Kharkiv : Golden Pages, 2007. P. 216.
199. Zheng W., Wang S. Y. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *J. Agric. Food Chem.* 2003. Vol. 51, № 2. P. 502–509.

## ДОДАТКИ

## Додаток А

## Список публікацій здобувача

1. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Дослідження жирних та органічних кислот листя лохини звичайної. Вісник фармації. 2016. № 4 (88). С. 31–33. (Особистий внесок – проведено аналіз літературних джерел, виконано експериментальне дослідження, підготовлено статтю до друку).
2. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Бородіна Н. В., Криворучко О. В. Порівняльне дослідження карбонових кислот надземної частини лохини звичайної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 1 (54). С. 46–50. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).
3. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Гонтова Т. М., Комісаренко М. А., Бородіна Н. В. Елементний склад, морфологічні та анатомічні ознаки листя лохини високорослої. *Фітотерапія. Часопис*. 2020. № 1. С. 50–56. DOI:10.33617/2522-9680-2020-1-50 (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).
4. Stremoukhov A., Koshovyi O., Kravchenko G., Krasilnikova O., Dimova G., Zhelev I. Phytochemical and pharmacological study of the northern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaves dry extract. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2021. Vol. 10, Issue 4. P. 1-8. DOI: 10.20959/wjpr20214-20032. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).
5. Stremoukhov O., Koshovyi O., Komisarenko M., Kireyev I., Gudzenko A., Korinek M., Tsong-Long Hwang, Meng-Hua Chen, Mykhailenko O. Phytochemical research and anti-inflammatory activity of the dry extracts from northern highbush blueberry leaves. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2021. № 2 (30). P. 40–48. DOI: 10.15587/2519-4852.2021.230288 (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

## Продовж. дод. А

6. Стремоухов О. О. Дослідження біологічно активних речовин легкої фракції вегетативних органів лохини високорослої. / О. О. Стремоухов, О. М. Кошовий, М. А. Комісаренко // *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Том 14. № 2(36). С. 185-193. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

7. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя лохини для корекції та профілактики метаболічного синдрому : пат. 145107 України. / О. М. Кошовий, О. О. Стремоухов, Г. Б. Кравченко, О. А. Красільнікова, А. Л. Загайко, М. А. Комісаренко. № u 202002993 ; заявл. 20.05.2020 ; опубл. 25.11.2020. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

8. Стремоухов А. А., Кошевой О. Н. Исследование фенольного состава листьев голубики. *Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку* : матеріали І наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, 24-25 берез. 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. С. 139.

9. Стремоухов О. О., Пешкова О. С., Кошовий О. М., Кіреєв І. В. Фармакогностичне дослідження *Vaccinium uliginosum*. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Національного з'їзду фармацевтів, м. Харків, 13-16 верес. 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. Т. 1. С. 141.

10. Стремоухов О. О. Перспективи використання листя лохини для створення нових дієтичних добавок. *Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту* : матеріали III наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 квіт. 2016 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 19.

11. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Бородіна Н. В. Дослідження жирних та органічних кислот пагонів лохини звичайної. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 282–284. (Особистий внесок – виконана частина

експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

Продовж. дод. А

12. Пешкова О. С., Кіреєв І. В., Кошовий О. М., Стремоухов О. О. Вивчення антибактеріальної активності екстрактів плодів та листя *Vaccinium uliginosum*. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали I Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 30-31 берез. 2017 р. Харків : НФаУ, 2017. Т. 2. С. 392.

13. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Фармакогностичне вивчення *Vaccinium corymbosum*. *Матеріали XIV з'їзду Українського ботанічного товариства*, м. Київ, 25-26 квіт. 2017 р. Київ, 2017. С. 209.

14. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Король В. В., Сербін А. Г. Дослідження жирних та органічних кислот плодів лохини звичайної. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : Вид-во НФаУ, 2017. Вип. 3. С. 276–279. (Особистий внесок – виконана частина експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

15. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Перспективи створення нових засобів на основі БАР *Vaccinium corymbosum*. *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. 195-196.

16. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Фітохімічне дослідження фенольного складу плодів *Vaccinium corymbosum*. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження* : матеріали наук.-практ. дистанційної міжнар. конф., м. Івано-Франківськ, 19-20 трав. 2020 р. Івано-Франківськ, 2020. С. 181–182.

17. Kostenko Y., Stremoukhov O., Granica S., Koshovyi O. Phytochemical study of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) leaves extracts. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення*



*лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 23-24 верес. 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 20–21.

Продовж. дод. А

18. Kostenko Y., Stremoukhov O., Granica S., Koshovyi O. Study of quantitative and qualitative composition of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) leaves extractive and qualitative composition. *International e-conference contemporary pharmacy: issues, challenges and expectations* 23rd of October 2020, Kaunas – p. 15.

Kostenko Y. O., Stremoukhov O. O., Kravchenko G. B., Koshovyi O. M., Sebastian Granica. Highbush blueberry leaves extract as a promising agent for the correction of metabolic syndrome. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів присвяч. 150-річчю з дня народж. М. О. Валяшка, м. Харків, 18-19 берез. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 51.

Додаток Б  
**Апробація результатів дисертації**

1. Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку: I науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю (Харків, 2016 р., форма участі – публікація тез);
2. VIII Національному з'їзді фармацевтів (Харків, 2016 р., форма участі – публікація тез);
3. Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту: III науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю (Харків, 2016 р., форма участі – публікація тез);
4. Ліки – людині «Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів»: I міжнародна науково-практична конференція (Харків, 2017 р., форма участі – усна доповідь);
5. XIV з'їзд Українського ботанічного товариства (Київ, 2017 р., форма участі – публікація тез);
6. III Міжнародна науково практична інтернет-конференція «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 2018 р., форма участі – усна доповідь);
7. Науково-практична дистанційна міжнародна конференція «Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження» (Івано-Франківськ, 2020 р., форма участі – публікація тез);
8. VII науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2020 р., форма участі – публікація тез);
9. International e-conference contemporary pharmacy: issues, challenges and expectations (Kaunas, 2020 р., форма участі – публікація тез);
10. *Topical issues of new medicines development*: XXVIII міжнародна науково-практична конференція молодих учених та студентів, присвяченої 150-річчю

з дня народження М.О. Валяшка (Харків, 2021 р., форма участі – публікація тез).

## Додаток В1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Ректор ПВНЗ «Київського медичного  
 університету»  
 професор Б. Б. Івнєв

« 22 » \_\_\_\_\_ 2021 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати вивчення хімічного складу та фармакологічної активності екстрактів з листя лохини високорослої.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, асп. Стремоухов О. О., проф. Кошовий О. М.
3. **Джерело інформації:**
  1. Стремоухов О. О. Дослідження біологічно активних речовин леткої фракції вегетативних органів лохини високорослої / О. О. Стремоухов, О. М. Кошовий, М. А. Комісаренко // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Том 14. № 2(36). С. 185-193.
  2. Stremoukhov O., Koshovyi O., Komisarenko M., Kireyev I., Gudzenko A., Korinek M., Tsong-Long Hwang, Meng-Hua Chen, Mykhailenko O. Phytochemical research and anti-inflammatory activity of the dry extracts from northern highbush blueberry leaves. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2021. № 2 (30). P. 40–48. DOI: 10.15587/2519-4852.2021.230288 / wjpr20214-20032.
  3. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Гонтова Т. М., Комісаренко М. А., Бородіна Н. В. Елементний склад, морфологічні та анатомічні ознаки листя лохини високорослої. *Фітотерапія. Часопис*. 2020. № 1. С. 50–56. DOI:10.33617/2522-9680-2020-1-50
4. **Де впроваджено:** кафедра фармацевтичної і біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київського медичного університету».
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, науково-дослідна робота, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу екстрактів з листя лохини високорослої та їх фармакологічної активності.
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Завідувач кафедри  
 фармацевтичної і біологічної хімії,  
 фармакогнозії ПВНЗ «Київського медичного  
 університету», д.фарм.н,



проф. О. Ю. Коновалова

## Додаток В2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Проректор з науково роботи  
 Запорізького державного  
 медичного університету  
 професор В. О. Туманський



2021 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** методи одержання екстрактів з листя лохини високорослої, дослідження їх хімічного складу та виявлення гіпоглікемічної та гіполіпідемічної активності.

**2. Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, асп. Стремоухов О. О., проф. Кошовий О. М.

**3. Джерело інформації:**

1. Stremoukhov O., Koshovyi O., Komisarenko M., Kireyev I., Gudzenko A., Korinek M., Tsong-Long Hwang, Meng-Hua Chen, Mykhailenko O. Phytochemical research and anti-inflammatory activity of the dry extracts from northern highbush blueberry leaves. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2021. № 2 (30). P. 40–48. DOI: 10.15587/2519-4852.2021.230288
2. Stremoukhov A., Koshovyi O., Kravchenko G., Krasilnikova O., Dimova G., Zhelev I. Phytochemical and pharmacological study of the northern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaves dry extract. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2021. Vol. 10, Issue 4. P. 1-8. DOI: 10.20959 / wjpr20214-20032.
3. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя лохини для корекції та профілактики метаболічного синдрому : пат. 145107 України. / О. М. Кошовий, О. О. Стремоухов, Г. Б. Кравченко, О. А. Красільнікова, А. Л. Загайко, М. А. Комісаренко. № u 202002993 ; заявл. 20.05.2020 ; опубл. 25.11.2020.

**4. Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету

**5. Форма впровадження:** навчальний процес (лекційний курс, практичні заняття), наукова робота викладачів кафедри.

**6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань одержання екстрактів з листя лохини високорослої, дослідження їх хімічного складу, гіпоглікемічної та гіполіпідемічної активності.

**7. Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармакогнозії,  
 фармакології та ботаніки  
 Запорізького державного медичного  
 університету, д.біол.н., професор



проф. С. Д. Тржецинський



## Додаток В3



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

проєкту з науково-педагогічної роботи  
 Національного університету  
 «Львівська політехніка»

Давидчак О.Р.

25» січня 2021р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** Результати вивчення хімічного складу листя лохини високорослої для створення нового лікарського засобу для корекції та профілактики метаболічного синдрому.

**2. Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, асп. Стремоухов О. О., проф. Кошовий О. М.

**3. Джерело інформації:**

1. Спосіб одержання лікувально-профілактичного засобу з листя лохини для корекції та профілактики метаболічного синдрому : пат. 145107 України. / О. М. Кошовий, О. О. Стремоухов, Г. Б. Кравченко, О. А. Красільнікова, А. Л. Загайко, М. А. Комісаренко. № u 202002993 ; заявл. 20.05.2020 ; опубл. 25.11.2020.
2. Stremoukhov A., Koshovyi O., Kravchenko G., Krasilnikova O., Dimova G., Zhelev I. Phytochemical and pharmacological study of the northern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaves dry extract. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2021. Vol. 10, Issue 4. P. 1-8. DOI: 10.20959 / wjpr20214-20032.
3. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Фармакогностичне вивчення *Vaccinium corymbosum*. *Матеріали XIV з'їзду Українського ботанічного товариства*, м. Київ, 25-26 квіт. 2017 р. Київ, 2017. С. 209.

**4. Де впроваджено:** кафедра технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка».

**5. Форма впровадження:** навчальний процес (лекційний курс, практичні заняття), наукова робота викладачів кафедри.

**6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань вивчення хімічного складу листя лохини високорослої, а також нових біологічно активних субстанцій на його основі для профілактики метаболічного синдрому.

**7. Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

В. о. завідувача кафедри технології біологічно активних сполук фармації та біотехнології  
 Національного університету  
 «Львівська політехніка», д.х.н., проф.

В. І. Лубенць

## Додаток В4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор  
з науково-педагогічної роботиЛьвівського національного медичного  
університету ім. Данила Галицького

мен-кор. НАМНУ

професор М. Р. Гжегоцький



2021 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати досліджень щодо розробки критеріїв та числових параметрів стандартизації листа лохини високорослої.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, асп. Стремоухов О. О., проф. Кошовий О. М.
3. **Джерело інформації:**
  1. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Гонтова Т. М., Комісаренко М. А., Бородіна Н. В. Елементний склад, морфологічні та анатомічні ознаки листа лохини високорослої. *Фітотерапія. Часопис*. 2020. № 1. С. 50–56. DOI:10.33617/2522-9680-2020-1-50.
  2. Stremoukhov A., Koshovyi O., Kravchenko G., Krasilnikova O., Dimova G., Zhelev I. Phytochemical and pharmacological study of the northern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaves dry extract. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2021. Vol. 10, Issue 4. P. 1-8. DOI: 10.20959 / wjpr20214-20032.
  3. Стремоухов О. О. Перспективи використання листа лохини для створення нових дієтичних добавок. *Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту* : матеріали III наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 квіт. 2016 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 19.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес (лекційний курс, практичні заняття), наукова робота викладачів кафедри.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань вивчення хімічного складу листа лохини високорослої, а також нових біологічно активних субстанцій на його основі з протизапальною активністю.
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармакогнозії і ботаніки  
Львівського національного медичного університету  
ім. Данила Галицького, канд.фарм.наук, доцент

Н. В. Шаповалова



## Додаток В5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор

з науково-педагогічної роботи

Львівського національного медичного

університету ім. Данила Галицького

член-кор. НАМНУ

професор М. Р. Гжегоцький



2021 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Результати досліджень щодо розробки критеріїв та числових параметрів стандартизації листя лохини високорослої.
- 2. Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, асп. Стремоухов О. О., проф. Кошовий О. М.
- 3. Джерело інформації:**
  1. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Гонтова Т. М., Комісаренко М. А., Бородіна Н. В. Елементний склад, морфологічні та анатомічні ознаки листя лохини високорослої. *Фітотерапія. Часопис*. 2020. № 1. С. 50–56. DOI:10.33617/2522-9680-2020-1-50.
  2. Stremoukhov A., Koshovyi O., Kravchenko G., Krasilnikova O., Dimova G., Zhelev I. Phytochemical and pharmacological study of the northern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaves dry extract. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2021. Vol. 10, Issue 4. P. 1-8. DOI: 10.20959 / wjpr20214-20032.
  3. Стремоухов О. О. Перспективи використання листя лохини для створення нових дієтичних добавок. *Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту* : матеріали III наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 квіт. 2016 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 19.
- 4. Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.
- 5. Форма впровадження:** навчальний процес (лекційний курс, практичні заняття), наукова робота викладачів кафедри.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань вивчення хімічного складу листя лохини високорослої, а також нових біологічно активних субстанцій на його основі з протизапальною активністю.
- 7. Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармакогнозії і ботаніки  
Львівського національного медичного університету  
ім. Данила Галицького, канд.фарм.наук, доцент

Н. В. Шаповалова



## Додаток В6



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ


1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати досліджень хімічного складу та фармакологічної активності екстрактів лохини високорослої листя.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, асп. Стремоухов О. О., проф. Кошовий О. М.
3. **Джерело інформації:**
  1. Stremoukhov A., Koshovyi O., Kravchenko G., Krasilnikova O., Dimova G., Zhelev I. Phytochemical and pharmacological study of the northern high bush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaves dry extract. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2021. Vol. 10, Issue 4. P. 1-8. DOI: 10.20959 / wjpr20214-20032.
  2. Stremoukhov O., Koshovyi O., Komisarenko M., Kireyev I., Gudzenko A., Korinek M., Tsong-Long Hwang, Meng-Hua Chen, Mykhailenko O. Phytochemical research and anti-inflammatory activity of the dry extracts from northern high bush blueberry leaves. *Science Rise: Pharmaceutical Science*. 2021. № 2 (30). P. 40-48. DOI: 10.15587/2519-4852.2021.230288 / wjpr20214-20032.
  3. Стремоухов О. О. Перспективи використання листя лохини для створення нових дієтичних добавок. *Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту* : матеріали III наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 квіт. 2016 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 19.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес (лекційний курс, практичні заняття), наукова робота викладачів кафедри.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу екстрактів з листя лохини високорослої та їх фармакологічної активності.
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Завідувач кафедри  
фармакології та фармакогнозії  
Одеського національного  
медичного університету, д.мед.н, проф.

Я. В. Рожковський

## Додаток В7



«Затверджую»  
 Проректор з науково-педагогічної роботи  
 Національного фармацевтичного університету  
 проф.  І.М. Владими́рова  
 «08» 06 2021 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати дослідження анатомічної будови листя та стебел лохини високорослої
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії, асп. Стремоухов О. О., проф. Кошовий О. М.
3. **Джерела інформації:**
  1. Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Гонтова Т. М., Комісаренко М. А., Бородіна Н. В. Елементний склад, морфологічні та анатомічні ознаки листя лохини високорослої. Фітотерапія. Часопис. 2020. № 1. С. 50-56. DOI: 10.33617/2522-9680-2020-1-50
  2. Stremoukhov A., Koshovyi O., Kravchenko G., Krasilnikova O., Dimova G., Zhelev I. Phytochemical and pharmacological study of the northern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaves dry extract. World Journal of Pharmaceutical Research. 2021. Vol. 10, Issue 4. P. 1-8. DOI: 10.20959/wjpr20214-20032.
  3. Стремоухов О. О. Дослідження біологічно активних речовин легкої фракції вегетативних органів лохини високорослої/О. О. Стремоухов, О. М. Кошовий, М. А. Комісаренко // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Том 14. № 2(36). С. 185-193.
  4. Стремоухов О. О. Перспективи використання листя лохини для створення нових дієтичних добавок. Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту : матеріали III наук.-практ. internet-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 квіт. 2016 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 19.
  5. Стремоухов О. О., Кошовий О. М. Фармакогностичне вивчення *Vaccinium corymbosum*. Матеріали XIV з'їзду Українського ботанічного товариства, м. Київ, 25-26 квіт. 2017 р. Київ, 2017. С. 209.
4. **Де впроваджено:** Кафедра ботаніки Національного фармацевтичного університету.
5. **Форма впровадження:** у науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету.
6. **Ефективність впровадження:** результати наукових досліджень з морфолого-анатомічної будови листя та стебел лохини високорослої.
7. **Термін впровадження:** 2020-2021 навч. рік.

Завідувачка кафедри ботаніки  
 Національного фармацевтичного університету,  
 проф.



Т.М. Гонтова



## Додаток В8

**Акт приймання-передачі № 285/05**

від "08" вересня 2020 р.

ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик" в особі генерального директора Сафонов В.А. (надалі іменуватися «Замовник»), з однієї сторони, і Кошовий О.М., завідувач кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету (надалі іменуватися «Виконавець»), з іншої сторони, склали цей Акт про те, що Замовник прийняв від Виконавця:

- блок-схеми та технологічні інструкції зі способу одержання сухих екстрактів з листя лохини високорослої для написання технологічних регламентів;
- проекти методик контролю якості на одержані сухі екстракти з листя лохини високорослої для розробки фармацевтичного досіє на лікарські засоби.

Розроблені проекти документації передані повністю, зауважень до їх якості, достовірності та відтворюваності в промислових та лабораторних умовах ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик" немає.

Документацію передав:

Завідувач кафедри фармакогнозії  
Національного фармацевтичного університету

Кошовий О.М.

Документацію прийняв:

Генеральний директор  
ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик"

Сафонов В.А.



## Додаток В9

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Генеральний директор  
 ТОВ "КФК" Грін фарм Косметик"  
 Сафонов В.А.  
 "05" жовтня 2020 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

Розроблені проекти методик контролю якості на сухі екстракти з листя лохини високорослої, які були апробовані в лабораторних умовах ТОВ "КФК" Грін фарм Косметик" та використані при аналізі якості екстрактів, які отримані на промисловому обладнанні. При розробці документації були використані матеріали науково-дослідної роботи аспіранта Стремоухова О.О.

Запропоновані методики, отримані в результаті науково-технічної співпраці ТОВ "КФК" Грін фарм Косметик" та кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.

Отримані екстракти відповідали показникам якості розроблених проектів МКЯ та були передані для дослідження строків придатності.

Директор з виробництва  
 ТОВ "КФК" Грін фарм Косметик "



Ніколов В.В.

Завідувач кафедри фармакогнозії  
 Національного фармацевтичного університету



Кошовий О.М.

## Додаток В10

„ЗАТВЕРДЖУЮ”


 Генеральний директор  
 ТОВ "КФК" Грін фарм Косметик"

Сафонов В.А.

"05" жовтня 2020 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результати наукових досліджень аспіранта кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету **Стремоухова Олександра Олександровича** були використані при опрацюванні технології виробництва сухих екстрактів з листя лохини високорослої на промислових потужностях ТОВ "КФК" Грін фарм Косметик" згідно проекту технологічної документації. Запропонована технологія повністю відтворюється у промислових умовах.

Було отримано три серії екстрактів, по 1,54, 1,12 та 1,34 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 "КФК" Грін фарм Косметик" та кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.

 Директор з виробництва  
 ТОВ "КФК" Грін фарм Косметик "



Ніколов В.В.

 Завідувач кафедри фармакогнозії  
 Національного фармацевтичного університету



Кошевий О.М.

## Додаток В1

ЗАТВЕРДЖЕНО

Наказ Міністерства охорони  
здоров'я України

№ \_\_\_\_\_

Регістраційне посвідчення

Виробник  
країна: ТОВ " "КФК" Грін фарм Косметик"  
УКРАЇНА



МЕТОДИКИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ  
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

---

*Vaccinii corymbosi folii extractum siccum*

Лохнин високорослої листя екстракт сухий,

екстракт сухий (субстанція)

у банках із скломаси для виробництва нестерильних лікарських  
форм



Продовж. дод. В11

### 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, об'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*

Генеральний директор  
ТОВ "КФК" Грін фарм Косметик"



Сафонов В.А.

Завідувач кафедри фармакогнозії  
Національного фармацевтичного університету

Кошовий О.М.



## Додаток Д

<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57224095698>

## Stremoukhov, Oleksandr

[National University of Pharmacy, Kyiv, Ukraine](#)  
[Связать с ORCID](#) [История связей на профиль Mendeliev](#)

[Редактировать профиль](#) [Настроить оповещения](#) [Потенциальные коллеги/тема авторов](#)  
[Экспортировать в CSV](#)

---

### Обзор показателей

- 2 Документы автора
- 1 Цитирование по 1 документу
- 1 Атрибут

### Документ и тенденции цитирования

### Темы с наибольшим вкладом 2016–2020

В настоящее время для этого автора нет тем. Узнать причину или получить дополнительные сведения о темах в целом. [Подробнее о темах](#)

[Просмотреть все темы](#)

---

2 ДОКУМЕНТА
Цитирования в 1 документе
0 Препринты
Соавторов: 34
Темы
0 Awarded grants NEW

---

**Примечание:** Пользователи Scopus InView могут просматривать только последние 10 документов автора, и большинство остальных функций не работают. У вас есть доступ через учреждение? Узнайте в своем учреждении о наличии доступа, чтобы просматривать все документы и пользоваться всеми функциями.

---

Экспортировать все [Добавить все в список](#)

Сортировать по: [Дата \(самолatest\)](#)

<ul style="list-style-type: none"> <li><a href="#">Просмотреть ссылки в формате реферативной ссылки</a></li> <li><a href="#">Просмотреть представленные ссылки</a></li> <li><a href="#">Настроить оповещения о документах</a></li> </ul>	<p><b>Article</b> • <a href="#">OpenPeerReview доступ</a></p> <p><b>Highbush blueberry (<i>Vaccinium corymbosum</i> L.) leaves extract and its modified arginine preparation for the management of metabolic syndrome—chemical analysis and bioactivity in rat model</b></p> <p>Kozhoyi, O., Szanics, S., Pleskavski, J.P., Litvinchikova, O., Zayats, A.  <i>Nahrung</i>, 2021, 13(8), 200</p> <p><a href="#">Просмотреть реферат</a> <a href="#">Связанные документы</a></p>	<p>1 Citations</p>
<p><b>Article</b> • <a href="#">OpenPeerReview доступ</a></p> <p><b>Phytochemical research and anti-inflammatory activity of the dry extracts from northern highbush blueberry leaves</b></p> <p>Stremoukhov, O., Kozhoyi, O., Koshcharenko, M., Olex, M.-H., Mykhailenko, O.  <i>Scientific Pharmaceutical Science</i>, 2022, 18(2), стр. 45-48</p> <p><a href="#">Просмотреть реферат</a> <a href="#">Связанные документы</a></p>	<p>0 Citations</p>	



Додаток Е

УКРАЇНА

**ПАТЕНТ****НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ****№ 145107****СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНОГО  
ЗАСОБУ З ЛИСТЯ ЛОХИНИ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ТА  
ПРОФІЛАКТИКИ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ**

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі України корисних моделей  
25.11.2020.

Генеральний директор  
Державного підприємства  
«Український інститут  
інтелектуальної власності»

А.В. Кудін

