

Національний фармацевтичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Науменко Любов Сергіївна**

УДК: 615.07:615.281.8:615.451.1:54.061/.062:582.724.1

**ДИСЕРТАЦІЯ**

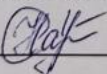
**«Фармакогностичне вивчення обліпихи крушиноподібної (*Hippophaë  
rhamnoides L.*)»**

226 – Фармація, промислова фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

  
Л. С. Науменко

Науковий керівник Журавель Ірина Олександрівна, доктор фармацевтичних наук, професор

Харків – 2024

## АНОТАЦІЯ

*Науменко Л. С.* Фармакогностичне вивчення обліпихи крушиноподібної (*Hippophaë rhamnoides* L.). – 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, 2024.

Дисертаційна робота присвячена комплексному порівняльному фармакогностичному вивченню листя, плодів та кори обліпихи крушиноподібної, одержанню лікарських рослинних засобів, стандартизації сировини та одержаних рослинних засобів.

*Перший розділ* містить результати аналізу сучасної наукової літератури щодо ботанічної характеристики, хімічного складу та фармакологічних властивостей обліпихи крушиноподібної. Біологічно активні речовини сировини обліпихи крушиноподібної представлені вуглеводами, органічними кислотами, нітрогеновмісними, фенольними та терпеновими сполуками. Науковцями різних країн встановлено, що екстракти обліпихи крушиноподібної володіють широким спектром фармакологічної активності, зокрема антиоксидантною, антибактеріальною, протівірусною тощо. На фармацевтичному ринку України присутні лікарські засоби на основі біологічно активних речовин плодів і листя обліпихи: олія обліпихова, супозиторії з олією обліпиховою, Олазол, Еребра. Але стандартизацію плодів й досі проводять за вимогами застарілих нормативних документів: свіжих – за ТФС 42–1741–87, висушених – ТУ 64–4–72–88, а листя та кора рослини не є стандартизованими. На сьогодні не проводилось комплексного порівняльного дослідження, а також відсутні параметри стандартизації сировини обліпихи крушиноподібної, що зумовлює актуальність обраної теми.

*У другому розділі* наведено відомості щодо об'єктів, методів, реактивів і методик, за якими здійснювалось вивчення якісного складу та визначення

вмісту біологічно активних речовин у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної.

У *третьому розділі* наведено результати проведенні фітохімічного дослідження сировини обліпихи крушиноподібної.

Хімічними реакціями, хроматографією на папері, у тонкому шарі сорбенту, високоефективною рідинною, хромато-мас- та атомно-емісійною спектрометрією вивчено якісний склад листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної. Встановлено наявність вуглеводів, органічних, зокрема жирних, гідроксикарбонових, фенольних та амінокислот, флавоноїдів, дубильних речовин, хлорофілів, каротиноїдів, макро- та мікроелементів.

Методом ВЕРХ визначено амінокислотний склад сировини обліпихи крушиноподібної. В усіх об'єктах дослідження у вільному і зв'язаному стані виявлена аспарагінова кислота, серин, гліцин, треонін, аргінін, аланін, валін, ізолейцин і пролін. Амінокислота лейцин визначена у листі та плодах, глютамінова кислота і метіонін містилися тільки в корі обліпихи крушиноподібної. Кількісний вміст суми вільних амінокислот, визначений спектрофотометричним методом, склав: у листі –  $0,89 \pm 0,04$  %, у плодах –  $0,55 \pm 0,02$  %, у корі –  $0,75 \pm 0,03$  %.

Методом ПХ і ТШХ встановлено якісний склад нижчих органічних кислот у сировині обліпихи крушиноподібної. У листі та плодах обліпихи ідентифіковано яблучну, аскорбінову, лимонну та бурштинову кислоти, у корі – яблучну та бурштинову. Титриметричним методом визначено вміст вільних органічних кислот, а спектрофотометричним – аскорбінової кислоти. Вміст суми вільних органічних кислот у листі склав  $1,08 \pm 0,08$  %, аскорбінової кислоти –  $80,00 \pm 3,20$  мг/100 г, у плодах –  $1,96 \pm 0,14$  % і  $440,00 \pm 17,60$  мг/100 г відповідно. Кора мала значно нижчий показник кислотності, який склав  $0,71 \pm 0,06$  %.

Жирнокислотний склад сировини обліпихи крушиноподібної вивчали методом ГХ/МС. Усі зразки сировини містили пальмітинову, олеїнову, лінолеву та арахінову кислоти. Міристинова, маргарінова та лігноцеринова кислоти ідентифіковані у листі обліпихи, генейкоцилова та ерукова – у корі.

Стеаринову кислоту визначено у листі та плодах, бегенову – у листі та корі обліпихи крушиноподібної. Ненасичені жирні кислоти домінували у листі обліпихи крушиноподібної ( $1021,00 \pm 15,31$  мг/100 г), насичені – у плодах і корі ( $6442,00 \pm 96,63$  мг/100 г і  $2624,00 \pm 39,35$  мг/100 г відповідно).

За допомогою ВЕРХ аналізу проведено вивчення фенольних і гідроксикарбонових кислот у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної. Усі види сировини, що досліджувалися, містили гідроксикоричні кислоти (хлорогенову, кофейну, сирінгову, ферулову, синапову та цинамову) і гідроксикарбонову хінну кислоту, яка визначена у найбільшій кількості. Похідні бензойної кислоти (галова та гідроксифенілоцтова) та кумарова кислота були ідентифіковані тільки у листі та плодах обліпихи. Хлорогенова кислота домінувала за вмістом серед гідроксикоричних кислот. Визначення вмісту гідроксикоричних кислот проводили спектрофотометричним методом. Встановлено, що найбільше накопичення гідроксикоричних кислот спостерігалось у листі обліпихи –  $1,54 \pm 0,06$  %, найменше у корі –  $0,43 \pm 0,02$  %.

Виявлення флавоноїдів здійснювали хімічними реакціями, паперовою та тонкошаровою хроматографією. У результаті хроматографічного аналізу у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної ідентифіковано рутин, астрагалін, кемпферол і кверцетин. Також у листі та плодах встановлено наявність кверцитрину, ізокверцитрину та лютеоліну, а у листі ще й гіперозиду. Спектрофотометрією визначено вміст флавоноїдів у сировині обліпихи, який склав у листі –  $4,10 \pm 0,15$  %, у плодах –  $2,27 \pm 0,09$  %, у корі –  $1,18 \pm 0,05$  %.

Наявність дубильних речовин визначали осадовими та кольоровими реакціями ідентифікації. Встановлено, що у сировині обліпихи крушиноподібної містилися гідролізовані дубильні речовини. Спектрофотометричне визначення суми поліфенольних сполук показало, що їх вміст у листі обліпихи крушиноподібної становив  $9,46 \pm 0,26$  %, у плодах –  $4,33 \pm 0,18$  %, у корі –  $13,11 \pm 0,40$  %.

Вивчення вуглеводів проводили хроматографічним методом. У сировині обліпихи крушиноподібної за допомогою ТШХ аналізу у вільному стані ідентифіковані такі цукри: глюкоза, фруктоза та сахароза. Методом ГХ/МС

визначено компонентний склад і вміст вільних і зв'язаних цукрів та їх похідних у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної. Маніт і сорбіт були ідентифіковані в усіх видах сировини. Рамноза та арабіноза виявлена у вільному і зв'язаному стані у плодах обліпихи, а у листі та корі тільки у зв'язаному. Фруктоза в усіх зразках сировини визначена лише у вільному стані, а ксилоза – у зв'язаному. Маноза і глюкоза у листі та корі були наявні у вільному та зв'язаному, а у плодах – тільки у вільному стані. У листі та корі галактоза містилася у зв'язаному, у плодах – у вільному стані. Серед усіх ідентифікованих сполук сорбіт містився у мажоритарних кількостях у листі та плодах, у корі – у зв'язаному стані.

Виявлення полісахаридів проводили осадовою реакцією з 96 % етанолом, а кількісне визначення – гравіметричним методом. Домінуюча їх кількість встановлена у плодах обліпихи крушиноподібної –  $10,09 \pm 0,63$  %, найменша у корі –  $6,54 \pm 0,43$  %. Вміст у листі обліпихи склав  $8,72 \pm 0,55$  %.

Для встановлення наявності пектинових речовин у сировині обліпихи крушиноподібної проводили реакцію з розчином карбазолу (малинове забарвлення). Кількісне визначення здійснювали спектрофотометричним методом, в результаті проведення якого отримані такі результати: у листі –  $2,23 \pm 0,17$  %, у плодах –  $4,20 \pm 0,30$  %, у кора –  $1,19 \pm 0,09$  %.

Для визначення елементного складу сировини обліпихи крушиноподібної використовували атомно-емісійну спектрометрію. У всіх об'єктах ідентифіковано та визначено вміст 15 макро- та мікроелементів. Серед макроелементів у листі та плодах спостерігалось максимальне накопичення калію ( $1154,00 \pm 2,78$  мг/100 г і  $1500,00 \pm 3,00$  мг/100 г відповідно), у корі – магнію ( $110,00 \pm 0,56$  мг/100 г). Домінуючими мікроелементами були силіцій у листі та плодах ( $369,40 \pm 0,73$  мг/100 г і  $76,60 \pm 0,68$  мг/100 г відповідно), молібден – у корі ( $240,00 \pm 0,56$  мг/100 г). Вміст важких металів знаходився в межах гранично допустимих концентрацій, що регламентуються вимогами ДФУ.

Наявність хлорофілів і каротиноїдів у сировині обліпихи крушиноподібної встановлювали методом ТШХ. У результаті аналізу в листі обліпихи виявлено 8, у плодах – 5, у корі – 3 речовини, які за забарвленням у денному

світлі та флуоресценцією в УФ-світлі були віднесені до хлорофілів і каротиноїдів. Визначення вмісту проводили спектрофотометричним методом. Вміст хлорофілів а і b у листі обліпихи крушиноподібної склав  $4,07 \pm 0,17$  мг/г і  $3,21 \pm 0,14$  мг/г, у корі –  $2,78 \pm 0,12$  мг/г і  $1,83 \pm 0,09$  мг/г відповідно. Каротиноїди накопичувалися у сировині обліпихи крушиноподібної у таких кількостях: у листі –  $7,28 \pm 0,26$  мг/г, у плодах –  $9,72 \pm 0,34$  мг/г, у корі –  $2,30 \pm 0,11$  мг/г.

*Четвертий розділ* містить результати досліджень щодо стандартизації листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної, одержання рідких екстрактів з сировини та вивчення їх фармакологічної активності.

Вивчено морфолого-анатомічну будову листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної. Для листка обліпихи визначені такі діагностичні ознаки: листки прості, короткочерешкові, без прилистків, лінійно-ланцетної форми, з клиноподібною основою та цільним краєм, загорнутим донизу, темно-зелені з восковим нальотом і добре вираженою центральною жилкою з верхнього боку, бурувато-сріблясті, зірчасто-лускато опушені з нижнього. Мікроскопічними діагностичними ознаками є прямостінні клітини верхньої епідерми з потовщеними оболонками, клітини верхньої епідерми видовжені вздовж жилки, аномоцитний тип продихового апарату, наявність на нижньому боці листка кутикули, щиткоподібних і зірчастих волосків, однопучкова центральна жилка, провідний пучок колатеральний у формі напівмісяця.

Для плодів встановлено такі ознаки: плід – округла, видовжено-округла або циліндрична несправжня кістянка, від світло-жовтого до темно-оранжевого або червоного кольору, іноді з бурими цятками та одною насінною видовжено яйцеподібною, округлою або яйцеподібною форми, брунатного або майже чорного кольору. Запах специфічний, ананасовий. Смак кисло-солодкий. Мікроскопічні діагностичні структури такі: прямостінні клітини епідерми гіпантія з потовщеними оболонками, наявність щиткоподібних волосків на епідермі, паренхімні клітини м'якоті гіпантія різні за розміром та формою, в яких містяться хромопласти та краплі олії. Насіння вкрите тонкою трьохшаровою плівкою, зовнішній шар якої складається з витягнутих клітин

з намистоподібно потовщеними оболонками, середній – з тонкостінних клітин різної неправильної форми, внутрішній – з витягнутих клітин з сильно потовщеними оболонками.

Серед морфологічних ознак кори слід виділити жолобувату форму, гладеньку, блискучу, від сріблястого до бурувато-зеленого або жовтувато-бурого кольору зовнішню поверхню, світло- або сірувато-коричневого кольору внутрішню, рівний або коротко занозистий злам. До анатомічних діагностичних ознак належать: 3-4 рядний корок, клітини якого заповнені коричневим вмістом, фелема, яка представлена шарами рівномірно розташованих зон великих тонкостінних клітин без вмісту, 3-2 ряди витягнутих в тангентальному напрямку клітин фелодерми та округлі або овальні клітини корової паренхіми, що містять хлоропласти, великі міжклітинники корової паренхіми, чисельні групи склереїд круглої та овальної форми в паренхімі кори, зруйновані ситоподібні трубки у вигляді темних нерівних ліній.

Для сировини обліпихи крушиноподібної визначено показники якості – втрату в масі при висушуванні та золу загальну, а також технологічні параметри та вміст екстрактивних речовин. Втрата в масі при висушуванні листя обліпихи склала  $7,32 \pm 0,53$  %, плодів –  $10,54 \pm 0,63$  %, кори –  $6,35 \pm 0,42$  %. У листі обліпихи вміст загальної золи визначений у кількості  $7,54 \pm 0,55$  %, у плодах –  $4,16 \pm 0,31$  %, у корі –  $2,84 \pm 0,21$  %.

Результати визначення технологічних параметрів та вмісту екстрактивних речовин були враховані при розробці технології одержання рідких екстрактів із сировини обліпихи крушиноподібної. Встановлено, що оптимальним екстрагентом за виходом екстрактивних речовин для всіх видів сировини був 70 % етанол. Максимальний вміст екстрактивних речовин при застосуванні цього розчинника склав: для листя –  $39,13 \pm 1,25$  %, для плодів –  $27,95 \pm 0,97$  %, для кори –  $21,50 \pm 0,67$  %.

Рідкі екстракти листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної одержували вакуумно-фільтраційною екстракцією. Вивчення якісного складу біологічно активних речовин одержаних екстрактів проводили методом ТШХ, в результаті якого були ідентифіковані гідроксикоричні кислоти і флавоноїди.

Для екстрактів встановлено показники якості згідно з вимогами ДФУ: вміст етанолу, важких металів, сухого залишку, відносна густина та мікробіологічна чистота. Кількісне визначення діючих речовин у рідких екстрактах здійснювали спектрофотометричним методом. Вміст гідроксикоричних кислот у рідкому екстракті листя обліпихи крушиноподібної становив  $1,83 \pm 0,08$  %, у рідкому екстракті плодів –  $1,55 \pm 0,07$  %, у рідкому екстракті кори –  $0,96 \pm 0,05$ %; флавоноїдів –  $4,77 \pm 0,19$  %,  $2,64 \pm 0,12$  % і  $1,52 \pm 0,07$  % відповідно, поліфенольних сполук –  $11,12 \pm 0,44$  %,  $5,29 \pm 0,23$  % і  $14,41 \pm 0,57$  % відповідно.

Проведено вивчення цитотоксичної концентрації та фармакологічної активності рідких екстрактів сировини обліпихи крушиноподібної. Встановлено, що рідкі екстракти є малотоксичними: цитотоксична концентрація рідкого екстракту листя дорівнювала 1:30, рідкого екстракту плодів – 1:10, рідкого екстракту кори – 1:100. Встановлено виражену противірусну та антимікробну активності для усіх одержаних рідких екстрактів обліпихи крушиноподібної.

Новизна проведених досліджень підтверджена патентом України на корисну модель № u 2023 05721 від 27.03.2024 «Спосіб одержання лікарського екстракту з плодів обліпихи».

За результатами експериментальних досліджень розроблено проекти методів контролю якості «Обліпихи крушиноподібної листя», «Обліпихи крушиноподібної плоди», «Обліпихи крушиноподібної кора», «Обліпихи крушиноподібної плодів екстракт рідкий».

Результати досліджень впроваджено у науково-дослідну роботу споріднених кафедр закладів вищої освіти України та наукових установ.

*Ключові слова:* обліпиха крушиноподібна, лікарська рослинна сировина, якісний аналіз, кількісне визначення, стандартизація, рідкий екстракт, противірусна активність, антимікробна активність.

*Список публікацій здобувача*

1. Науменко Л. С., Попова Н. В., Бобрицька Л. О. Гідроксикоричні кислоти обліпихи крушиноподібної. *Український біофармацевтичний журнал.*



2019. № 4 (61). С. 70–74. DOI: 10.24959/ubphj.19.248 (*Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті*)

2. Науменко Л. С., Попова Н. В. Дослідження вуглеводів сировини обліпихи звичайної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 4 (65). С. 64–69. DOI: 10.24959/ubphj.20.287 (*Особистий внесок – брала участь в обробці, узагальненні результатів та підготовці статті*)

3. Исследование минерального состава сырья облепихи крушиновидной (*Hippophaë rhamnoides* L.) / Л. С. Науменко, Н. В. Попова, Е. В. Гладух, Л. А. Бобрицкая. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 38. С. 46–49. (*Особистий внесок – брала участь в обробці, узагальненні результатів та підготовці статті*)

4. Науменко Л. С., Попова Н. В. Біоактивні речовини листя обліпихи крушиновидної. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 43. С. 38–41. (*Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті*)

5. Науменко Л. С., Попова Н. В. Жирнокислотний склад сировини обліпихи крушиновидної. *Вісник фармації*. 2022. № 1 (103). С. 26–32. DOI: 10.24959/nphj.22.52 (*Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті*)

6. Науменко Л., Журавель І. Вивчення протимікробної активності екстрактів обліпихи крушиноподібної. *Annals of Mechnikov Institute*. 2023. № 4. С. 42–45. DOI: 10.5281/zenodo.10257260 (*Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті*)

7. Науменко Л. С., Попова Н. В. Спосіб одержання лікарського екстракту з плодів обліпихи: пат. України на корисну модель № u 2023 05721; Заявл. 28.11.2023; Опубл. 27.03.2024; Бюл. № 13.

8. Popova N. V., Naumenko L. S., Bobritskaya L. A. Perspective for studying of sea buckthorn zoned in Ukraine. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: мат. III Міжнар. наук.-практ. internet-конф.,

м. Харків, 26-28 листопада 2018 р. / редкол.: А. Л. Загайко, Т. М. Гонтова, Н. І. Ільїнська, К. Р. Гордей. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 19.

9. Naumenko L. S., Kovalev S. V., Popova N. V. Phenolic acids of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.). *Topical issues of new medicines development*: мат. XXVI Міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 10-12 квітня 2019 р. Х.: НФаУ, 2019. С. 54.

10. Науменко Л. С., Попова Н. В. Аминокислоти обліпихи крушиновидної. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку*: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р.: у 2 т. Х.: НФаУ, 2019. Т. 1. С. 245.

11. Naumenko L. S., Popova N. V., Bobrytska L. O. Amino acid composition of Sea Buckthorn. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: мат. IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 14-15 листопада 2019 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 16.

12. Науменко Л. С., Попова Н. В. Обліпиха крушиноподібна – перспективне джерело створення дієтичних добавок. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 11 березня 2020 р. Х.: НФаУ, 2020. С. 110.

13. Науменко Л. С., Попова Н. В. Обліпиха крушиновидна як перспективне джерело для отримання нових лікарських препаратів. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 2 квітня 2021 р. Х., 2021. С. 142.

14. Науменко Л. С., Попова Н. В. Перспективи вивчення та застосування листя обліпихи крушиновидної. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та*

*перспективи*: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету, м. Харків, 10 вересня 2021 р. / редкол.: А. А. Котвіцька та ін. Х.: НФаУ, 2021. С. 228–229.

15. Науменко Л. С., Попова Н. В. Фітохімічне та фармакологічне вивчення сировини обліпихи. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 8 квітня 2022 р. Х.: 2022. С. 60-61.

16. Науменко Л. С., Журавель І. О. Дослідження біологічно активних речовин обліпихи крушиноподібної кори. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології*: Зб. наук. мат. III Міжнар. наук.-практ. конф., присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала, м. Харків, 24 листопада 2023 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2023. С. 355-356.

## ANNOTATION

*Naumenko L. S.* Pharmacognostic study of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) – Qualification scientific work on the rights of manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 226 «Pharmacy, Industrial Pharmacy» (22 – Health Care) – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2024.

The dissertation is devoted to a comprehensive comparative pharmacognostic study of the leaves, fruits and bark of buckthorn, the production of medicinal herbal products, standardization of raw materials and obtained herbal products.

The *first section* contains the results of the analysis of modern scientific literature on the botanical characteristics, chemical composition and pharmacological properties of sea buckthorn. The biologically active substances of sea buckthorn raw materials are represented by carbohydrates, organic acids, nitrogen-containing, phenolic and terpene compounds. Scientists from different countries have found that sea buckthorn extracts have a wide range of pharmacological activities, includ-

ing antioxidant, antibacterial, antiviral, etc. The pharmaceutical market of Ukraine has medicines based on biologically active substances of sea buckthorn fruits and leaves: sea buckthorn oil, suppositories with sea buckthorn oil, Olazol, Erebra. However, fruit is still standardized according to the requirements of outdated regulations: fresh fruit is standardized according to TFS 42-1741-87, dried fruit is standardized according to TU 64-4-72-88, and the leaves and bark of the plant are not standardized. To date, no comprehensive comparative study has been conducted, and there are no parameters for standardization of sea buckthorn raw materials, which determines the relevance of the chosen topic.

The *second section* provides information on the objects, methods, reagents and techniques used to study the qualitative composition and determine the content of biologically active substances in the leaves, fruits and bark of buckthorn buckthorn.

The *third section* presents the results of phytochemical studies of sea buckthorn raw materials.

Chemical reactions, paper chromatography, thin sorbent layer chromatography, high-performance liquid chromatography, chromatography-mass and atomic emission spectrometry were used to study the qualitative composition of sea buckthorn leaves, fruits and bark. The presence of carbohydrates, organic, in particular fatty, hydroxycarbon, phenolic and amino acids, flavonoids, tannins, chlorophylls, carotenoids, macro- and microelements was established.

The amino acid composition of sea buckthorn raw materials was determined by HPLC. Aspartic acid, serine, glycine, threonine, arginine, alanine, valine, isoleucine, and proline were found in free and bound states in all the study objects. The amino acid leucine was detected in the leaves and fruits, glutamic acid and methionine were found only in the bark of buckthorn buckthorn. The quantitative content of the sum of free amino acids, determined by the spectrophotometric method, was: in leaves –  $0,89 \pm 0,04$  %, in fruits –  $0,55 \pm 0,02$  %, in bark –  $0,75 \pm 0,03$  %.

The qualitative composition of lower organic acids in the raw materials of sea buckthorn was determined by the method of PC and TLC. Malic, ascorbic, citric, and succinic acids were identified in sea buckthorn leaves and fruits, and malic and succinic acids in the bark. The content of free organic acids was determined by the titrimetric method, and ascorbic acid by the spectrophotometric method. The content of the sum of free organic acids in the leaves was  $1,08 \pm 0,08$  %, ascorbic acid –  $80,00 \pm 3,20$  mg/100 g, in fruits –  $1,96 \pm 0,14$  % and  $440,00 \pm 17,60$  mg/100 g, respectively. The bark had a significantly lower acidity index, which amounted to  $0,71 \pm 0,06$  %.

The fatty acid composition of sea buckthorn raw materials was studied by GC/MS. All samples of raw materials contained palmitic, oleic, linoleic and arachidonic acids. Myristic, margaric, and lignoceric acids were identified in sea buckthorn leaves, and genuiconic and erucic acids in the bark. Stearic acid was detected in the leaves and fruits, behenic acid – in the leaves and bark of sea buckthorn. Unsaturated fatty acids dominated in the leaves of sea buckthorn ( $1021,00 \pm 15,31$  mg/100 g), saturated – in the fruits and bark ( $6442,00 \pm 96,63$  mg/100 g and  $2624,00 \pm 39,35$  mg/100 g respectively).

The phenolic and hydroxycinnamic acids in the leaves, fruits and bark of sea buckthorn were studied by HPLC analysis. All types of raw materials studied contained hydroxycinnamic acids (chlorogenic, caffeic, syringic, ferulic, synaptic and cinnamic) and hydroxycarboxylic quinic acid, which was determined in the highest amount. Benzoic acid derivatives (gallic and hydroxyphenylacetic) and coumaric acid were identified only in sea buckthorn leaves and fruits. Chlorogenic acid dominated in content among hydroxycinnamic acids. The content of hydroxycinnamic acids was determined by spectrophotometric method. It was found that the highest accumulation of hydroxycinnamic acids was observed in sea buckthorn leaves –  $1,54 \pm 0,06$  %, the lowest in the bark –  $0,43 \pm 0,02$  %.

Flavonoids were detected by chemical reactions, paper and thin-layer chromatography. As a result of chromatographic analysis, rutin, astragalín, kaempferol and quercetin were identified in the leaves, fruits and bark of sea buckthorn. Also,

the presence of quercitrin, isoquercitrin and luteolin in the leaves and fruits, and hyperoside in the leaves was found. The content of flavonoids in sea buckthorn raw materials was determined by spectrophotometry, which was  $4,10 \pm 0,15$  % in leaves,  $2,27 \pm 0,09$  % in fruits, and  $1,18 \pm 0,05$  % in bark.

The presence of tannins was determined by precipitation and color identification reactions. It was found that the raw materials of sea buckthorn contained hydrolyzed tannins. The spectrophotometric determination of the amount of polyphenolic compounds showed that their content in the leaves of sea buckthorn was  $9,46 \pm 0,26$  %, in the fruits –  $4,33 \pm 0,18$  %, in the bark –  $13,11 \pm 0,40$  %.

The study of carbohydrates was carried out by chromatographic method. The following sugars were identified in the raw materials of sea buckthorn by TLC analysis in the free state: glucose, fructose and sucrose. The component composition and content of free and bound sugars and their derivatives in the leaves, fruits and bark of sea buckthorn were determined by GC/MS. Mannitol and sorbitol were identified in all types of raw materials. Rhamnose and arabinose were detected in free and bound states in sea buckthorn fruits, and only in bound state in leaves and bark. Fructose in all samples of raw materials was determined only in the free state, and xylose – in the bound state. Mannose and glucose were found in free and bound form in leaves and bark, and in fruits only in free form. Galactose was found in the bound state in the leaves and bark, and in the fruits in the free state. Among all the identified compounds, sorbitol was found in the majority in the leaves and fruits, and in the bark – in the bound state.

The detection of polysaccharides was carried out by precipitation reaction with 96 % ethanol, and their quantification was performed by gravimetric method. The dominant amount of them was found in the fruits of sea buckthorn ( $10,09 \pm 0,63$  %), the lowest in the bark ( $6,54 \pm 0,43$  %). The content in sea buckthorn leaves was  $8,72 \pm 0,55$  %.

To determine the presence of pectin substances in the raw materials of sea buckthorn, a reaction with a carbazole solution (crimson color) was carried out. Quantitative determination was carried out by the spectrophotometric method,

which yielded the following results: in leaves  $2,23 \pm 0,17$  %, in fruits –  $4,20 \pm 0,30$  %, in bark –  $1,19 \pm 0,09$  %.

Atomic emission spectrometry was used to determine the elemental composition of sea buckthorn raw materials. The content of 15 macro- and microelements was identified and determined in all objects. Among the macronutrients, the maximum accumulation of potassium was observed in the leaves and fruits ( $1154,00 \pm 2,78$  mg/100 g and  $1500,00 \pm 3,00$  mg/100 g, respectively), and magnesium ( $110,00 \pm 0,56$  mg/100 g) in the bark. The dominant trace elements were silicon in the leaves and fruits ( $369,40 \pm 0,73$  mg/100 g and  $76,60 \pm 0,68$  mg/100 g, respectively), molybdenum in the bark ( $240,00 \pm 0,56$  mg/100 g). The content of heavy metals was within the maximum permissible concentrations regulated by the requirements of the SFC.

The presence of chlorophylls and carotenoids in the raw materials of sea buckthorn was determined by TLC. As a result of the analysis, 8 substances were found in sea buckthorn leaves, 5 in fruits, and 3 in the bark, which were classified as chlorophylls and carotenoids by color in daylight and fluorescence in UV light. The content was determined by the spectrophotometric method. The content of chlorophylls a and b in the leaves of sea buckthorn was  $4,07 \pm 0,17$  mg/g and  $3,21 \pm 0,14$  mg/g, in the bark –  $2,78 \pm 0,12$  mg/g and  $1,83 \pm 0,09$  mg/g, respectively. Carotenoids were accumulated in the raw materials of sea buckthorn in the following amounts: in leaves –  $7,28 \pm 0,26$  mg/g, in fruits –  $9,72 \pm 0,34$  mg/g, in bark –  $2,30 \pm 0,30$  mg/g.

The *fourth section* contains the results of studies on the standardization of sea buckthorn leaves, fruits and bark, the preparation of liquid extracts from raw materials and the study of their pharmacological activity.

The morphological and anatomical structure of the leaves, fruits and bark of sea buckthorn was studied. The following diagnostic features have been identified for sea buckthorn leaves: simple, short-petiolate, without stipules, linear-lanceolate, with a wedge-shaped base and a whole edge curled downward, dark green with a waxy coating and a well-defined central vein on the upper side,

brownish-silver, star-shaped scaly pubescent on the lower side. Microscopic diagnostic features are straight-walled cells of the upper epidermis with thickened membranes, cells of the upper epidermis elongated along the vein, anomocytic type of stomatal apparatus, the presence of cuticle, corymbose and stellate hairs on the underside of the leaf, a single-fascicle central vein, a leading collateral fascicle in the shape of a crescent.

The following characteristics have been established for the fruit: the fruit is a round, elongated-round or cylindrical false drupe, from light yellow to dark orange or red, sometimes with brown specks and a single seed of elongated ovoid, round or ovoid shape, brown or almost black color. The odor is specific, pineapple. The taste is sour-sweet. The microscopic diagnostic structures are as follows: straight-walled epidermal cells of hypanthium with thickened membranes, the presence of shield-like hairs on the epidermis, parenchymal cells of hypanthium pulp of different sizes and shapes, containing chromoplasts and oil droplets. The seeds are covered with a thin three-layer film, the outer layer of which consists of elongated cells with necklace-like thickened membranes, the middle layer of thin-walled cells of various irregular shapes, and the inner layer of elongated cells with strongly thickened membranes.

Morphological features of the bark include a grooved shape, smooth, shiny, silver to brownish-green or yellowish-brown outer surface, light or grayish-brown inner surface, and a smooth or shortly serrated fracture. Anatomical diagnostic features include: 3-4 rows of cortex, the cells of which are filled with brownish contents, felem, which is represented by layers of evenly spaced zones of large thin-walled cells without contents, 3-2 rows of tangentially elongated pheloderm cells, and rounded or oval cortical parenchyma cells containing chloroplasts, large intercellular spaces of cortical parenchyma, numerous groups of round and oval sclereids in the cortical parenchyma, and destroyed sieve tubes in the form of dark irregular lines.

For the raw materials of buckthorn, the quality indicators were determined - weight loss during drying and total ash, as well as technological parameters and the



content of extractive substances. The mass loss during drying of sea buckthorn leaves was  $7,32 \pm 0,53$  %, fruits –  $10,54 \pm 0,63$  %, bark –  $6,35 \pm 0,42$  %. The content of total ash in sea buckthorn leaves was determined to be  $7,54 \pm 0,55$  %, in fruits –  $4,16 \pm 0,31$  %, in bark –  $2,84 \pm 0,21$  %.

The results of determining the technological parameters and the content of extractive substances were taken into account in the development of the technology for obtaining liquid extracts from buckthorn raw materials. It was found that 70 % ethanol was the optimal extractant in terms of the yield of extractive substances for all types of raw materials. The maximum content of extractives when using this solvent was: for leaves –  $39,13 \pm 1,25$  %, for fruits –  $27,95 \pm 0,97$  %, for bark –  $21,50 \pm 0,67$  %.

Liquid extracts of leaves, fruits and bark of sea buckthorn were obtained by vacuum filtration extraction. The study of the qualitative composition of biologically active substances of the obtained extracts was carried out by TLC, as a result of which hydroxycinnamic acids and flavonoids were identified. Quality indicators were determined for the extracts in accordance with the requirements of the State Fiscal Service of Ukraine: ethanol content, heavy metals, dry residue, relative density, and microbiological purity. Quantitative determination of active substances in liquid extracts was performed by spectrophotometric method. The content of hydroxycinnamic acids in the liquid extract of sea buckthorn leaves was  $1,83 \pm 0,08$  %, in the liquid extract of fruits –  $1,55 \pm 0,07$  %, in the liquid extract of bark –  $0,96 \pm 0,05$  %; flavonoids –  $4,77 \pm 0,19$  %,  $2,64 \pm 0,12$  % and  $1,52 \pm 0,07$  %, respectively, polyphenolic compounds –  $11,12 \pm 0,44$  %,  $5,29 \pm 0,23$  % and  $14,41 \pm 0,57$  % respectively.

The cytotoxic concentration and pharmacological activity of liquid extracts of sea buckthorn raw materials were studied. It was found that the liquid extracts are low toxic: the cytotoxic concentration of the liquid extract of leaves was 1:30, the liquid extract of fruits – 1:10, the liquid extract of bark – 1:100. The expressed antiviral and antimicrobial activity was found for all the obtained liquid extracts of sea buckthorn.

The novelty of the research is confirmed by the patent of Ukraine for utility model No. u 2023 05721 dated 27.03.2024 «Method of obtaining a medicinal extract from sea buckthorn fruit».

Based on the results of experimental studies, draft quality control methods for Sea Buckthorn Leaves, Sea Buckthorn Fruit, Sea Buckthorn Bark, and Sea Buckthorn Liquid Fruit Extract were developed.

The results of the research have been implemented in the research work of related departments of higher education institutions of Ukraine and scientific institutions.

*Key words:* sea buckthorn, medicinal plant material, qualitative analysis, quantitative determination, standardization, liquid extract, antiviral activity, antimicrobial activity.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	21
ВСТУП .....	23
РОЗДІЛ 1 БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ВИКОРИСТАННЯ РОСЛИН РОДИНИ МАСЛИНКОВІ	
(Огляд літератури).....	29
1.1 Ботанічна характеристика обліпихи крушиноподібної .....	29
1.2 Хімічний склад обліпихи крушиноподібної .....	34
1.3 Застосування у медицині обліпихи крушиноподібної.....	40
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	46
2.1. Характеристика об'єктів дослідження.....	46
2.2 Відомості про прилади, методи і реактиви .....	48
2.3 Методики дослідження якісного складу та визначення вмісту БАР у сировині.....	51
2.4 Вивчення фармакологічної активності одержаних рослинних екстрактів <i>in vitro</i> .....	54
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СИРОВИНИ ОБЛІПИХИ КРУШИНОПОДІБНОЇ .....	59
3.1 Дослідження вільних і зв'язаних амінокислот .....	59
3.2 Хроматографічне вивчення нижчих органічних кислот та визначення вмісту суми вільних органічних кислот .....	65
3.3 Дослідження жирнокислотного складу .....	68
3.4 Дослідження фенольних і гідроксикарбонових кислот .....	72
3.5 Дослідження флавоноїдів.....	79
3.6 Дослідження дубильних речовин та поліфенольних сполук .....	82
3.7 Дослідження вуглеводів .....	83
3.8 Дослідження елементного складу .....	92
3.9 Дослідження хлорофілів і каротиноїдів .....	94

	20
Висновки до розділу 3 .....	97
РОЗДІЛ 4 СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛИСТЯ, ПЛОДІВ ТА КОРИ ОБЛІПИХИ КРУШИНОПОДІБНОЇ. ОДЕРЖАННЯ РІДКИХ ЕКСТРАКТІВ З СИРОВИНИ ОБЛІПИХИ КРУШИНОПОДІБНОЇ ТА ВИВЧЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ.....	102
4.1 Вивчення морфолого-анатомічної будови листя, плодів та кори обліпихи крушиноподібної .....	102
4.2 Визначення показників якості сировини обліпихи крушиноподібної .	113
4.3 Дослідження технологічних параметрів і екстрактивних речовин сировини обліпихи крушиноподібної.....	114
4.4 Одержання рідких екстрактів обліпихи крушиноподібної.....	116
4.5 Дослідження рідких екстрактів обліпихи крушиноподібної.....	118
4.6 Вивчення фармакологічної активності рідких екстрактів сировини обліпихи крушиноподібної .....	124
4.6.1 Визначення цитотоксичної концентрації рідких екстрактів .....	124
4.6.2 Вивчення протівірусної активності рідких екстрактів .....	127
4.6.3 Вивчення антимікробної активності рідких екстрактів.....	133
Висновки до розділу 4 .....	134
ВИСНОВКИ.....	136
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	140
ДОДАТКИ.....	160

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

- АЕС – атомноемісійний спектрографічний метод;
- БАР – біологічно активні речовини;
- ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;
- ВНК – перещеплювана культура клітин нирки хом'яка;
- ВПГ-2 – вірус простого герпесу 2 типу;
- ВТГС – вірус трансмісивного гастроентериту свиней;
- ГРВІ – гострі респіраторні вірусні інфекції;
- ГХ/МС – газова хроматографія з мас-спектрометрією;
- ДУ – Державна установа;
- ДФУ – Державна фармакопея України;
- КЩЗ – перещеплювана культура клітин щитовидної залози свині;
- ЛРС – лікарська рослинна сировина;
- МДСК – перещеплювана культура клітин нирки собаки;
- МК – максимальна інгібувальна концентрація;
- МКЯ – методи контролю якості;
- МОЗ – Міністерство охорони здоров'я;
- НАМНУ – Національна академія медичних наук України;
- НСП – перещеплювана культура клітин нирки поросяти;
- ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція;
- ПХ – хроматографія на папері;
- РНК – рибонуклеїнова кислота;
- СЗ – стандартний зразок;
- СНЕВ – перещеплювана культура клітин нирки ембріона свині;
- СС<sub>50</sub> – цитотоксична концентрація;
- ТГС – трансмісивний гастроентерит свиней;
- ТФС – тимчасова фармакопейна стаття;
- ТЦД<sub>50</sub> (ID<sub>50</sub>) – титр цитопатогенної дії;
- ТШХ – тонкошарова хроматографія;

УФ-спектроскопія – ультрафіолетова спектроскопія;

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок;

ЦПД – цитопатогенна дія;

EC<sub>50</sub> – ефективна концентрація;

IS – індекс селективності;

ST – перещеплювана культура клітин тестикул поросяти;

Vero – перещеплювана культура клітин нирки зеленої мавпи.

## ВСТУП

### Обґрунтування вибору теми дослідження

Проблема гострих вірусних інфекцій набуває усе більшої актуальності в умовах сучасного сьогодення. Щорічне підвищення показників захворюваності різних вікових груп населення пов'язана з низкою причин: появою нових штамів збудників, несприятливими умовами навколишнього середовища та стресовими ситуаціями, які впливають на населення в умовах воєнного стану в Україні [47]. Згідно з даними Центру громадського здоров'я МОЗ України у 2021–2022 роках протягом епідемічного сезону офіційно зареєстровано 5,9 млн випадків захворювання на грип та ГРВІ, а у аналогічному періоді 2022–2023 роках – 3,9 млн випадків, що на 38,2 % менше з минулим епідемічним сезоном. Зниження захворюваності може бути зумовлена інтенсивними міграційними процесами у зв'язку з війною, а саме евакуацією за кордон [15, 16]. Поєднаний підхід у профілактиці та лікуванні вірусних захворювань полягає у вакцинації населення та використанні комплексної терапії, що передбачає застосування синтетичних противірусних лікарських засобів, які мають низку побічних ефектів: високу токсичність на організм, тератогенність та імунодепресивний вплив [47].

Важливе значення в лікуванні вірусних захворювань мають засоби на основі рослинної сировини. Це насамперед пов'язано з їх безпечністю, можливістю тривалого застосування, біологічною спорідненістю з фізіологічно активними речовинами організму людини, полівалентністю дії та можливістю поєднання з синтетичними препаратами у схемі лікування [44]. У зв'язку з цим актуальним є пошук перспективних джерел лікарської рослинної сировини для створення ефективних вітчизняних противірусних засобів на її основі.

Із огляду на зазначене вище, увагу привертає обліпіха крушиноподібна (*Hippophaë rhamnoides* L.), яка культивується в Україні приватними підприємствами та фермерськими господарствами для потреб фармацевтичної промисловості та вирощується на приватних присадибних ділянках. За даними

літератури сировина обліпихи містить комплекс БАР і має широкий спектр фармакологічної активності [104, 147]. На фармацевтичному ринку України зареєстровано низку препаратів, що успішно застосовуються у доказовій медицині. На основі БАР плодів обліпихи фармацевтична промисловість випускає обліпихову олію, обліпихові супозиторії та Олазол, що виявляють протизапальні та репаративні властивості [12]. Препарат Еребра, який містить екстракт із листя обліпихи крушиноподібної, застосовують для лікування та профілактики ГРВІ, зокрема грипу, герпетичної інфекції. Він містить комплекс гало- та елаготанінів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів тощо [12, 17, 91]. У традиційній медицині крім плодів використовують листя та кору обліпихи крушиноподібної [41]. Плоди обліпихи входять до Фармакопеї Народної Республіки Китай [76] і Державної Фармакопеї СРСР XI видання [6]. Стандартизацію плодів й досі проводять за вимогами застарілих нормативних документів: свіжих – за ТФС 42–1741–87 [3], висушених – ТУ 64–4–72–88 [48], а листя та кора рослини не є стандартизованими. Незважаючи на широке використання, сировина обліпихи крушиноподібної потребує поглибленого вивчення та розробки параметрів її стандартизації. Тому проведення комплексного фармакогностичного дослідження сировини обліпихи крушиноподібної є актуальним.

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

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексної науково – дослідної роботи Національного фармацевтичного університету 20 «Фармакогностичне дослідження лікарської рослинної сировини та розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (номер державної реєстрації 0114U000946).

### **Мета і завдання дослідження**

Метою роботи було комплексне порівняльне фармакогностичне вивчення листя, плодів та кори обліпихи крушиноподібної, одержання лікарсь-



ких рослинних засобів, стандартизація сировини та одержаних рослинних засобів.

Для досягнення зазначеної мети були поставлені такі завдання:

- проаналізувати та узагальнити дані сучасної наукової літератури щодо ботанічної характеристики, розповсюдження, хімічного складу та використання обліпихи крушиноподібної;
- провести вивчення якісного складу та ідентифікувати БАР у сировині обліпихи крушиноподібної;
- провести визначення вмісту БАР у сировині обліпихи крушиноподібної, що вивчалася;
- встановити основні діагностичні макро- та мікроскопічні ознаки сировини обліпихи крушиноподібної;
- визначити числові показники якості, технологічні параметри сировини обліпихи крушиноподібної та запропонувати параметри її стандартизації;
- на основі сировини обліпихи крушиноподібної одержати лікарські рослинні засоби, провести їх стандартизацію та вивчення фармакологічної активності.

*Об'єкт дослідження* – комплексне порівняльне фармакогностичне вивчення листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної та лікарських рослинних засобів, що одержані з досліджуваної сировини.

*Предмет дослідження* – вивчення якісного складу та кількісне визначення БАР у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної, одержання лікарських рослинних засобів, стандартизація сировини та одержаних рослинних засобів, вивчення противірусної та антимікробної активності лікарських рослинних засобів.

### **Методи дослідження**

Дослідження якісного складу та визначення вмісту БАР у сировині обліпихи крушиноподібної проводили хімічними реакціями, ПХ, ТШХ, ГХ/МС, ВЕРХ, атомноемісійним спектрометричним, спектрофотометричним, гравіметричним, титриметричним методами. Вивчення анатомічної будови сировини здійснювали за допомогою мікроскопу та фотокамери. Фармакологічні

дослідження одержаних лікарських рослинних засобів проводили *in vitro*. Статистичну обробку результатів експериментальним досліджень проводили відповідно до вимог ДФУ.

### **Наукова новизна отриманих результатів**

Уперше проведено комплексне порівняльне фітохімічне дослідження листя, плодів та кори обліпихи крушиноподібної. Встановлено наявність та визначено вміст фенольних, гідроксикарбонових, органічних, жирних та амінокислот, флавоноїдів, поліфенольних сполук, вуглеводів, мінеральних речовин, хлорофілів і каротиноїдів.

Проведено морфолого-анатомічне вивчення трьох видів сировини обліпихи крушиноподібної – листя, плодів і кори та визначено їх діагностичні ознаки.

Уперше одержано рідкі екстракти листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної, проведено їх фітохімічне дослідження, доведено противірусну та антимікробну активності. За результатами фармакологічних досліджень обрано найефективніший екстракт, для якого запропоновано параметри стандартизації.

Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель № u 2023 05721 від 27.03.2024 «Спосіб одержання лікарського екстракту з плодів обліпихи».

### **Практичне значення отриманих результатів**

За результатами проведених фармакогностичних досліджень розроблено та запропоновано проекти МКЯ «Обліпихи крушиноподібної листя», «Обліпихи крушиноподібної плоди», «Обліпихи крушиноподібної кора» та «Обліпихи крушиноподібної плодів екстракт рідкий».

Результати вивчення обліпихи крушиноподібної впроваджено у науково-дослідну роботу: кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України; лабораторії та клінічного відділу молекулярної імунофармакології ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І.

Мечникова НАМН України»; кафедри фармації факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

### **Особистий внесок здобувача**

Безпосередньо автором:

- проаналізовано та узагальнено дані сучасної наукової літератури, які стосуються ботанічного опису, поширення, хімічного складу та застосування обліпихи крушиноподібної;
- вивчено якісний склад і визначено вміст БАР у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної;
- вивчено морфолого-анатомічну будову листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної та визначено основні діагностичні ознаки сировини;
- одержано рідкі екстракти листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної, вивчено їх хімічний склад, протівірусну та антимікробну активності, за результатами яких вибрано найперспективніший екстракт;
- визначено параметри стандартизації сировини та перспективного екстракту.

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з Журавель І. О., Бобринською Л. О., Поповою Н. В., Гладухом Є. В., Ковальовим С. В.

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 матеріалів дисертації**

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: III Міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 26-28 листопада 2018 р.); XXVI Міжнародній науково-практичній конференції молодих учених та студентів «Tropical issues of new medicines development» (Харків, 10-12 квітня 2019 р.); Науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої 20-й річниці заснування

Дня фармацевтичного працівника України «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку» (Харків, 19-20 верес. 2019 р.); IV Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 14-15 листопада 2019 р.); II, III і IV Міжнародних науково-практичних інтернет-конференціях «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 11 березня 2020 р.; Харків, 2 квітня 2021 р.; Харків, 8 квітня 2022 р.); Науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету «Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи» (Харків, 10 вересня 2021 р.); III Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала «Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології» (Харків, 24 листопада 2023 р.).

### **Обсяг і структура дисертації**

Дисертаційна робота викладена на 178 сторінках друкованого тексту, складається із анотації, вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 4 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 133 сторінки друкованого тексту. Робота ілюстрована 33 таблицями та 77 рисунками. Список використаних джерел містить 178 найменування, з них 51 кирилицею та 127 латиницею.

## РОЗДІЛ 1

### БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ВИКОРИСТАННЯ РОСЛИН РОДИНИ МАСЛИНКОВІ (Огляд літератури)

#### 1.1 Ботанічна характеристика обліпихи крушиноподібної

Обліпиха крушиноподібна походить з Китаю, зустрічається в усіх основних помірних зонах світу, включаючи Францію, Монголію, Індію, Велику Британію, Данію, Нідерланди, Німеччину, Польщу, Фінляндію, Норвегію. На території України в дикому стані обліпиха крушиноподібна росте в дельті ріки Дунай, утворюючи на піщаних косах густі непрохідні зарості (рис. 1.1). Вона може рости в суворих умовах, таких як посуха, мороз та забруднене повітря. Широко культивується [41, 142, 147, 160, 162, 175]. Так, до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні на 2018 рік занесений середньостиглий сорт обліпихи Солодка жінка [13].

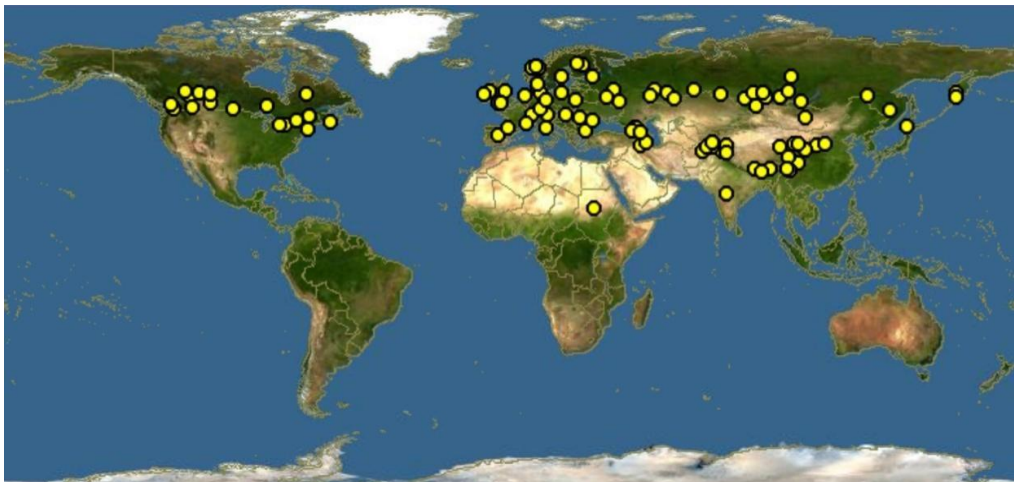


Рис. 1.1 Географічне поширення обліпихи крушиноподібної у світі (зображення Discover Life)

Її родова назва латинською мовою *Hippophaë* походить від того факту, що в Стародавній Греції коней годували обліпихою для надання їм блискучого хутра (грец. *Hippos* – кінь; *phaos* – блискучий). На підставі аналізу морфологічної мінливості фінський ботанік Арне Русі класифікував рід обліпиха

(*Hippophaë* L.) на три види: обліпиха крушиноподібна (*Hippophaë rhamnoides* L.), обліпиха верболиста (*Hippophaë salicifolia* D. Don) та обліпиха тибетська (*Hippophaë tibetana* Schlecht) [90, 149].

Обліпиха – це багаторічна кущова або деревоподібна рослина. Її висота, залежно від генетичних, морфологічних особливостей та екологічних умов знаходиться в межах 2,1-18,0 м. Крона рослин складається з пагонів різного віку та буває округлою, розлогою, конусоподібною, пірамідальною або у вигляді арки (рис. 1.2) [41, 54, 66, 77, 161].



А

Б

Рис. 1.2 Зовнішній вигляд обліпихи крушиноподібної: А – розлога крона; Б – конусоподібна крона (фото взяті з ресурсу <https://glavred.net/health/oblepiha-unikalnye-preimushchestva-dlya-zdorovya-i-pobochnye-effekty-10229774.html>)

Тривалість життя рослин обліпихи становить 10-50 років і залежить від умов вирощування. Коренева система рослин є поверхневою, складається зі скелетних і напівскелетних коренів, які доволі повільно та слабко розгалужуються. Основна їх маса, залежно від типу ґрунту, розміщується а глибині до 0,4-0,6 м. Але за діаметром горизонтального розповсюдження коренева система перевищує діаметр наземної частини рослин у 2-3 рази. Однією з важливих біологічних особливостей обліпихи є здатність формувати симбіотичну азотфіксуючу систему з ґрунтовими актиноміцетами роду *Frankia* [116].

Кореневі бульбочки 5-10-річних рослин досягають у діаметрі 3-6 см. За вегетаційний період ця симбіотична система здатна накопичувати понад 100 кг/га молекулярного азоту. Обліпиха – це дводомна вітрозапильна рослина. На одних рослинах утворюються жіночі (маточкові) квітки, на інших – чоловічі (тичинкові), які продукують пилок для запилення жіночих квіток. Розвиваються чоловічі квітки з генеративних бруньок, які в 2-4 рази більші, ніж жіночі, вони мають 5-7 покривельних брунькових лусок, на відміну від жіночих, які мають лише дві. Тип суцвіття у жіночих рослин – короткий колос. Жіноча квітка має маточку, її зав'язь одногнізда, з однією насінневою брунькою, коротким стовпчиком і однобічною видовженою приймочкою. Пелюстки оцвіттини прості, дволопатеві, чашечкоподібні, трубчасті, розміщені на короткій квітконіжці; вони дрібні, малопомітні, зеленувато-жовтого кольору. Квітки по 3-11 розташовуються пучками у пазухах лусок, здебільшого на пагонах поточного року. Чоловічі квітки зеленувато-сріблясті, а під час цвітіння – жовтого, темно-жовтого або коричневого кольору; з чашечкоподібною дволопатевою оцвітиною і чотирма тичинками. Дві лопаті оцвіттини квітки вгорі з'єднані кінцями, що захищає пилок від роси і дощу. Цей тип квіток утворюється з бруньок на річних пагонах завдовжки 25-50 см, які забезпечують наростання крони. Пилкові зерна дуже дрібні, при потраплянні на приймочку маточки проростають через 3-4 год, а запліднення відбувається через 7-10 днів після запилення. Як жіночі, так і чоловічі квітки не мають нектарників, тому їх не запилюють бджоли та інші комахи. Тривалість цвітіння чоловічих рослин залежно від погодних умов коливається в межах 6-12 днів. Квітки розкриваються і викидають пилок при температурі повітря не нижче 6-10 °С. Від початку цвітіння до повного дозрівання плодів зазвичай проходить 3-3,5 місяці. Тривалість формування плодів залежить від сорту і погодних умов протягом вегетаційного періоду. В оптимальних умовах зав'язування плодів становить 30-40 % від загального числа маточкових квіток, але в процесі розвитку частина зав'язей обсыпається, до кінця вегетації кількість плодів зменшується до 20-30 % від кількості маточкових квіток. Зав'язі щільно обліплю-

ють молоді укорочені пагони та приріст минулого року [41, 54, 66, 77, 81, 95, 100, 107, 113, 115, 118, 123, 137, 161].

Листки обліпихи лінійно-ланцетної або ланцетної форми, прості, чергові, з невеликим черешком, без прилистків. Величина листкової пластинки варіює залежно від сорту та положення на пагоні. У середній частині пагона листки найбільш розвинені, зазвичай досягають 7-10 см в довжину, на верхівці та біля основи пагона довжина листків у 2 рази менша (3-6 см). Верхній бік листка має темно-зелене забарвлення та восковий наліт, а нижній вкритий густою сріблясто-зеленуватою щетиною, що значно скорочує випаровування вологи (рис. 1.3) [131, 132, 137, 161].



А

Б

Рис. 1.3 Зовнішній вигляд листя обліпихи крушиноподібної: А – листкова пластинка, Б – листки на пагоні (фото взяті з ресурсу <https://glavred.net/health/oblepiha-unikalnye-preimushchestva-dlya-zdorovya-i-pobochnye-effekty-10229774.html>)

Плід – кістянка, яка може мати округлу (А), овальну (Б), циліндричну (В) форму (рис. 1.4). Забарвлення шкірки плоду варіює від світло-жовтого до темно-оранжевого або червоного, інколи з бурими цятками. Довжина плоду 6-11 мм (для окремих сучасних сортів – 12-18 мм), діаметр – 3-8 мм. Плодоніжка довжиною 2-6 мм [119, 137, 161].

Дозрівання плодів розпочинається на 20-30-ту добу після закінчення росту навколоплідника та формування насіння [119].





А

Б

В

Рис. 1.4 Зовнішній вигляд плодів обліпихи крушиноподібної: А– округлої форми, Б – овальної форми, В – циліндричної форми (фото взяті з ресурсу <https://glavred.net/health/oblepiha-unikalnye-preimushchestva-dlya-zdorovya-i-pobochnye-effekty-10229774.html>)

Насіння плодів видовжено яйцеподібне, округле або яйцеподібне, коричневого кольору, блискуче з повздовжніми ребрами, з великою зародковою брунькою та міцною, тонкою насінневою оболонкою. Довжина насіння 3-7 мм, ширина 1,4-2,2 мм (рис. 1.5) [119, 137, 161].



Рис 1.5 Зовнішній вигляд насіння обліпихи крушиноподібної (фото взято з ресурсу <https://glavred.net/health/oblepiha-unikalnye-preimushchestva-dlya-zdorovya-i-pobochnye-effekty-10229774.html>)

## 1.2 Хімічний склад обліпихи крушиноподібної

З літературних джерел відомо, що у плодах обліпихи виявлені каротиноїди: фітофлюїн,  $\beta$ -каротин,  $\gamma$ -каротин, полі-*цис*-лікопін, лікопін, зеаксантин, неокаротин, лютеїн, криптоксантин, ізокриптоксантин, віолаксантин, неоксантин, ексантофіл [58, 69-71, 144, 156, 166]. Також встановлено наявність вітамінів С, Е, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>9</sub>, В<sub>12</sub>, К<sub>1</sub> [121, 144, 174], амінокислот [110]. Вуглеводи плодів представлені глюкозою, фруктозою, манозою, сахарозою, пектиновими речовинами [98, 108, 130]. Ідентифіковано циклітол квебрахіт, органічні кислоти (яблучну, щавлеву, винну) [137, 144, 164] та тритерпенові урсолову та олеанолову кислоти [171, 172]. Серед фенольних сполук виявлено хлорогенову кислоту, флавоноїди (ізорамнетин, рутин, 3-рутинозид ізорамнетину, кверцетин, мірицетин, лейкоантоціани, катехіни) [135, 144], дубильні речовини [143]. У плодах знайдено нітрогенвмісну сполуку бетаїн [75], макро- та мікроелементи (калій, магній, кальцій, ферум, цинк, мідь, манган, бор) [114]. Встановлено, що до складу жирної олії плодів входять гліцериди пальмітолеїнової, пальмітинової, олеїнової, лінолевої, ліноленової та інших жирних кислот [93, 94, 144, 176]. Сесквітерпеноїди плодів обліпихи представлені сполуками 14-норевдесманового типу гіппонортерпенами А та В [52, 105]. Серед стероїдів ідентифіковано  $\beta$ -ситостерин та стигмастерин [178]. Листя обліпихи містить дубильні речовини, жирні кислоти, вуглеводи, гідроксикоричні кислоти, хлорофіли [80, 88, 94, 97, 108, 130, 134]. У корі обліпихи виявлено нітрогенвмісні сполуки (серотонін та алкалоїди), тритерпеноїди, зокрема урсолову кислоту [74].

Румунськими вченими було досліджено чотири сорти обліпихи крушиноподібної, вирощеної на території Румунії. Досліджено вміст вуглеводів в плодах обліпихи. Основними вуглеводами були фруктоза та глюкоза [73]. Також було досліджено фенольні сполуки обліпихи крушиноподібної. У плодах ідентифіковано рутин, кверцетин, в листі – вітексин (рис. 1.6), лютеолін-7-глюкозид (рис. 1.7), катехін, галову, *n*-кумарову, кофейну та ферулову кис-

лоти, рутин та кверцитрин [140]. Серед каротиноїдів плодів виявлено лютеїн, зеаксантин,  $\beta$ -криптоксантин (рис. 1.8), цис- $\beta$ -каротин та  $\beta$ -каротин. Зеаксантин був ідентифікований як основний у всіх чотирьох румунських сортах, але концентрація істотно різнилася між сортами [69].

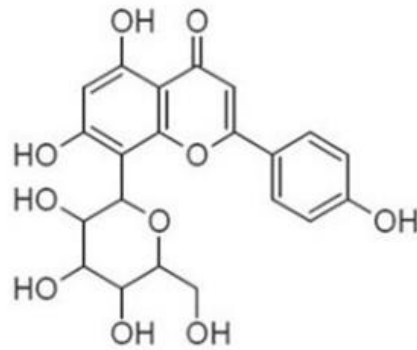


Рис. 1.6 Структурна формула вітексину

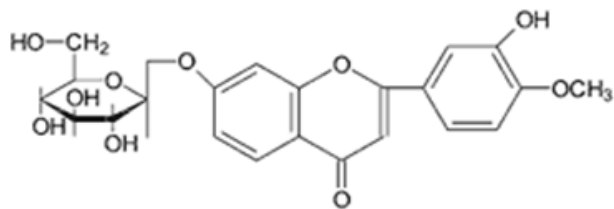


Рис. 1.7. Структурна формула лютеолін-7-глюкозиду

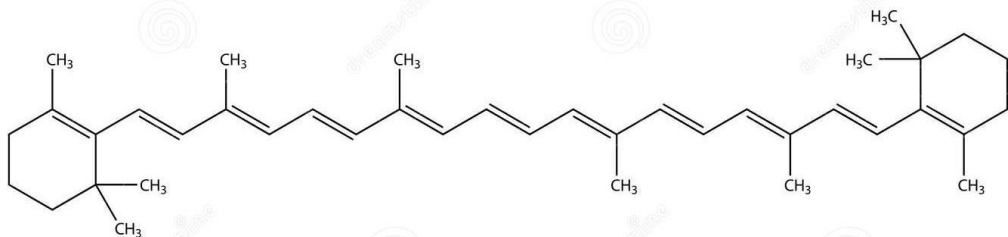


Рис. 1.8. Структурна формула  $\beta$ -криптоксантину

Польські дослідники проаналізували плоди обліпихи восьми різних сортів та виявили 11 флавонолів, які являли собою переважно кемпферол і похідні ізорамнетину та кверцетину [159].

Також вчені цієї країни дослідили олію обліпихи, отриману з різних частин плодів різними методами. Олія з насіння обліпихи, отримана за допомогою механічного пресування, та олія м'якоті плодів обліпихи крушиноподіб-

ної, отримана за допомогою холодного віджиму, різнилися за зовнішнім виглядом, властивостями та за вмістом у них діючих речовин. Так олія плодів мала найвищий вміст пальмітинової кислоти – від 30 до 35%, олія насіння обліпихи мала менший вміст цієї кислоти. Однак обидві олії містили широкий спектр речовин: ненасичені жирні кислоти, токофероли, токотрієноли та рослинні стероли. На відміну від олії з насіння плодів обліпихи, олія обліпихова з м'якоті плодів мала високий вміст каротиноїдів [177].

Польськими науковцями було досліджено плоди, листя та пагони обліпихи. Дослідження показали наявність тритерпеноїдів, фенольних сполук макро- та мікроелементів. Вміст флавонолів перевищував 0,7 г/100 г сухої маси листя та шкірки плодів. Відношення кверцетину до похідних ізорамнетину було вище для шкірки, м'якоті плодів, гілок та листя. Найбільше флаван-3-олів та полімерних проціанідинів виявлено у пагонах, а в листі – фенольних кислот. Ідентифіковано 11 тритерпеноїдів, зокрема нових, таких як помолева кислота (рис. 1.9), що переважала в плодах. Тритерпеноїдів було у п'ять разів більше в м'якоті, ніж у листі, де урсолова кислота становила 46 % тритерпенів. Високий вміст коросолової (рис. 1.10) та бетулінової (рис. 1.11) кислот був характерний для пагонів, а бетуліну, олеанолової та урсолової кислот – для шкірки плодів. Найкращими джерелами натрію були ендокарпій та листя, калію – м'якоть та ендокарпій, кальцію – листя, магнію – насіння. Листя та пагони виявились багатими на ферум і купрум, а насіння – на цинк. Характерною особливістю листя було співвідношення феруму та мангану 1:1 [57].

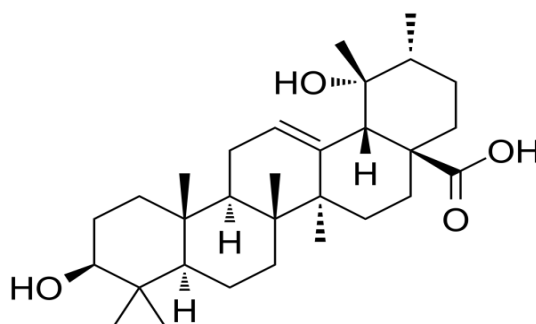


Рис. 1.9 Структурна формула помолевої кислоти

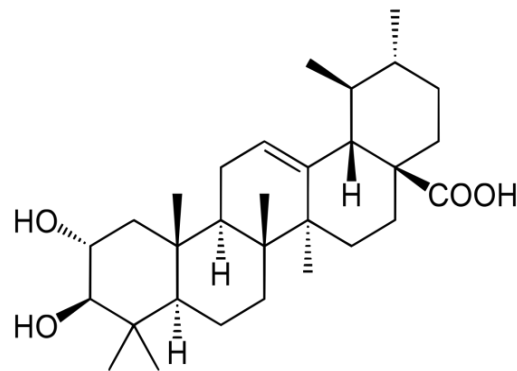


Рис.1.10 Структурна формула корсолової кислоти

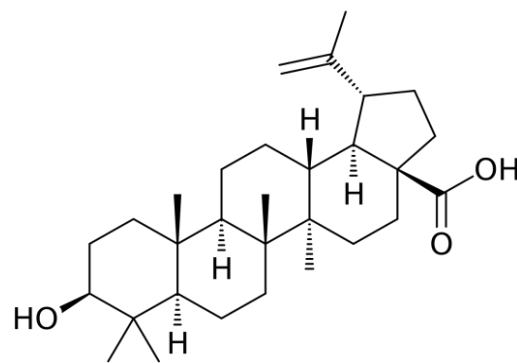


Рис. 1.11 Структурна формула бетулінової кислоти

Вчені з Фінляндії дослідили глікозиди флавоноїдів плодів дикої обліпихи *Hippophaë rhamnoides ssp. sinensis* (обліпихи китайської), зібраних в Китаї, та плодів культурних сортів *Hippophaë rhamnoides ssp. mongolica* (обліпихи монгольської), зібраних в Фінляндії та Канаді. Відомо про 26 глікозидів флавоноїдів, основними агліконами яких є ізорамнетин і кверцетин [96, 146].

Вчені з Індії дослідили екстракт листя обліпихи, який було одержано субкритичною екстракцією водою. Хімічний склад дослідженого екстракту показав загальний вміст фенольних сполук (76,07–93,72 мг/г) та загальний вміст флавоноїдів (47,06–66,03 мг/г). У складі екстракту були ідентифіковані та кількісно визначені за допомогою ВЕРХ кверцетин-3-галактозид, кемпферол та ізорамнетин [133].

Інші науковці цієї країни отримали та дослідили водні, ацетонові та метанольні екстракти з листя обліпихи крушиноподібної. Результати вказують на наявність великої кількості антиоксидантів, фенольних речовин, флавоноїдів, дубильних речовин, стеролів, сапонінів, аскорбінової кислоти та алкалоїдів [72, 138].

Науковці із Франції дослідили олійний екстракт обліпихи крушиноподібної м'якоті плодів та насіння, отриманий за технологією надкритичної флюїдної екстракції діоксидом вуглецю. У складі екстракту ідентифіковано токофероли, каротиноїди, фітостероли та ненасичені жирні кислоти, зокрема омега-7. Завдяки такому хімічному складу екстракт зміцнює епітеліальні клітини та стимулює їх захисні системи [111, 158, 166].

Вчені з Італії дослідили плоди обліпихи крушиноподібної трьох німецьких сортів Аскола, Герго і Лейкора. Ними були виявлені в плодах яблучну, хінну, аскорбінову та лимонну кислоти; вуглеводи (глюкозу та фруктозу), флавоноїди (ізорамнетин, кверцетин і кемпферол), а також каротиноїди (зеаксантин,  $\beta$ -каротин і  $\beta$ -криптоксантин) [55].

Вчені з Чехії та Китаю дослідили плоди 13 сортів обліпихи крушиноподібної на вміст летких ароматичних сполук за допомогою ГХ. У всіх пробах виявлено 69 летких сполук, з них: 26 спиртів (пропан-1-ол, пропан-2-ол, бутан-1-ол, бутан-2-ол, пентан-1-ол, пентан-2-ол, гексан-1-ол, гептан-2-ол, октан-1-ол, октан-2-ол, нонан-2-ол, декан-1-ол, додекан-1-ол, гептадекан-1-ол, гептадекан-2-ол, гексадекан-2-ол, гекс-3-ен-1-ол, окт-3-ен-1-ол, 2-метилпропан-1-ол, 2-метилбутан-1-ол, 3-метилбутан-1-ол, окт-1-ен-3-ол, бензиловий спирт, фенілетанол), 12 альдегідів (ацетальдегід, пропаналь, пентаналь, гексаналь, гептаналь, октаналь, (нонаналь, 3-метилбутаналь, (E)-гекс-2-еналь, (E)-окт-2-еналь, бензальдегід, фенілацетальдегід), 11 кетонів(пропан-2-он, бутан-2-он, пентан-2-он, гептан-2-он, нонан-2-он, декан-2-он, ундекан-2-он, тридкан-2-он, 3-гідроксибутан-2-он, 4-метилпентан-2-он, бутан-2,3-діон), 11 естерів (метилацетат, етилацетат, пропілацетат, етилбутаноат, етилгексаноат, етилгептаноат, етилоктаноат, етилдеканоат, етил-

додеканоат, бутилацетат, фенілетілацетат) і 9 кислот (оцтова, пропанова, бутанова, гексанова, бензойна, 2-гідроксипропанова, 2-метилпропанова, 2-метилбутанова, 3-метилбутанова) [68, 79, 139, 178].

Вчені з Китаю за допомогою ВЕРХ виділили з плодів обліпихи крушиноподібної сполуку (-)-2-О-метил-1-хіро-інозиту (І-квебрахітол). Крім того, у сировині було ідентифіковано хіро-інозит, міо-інозит та метил-міо-інозитол [78, 141].

Також китайські науковці дослідили за допомогою ВЕРХ з потрійною квадрупольною тандемною мас-спектрометрією фенольні сполуки плодів обліпихи крушиноподібної та плодів обліпихи тибетської з Цинхай-Тибетського плато. Результати показали, що досліджувані плоди мали високий рівень загального вмісту фенолів та флавоноїдів, але плоди обліпихи крушиноподібної демонстрували їхній вищий вміст, ніж плоди тибетської. Крім того, флавоноли переважали у плодах обліпихи крушиноподібної, флавоноли та флаваноли – у плодах обліпихи тибетської. Серед флавоноїдів рутин і нарцисин були присутні в найбільшій кількості в плодах обліпихи крушиноподібної, епігалокатехін мав найвищий вміст в плодах обліпихи тибетської [101].

Канадські вчені дослідили фенольні сполуки в плодах та листі обліпихи чотирьох сортів RC-4, E6590, Чуйська та Золотий дощ, вирощених у Канаді. У плодах і листі було виявлено флавоноїди мірицетин, рутин, кемпферол, кверцетин та ізорамнетин. Серед фенольних сполук в плодах переважала *n*-кумарова кислота, а в листі – галова кислота. Плоди сорту RC-4 мали приблизно в 2 рази більший вміст мірицетину та кверцетину при 17,5 мг та 17,2 мг/100 г, ніж інші сорти. Вміст флавоноїдів у листі був значно більшим, ніж у плодах, вміст рутину в цій сировині досягав 135,0 мг/ 100г та кверцетину – 105,0 мг/100 г [99].

Німецькі науковці дослідили листя, гілки та кору обліпихи крушиноподібної одинадцяти сортів. Дослідження показали наявність жирних кислот, ніацину, піридоксину, рибофлавіну, вітаміну Е, крохмалю, поліфенольних

речовин, вуглеводів. Кора семи сортів обліпихи мала більший вміст поліфенольних речовин, ніж кора інших чотирьох [150, 168, 170, 173].

### 1.3 Застосування у медицині обліпихи крушиноподібної

З плодів одержують обліпихову олію (*Oleum Hippophaës*). В Україні обліпихову олію застосовують, як полівітамінний, протимікробний, протизапальний, знеболювальний, ранозагоювальний та антиоксидантний засіб (виробники: ТОВ Фітолік, ТОВ Житомирська ФФ, Перлина Полісся, ТОВ Екоол) [12]. Її використовують для лікування опіків, варикозного розширення вен, пролежнів, променевих уражень шкіри, обморожень, туберкульозу шкіри, екзем, лишайів, трофічних виразок, хвороб очей, печінки, жіночих статевих органів. Внутрішньо олію обліпихи застосовують для лікування виразки шлунку та дванадцятипалої кишки, атеросклерозу. Супозиторії з обліпиховою олією призначають при хронічних захворюваннях прямої кишки, геморої, коліті. Сік плодів обліпихи крушиноподібної та настій використовують у лікувально-дієтичному харчуванні при захворюваннях ШКТ, серцево-судинної системи, атеросклерозі, гіпо- та авітамінозі, порушеннях обміну речовин. Препарат Еребра (виробник ТОВ Геолік Фарм Маркетинг Груп) з сухим екстрактом з листя обліпихи крушиноподібної застосовують як протівірусний та протимікробний засіб [12, 17, 91]. На фармацевтичний ринок України надходить вітамінна дієтична добавка – екстракт листя обліпихи (виробник New life [12].

Науковцями різних країн світу встановлено наявність гепатопротекторної [103, 151, 163] та антивірусної активності [84, 145, 167] екстрактів обліпихи крушиноподібної.

Вченими різних країн була доведена антиоксидантна активність екстрактів обліпихи крушиноподібної. Індійські дослідники встановили, що відновлювальна здатність екстрактів обліпихи зростала дозозалежно та була максимальною у 70 % метанольного екстракту [62, 128].



Також науковцями цієї ж країни було досліджено антиоксидантні та імуномодулювальні властивості обліпихи. Експеримент проведено *in vitro* з використанням спленоцитів щурів, макрофагів та лінії клітин гліоми C-6, а також *in vivo* на самцях щурів-альбіносів. Було виявлено, що метанольний екстракт листя обліпихи (500 г/мл) пригнічує вироблення вільних радикалів, індукованих хромом, а також апоптоз і відновлює антиоксидантний статус в контрольних клітинах. Навіть при нижчій концентрації (100 мг/кг) екстракт захищає щурів від окисного пошкодження, спричиненого хромом. Екстракт листя також має здатність захищати гліальні клітини від окисного ушкодження, спричиненого гіпоксією [109]. Доведено імуномодулювальну дію екстракту листя обліпихи на клітини та гуморальну імунну відповідь шляхом вивчення реакції гіперчутливості сповільненого типу у тварин з пригніченим імунітетом, індукованим хромом. Встановлено, що екстракт листя обліпихи має значну імуномодулювальну дію та специфічно активізує клітинно-опосередковану імунну відповідь [165].

Пакистанськими вченими було досліджено насіння обліпихи, яке послідовно екстрагували хлороформом, етилацетатом, ацетоном і метанолом у апараті Сокслета протягом 8 годин кожним розчинником. Неочищені екстракти були перевірені на антиоксидантну та антибактеріальну активність. Антиоксидантна активність була оцінена на різних моделях *in vitro*, найбільший ефект виявив метанольний екстракт. Також було виявлено, що метанольний екстракт насіння обліпихи мав максимальну антибактеріальну активність відносно *Bacillus cereus*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* [59, 67, 149].

Французькі вчені вивчали антибактеріальну активність етанольних екстрактів листя, коренів та насіння обліпихи крушиноподібної в концентрації 100 мкг/мл. До екстракту листя обліпихи був чутливий *Staphylococcus aureus*, екстракт насіння інгібував *Bacillus cereus*, екстракти коренів та насіння – *Enterococcus durans*. Штам *Pseudomonas aeruginosa* виявився найбільш стійким до дії обліпихових екстрактів [106, 153]. Також науковцями Франції ви-

вчено вплив олії обліпихи на стан слизової оболонки піхви при її атрофії у жінок в період менопаузи. Встановлено, що обліпихова олія позитивно впливала на здоров'я піхви та може бути використана як потенційний альтернативний засіб для збереження цілісності слизової оболонки для тих жінок, які не можуть використовувати естрогени для лікування вагінальної атрофії [89].

Африканські дослідники визначили антибактеріальні властивості екстрактів сирих вичавок плодів, насіння та листя обліпихи з трансгімалайського регіону Ладакх (Індія) проти патогенів харчового походження. Повідомлялося, що екстракти листя виявляли найбільш значну антибактеріальну активність щодо 16 протестованих еталонних штамів з 17, причому найбільш чутливим був *Bacillus cereus* із зоною інгібування 17,7 мм до концентрації екстрактів 50 мг/мл [155].

Досліджено вплив обліпихи крушиноподібної на серцево-судинну систему організму. Повідомляється, що антиоксидантні властивості флавонолів знижують ризик серцево-судинних захворювань. Флавоноїди обліпихи захищають клітини організму від окисного пошкодження та старіння, попереджають ішемію міокарда та розвиток пухлин [78, 92, 154, 170].

Японські вчені дослідним тваринам додавали до раціону харчування сухий порошок плодів обліпихи протягом 60 днів, після цього було помітно покращення метаболічних процесів та зниження гіпертонічного стресу у щурів [87, 127].

Вчені з Китаю дослідили антигіпертензивну дію екстракту з насіння обліпихи. Вони давали їжу щурам з високим вмістом сахарози, що значно підвищувало їх систолічний кров'яний тиск, рівні інсуліну та тригліцеридів у плазмі, а також кількість ангіотензину II у серці та нирках. Потім експериментальній групі була призначена дієта, збагачена екстрактом насіння обліпихи. Результати показали антигіпертензивну дію за рахунок блокування ангіотензину II та покращення чутливості до інсуліну. Кролики на дієті з високим вмістом холестерину, які отримували 1 мл олії насіння обліпихи на день протягом 30 днів, мали зниження ліпопротеїнів низької щільності, нижчий

індекс атерогенності та демонстрували збільшення ліпопротеїдів високої щільності та вазорелаксантичної активності [86].

Турецькі вчені провели дослідження на 12 здорових чоловіках з нормоліпідемією. Чоловіки отримували по 5 г олії обліпихи на день протягом місяця. Рівні жирних кислот, фосfolіпідів, ліпідів плазми та глюкози не змінилися. Натомість спостерігалось явне зниження швидкості та ступеня агрегації тромбоцитів, індукованої аденозин-5-дифосфатом [157].

Вчені різних країн дослідили потенціал обліпихи у лікуванні діабету. Румунські науковці досліджували вплив водного екстракту залишків насіння обліпихи на рівень глюкози в сироватці крові, ліпідні профілі та антиоксидантні параметри у щурів з діабетом, спричиненим стрептозотоцином. Були обстежені чотири групи щурів: нормальна контрольна група, контрольна група з діабетом, група з діабетом, що отримувала референтний препарат глібенкламід у дозі 5 мг/кг маси тіла, і ще одна група з діабетом, яка отримувала екстракт насіння обліпихи у дозі 400 мг/кг маси тіла. Екстракт значно знизив рівні глюкози, тригліцеридів та оксиду азоту у сироватці крові у щурів з діабетом. Більше того, спостерігалось помітне збільшення активності супероксиддисмутази у сироватці та рівня глутатіону. Це демонструє потенційні гіпоглікемічні, гіпотригліцеридемічні та антиоксидантні ефекти екстракту обліпихи, припускаючи, що обліпиха може бути корисною для запобігання діабетичним ускладненням, пов'язаним з гіперліпідемією та окислювальним стресом [169].

Китайські науковці вивчали антиоксидантну активність екстрактів, фракцій та ізольованих сполук листя обліпихи, а також їх здатність інгібувати  $\alpha$ -глюкозидазу. Бутанольна фракція, що містила найбільшу кількість фенольних сполук, продемонструвала найбільшу радикал-акцепторну активність, а також найбільш потужний ефект, що інгібує  $\alpha$ -глюкозидазу [64].

Досліджено також антиоксидантні властивості екстрактів плодів обліпихи тибетської та крушиноподібної, які містили фенольні сполуки [120, 126].

Вчені країн світу довели протипухлинну активність екстракту плодів обліпихи на мишах. Було встановлено, що три фенольні сполуки (катехін, галокатехін та епігалокатехін) та тритерпеноїд (урсолова кислота), які містилися в досліджуваному екстракті, запобігають утворенню пухлин в організмі [109, 171].

Цитотоксичні ефекти флавоноїдів обліпихи вивчали на клітинах гепатоцелюлярної карциноми людини (BE2-7402). Спостерігалася цитотоксична дія, зумовлена накопиченням ізорамнетину в клітинах. Через 48 годин в пухлинних клітинах BE2-7402 спостерігалася індукована ізорамнетином конденсація та фрагментація хроматину, що вказує на те, що екстракт обліпихи має протипухлинну та інгібувальну дію на клітини новоутворень [102].

Китайськими вченими досліджено інгібувальну дію екстракту листя обліпихи на проліферацію та сприяння апоптозу в клітинах гліоми C6 щурів [78].

Екстракт листя обліпихи був протестований на макрофагах людини, інфікованих вірусом Денге 2-го типу. Встановлено, що екстракт листя обліпихи має значну активність проти цього вірусу і може використовуватися для лікування лихоманки Денге [85].

Науковці з Індії дослідили антиоксидантну активність екстракту листя обліпихи, отриманого субкритичною водною екстракцією. Антиоксидантну активність екстракту оцінювали за допомогою загальноприйнятих хімічних аналізів. Крім того, у цьому дослідженні повідомляється про цитопротекторні та антиоксидантні властивості екстракту листя обліпихи проти окислювального стресу, спричиненого третинним бутилгідропероксидом у мишачих макрофагах [65].

Результати аналізу літературних джерел показали, що обліпиха крушиноподібна різних сортів, яка вирощена в різних частинах світу, має багатий хімічний склад та широке застосування у медицині країн світу. Дослідження зарубіжних вчених вказують на те, що хімічний склад листя, кори та плодів

обліпихи крушиноподібної представлений як гідрофільними, так і ліпофільними сполуками. Виявлено антиоксидантні властивості, цитотоксичну, протипухлинну дію екстрактів обліпихи крушиноподібної, одержаних різними способами. На теперішній час в Україні відсутні параметри стандартизації листя та кори обліпихи, стандартизацію свіжих плодів обліпихи регламентують застарілі ТФС 42–1741–87, висушених – ТУ 64–4–72–88. Тому доцільним та актуальним є проведення фармакогностичного вивчення обліпихи крушиноподібної для поглиблення знань щодо хімічного складу БАР і фармакологічної активності, а також розробки сучасних МКЯ на ЛРС .

*Результати досліджень цього розділу наведено у таких публікаціях:*

1. Popova N. V., Naumenko L. S., Bobritskaya L. A. Perspective for studying of sea buckthorn zoned in Ukraine. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: мат. III Міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26-28 листопада 2018 р. / редкол.: А. Л. Загайко, Т. М. Гонтова, Н. І. Ільїнська, К. Р. Гордей. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 19.*

## РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 2.1 Характеристика об'єктів дослідження

Об'єктами досліджень були плоди, листя та кора обліпихи крушиноподібної середньостиглого сорту Солодка жінка, районованого в Україні (рис. 2.1) [13, 175].



Рис. 2.1 Зовнішній вигляд обліпихи крушиноподібної сорту Солодка жінка (фото взяті з ресурсу <https://tsikavi-fakty.com.ua/50-tsikavyh-faktiv-pro-oblipyhu/>)

Листя, плоди і кору досліджуваної рослини заготовляли в Харківській області у 2018-2020 роках. Заготовлену сировину сушили повітряно-тіньовим або конвективним способом при температурі  $55 \pm 5$  °С.

Заготівлю кори проводили навесні під час сокоруху з молодих гілочок, зовнішня поверхня яких була блискучою, гладенькою, бурувато-зеленого або жовтувато-бурого кольору (рис. 2.2).



Рис. 2.2 Кора обліпихи крушиноподібної

Листя обліпихи заготовляли влітку – у червні–серпні. Листки лінійно-ланцетні, короткочерешкові, без прилистків, з клиноподібною основою, цілним, загорнутим донизу краєм, темно-зелені з верхнього боку та з бурувато-сріблясті нижнього (рис. 2.3).



Рис. 2.3 Листки обліпихи крушиноподібної

Плоди обліпихи заготовляли восени – наприкінці вересня – на початку жовтня. Плоди – кістянки видовжено-округлої форми, оранжевого кольору, з однією, яйцеподібною, блискучою, брунатною насінною (рис. 2.4)



Рис. 2.4 Плоди обліпихи крушиноподібної

## 2.2 Відомості про прилади, методи і реактиви

Для проведення хімічних реакцій і хроматографічних досліджень використовували водні та 70 % етанольні витяжки з листя, кори та плодів обліпихи крушиноподібної у співвідношенні сировина – екстрагент 1:5 для листя та кори, 1:10 для плодів.

Вивчення якісного складу БАР сировини обліпихи крушиноподібної проводили хімічними реакціями і хроматографічними методами (ПХ, ТШХ, ГХ/МС, ВЕРХ) [43, 49].

Наявність БАР у сировині встановлювали реакціями:

- вільних амінокислот – 0,2 % розчин нінгідрину;
- полісахаридів – 96 % етанол;
- пектинових речовин – 0,5 % етанольний розчин карбазолу;
- флавоноїдів – ціанідінова реакція, 10 % етанольний розчин калію гідроксиду, 1 % етанольний розчин феруму (III) хлориду, 2 % етанольний розчин алюмінію хлориду, 2 % розчин плюмбуму ацетату;
- дубильні речовини – 1 % розчин желатини, 1 % розчин хініну хлориду, розчин феруму (III) амонію сульфату [43].

Хроматографування здійснювали на папері «Filtrak» FN № 4, а також пластинках з тонким шаром силікагелю фірми «Supelco» та «Merck».



Хроматографування проводили методом одновимірної та двовимірної ПХ та ТШХ при температурі 20-25 °С у відповідних рухомих фазах, для приготування яких розчинники розраховували в об'ємних одиницях:

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

№ 2 – оцтова кислота льодяна 2 %;

№ 3 – оцтова кислота льодяна 15 %;

№ 4 – оцтова кислота льодяна – хлороформ – вода (70:60:10);

№ 5 – оцтова кислота льодяна – вода (15:85);

№ 6 – оцтова кислота льодяна – вода (2:98);

№ 7 – етилацетат – мурашина кислота – вода (90:6:9);

№ 8 – мурашина кислота безводна – оцтова кислота льодяна – вода – етилацетат (11:11:27:100);

№ 9 – петролейний етер-етанол (16:1) [9, 11, 49].

Ідентифікували речовини на хроматограмах за величиною  $R_f$ , забарвленням зон у денному світлі та флуоресценцією в УФ-світлі до та після проявлення хромогенними реактивами:

А – розчин аміаку концентрованого;

Б – анілінфталатний реактив;

В – розчин феруму хлориду;

Г – розчин алюмінію хлориду;

Д – насичений етанольний розчин феруму сульфату;

Е – розчин 10 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру в метанолі;

Ж – розчин плюмбуму ацетату;

И – метанольний розчин аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти;

К – метанольний розчин макроголу 400 [9, 11, 49].

Мінеральний склад сировини вивчали методом АЕС на спектрографі ІВС-28 із дифракційною решіткою 600 штр/мм і трилінзовою системою освітлення щілини та мікрофотометрі МФ-1 з фіксацією на фотоплівку [18, 20].

Якісний склад фенольних, гідроксикарбонових і амінокислот у сировині визначали методом ВЕРХ.

Вивчення якісного складу жирних кислот, вільних і зв'язаних цукрів та їх похідних у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної проводили методом ГХ/МС.

Вміст БАР у сировині обліпихи крушиноподібної визначали спектрофотометричним, гравіметричним і титриметричним методами за методиками ДФУ 2.0 і 2.1.

Морфологічні ознаки вивчали за допомогою лупи. Дослідження анатомічної будови проводили з використанням мікропрепаратів зі свіжозібраної сировини та законсервованої у суміші: етанол – гліцерин – вода (1:1:1). Мікропрепарати готували за загальними правилами. Вивчення анатомічної будови органів рослини здійснювали за методиками мікроаналізу на поперечних перерізах та на поверхневих препаратах досліджуваних об'єктів. Фотографії робили за допомогою фотоапарату Sony DSC-W80 (діафрагма F / 3.2, витримка 1/80 с) [42, 43, 83].

Втрату в масі при висушуванні визначали гравіметричним методом за методикою ДФУ 2.0, том 1, загальна стаття 2.2.32 «Втрата в масі при висушуванні» [10].

Визначення вмісту загальної золи проводили гравіметричним методом за методикою ДФУ 2.0, том 1, загальна стаття 2.4.16 «Загальна зола» [10].

Вміст екстрактивних речовин визначали гравіметричним методом за методикою ДФУ 2.0, том 3, монографія «Полин гіркий» [11].

Визначення показників якості рідких екстрактів проводили згідно з вимогами ДФУ 2.1, загальна монографія «Лікарської рослинної сировини екстракти» [9].

Фармакологічну активність одержаних рослинних екстрактів вивчали *in vitro*.

Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали за вимогами ДФУ з використанням програмного забезпечення Statistica 10,0 [10].

## 2.3 Методики дослідження якісного складу та визначення вмісту БАР у сировині

1. Амінокислотний склад вивчали методом ВЕРХ на хроматографі Agilent 1200 (Agilent Technologies, США), хроматографічна колонка Zorbax AAA (150 мм × 4,6 мм, 3 мкм). Хроматографування проводили з використанням мобільних фаз: А - 40 м  $MNa_2HPO_4$ , рН 7,8; В - АСN: МеОН: вода очищена (45:45:10), температура термостата колонки 40 °С. Передколонкову дериватизацію амінокислот здійснювали в автоматичному програмованому режимі з використанням реагенту 9-флуоренілметоксикарбонілу хлориду (Agilent 5061-3337) і реагенту *o*-фталевого альдегіду (Agilent 5061-3335). Дериватизовані похідні детектували за допомогою флуоресцентного детектора [45, 112].

2. Визначення суми вільних амінокислот проводили спектрофотометричним методом за довжини хвилі 573 нм у перерахунку на лейцин [19, 24].

3. Вміст вільних органічних кислот визначали титриметричним методом у перерахунку на яблучну кислоту за методикою ДФУ 2.1, монографія «Шипшини плоди<sup>N</sup>» [8, 9].

4. Кількісний вміст аскорбінової кислоти встановлювали спектрофотометричним методом за методикою ДФУ 2.0, том 3, монографія «Шипшина» [11].

5. Визначення жирнокислотного складу проводили методом ГХ/МС метилових естерів жирних кислот на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N / 5973inert 54 (Agilent Technologies, США). Колонка капілярна HP-5ms (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм, Agilent Technologies, США). Температура випарника – 250 °С, температура інтерфейсу – 280 °С. Поділ проводили в режимі програмування температури – початкову температуру 60 °С витримували протягом 4 хв, піднімали з градієнтом 4 °С/хв до 250 °С, витримували 6 хв, з градієнтом 20 °С піднімали до 300 °С, витримували 5 хв. Підготовка проби для аналізу: рослинну сировину подрібнювали до порош-

коподібного стану в скляній ступці. Наважку сировини 500 мг (точна наважка) поміщали в скляну віалу і додавали реакційну суміш (метанол Р – толуол – сульфатна кислота Р (44:20:2) по 3,3 мл на пробу і розчин внутрішнього стандарту в гептані в кількості 1,7 мл. Досліджувану пробу витримували при температурі 80 °С протягом 2 год, охолоджували до кімнатної температури, центрифугували 10 хв при 5000 об/хв. Відбирали 0,5 мл верхньої гексанової фази, що містить метилові естери жирних кислот. Пробу об'ємом 1 мкл вводили в режимі поділу потоку 1:20. Детектування проводили в режимі SCAN у діапазоні (38–400). Швидкість потоку газу-носія крізь колонку 1,0 мл/хв. Ідентифікацію метилових естерів жирних кислот досліджуваної суміші проводили шляхом порівняння часу утримування стандартної суміші метилових естерів жирних кислот (Supelco, США). Для цього використовували бібліотеку маспектрів NIST 02. Визначення вмісту проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. Як внутрішній стандарт використовували розчин ундеканової кислоти [22].

б. Дослідження *фенольних і гідроксикарбонових кислот* проводили на рідинному хроматографі Agilent Technologies 1200. Як рухомих фаз використовували метанол (А) та 0,1 % розчин мурашиної кислоти в воді (В). Елювання проводили в градієнтному режимі: 0 хв – А (25 %) : В (75 %); 25 хв – А (75 %) : В (25 %); 27 хв – А (100 %) : В (0 %); 35 хв – А (100 %) : В (0 %). Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-Aq (4,6 мм±150 мм, 3,5 мкм) (Agilent Technologies, США), швидкість потоку крізь колонку 0,5 мл/хв, температура термостату 30 °С, об'єм інжекції 4 мкл. Детекцію проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 250 та 275 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210–700 нм. Ідентифікацію проводили з використанням стандартних розчинів фенольних сполук (галової, гідроксифенілоцтової, хлорогенової, кофейної, сирінгової, *n*-кумарової, транс-ферулової, синапової, коричної кислот) та хінної кислоти [34].

7. Визначення вмісту гідроксикоричних кислот проводили спектрофотометричним методом ДФУ 2.0, том 3, монографія «Кропиви листя<sup>N</sup>» [11].

8. Вміст флавоноїдів визначали спектрофотометричним методом за методикою ДФУ 2.1, монографія «Софори квітки» [9].

9. Визначення вмісту суми поліфенольних сполук здійснювали спектрофотометричним методом за методикою ДФУ 2.0, том 1, загальна стаття 2.8.14 «Визначення танінів у лікарських засобах рослинного походження» [10, 39].

10. Визначення складу цукрів та їх похідних здійснювали методом ГХ/МС. Хроматографічне розділення проводили на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973 inert (Agilent Technologies, США). Колонка капілярна HP-5ms (30м×0,25мм×0,25мкм, Agilent Technologies, США). Температура випаровувача 250 °С, температура інтерфейсу 280 °С. Розділення виконували в режимі програмування температури – початкову температуру 160 °С витримували впродовж 8 хв, піднімали з градієнтом 5 °С/хв до 240 °С. Кінцеву температуру витримували впродовж 6 хв. Пробу об'ємом 1 мкл вводили в режимі поділу потоку 1 : 50. Детектування здійснювали в режимі SCAN у діапазоні (38-400 м). Швидкість потоку газу носія через колонку 1,2 мл/хв. Рослинну сировину подрібнювали до порошкоподібного стану в скляній ступці. Наважку препарату 500 мг поміщали в круглодонну колбу, додавали розчин 80 % етанолу Р з внутрішнім стандартом із розрахунку 500 мкг на пробу. Екстракцію вільних моноцукрів проводили на водяній бані за 100°С з використанням зворотного холодильника впродовж 2 год. Для отримання альдонітрильних похідних моноцукрів відбирали 2 мл екстракту, упарювали досуха на роторному випаровувачі та додавали 0,3 мл дериватизувального реактиву – 32 мг/мл гідроксиламіну гідрохлориду в суміші піридин/метанол (4:1). Розчинений екстракт витримували впродовж 25 хв за 75 °С. Для ацетилювання альдо-нітрильних похідних моноцукрів додавали 1 мл оцтового ангідриду та витримували впродовж 15 хв за температури 75 °С. До реакційної суміші додавали 2 мл дихлоретану, над-

лишок дериватизаційних реагентів видаляли подвійною екстракцією 1N розчином хлористоводневої кислоти та води очищеної Р. Дихлоретановий шар висушували досуха та розчиняли в 300 мкл суміші гептан/етилацетат (1:1). Ідентифікацію моноцукрів досліджуваної суміші проводили шляхом порівняння часів утримування стандартних моноцукридів та з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз здійснювали шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. Як внутрішній стандарт використовували розчин сорбітолу. За звичайних умов дериватизації кетовуглевод (фруктоза) переходить в альдовуглевод (глюкозу). За цієї методики фруктоза під час дериватизації дає 2 піки, при розрахунках вмісту вуглеводів знаходили суму площ їх піків [37, 56].

11. Визначення вмісту полісахаридів проводили гравіметричним методом за методикою ДФУ 2.0, том 3, монографія «Подорожника великого листа<sup>N</sup>» [11, 38].

12. Визначення вмісту пектинових речовин проводили спектрофотометричним методом за довжини хвилі 520 нм [38, 43].

13. Вміст хлорофілів та каротиноїдів визначали спектрофотометричним методом за методикою, наведеною за посиланням [7, 23, 40].

#### 2.4 Вивчення фармакологічної активності одержаних рослинних екстрактів *in vitro*

*Визначення протівірусної активності.* Для проведення експериментів були використані культури клітин, одержані з колекції музею культур тканин Національної Академії медичних наук України Державна установа «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського» під керівництвом д. мед. н., професора С. Л. Рибалко:

- ВНК – перещеплювана культура клітин нирки хом'яка;
- MDCK – перещеплювана культура клітин нирки собак;

- СНЕВ – перещеплювана культура клітин нирки ембріона свині;
- НСП – перещеплювана культура клітин нирки поросяти;
- СТ – перещеплювана культура клітин тестикул поросят;
- КЦЗ – перещеплювана культура клітин щитовидної залози свині;
- Vero – перещеплювана культура клітин нирки зеленої мавпи.

#### Віруси:

- штам вірусу грипу A/FM/1/47(H1N1) – інфекційний титр алантоїсної культури –  $9,0 \lg \text{EID}_{50}/0,2$  мл, титр гемаглютиніну –  $1:512 \text{ ГАО}/0,2$  мл;
- штам ВН вірусу простого герпесу 2 типу (ВПГ-2) – підтримували серійними пасажами в культурі клітин Vero. Інфекційний титр за ЦПД в культурі клітин складав –  $6,5 \lg \text{ТЦД}_{50}/0,1$  мл. До початку експериментальних досліджень вірус зберігали при  $-70^{\circ} \text{C}$ ;
- штам вірусу  $\text{D}_{52-5}$  ( $\text{BRE}_{79}$ ) – високо патогенний вірус для свиней усіх вікових груп на рівні 5 пасажу в перещеплюваній моношаровій культурі клітин тестикул поросяти СТ.

Показаний тропізм вірусу шлунково-кишкового тракту і респіраторного тракту. Штам надано доктором Hubert Laude з лабораторії молекулярної вірусології та імунології Центру біотехнології INRA в Жуа-ан-Жозасі (Франція).

Титрування інфекційності вірусних матеріалів на культурах клітин проводили двома методами – кінцевих розведень по ЦПД (рис. 2.5, а титр інфекційності визначали за методом Кербера-Ашмаріна та в ТЦД 50/мл, методом негативних колоній (S-ознака) під 1,35 % агаровим покриттям (*Difco-Bacto*) (рис. 2.6), а титр інфекційності визначали в БУО/мл. Результати обраховували через 120 годин культивування при  $38^{\circ} \text{C}$ .

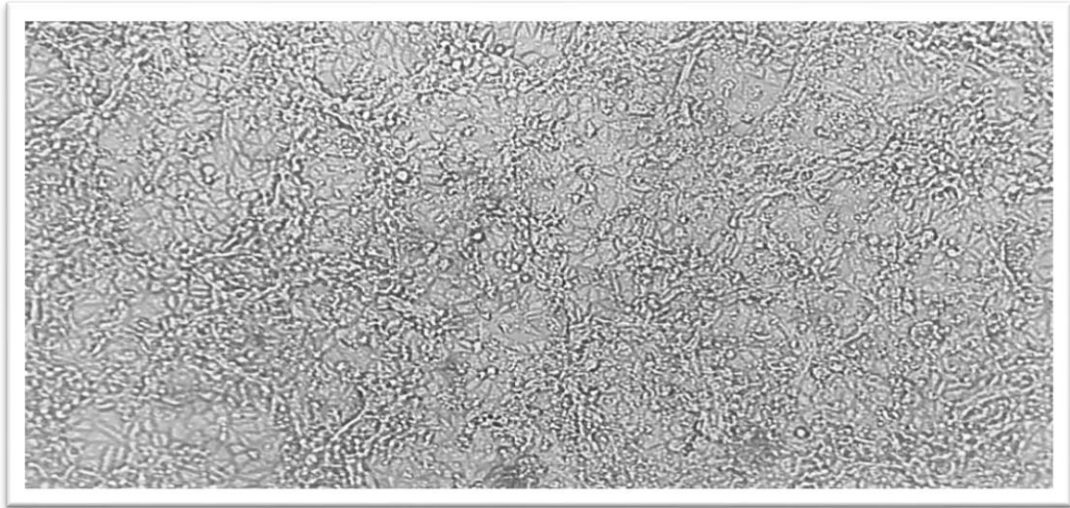


Рис. 2.5 Контроль культури СНЕВ

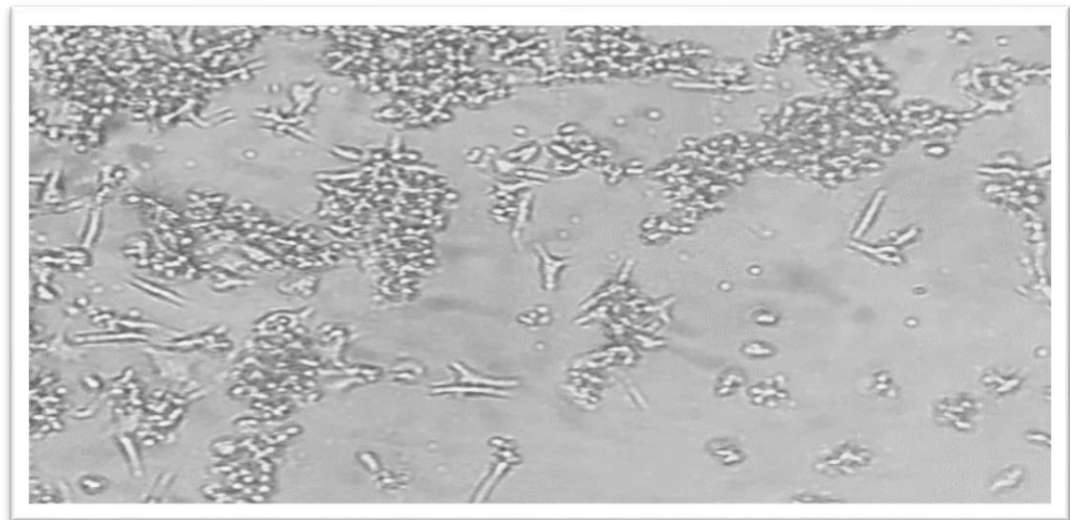


Рис. 2.6 Контроль вірусу на СНЕВ

Для визначення  $CC_{50}$  екстрактів використовували різні культури клітин. У досліджах застосовували не менш десяти рядів лунок у планшетах з культурою клітин для кожного розведення препарату в поживному середовищі. Планшети з культурою клітин інкубували при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  з подачею  $5\text{ }\%$   $\text{CO}_2$  протягом 5 днів. Щодня проводили спостереження дослідних та контрольних культур для встановлення наявності або відсутності ЦПД.



Ступінь ЦПД визначали за зміною морфології клітин (округлення, зморщування клітин, відторгнення від поверхні лунок дегенеративно змінених по 4+ плюсовій системі від «+» до «++++»):

«-» – повна відсутність дегенерації клітин;

«+» – уражено не більше 25 % (захист клітин моношару від противірусного препарату на 75 %);

«++» – уражено не більше 50 % клітинного моношару;

«+++» – уражено не більше 75 % клітинного моношару;

«++++» – повна дегенерація клітинного моношару.

За МПК препарату приймали його найбільшу кількість, яка не викликала дегенерацію клітин.

Для визначення  $EC_{50}$  тест-вірус у дозі 100 ТЦД<sub>50</sub>/0,1 мл вносили в культуру клітин та інкубували протягом 60 хв при 37 °С. Після адсорбції вірусу на клітинах залишки його видаляли, клітини відмивали живильним середовищем, після чого в підтримувальне середовище (RPMI-1640 + 2 % фетальної сироватки) вносили препарати у різних концентраціях. Відсутність ЦПД у досліді (в оброблених культурах), при наявності його в контролі, а також зниження інфекційного титру в оброблених культурах, при наявності його в контрольних та різниця інфекційних титрів в досліді у порівнянні з контролем вірусу грипу дозволяли виявити  $EC_{50}$  препарату.

IS препаратів визначали шляхом встановлення співвідношення МПК до мінімально активної концентрації.

Виявлення РНК вірусу трансмісивного гастроентериту свиней штаму D<sub>52</sub> проводили методом зворотної ПЛР. Виділення РНК виконували за допомогою набору «Рибо-сорб» відповідно до інструкції виробника (АмпліСенс).

Реакцію зворотної транскрипції виконували за допомогою набору «Revert Aid TM H Minus First Strandc DNA Synthesis Kit» відповідно до інструкції виробника (Thermo Scientific, Литва). Для ПЛР були використані специфічні до гену нуклеопротеїна олігонуклеотидних праймерів наступної послідовності: прямий Uni\_1 (5'-TGCACTGATCAATGTGCTAG-3') та звор-

тній Uni\_2 (5'-TGAAAACACTGTGGCACCCCTT-3"). Фрагмент, ампліфікуємого розміром 309 П.М. .. М - маркер "100 bpPlus DNA Ladder" ("Thermo Fisher Scientific", Литва) [60, 63, 82, 129].

Цифровий матеріал оброблений варіаційно-статистично. Статистичну оцінку рівнів значуваності відмінностей отриманих цифрових показників проводили з використанням t-критерію Ст'юдента за допомогою програм Microsoft Excel та Microcal Origin. Достовірними вважали відмінності при  $p < 0,05$  [10].

*Визначення протимікробної активності.* Дослідження проводили на базі ДУ «Інституту мікробіології і імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» під керівництвом с. н. с., канд. біол. наук Т. П. Осолодченко. Дослідження здійснювали методом дифузії в агар у модифікації «колодязів» на музейних тест-штамах мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636 та *Candida albicans* ATCC 885/653 [1, 50].

### РОЗДІЛ 3

## ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СИРОВИНИ ОБЛІПИХИ КРУШИНОПОДІБНОЇ

### 3.1 Дослідження вільних і зв'язаних амінокислот

Амінокислоти є основним будівельним матеріалом в організмі людини. Але вони мають різнопланову фармакологічну активність. Так, лізин проявляє протівірусну дію щодо вірусу герпесу тощо. Отже, дослідження амінокислотного складу та визначення їх вмісту у сировині обліпихи крушиноподібної було доцільним [19, 24].

Поява синьо-фіолетового забарвлення з розчином нінгідрину свідчила про наявність вільних амінокислот у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної [19, 24, 32, 33].

Попередній аналіз якісного складу вільних амінокислот проводили методом ПХ [19, 24]. У результаті хроматографічного дослідження у листі та плодах обліпихи крушиноподібної ідентифіковано по 16 вільних амінокислот (серин, гістидин, гліцин, треонін, аргінін, аланін, тирозин, валін, метіонін, фенілаланін, ізолейцин, лейцин, лізин, пролін, аспарагінова та глютамінова кислоти), у корі – 10 (серин, гістидин, треонін, аргінін, тирозин, ізолейцин, лейцин, лізин, аспарагінова та глютамінова кислоти) [26, 27, 30, 31, 125].

Методом ВЕРХ вивчено якісний склад і визначено вміст вільних і зв'язаних амінокислот [45, 112]. Результати хроматографічного аналізу амінокислот листя обліпихи крушиноподібної наведені на рис. 3.1 і в табл. 3.1.

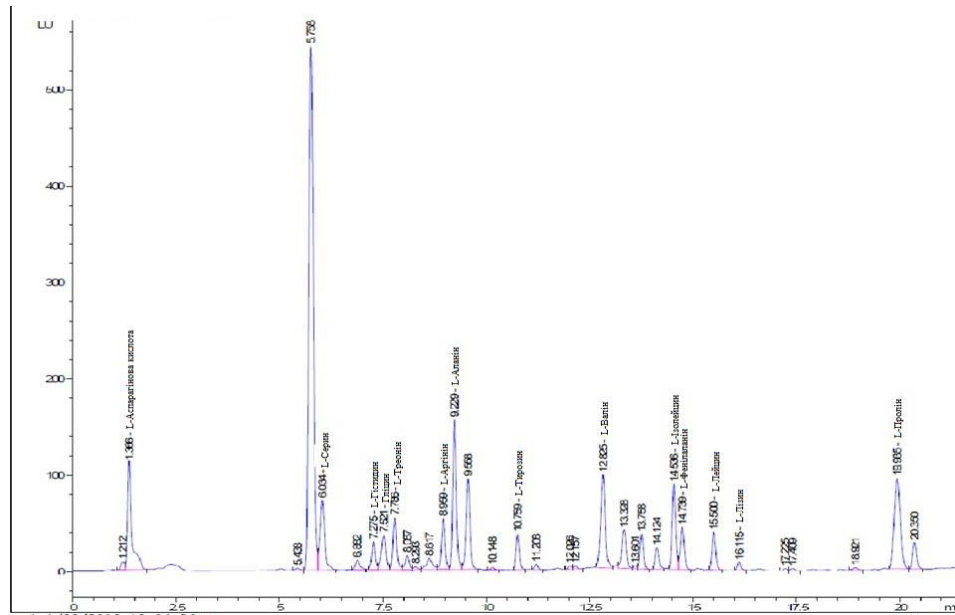


Рис. 3.1 Хроматограма амінокислот листя обліпихи крушиноподібної

Таблиця 3.1

**Час утримування та вміст амінокислот у листі обліпихи крушиноподібної**

Амінокислоти	Час утримування, хв	Вміст, мг/100г		
		вільні	зв'язані	сума вільних та зв'язаних
1	2	3	4	5
Аспарагінова	1,36 ± 0,01	87,70 ± 1,32	1833,40 ± 27,60	1921,10 ± 28,82
Серин	6,03 ± 0,02	41,60 ± 0,62	1165,00 ± 17,47	1206,60 ± 18,10
Гістидин	7,27 ± 0,02	45,60 ± 0,68	666,50 ± 9,98	712,10 ± 10,68
Гліцин	7,52 ± 0,02	15,70 ± 0,23	1116,60 ± 16,76	1132,30 ± 16,98
Треонін*	7,78 ± 0,02	30,40 ± 0,46	934,50 ± 14,02	964,90 ± 14,47
Аргінін	8,99 ± 0,03	38,70 ± 0,58	1564,30 ± 23,45	1603,00 ± 24,05
Аланін	9,22 ± 0,03	59,20 ± 0,89	1232,50 ± 18,47	1291,70 ± 19,37
Тирозин	10,75 ± 0,03	29,50 ± 0,44	818,00 ± 12,27	847,50 ± 12,71
Валін*	12,82 ± 0,05	45,50 ± 0,68	847,20 ± 12,69	892,70 ± 13,39
Фенілаланін*	14,73 ± 0,05	47,70 ± 0,71	885,80 ± 13,28	933,50 ± 14,00
Ізолейцин*	14,53 ± 0,05	29,50 ± 0,44	1003,70 ± 15,05	1033,20 ± 15,49

1	2	3	4	5
Лейцин*	15,50 ± 0,05	20,30 ± 0,30	1753,50 ± 26,30	1773,80 ± 26,61
Лізин*	16,11 ± 0,06	24,10 ± 0,36	825,00 ± 12,35	849,10 ± 12,74
Пролін	19,93 ± 0,07	61,20 ± 0,92	53,90 ± 0,80	115,10 ± 1,73
Разом:		576,70 ± 8,65	14699,90 ± 220,50	15276,60 ± 229,15

Примітка. \* – незамінні амінокислоти.

У листі обліпихи крушиноподібної ідентифіковано та визначено вміст 14 вільних і зв'язаних амінокислот, з яких 6 – незамінні. Аспарагінова кислота мала найбільший вміст як у вільному ( $87,70 \pm 1,32$  мг/100 г), так і у зв'язаному ( $1833,40 \pm 27,60$  мг/100 г) стані. Серед вільних незамінних амінокислот максимальний вміст зафіксовано для фенілаланіну ( $47,70 \pm 0,71$  мг/100 г), серед зв'язаних – для лейцину ( $1773,80 \pm 26,61$  мг/100 г) [27].

Результати хроматографічного аналізу амінокислот плодів обліпихи крушиноподібної наведені на рис. 3.2 і в табл. 3.2.

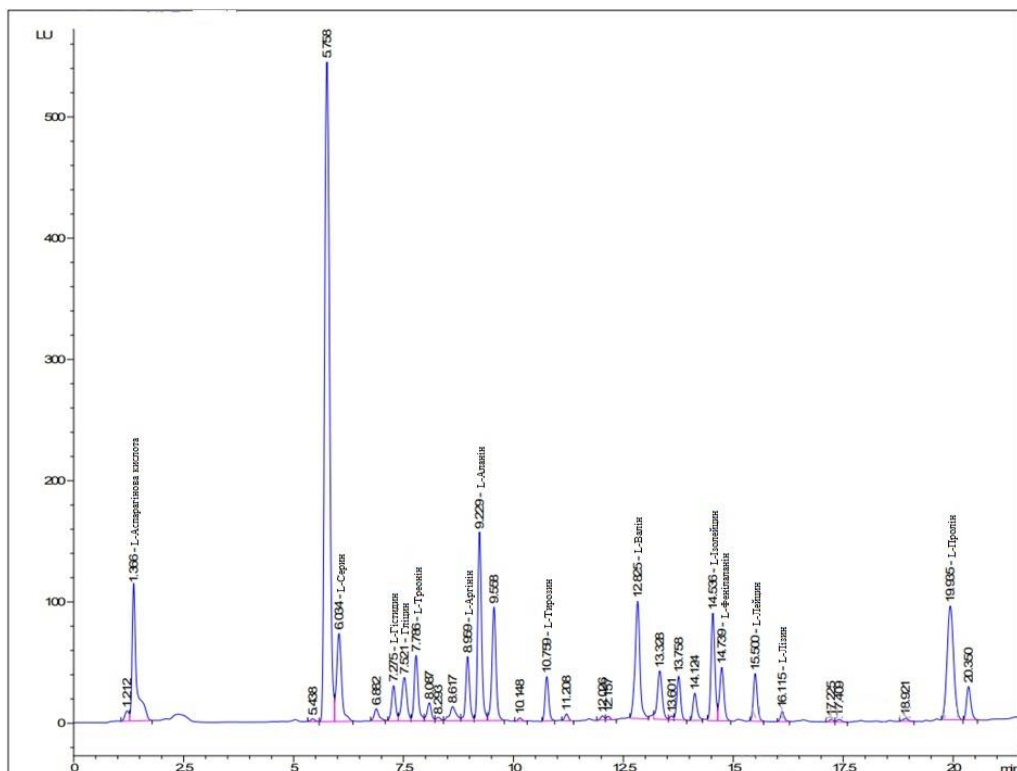


Рис 3.2 Хроматограма амінокислот плодів обліпихи крушиноподібної

**Час утримування та вміст амінокислот в плодах  
обліпихи крушиноподібної**

Амінокислоти	Час утримування, хв	Вміст, мг/100 г		
		вільні	зв'язані	сума вільних та зв'язаних
Аспарагінова	1,36 ± 0,01	3,60 ± 0,05	1023,80 ± 15,34	1027,40 ± 15,41
Серин	6,03 ± 0,01	1,50 ± 0,02	501,10 ± 7,51	502,60 ± 7,53
Гістидин	7,27 ± 0,01	–	540,00 ± 8,08	540,00 ± 8,08
Гліцин	7,52 ± 0,01	0,90 ± 0,01	179,90 ± 2,67	180,80 ± 2,70
Треонін*	7,78 ± 0,02	0,90 ± 0,01	348,00 ± 5,22	348,90 ± 5,23
Аргінін	8,96 ± 0,02	11,20 ± 0,16	437,80 ± 6,56	449,00 ± 6,73
Аланін	9,22 ± 0,02	3,40 ± 0,05	697,40 ± 10,39	700,80 ± 10,51
Тирозин	10,75 ± 0,03	–	331,70 ± 4,96	331,70 ± 4,96
Валін*	12,82 ± 0,03	1,40 ± 0,02	521,50 ± 7,80	522,90 ± 7,84
Фенілаланін*	14,73 ± 0,04	–	565,40 ± 8,43	565,40 ± 8,48
Ізолейцин*	14,53 ± 0,04	2,40 ± 0,03	355,40 ± 5,33	357,80 ± 5,35
Лейцин*	15,50 ± 0,05	–	237,20 ± 3,55	237,20 ± 3,55
Лізин*	16,11 ± 0,05	–	301,40 ± 4,50	301,40 ± 4,50
Пролін	19,93 ± 0,08	5,3 ± 0,08	801,90 ± 12,02	807,20 ± 12,10
Разом:		30,60 ± 0,46	6842,50 ± 102,63	6873,10 ± 103,04

Примітки:

1. «–» – амінокислоту не виявлено;
2. \* – незамінні амінокислоти.

Плоди обліпихи крушиноподібної містили 9 вільних і 14 зв'язаних амінокислот. Аргінін домінував за вмістом серед вільних амінокислот – 11,20 ± 0,16 мг/100 г, аспарагінова кислота і пролін мали вищий вміст серед зв'язаних амінокислот – 1023,80 ± 15,34 мг/100 г і 801,90 ± 12,02 мг/100 г

відповідно. Гістидин, гліцин, тирозин, ізолейцин і лізин ідентифіковані лише у зв'язаному стані [27].

Результати хроматографічного аналізу амінокислот кори обліпихи крушиноподібної наведені на рис. 3.3 і в табл. 3.3.

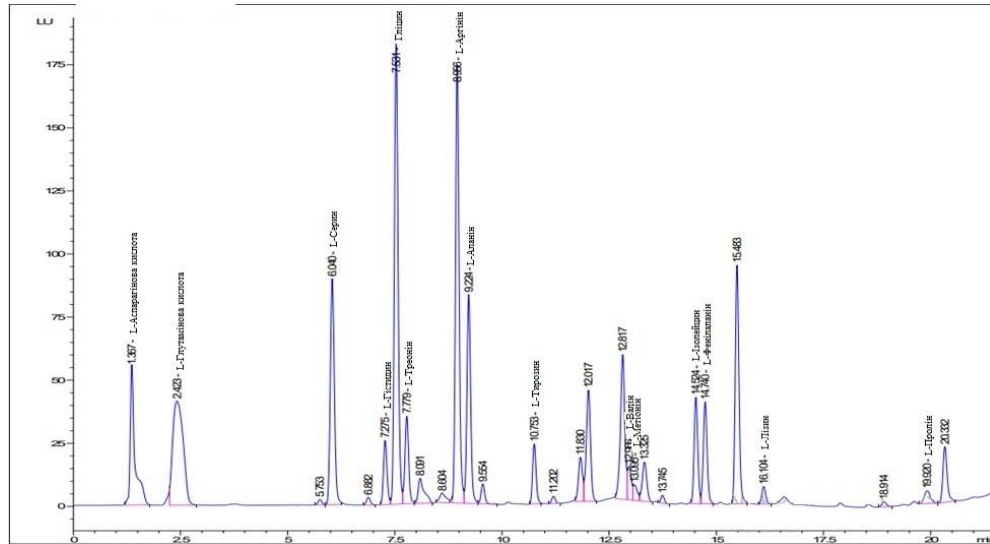


Рис.3.3 Хроматограма амінокислот кори обліпихи крушиноподібної

Таблиця 3.3

### Час утримування та вміст амінокислот в корі обліпихи крушиноподібної

Амінокислоти	Час утримування, хв	Вміст мг/100 г		
		Вільні	Зв'язані	Сума вільних та зв'язаних
1	2	3	4	5
Аспарагінова	1,35±0,01	4,50 ± 0,06	603,40 ± 9,05	607,90 ± 9,12
Глутамінова	2,42±0,01	5,40 ± 0,08	1442,09 ± 21,63	1447,50 ± 21,71
Серин	6,04±0,02	2,10 ± 0,03	571,30 ± 8,57	573,40 ± 8,59
Гістидин	7,26±0,02	—	482,20 ± 7,23	482,20 ± 7,23
Гліцин	7,53±0,02	1,50 ± 0,02	767,50 ± 11,51	769,00 ± 11,53
Треонін*	7,77±0,02	1,30 ± 0,01	238,10 ± 3,57	239,40 ± 3,59
Аргінін	8,96±0,03	4,90 ± 0,07	1548,60 ± 23,22	1553,50 ± 23,30
Аланін	9,22±0,03	5,90 ± 0,08	406,90 ± 6,10	412,80 ± 6,19
Тирозин	10,75±0,03	1,40 ± 0,02	238,40 ± 3,57	239,80 ± 3,59

1	2	3	4	5
Валін*	12,96±0,05	1,70 ± 0,02	63,60 ± 0,90	65,30 ± 0,98
Метіонін	13,09±0,05	–	50,80 ± 0,76	50,80 ± 0,76
Фенілаланін*	14,74±0,06	5,10 ± 0,07	285,90 ± 4,28	291,00 ± 4,36
Ізолейцин*	14,52±0,05	0,90 ± 0,01	329,90 ± 4,95	330,80 ± 4,96
Лізин*	16,10±0,07	–	300,40 ± 4,51	300,40 ± 4,51
Пролін	19,92±0,08	1,70 ± 0,02	45,40 ± 0,68	47,10 ± 0,70
Разом:		36,40 ± 0,54	7374,49 ± 110,61	7410,90±110,82

Примітки:

1. «-» – амінокислоту не виявлено;
2. \* – незамінні амінокислоти.

Результати показали, що кора містила 12 вільних і 15 зв'язаних амінокислот. У максимальній кількості у вільному стані визначені аланін ( $5,90 \pm 0,08$  мг/100 г), у зв'язаному – аргінін ( $1548,60 \pm 23,22$  мг/100 г). Глутамінова кислота мала значний вміст як у вільному, так зв'язаному стані –  $5,40 \pm 0,08$  мг/100 г і  $1442,09 \pm 21,63$  мг/100 г відповідно. Гістидин, метіонін і лізин виявлені тільки серед зв'язаних амінокислот [27].

Таким чином, одержані результати показали, що листя та кора обліпихи крушиноподібної мали більш багатий амінокислотний склад у порівнянні з плодами. Крім того, слід звернути увагу, що глутамінова кислота була ідентифікована тільки в корі рослини.

Вміст суми вільних амінокислот визначали спектрофотометричним методом за довжини хвилі 573 нм у перерахунку на лейцин [19, 24]. Результати аналізу наведені у табл. 3.4.



**Результати кількісного визначення суми вільних амінокислот у сировині обліпихи крушиноподібної**

№ з/п	Сировина, що вивчалася	Вміст у перерахунку на лейцин, %
1.	Листя обліпихи крушиноподібної	$0,89 \pm 0,04$
2.	Плоди обліпихи крушиноподібної	$0,55 \pm 0,02$
3.	Кора обліпихи крушиноподібної	$0,75 \pm 0,03$

Примітка. Вірогідність похибки  $P < 0,05$ .

Аналіз одержаних результатів показав, що за вмістом суми вільних амінокислот домінували листя обліпихи крушиноподібної –  $0,89 \pm 0,04$  %. Найменша їх кількість визначена у плодах рослини –  $0,55 \pm 0,02$  %. Кора обліпихи крушиноподібної мала незначно нижчий вміст вільних амінокислот, який склав  $0,75 \pm 0,03$  % [25].

### 3.2 Хроматографічне вивчення нижчих органічних кислот та визначення вмісту суми вільних органічних кислот

Нижчі органічні кислоти мають позитивний вплив на організм людини: виявляють антимікробну, протівірусну, кардіопротекторну дії, пригнічують утворення каменів у нирках, стимулюють процеси травлення, покращують засвоєння мінералів [8]. Аскорбінова кислота має вітамінну дію [5]. Тому доцільним було вивчення цих кислот у сировині обліпихи крушиноподібної.

Якісний склад вільних нижчих органічних кислот вивчали методом ПХ і ТШХ [8, 43]. Результати хроматографічного дослідження наведені на рис. 3.4.

<b>Верхня частина хроматограми</b>			
бурштинова кислота: жовта зона	жовта зона (бурштинова кислота)	жовта зона (бурштинова кислота)	жовта зона (бурштинова кислота)
лимонна кислота: жовта зона	жовта зона (лимонна кислота)	жовта зона (лимонна кислота)	
аскорбінова кислота: біла зона	біла зона (аскорбінова кислота)	біла зона (аскорбінова кислота)	
яблучна кислота: жовта зона	жовта зона (яблучна кислота)	жовта зона (яблучна кислота)	жовта зона (яблучна кислота)
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробовуваний розчин (листя)</b>	<b>Випробовуваний розчин (плоди)</b>	<b>Випробовуваний розчин (кора)</b>

Рис. 3.4 Хроматограма вільних нижчих органічних кислот листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної

Проведені дослідження показали, що листя, плоди та кора обліпихи крушиноподібної мали різний склад вільних нижчих органічних кислот. Так у листі та плодах виявлено 4 сполуки, які ідентифіковані як яблучна, аскорбінова, лимонна та бурштинова кислоти. У корі обліпихи ідентифіковано 2 кислоти, а саме яблучну та бурштинову.

Вміст суми вільних органічних кислот у сировині обліпихи крушиноподібної визначали титриметричним методом у перерахунку на яблучну кислоту [9]. Результати аналізу наведені у табл. 3.5.

**Результати кількісного визначення суми вільних органічних кислот у сировині обліпихи крушиноподібної**

№ з/п	Сировина, що вивчалася	Вміст у перерахунку на яблучну кислоту, %
1.	Листя обліпихи крушиноподібної	1,08 ± 0,08
2.	Плоди обліпихи крушиноподібної	1,96 ± 0,14
3.	Кора обліпихи крушиноподібної	0,71 ± 0,06

Примітка. Вірогідність похибки  $P < 0,05$ .

Результати кількісного визначення показали максимальний вміст вільних органічних кислот у плодах обліпихи крушиноподібної –  $1,96 \pm 0,14$  %. У листі та корі вміст цієї групи сполук був значно нижчий і склав  $1,08 \pm 0,08$  % і  $0,71 \pm 0,06$  % відповідно.

Для визначення вмісту аскорбінової кислоти використовували спектрофотометричний метод [11]. Результати аналізу наведені у табл. 3.6.

Таблиця 3.6

**Результати кількісного визначення аскорбінової кислоти у сировині обліпихи крушиноподібної**

№ з/п	Сировина, що вивчалася	Вміст у перерахунку на суху сировину, мг/100 г
1.	Листя обліпихи крушиноподібної	80,00 ± 3,20
2.	Плоди обліпихи крушиноподібної	440,00 ± 17,60

Примітка. Вірогідність похибки  $P < 0,05$ .

За результатами кількісного аналізу встановлено, що плоди обліпихи крушиноподібної накопичували більшу кількість аскорбінової кислоти, ніж листя. Так, листя рослини містили  $80,00 \pm 3,20$  мг/100 г аскорбінової кислоти,

тоді як плоди у 5,5 разів більше –  $440,00 \pm 17,60$  мг/100 г. Визначення вмісту аскорбінової кислоти у корі обліпихи крушиноподібної не проводилося, оскільки вона не була виявлена під час хроматографічного дослідження.

### 3.3 Дослідження жирнокислотного складу

Відомо, що жирні кислоти позитивно впливають на імунну систему, виявляють протівірусні та антибактеріальні властивості [22]. Зокрема, поліненасичені жирні кислоти є складовими мембран усіх імунокомпетентних клітин, впливаючи таким чином на спрямованість імунної відповіді [21]. Тому з метою комплексного дослідження БАР сировини обліпихи крушиноподібної було проведено вивчення її жирнокислотного складу.

Визначення якісного складу та вмісту жирних кислот у сировині обліпихи крушиноподібної проводили методом ГХ/МС [22, 29].

Результати ГХ/МС аналізу листя обліпихи крушиноподібної наведені на рис. 3.5 і у табл. 3.7.

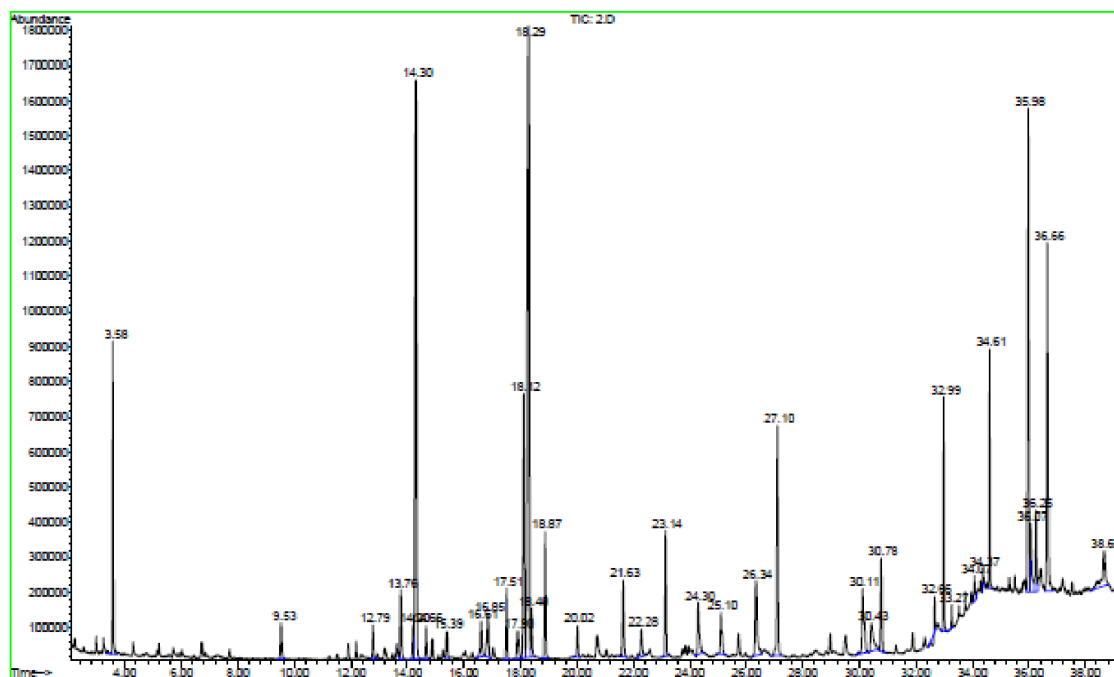


Рис. 3.5 Хроматограма жирних кислот листя обліпихи крушиноподібної

**Час утримування та вміст жирних кислот у листі обліпихи крушиноподібної**

Назва кислоти	Час утримування, хв	Вміст, мг/100 г
Міристинова кислота	9,52 ± 0,03	28,00± 0,42
Маргарінова кислота	16,61 ± 0,03	32,00±0,48
Пальмітинова кислота	14,30 ± 0,03	533,00 ± 7,99
Олеїнова кислота*	18,29 ± 0,03	779,00 ± 11,68
Лінолева кислота*	18,12 ± 0,03	242,00 ± 3,63
Стеаринова кислота	18,87 ± 0,03	103,00 ± 1,54
Арахінова кислота	26,33 ± 0,05	91,00±1,36
Бегенова кислота	23,14 ± 0,04	107,00 ± 1,61
Лігноцеринова кислота	30,77 ± 0,05	78,00 ± 1,17
Сума насичених жирних кислот		972,00 ± 14,58
Сума ненасичених жирних кислот		1021,00 ± 15,31
Всього		1993,00 ± 29,89

Примітка. \* – ненасичені жирні кислоти.

Листя обліпихи містило 9 жирних кислот – 7 насичених та 2 ненасичені. Пальмітинова кислота мала найбільший вміст серед насичених жирних кислот, який становив 533,00 ± 7,99 мг/100 г. Серед ненасичених жирних кислот домінувала олеїнова – 779,00 ± 11,68 мг/100 г. У найменшій кількості була визначена міристинова кислота – 28,00± 0,42 мг/100 г. Сума ненасичених жирних кислот була вищою, ніж насичених – 1021,00 ± 15,31 мг/100 г і 972,00 ± 14,58 мг/100 г відповідно [29].

Результати ГХ/МС аналізу плодів обліпихи крушиноподібної наведені на рис. 3.6 і у табл. 3.8.

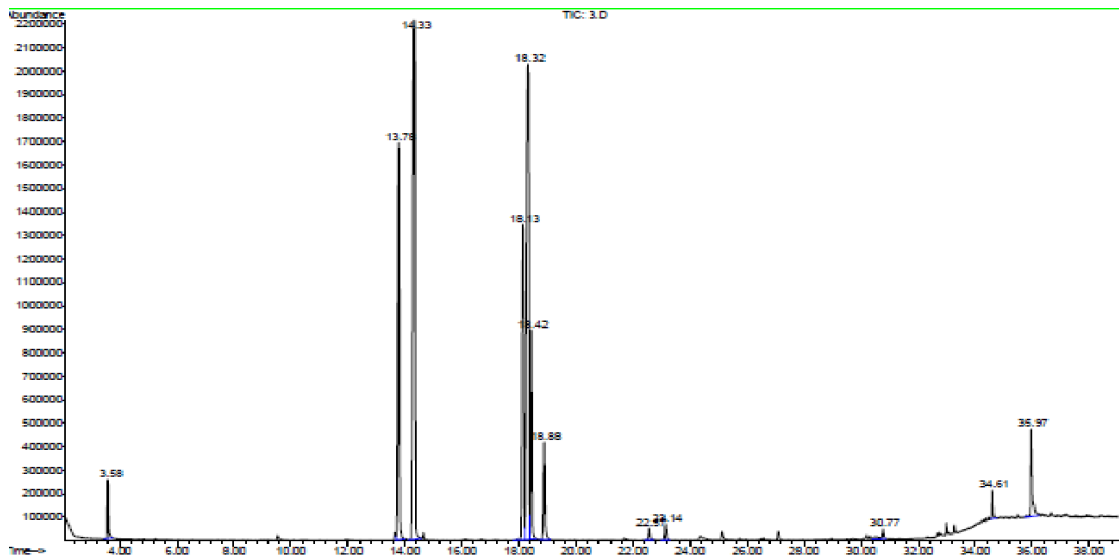


Рис. 3.6 Хроматограма жирних кислот плодів обліпихи крушиноподібної

Таблиця 3.8

**Час утримування та вміст жирних кислот у плодах обліпихи крушиноподібної**

Назва	Час утримування, хв	Вміст, мг/100 г
Пальмітинова кислота	13,77±0,04	1992,00 ± 29,88
Олеїнова кислота*	18,42±0,09	837,00 ± 12,55
Лінолева кислота*	18,13±0,08	1786,00 ± 26,79
Стеаринова кислота	18,31±0,08	4374,00 ± 65,61
Арахінова кислота	23,14±0,11	76,00 ± 1,14
Сума насичених жирних кислот		6442,00 ± 96,63
Сума ненасичених жирних кислот		2623,00 ± 39,34
Всього		9065,00 ± 135,97

Примітка. \* – ненасичені жирні кислоти.

У плодах обліпихи ідентифіковано 5 жирних кислот, з них 3 насичені та 2 ненасичені. Домінуючою насиченою жирною кислотою виявилася стеаринова кислота, вміст якої склав 4374,00 ± 65,61 мг/100 г, ненасиченою – лі-

нолева ( $1786,00 \pm 26,79$  мг/100 г). Арахінова кислота мала найменший вміст серед усіх ідентифікованих жирних кислот –  $76,00 \pm 1,14$  мг/100 г. Насичені жирні кислоти переважали за вмістом ненасичені кислоти у 2,5 рази, а саме  $6442,00 \pm 96,63$  мг/100 г проти  $2623,00 \pm 39,34$  мг/100 г [29].

Результати ГХ/МС аналізу кори обліпихи крушиноподібної наведені на рис. 3.7 і у табл. 3.9.

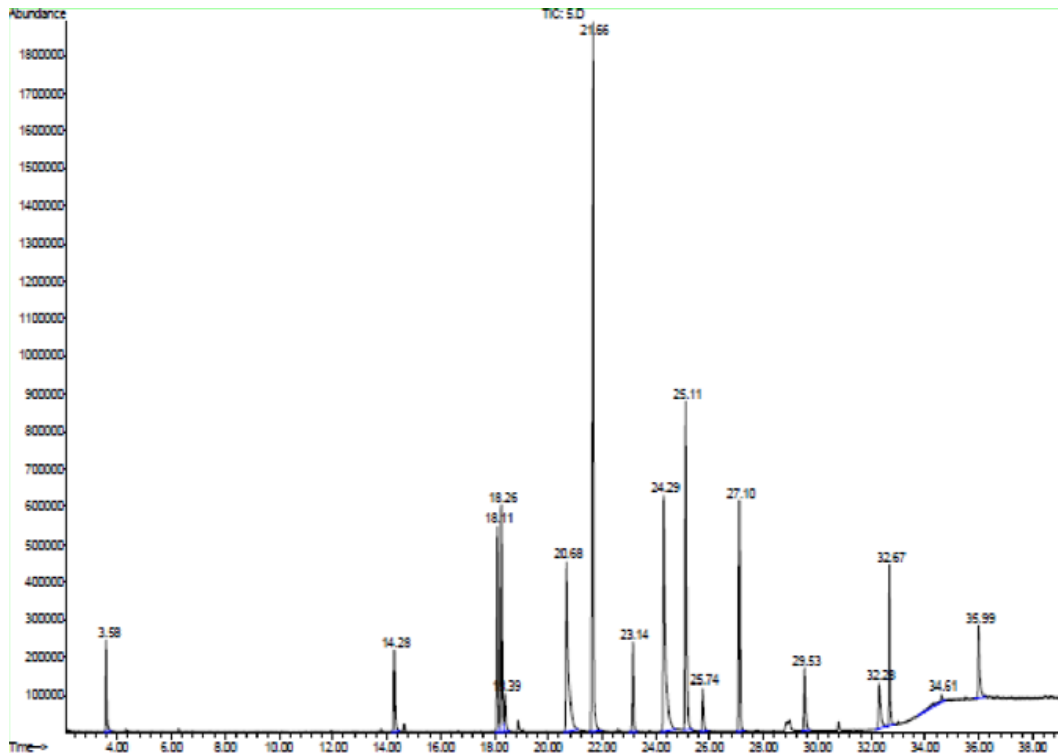


Рис. 3.7 Хроматограма жирних кислот кори обліпихи крушиноподібної

Таблиця 3.9

**Час утримування та вміст жирних кислот у корі обліпихи крушиноподібної**

Назва кислоти	Час утримування, хв	Вміст, мг/100 г
1	2	3
Пальмітинова кислота	$14,28 \pm 0,02$	$214,00 \pm 3,21$
Олеїнова кислота*	$18,25 \pm 0,03$	$575,00 \pm 8,62$
Лінолева кислота*	$18,11 \pm 0,03$	$1382,00 \pm 20,72$
Арахінова кислота	$21,66 \pm 0,04$	$2085,00 \pm 31,24$

1	2	3
Бегенова кислота	25,73 ± 0,05	138,00 ± 2,07
Генейкоцилова кислота	29,52 ± 0,05	187,00 ± 2,81
Ерукова кислота*	32,28 ± 0,06	209,00 ± 3,13
Сума насичених жирних кислот		2624,00 ± 39,35
Сума ненасичених жирних кислот		2166,00 ± 32,49
Всього		4790,00 ± 71,85

Примітка. \* – ненасичені жирні кислоти.

Жирні кислоти кори обліпихи крушиноподібної представлені 7 кислотами – 4 насиченими та 3 ненасиченими. Арахінова кислота домінувала серед насичених жирних кислот і мала вміст 2085,00 ± 31,24 мг/100 г. Вміст лінолевої кислоти був максимальним серед ідентифікованих ненасичених жирних кислот, що становило 1382,00 ± 20,72 мг/100 г. Бегенова кислота містилася у мінімальній кількості серед усіх визначених жирних кислот – 138,00 ± 2,07 мг/100 г. Сума насичених жирних кислот (2624,00 ± 39,35 мг/100 г) була де-що вищою порівняно з сумою ненасичених (2166,00 ± 32,49 мг/100 г) [29].

Узагальнюючи експериментальні дані, слід відмітити, що сировина обліпихи крушиноподібної значно відрізнялася за якісним складом жирних кислот. Максимальний вміст суми жирних кислот визначений у плодах обліпихи крушиноподібної – 9065,00 ± 135,97 мг/100 г, мінімальний вміст був у листі – 1993,00 ± 29,89 мг/100 г [29].

### 3.4 Дослідження фенольних і гідроксикарбонових кислот

Дані літератури свідчать, що фенольні та гідроксикарбонові кислоти виявляють широкий спектр фармакологічної активності, зокрема протівірусну. Так, доведено протівірусну дію для хлорогенової та хінної кислот щодо



вірусів грипу А та Б [2]. Тому доцільно було провести вивчення фенольних і гідроксикарбонових кислот у сировині обліпихи крушиноподібної.

Виявлення та ідентифікацію фенольних кислот проводили методом ПХ і ТШХ [11]. Результати хроматографічного дослідження наведені на рис. 3.8.

<b>Верхня частина хроматограми</b>			
хлорогенова кислота: блакитно-зелена флуоресціююча зона	блакитно-зелена флуоресціююча зона (хлорогенова кислота)	блакитно-зелена флуоресціююча зона (хлорогенова кислота)	блакитно-зелена флуоресціююча зона (хлорогенова кислота)
синапова кислота: яскраво-фіолетова флуоресціююча зона	яскраво-фіолетова флуоресціююча зона (синапова кислота)	яскраво-фіолетова флуоресціююча зона (синапова кислота)	яскраво-фіолетова флуоресціююча зона (синапова кислота)
ферулова кислота: блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона (ферулова кислота)	блакитна флуоресціююча зона (ферулова кислота)	блакитна флуоресціююча зона (ферулова кислота)
кофейна кислота: блакитно-зелена флуоресціююча зона	блакитно-зелена флуоресціююча зона (кофейна кислота)	блакитно-зелена флуоресціююча зона (кофейна кислота)	блакитно-зелена флуоресціююча зона (кофейна кислота)
галола кислота: жовта флуоресціююча зона	жовта флуоресціююча зона (галола кислота)	жовта флуоресціююча зона (галола кислота)	жовта флуоресціююча зона (галола кислота)
корична кислота: блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона (корична кислота)	блакитна флуоресціююча зона (корична кислота)	блакитна флуоресціююча зона (корична кислота)
гідроксифенілоцтова кислота: яскраво-блакитна флуоресціююча зона	яскраво-блакитна флуоресціююча зона (гідроксифенілоцтова кислота)	яскраво-блакитна флуоресціююча зона (гідроксифенілоцтова кислота)	яскраво-блакитна флуоресціююча зона (гідроксифенілоцтова кислота)
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробовуваний розчин (листя)</b>	<b>Випробовуваний розчин (плоди)</b>	<b>Випробовуваний розчин (кора)</b>

Рис. 3.8 Схема хроматограми фенольних кислот сировини обліпихи крушиноподібної

У результаті хроматографічного вивчення листя, плодів та кори обліпихи крушиноподібної встановлено ідентичний склад фенольних кислот. Ідентифіковано 7 сполук, серед яких 2 похідні бензойної кислоти (галова та гідроксифенілоцтова) і 5 гідроксикоричних кислот (хлорогенова, синапова, ферулова, кофейна, корична) [30-34, 124].

Дослідження складу фенольних і гідроксикарбонових кислот здійснювали методом ВЕРХ [34]. Результати ВЕРХ-аналізу наведено на рис. 3.9–3.11 і у табл. 3.10–3.12.

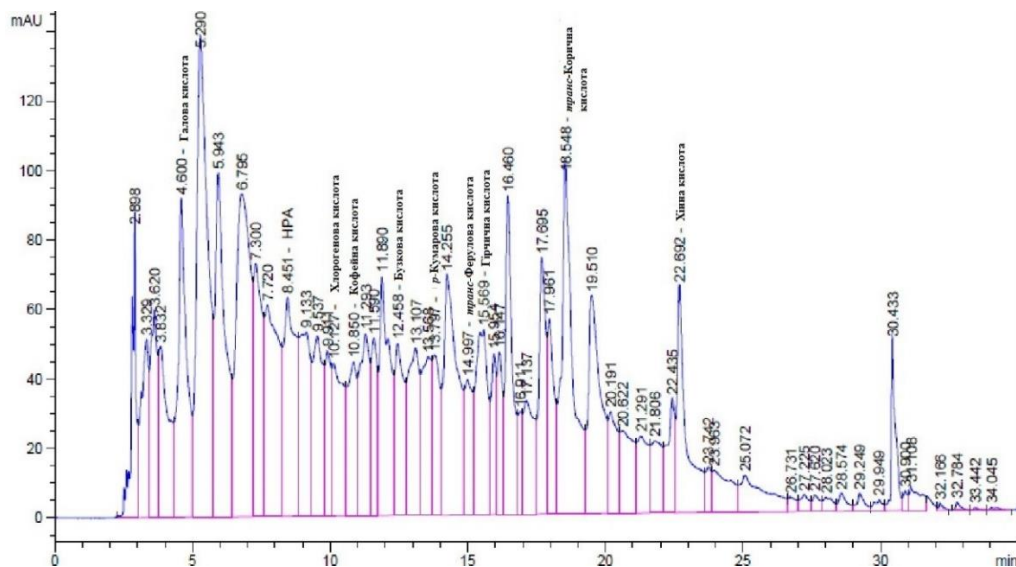


Рис 3.9 Хроматограма фенольних і гідроксикарбонових кислот листя обліпихи крушиноподібної

Таблиця 3.10

**Результати визначення фенольних і гідроксикарбонових кислот у листі обліпихи крушиноподібної методом ВЕРХ**

№ з/п	Ідентифікована сполука	Час утримування, хв	Вміст, мкг/100 г
1	2	3	4
Похідна бензойної кислоти			
1.	Галова	4,60 ± 0,02	1342,88 ± 20,14
2.	Гідроксифенілоцтова	8,45 ± 0,03	1452,53 ± 21,78

1	2	3	4
Гідроксикоричні кислоти			
3.	Хлорогенова	10,12 ± 0,04	4369,85 ± 65,55
4.	Кофейна	10,85 ± 0,04	1038,11 ± 15,57
5.	Сирінгова	12,45 ± 0,05	630,90 ± 9,46
	Кумарова	13,79 ± 0,05	567,42 ± 8,51
6.	Ферулова	14,99 ± 0,06	468,26 ± 7,13
7.	Синапова	15,56 ± 0,06	806,27 ± 12,10
8.	Цинамова	18,54 ± 0,07	656,55 ± 9,85
Гідроксикарбонова кислота			
9.	Хінна	22,69 ± 0,40	65572,75 ± 983,59

У листі обліпиhi крушиноподібної ідентифіковано та визначено вміст 10 сполук: 2 похідних бензойної кислоти, 7 гідроксикоричних кислот, 1 гідроксикарбонової кислоти. Серед усіх ідентифікованих кислот за вмістом переважала хінна кислота – 65572,75 ± 983,59 мкг/100 г. Гідроксифенілоцтова кислота містилася у більшій кількості серед похідних бензойної кислоти – 1452,53 ± 21,78 мкг/100 г. Серед гідроксикоричних домінуючими були хлорогенова (4369,85 ± 65,55 мкг/100 г) і кофейна (1038,11 ± 15,57 мкг/100 г) кислоти [34].

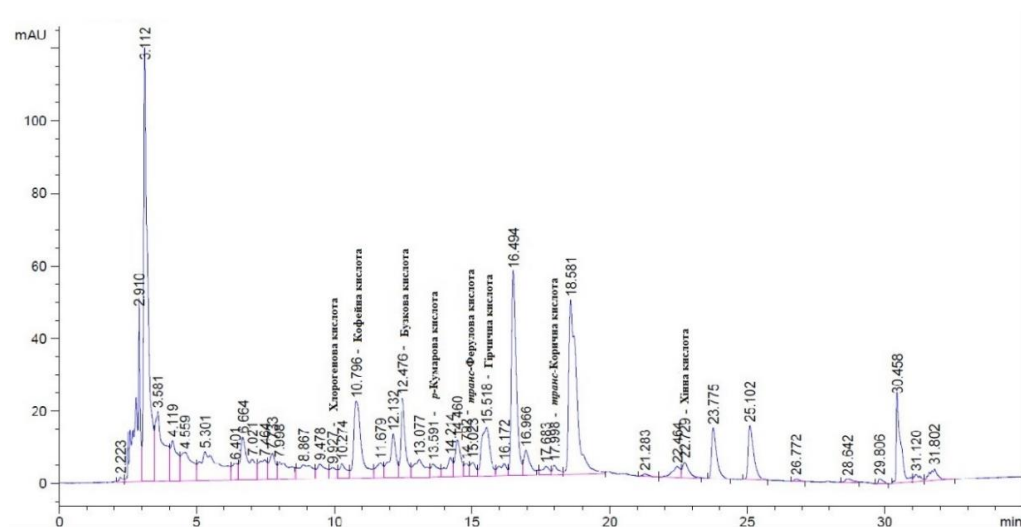


Рис. 3.10 Хроматограма фенольних та гідроксикарбонових кислот плодів обліпиhi крушиноподібної

**Результати визначення фенольних і  
гідроксикарбонових кислот у плодах обліпихи  
крушиноподібної методом ВЕРХ**

№ з/п	Ідентифікована сполука	Час утримування, хв	Вміст, мкг/100 г
Гідроксикоричні кислоти			
1.	Хлорогенова	9,92 ± 0,02	198,97 ± 2,98
2.	Кофейна	10,79 ± 0,03	107,37 ± 1,61
3.	Сирінгова	12,47 ± 0,05	153,75 ± 2,31
4.	Кумарова	13,59 ± 0,04	43,90 ± 0,65
5.	Ферулова	14,79 ± 0,06	5,52 ± 0,08
6.	Синапова	15,51 ± 0,06	143,53 ± 2,19
7.	Цинамова	17,99 ± 0,04	99,27 ± 1,51
Гідроксикарбонова кислота			
8.	Хінна	22,72 ± 0,41	2644,47 ± 39,67

У плодах обліпихи крушиноподібної, на відміну від листя, визначено 8 речовин, серед яких 7 гідроксикоричних і 1 гідроксикарбонова кислоти. Хінна кислота також була домінуючою сполукою серед усіх ідентифікованих кислот, але її вміст був майже у 25 разів нижчий, ніж у листі, – 2644,47 ± 39,67 мкг/100 г. Хлорогенова та сирінгова кислоти мали найвищий вміст серед гідроксикоричних кислот – 198,97 ± 2,98 мкг/100 г і 153,75 ± 2,31 мкг/100 г відповідно. Похідні бензойної кислоти в плодах обліпихи крушиноподібної не виявлені [34].

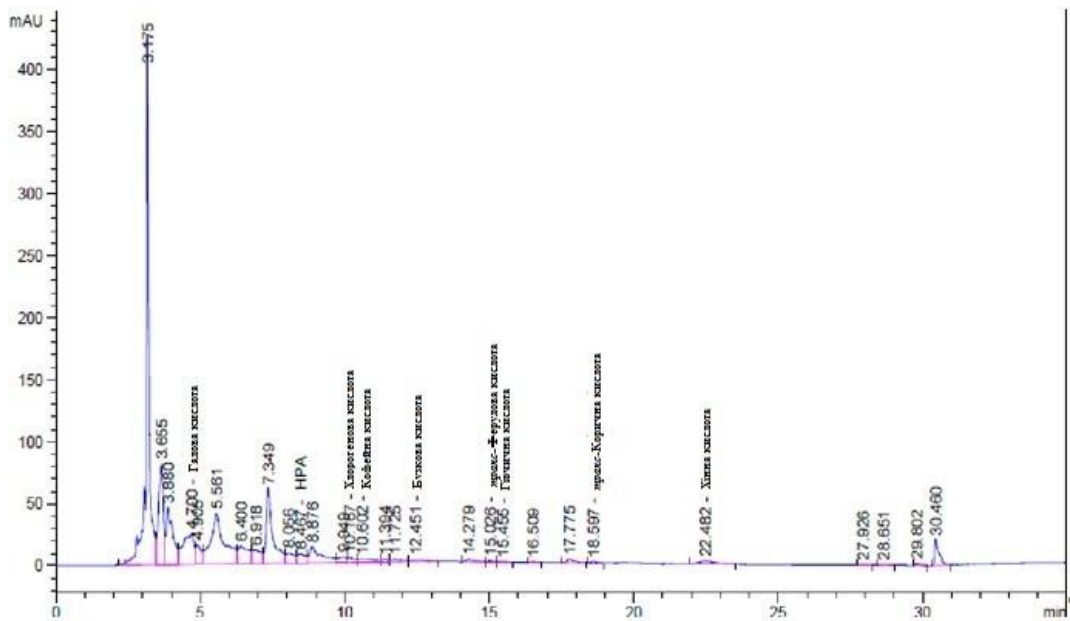


Рис. 3.11 Хроматограма фенольних та гідроксикарбонових кислот кори обліпихи крушиноподібної

Таблиця 3.12

**Результати визначення фенольних і гідроксикарбонових кислот у корі обліпихи крушиноподібної методом ВЕРХ**

№ з/п	Ідентифікована сполука	Час утримування, хв	Вміст, мкг/100 г
1	2	3	4
Похідна бензойної кислоти			
1.	Галова	4,70 ± 0,02	414,02 ± 6,22
2.	Гідроксифенілоцтова	8,46 ± 0,03	107,06 ± 1,61
Гідроксикоричні кислоти			
3.	Хлорогенова	10,18 ± 0,04	231,97 ± 3,48
4.	Кофейна	10,60 ± 0,04	106,10 ± 1,61
5.	Сирінгова	12,45 ± 0,05	23,00 ± 0,14
6.	Ферулова	15,02 ± 0,05	8,80 ± 0,13
7.	Синапова	15,45 ± 0,06	7,23 ± 0,11

1	2	3	4
8.	Цинамова	$18,59 \pm 0,07$	$4,88 \pm 0,07$
Гідроксикарбонова кислота			
9.	Хінна	$22,48 \pm 0,40$	$3401,74 \pm 51,03$

У корі обліпихи крушиноподібної встановлено наявність і визначено вміст 9 сполук, які належать до фенольних і гідроксикарбонових кислот. Найвищий вміст серед похідних бензойної кислоти мала галова кислота –  $414,02 \pm 6,22$  мкг/100 г. Домінантними серед гідроксикоричних кислот були хлорогенова та кофейна –  $231,97 \pm 3,48$  мкг/100 г і  $106,10 \pm 1,61$  мкг/100 г відповідно. Хінна кислота визначена у найбільшій кількості серед усіх ідентифікованих кислот –  $3401,74 \pm 51,03$  мкг/100 г [34].

Результати проведеного дослідження показали, що листя обліпихи крушиноподібної мали найбільшу кількість фенольних і гідроксикарбонових кислот: вміст похідних бензойної кислоти склав  $2795,41 \pm 83,86$  мкг/100 г, гідроксикоричних кислот –  $8537,36 \pm 256,12$  мкг/100 г, гідроксикарбонових кислот –  $65572,75 \pm 983,59$  мкг/100 г. У плодах та корі обліпихи крушиноподібної визначено значно менший вміст цих сполук. Слід відмітити, що плоди містили більшу кількість гідроксикоричних кислот, ніж кора, а саме  $752,31 \pm 22,57$  мкг/100 г і  $381,98 \pm 11,46$  мкг/100 г відповідно. Щодо гідроксикарбонових кислот, то їх вміст був вищий у корі ( $3401,74 \pm 102,05$  мкг/100 г), ніж у плодах ( $2644,47 \pm 79,33$  мкг/100 г) [34].

Визначення вмісту суми гідроксикоричних кислот у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної проводили спектрофотометричним методом [11]. Результати кількісного аналізу наведені у табл. 3.13.

**Результати кількісного визначення суми гідроксикоричних кислот  
у сировині обліпихи крушиноподібної**

№ з/п	Сировина, що вивчалася	Вміст у перерахунку на хлорогенову кислоту, %
1.	Листя обліпихи крушиноподібної	1,54 ± 0,06
2.	Плоди обліпихи крушиноподібної	1,25 ± 0,05
3.	Кора обліпихи крушиноподібної	0,43 ± 0,02

Примітка. Вірогідність похибки  $P < 0,05$ .

Результати кількісного визначення показали, що максимальний вміст суми гідроксикоричних кислот встановлений у листі, дещо нижчий – у плодах, мінімальна кількість спостерігалась у корі обліпихи крушиноподібної. Так, вміст суми гідроксикоричних кислот у листі склав  $1,54 \pm 0,06$  %, у плодах –  $1,25 \pm 0,05$  %, у корі їх вміст був у 3 рази нижчий, ніж у листі, та у 2,5 рази нижчий, ніж у плодах –  $0,43 \pm 0,02$  % [25].

### 3.5 Дослідження флавоноїдів

Флавоноїди належать до однієї з найбільш поширених груп фенольних сполук і виявляють широкий спектр фармакологічної дії: беруть участь в окисно-відновних процесах, реакціях імунітету, зумовлюють протизапальну, сенсibiliзувальну, протипухлинну, радіозахисну, антиоксидантну, протівірусну, антимікробну дії [2]. Враховуючи вищезазначене, доцільним було проведення дослідження флавоноїдів сировини обліпихи крушиноподібної.

Результати виявлення флавоноїдів хімічними реакціями [43] у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної наведені у табл. 3.14.

**Результати виявлення флавоноїдів [43] у сировині  
обліпихи крушиноподібної**

Реакція ідентифікації	Результат реакції у досліджуваній сировині		
	листя	плоди	кора
Ціанідинава реакція	Темно-рожеве забарвлення	Рожеве забарвлення	Рожеве забарвлення
Реакція з 10% етанольним розчином феруму (III) хлориду	Темно-зелене забарвлення	Темно-зелене забарвлення	Темно-зелене забарвлення
Реакція з 10 % етанольним розчином калію гідроксиду	Жовто-коричневе забарвлення	Жовте забарвлення	Жовто-коричневе забарвлення
Реакція з 2 % етанольним розчином алюмінію хлориду	Жовто-зелене забарвлення	Жовто-зелене забарвлення	Жовто-зелене забарвлення
Реакція з 2% етанольним розчином плюмбуму ацетату	Жовтий осад	Жовтий осад	Жовтий осад

Таким чином, результати проведених реакцій свідчили про присутність флавоноїдів у сировині обліпихи крушиноподібної, що вивчалася [30].

Встановлення якісного складу флавоноїдних сполук у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної проводили методом ПХ і ТШХ [9, 43]. Схема хроматограми наведено на рис. 3.12.



<b>Верхня частина хроматограми</b>			
кверцетин: жовта флуоресціююча зона	жовта флуоресціююча зона (кверцетин)	жовта флуоресціююча зона (кверцетин)	жовта флуоресціююча зона (кверцетин)
кемпферол: жовта флуоресціююча зона	жовта флуоресціююча зона (кемпферол)	жовта флуоресціююча зона (кемпферол)	жовта флуоресціююча зона (кемпферол)
лютеолін: жовта флуоресціююча зона	жовта флуоресціююча зона (лютеолін)	жовта флуоресціююча зона (лютеолін)	
астрагалін: оранжева флуоресціююча зона	оранжева флуоресціююча зона (астрагалін)	оранжева флуоресціююча зона (астрагалін)	оранжева флуоресціююча зона (астрагалін)
кверцитрин: оранжева флуоресціююча зона		оранжева флуоресціююча зона (кверцитрин)	
ізокверцитрин: оранжева флуоресціююча зона	оранжева флуоресціююча зона (ізокверцитрин)	оранжева флуоресціююча зона (ізокверцитрин)	
гіперозид: оранжева флуоресціююча зона	оранжева флуоресціююча зона (гіперозид)		
рутин: оранжева флуоресціююча зона	оранжева флуоресціююча зона (рутин)	оранжева флуоресціююча зона (рутин)	оранжева флуоресціююча зона (рутин)
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробовуваний розчин (листя)</b>	<b>Випробовуваний розчин (плоди)</b>	<b>Випробовуваний розчин (кора)</b>

Рис. 3.12 Схема хроматограми флавоноїдів листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної

У результаті хроматографічного аналізу в листі та плодах обліпихи крушиноподібної ідентифіковано 7 сполук, у корі – 4 сполуки, які були віднесені до флавоноїдів. Встановлено, що якісний склад флавоноїдів у сировині, що вивчалися, відрізнявся. Рутин, астрагалін, кемпферол і кверцетин іден-

тифіковні в усіх зразках сировини. Крім того, у листі та плодах встановлено наявність ізокверцитрину та лутеоліну. Гіперозид виявлений лише у листі обліпихи крушиноподібної, а кверцитрин – у плодах.

Спектрофтометричним методом визначено вміст флавоноїдів у сировині обліпихи крушиноподібної [9]. Результати кількісного аналізу наведені у табл. 3.15.

*Таблиця 3.15*

**Результати кількісного визначення суми флавоноїдів у сировині обліпихи крушиноподібної**

№ з/п	Сировина, що вивчалася	Вміст у перерахунку на рутин, %
1.	Листя обліпихи крушиноподібної	4,10 ± 0,15
2.	Плоди обліпихи крушиноподібної	2,27 ± 0,09
3.	Кора обліпихи крушиноподібної	1,18 ± 0,05

Примітка. Вірогідність похибки  $P < 0,05$ .

У листі обліпихи крушиноподібної визначено максимальний вміст флавоноїдів – 4,10 ± 0,15 %. Найнижчий вміст флавоноїдів встановлено для кори обліпихи крушиноподібної – 1,18 ± 0,05 %, що майже у 3,5 рази нижче, ніж у листі. Вміст флавоноїдів у плодах мав значення 2,27 ± 0,09 %.

### 3.6 Дослідження дубильних речовин та поліфенольних сполук

Дубильні речовини та поліфенольні сполуки беруть участь в окислювально-відновних реакціях, гальмують самоокиснення ліпідів та запобігають накопиченню токсичних пероксидів і епоксидів, виявляють протизапальну, бактерицидну та фунгіцидну дію [2]. Для комплексного аналізу фенольних сполук нами проведено вивчення дубильних речовин у сировині обліпихи крушиноподібної.

Позитивні результати реакцій з розчинами желатину та хініну хлориду (утворення каламуті (плоди) або білого аморфного осаду (листя та кора), а також розчином феруму (III) амонію сульфату (чорно-синє забарвлення) свідчило про присутність дубильних речовин, що гідролізуються [43].

Для визначення вмісту суми поліфенольних сполук у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної використовували спектрофотометричний метод [10, 39]. Результати кількісного аналізу наведені у табл. 3.16.

*Таблиця 3.16*

**Результати кількісного визначення суми поліфенольних сполук у сировині обліпихи крушиноподібної**

№ з/п	Сировина, що вивчалася	Вміст у перерахунку на пірогалол, %
1.	Листя обліпихи крушиноподібної	9,46 ± 0,26
2.	Плоди обліпихи крушиноподібної	4,33 ± 0,18
3.	Кора обліпихи крушиноподібної	13,11 ± 0,40

Примітка. Вірогідність похибки  $P < 0,05$ .

Результати дослідження показали високий вміст поліфенольних сполук у сировині обліпихи крушиноподібної. Кора обліпихи крушиноподібної накопичувала найбільше поліфенолів –  $13,11 \pm 0,40$  %. У плодах рослини їх вміст був найнижчий і склав  $4,33 \pm 0,18$  %. У листі вміст поліфенольних сполук становив  $9,46 \pm 0,26$  %.

### 3.7 Дослідження вуглеводів

Вуглеводи є найпоширенішою групою біологічно активних речовин, які мають різнопланову фармакологічну активність, зокрема запобігають адгезії патогенних бактерій до стінок сечового міхура, що властиво манозі [38, 56]. Але вуглеводи обліпихи крушиноподібної вивчені недостатньо, що слугувало підґрунтям для їх дослідження.

Вивчення якісного складу вільних цукрів здійснювали методом ТШХ [43]. Результати аналізу наведені на рис. 3.13.

<b>Верхня частина хроматограми</b>			
фруктоза: бура зона	бура зона (фруктоза)	бура зона (фруктоза)	бура зона (фруктоза)
глюкоза: синьо-бура зона	синьо-бура зона (глюкоза)	синьо-бура зона (глюкоза)	синьо-бура зона (глюкоза)
сахароза: синя зона	синя зона (сахароза)	синя зона (сахароза)	синя зона (сахароза)
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробовуваний розчин (листя)</b>	<b>Випробовуваний розчин (кора)</b>	<b>Випробовуваний розчин (плоди)</b>

Рис. 3.13 Хроматограма вільних цукрів листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної

Результати хроматографічного аналізу показали схожий склад вільних цукрів у досліджуваній сировині обліпихи крушиноподібної. В усіх зразках ідентифіковані фруктоза, глюкоза та сахароза [31-33].

Дослідження вільних і зв'язаних цукрів та їх похідних проводили методом ГХ/МС [37, 56]. Результати аналізу цукрів та їх похідних листя обліпихи крушиноподібної наведені на рис. 3.14-3.15 і в табл. 3.17.

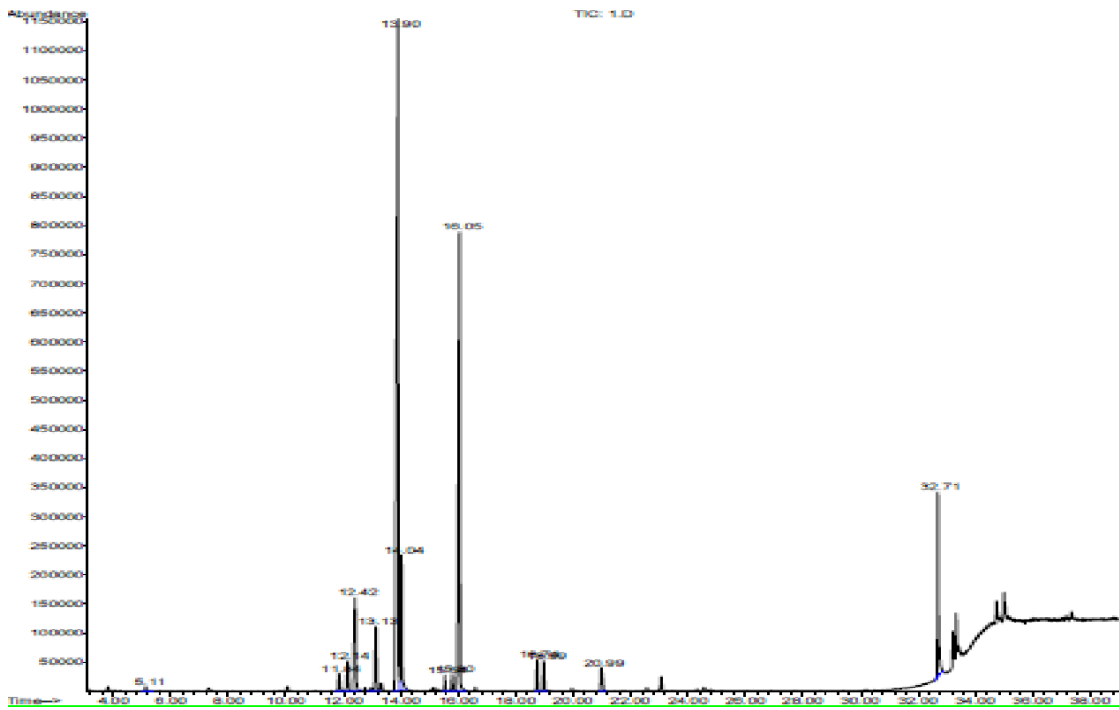


Рис. 3.14 Хроматограма вільних цукрів та їх похідних листя обліпихи крушиноподібної

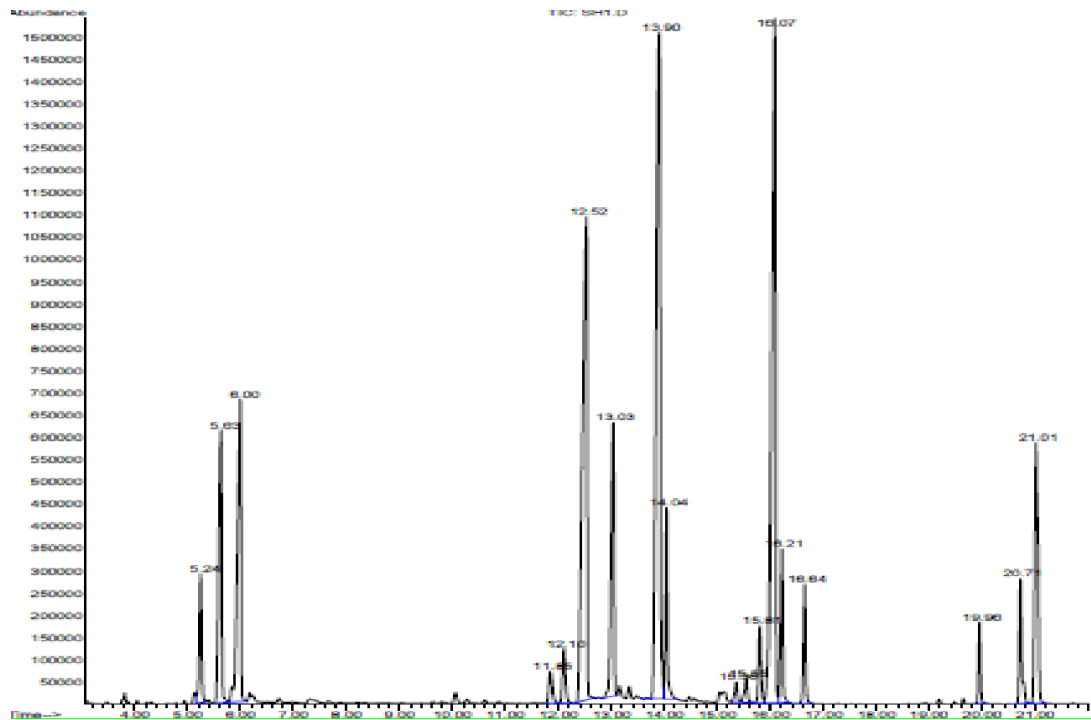


Рис. 3.15 Хроматограма зв'язаних цукрів та їх похідних листя обліпихи крушиноподібної

**Час утримування та вміст вільних і зв'язаних цукрів та їх похідних у листі обліпихи крушиноподібної**

Ідентифікована сполука	Вільні цукри		Зв'язані цукри	
	час утримування, хв	вміст, мг/г	час утримування, хв	вміст, мг/г
Рамноза	–	–	5,24 ± 0,01	351,00 ± 5,26
Арабіноза	–	–	5,62 ± 0,01	877,00 ± 13,15
Ксилоза	–	–	5,99 ± 0,01	1161,00 ± 17,41
Маноза	12,14 ± 0,02	0,92 ± 0,01	12,09 ± 0,02	175,00 ± 2,65
Глюкоза	12,42 ± 0,02	3,00 ± 0,04	12,51 ± 0,02	2358,00 ± 35,37
Галактоза	–	–	13,02 ± 0,02	865,00 ± 12,97
Фруктоза	18,73 ± 0,04	0,70 ± 0,01	–	–
Маніт	15,80 ± 0,03	0,43 ± 0,01	15,80 ± 0,03	205,00 ± 3,08
Сорбіт	16,05 ± 0,03	14,78 ± 0,25	16,07 ± 0,03	2564,00 ± 38,46
Разом:		19,83 ± 0,31		8556,00 ± 128,34

Примітка. «–» – сполука не виявлена.

Склад вільних цукрів та їх похідних листя обліпихи крушиноподібної, визначений методом ГХ/МС, представлений манозою, глюкозою, фруктозою, манітом і сорбітом. Серед вільних цукрів глюкоза мала максимальний вміст, який склав  $3,00 \pm 0,04$  мг/г. Вміст сорбіту був найвищим серед похідних цукрів і дорівнював  $14,78 \pm 0,25$  мг/г. Маніт містився у досліджуваній сировині у мінімальній кількості серед усіх ідентифікованих сполук –  $0,43 \pm 0,01$  мг/г [28].

У зв'язаному стані в листі обліпихи крушиноподібної ідентифіковано та визначено вміст 8 цукрів та їх похідних: рамнози, арабінози, ксилози, манози, глюкози, галактози, маніту і сорбіту. Глюкоза та ксилоза визначені у найбільшій кількості серед зв'язаних цукрів –  $2358,00 \pm 35,37$  мг/г і  $1161,00 \pm 17,41$  мг/г відповідно, а сорбіт серед похідних цукрів –

2564,00 ± 38,46 мг/г. Рамноза, арабіноза, ксилоза і галактоза виявлені тільки у зв'язаному стані, а фруктоза – у вільному. Сума зв'язаних цукрів та їх похідних була вища більш ніж у 400 разів, ніж вільних [28].

Результати аналізу вуглеводів та їх похідних плодів обліпихи крушиноподібної наведені на рис. 3.16-3.17 і в табл. 3.18.

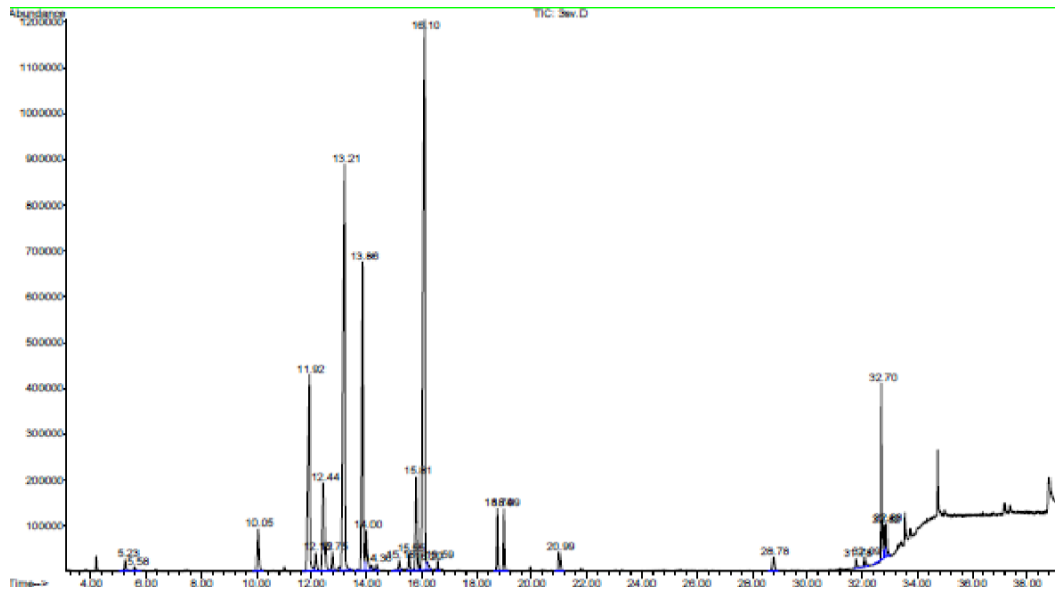


Рис. 3.16 Хроматограма вільних цукрів та їх похідних плодів обліпихи крушиноподібної

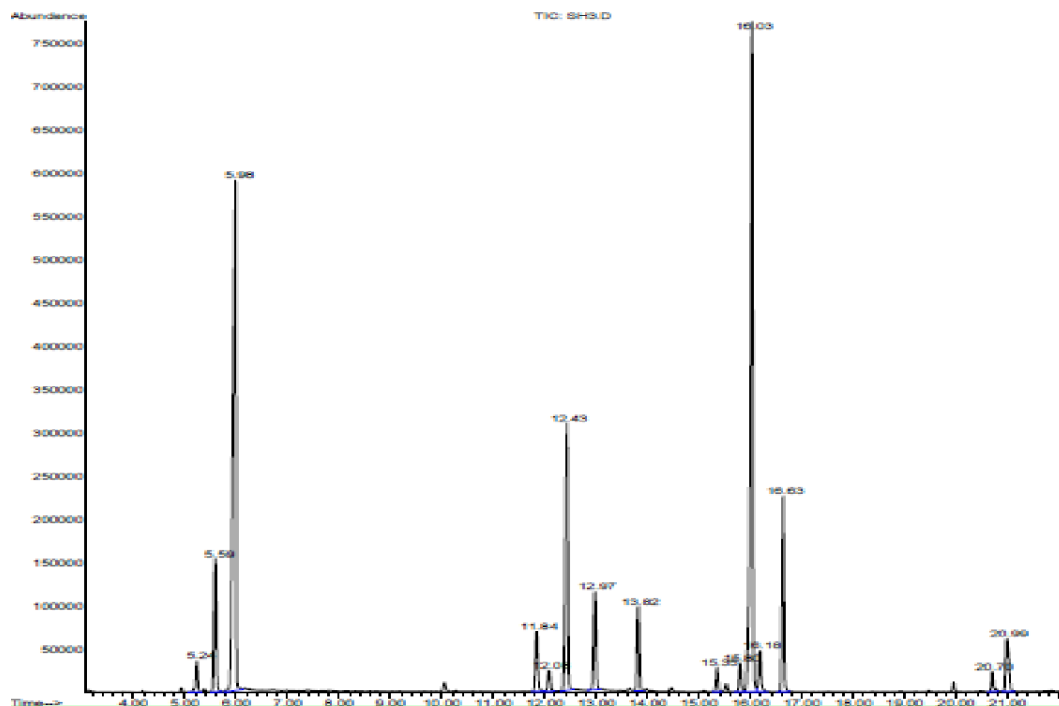


Рис. 3.17 Хроматограма зв'язаних цукрів та їх похідних плодів обліпихи крушиноподібної

**Час утримування та вміст вільних і зв'язаних цукрів та їх похідних у  
плодах обліпихи крушиноподібної**

Ідентифікована сполука	Вільні цукри		Зв'язані цукри	
	час утриму- вання, хв	вміст, мг/г	час утриму- вання, хв	вміст, мг/г
Рамноза	5,23 ± 0,01	17,00 ± 0,25	5,23 ± 0,01	105,00 ± 1,57
Арабіноза	5,57 ± 0,01	7,00 ± 0,10	5,59 ± 0,02	471,00 ± 7,06
Ксилоза	–	–	5,98±0,02	2603,00 ± 39,05
Маноза	12,15 ± 0,02	34,00 ± 0,50	–	–
Глюкоза	12,43 ± 0,02	189,00 ± 2,81	–	–
Галактоза	12,74 ± 0,02	30,00 ± 0,45	–	–
Фруктоза	18,74 ± 0,04	78,00 ± 1,17	–	–
Маніт	15,80 ± 0,03	151,00 ± 2,26	15,79±0,03	100,00 ± 1,51
Сорбіт	16,09 ± 0,03	1327,00 ± 19,91	16,02±0,03	2732,00 ± 40,98
Разом:		1833,00 ± 27,49		6011,00 ± 90,17

Примітка. «–» – сполука не виявлена.

У плодах обліпихи крушиноподібної ідентифіковано 8 вільних цукрів та їх похідних, а у зв'язаному – 5 сполук. Рамноза, арабіноза, маніт і сорбіт виявлені як у вільному, так і зв'язаному стані. Ксилоза у плодах обліпихи містилася тільки у зв'язаному, а маноза, глюкоза, галактоза і фруктоза у вільному. Серед ідентифікованих цукрів максимальний вміст визначено для глюкози (189,00 ± 2,81 мг/г) у вільному стані та ксилози (2603,00 ± 39,05 мг/г) у зв'язаному. Серед похідних цукрів сорбіт мав найвищий вміст як у вільному (1327,00 ± 19,91 мг/г), так і у зв'язаному (2732,00 ± 40,98 мг/г) стані. Сума зв'язаних цукрів та їх похідних була вищою порівняно із сумою вільних – 6011,00 ± 90,17 мг/г і 1833,00 ± 27,49 мг/г відповідно [28].



Результати аналізу цукрів та їх похідних кори обліпихи крушиноподібної наведені на рис. 3.18-3.19 і в табл. 3.19.

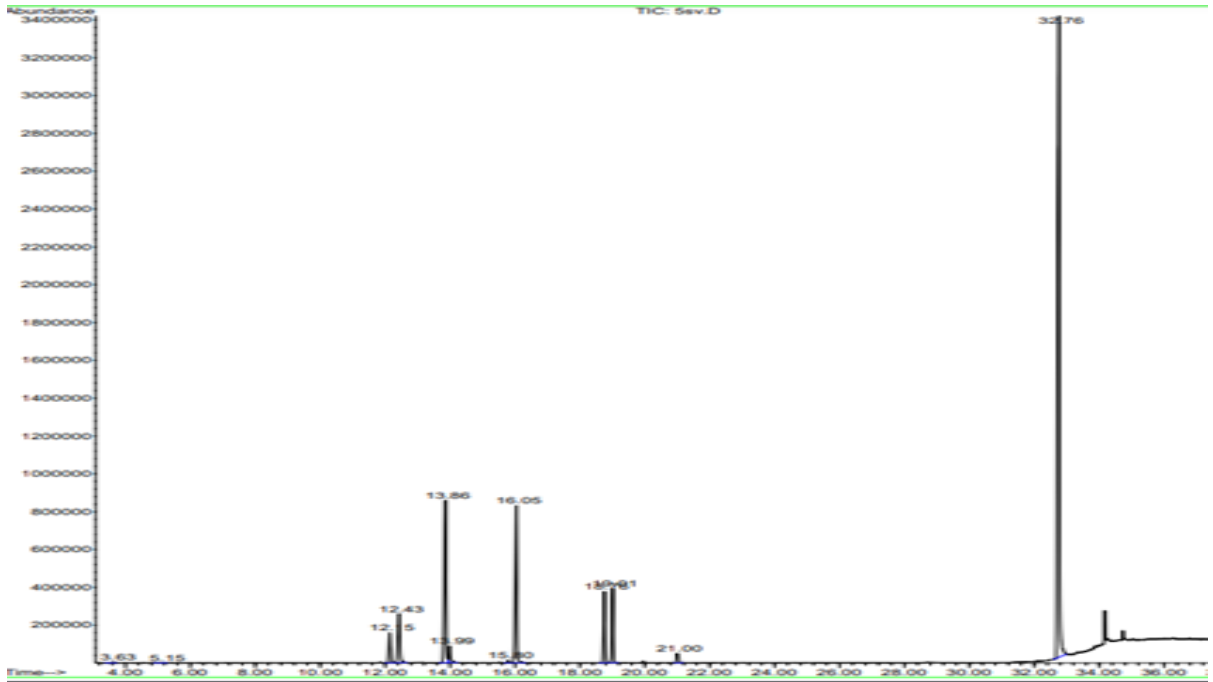


Рис. 3.18 Хроматограма вільних цукрів та їх похідних кори обліпихи крушиноподібної

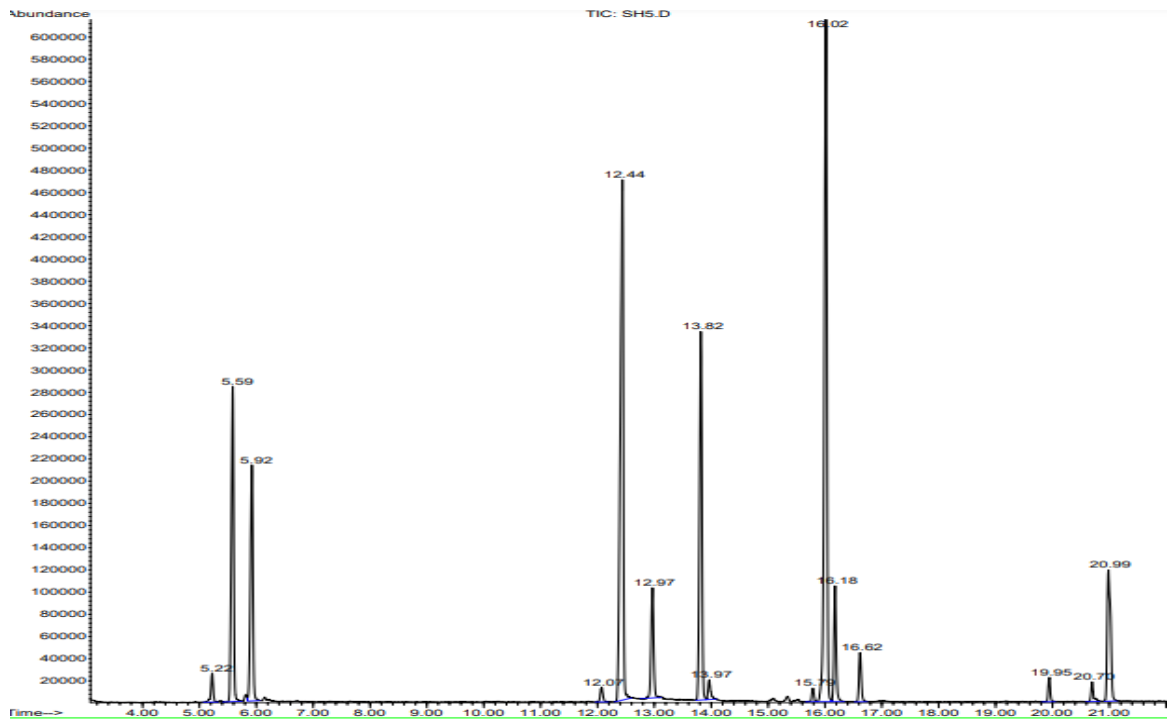


Рис. 3.19 Хроматограма зв'язаних цукрів та їх похідних кори обліпихи крушиноподібної

**Час утримування та вміст вільних і зв'язаних цукрів та їх похідних у корі обліпихи крушиноподібної**

Ідентифікована сполука	Вільні цукри		Зв'язані цукри	
	час утримування, хв	вміст, мг/г	час утримування, хв	вміст, мг/г
Рамноза	–	–	5,23 ± 0,01	109,00 ± 1,63
Арабіноза	–	–	5,59 ± 0,01	1228,00 ± 18,42
Ксилоза	–	–	5,98 ± 0,01	974,00 ± 14,61
Маноза	5,23 ± 0,01	259,00 ± 3,89	12,15 ± 0,02	61,00 ± 0,92
Глюкоза	12,43 ± 0,02	469,00 ± 7,04	12,43 ± 0,02	2585,00 ± 38,78
Галактоза	–	–	12,74 ± 0,02	458,00 ± 6,87
Фруктоза	18,74 ± 0,03	485,00 ± 7,26	–	–
Маніт	15,79 ± 0,02	20,00 ± 0,31	15,79 ± 0,03	1476,00 ± 22,14
Сорбіт	16,02 ± 0,02	1412,00 ± 21,18	16,02 ± 0,03	84,00 ± 1,26
Разом:		2645,00 ± 39,68		6975,00 ± 104,63

Примітка. «–» – сполука не виявлена.

У вільному стані у корі обліпихи крушиноподібної ідентифіковано та визначено вміст 5, у зв'язаному – 8 цукрів та їх похідних. Серед вільних цукрів у вільному стані домінуючою сполукою була фруктоза (485,00 ± 7,26 мг/г), у зв'язаному – глюкоза (2585,00 ± 38,78 мг/г). Маніт мав вищий вміст серед похідних цукрів у зв'язаному стані (1476,00 ± 22,14 мг/г), сорбіт – у вільному (1412,00 ± 21,18 мг/г). Фруктоза виявлена у корі обліпихи крушиноподібної у вільному стані, а рамноза, арабіноза, ксилоза і галактоза ідентифіковані серед зв'язаних цукрів. За сумою переважали зв'язані цукри та їх похідні – 6975,00 ± 104,63 мг/г.

Утворення аморфного осаду з 96 % етанолом [38, 43] свідчило про наявність полісахаридів у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної.

Визначення вмісту суми водорозчинних полісахаридів проводили гравіметричним методом [11, 38]. Результати кількісного аналізу наведені у табл. 3.20.

Таблиця 3.20

**Результати кількісного визначення суми водорозчинних полісахаридів у сировині обліпихи крушиноподібної**

№ з/п	Сировина, що вивчалася	Вміст у перерахунку на суху сировину, %
1.	Листя обліпихи крушиноподібної	$8,72 \pm 0,55$
2.	Плоди обліпихи крушиноподібної	$10,09 \pm 0,63$
3.	Кора обліпихи крушиноподібної	$6,54 \pm 0,43$

Примітка. Вірогідність похибки  $P < 0,05$ .

Аналіз одержаних результатів показав, що максимальне накопичення суми водорозчинних полісахаридів визначено у плодах обліпихи крушиноподібної –  $10,09 \pm 0,63$  %, дещо нижчий вміст спостерігався у листі рослини –  $8,72 \pm 0,55$  %, найменше значення вмісту полісахаридів було у корі –  $6,54 \pm 0,43$  % [25].

Малинове забарвлення, що з'являлося після проведення реакції з розчином карбазолу, свідчило про наявність пектинових речовин [38, 43].

Кількісне визначення проводили спектрофотометричним методом за довжини хвилі 520 нм [38, 43]. Результати кількісного аналізу наведені у табл. 3.21.

**Результати кількісного визначення пектинових речовин у сировині обліпихи крушиноподібної**

№ з/п	Сировина, що вивчалася	Вміст у перерахунку на суху сировину, %
1.	Листя обліпихи крушиноподібної	2,23 ± 0,17
2.	Плоди обліпихи крушиноподібної	4,20 ± 0,30
3.	Кора обліпихи крушиноподібної	1,19 ± 0,24

Примітка. Вірогідність похибки  $P < 0,05$ .

Максимальне накопичення пектинових речовин спостерігалось у плодах обліпихи крушиноподібної –  $4,20 \pm 0,30$  %, майже у двічі менший вміст цих сполук визначено у листі –  $2,23 \pm 0,17$  %. Кора обліпихи крушиноподібної містила найменше пектинових речовин –  $1,19 \pm 0,09$  %, що у 3,5 рази нижче, ніж у плодах, і у 1,8 рази нижче, ніж у листі.

### 3.8 Дослідження елементного складу

Мінеральні речовини беруть участь у різних біохімічних процесах організму людини: побудова структур скелета, підтримання осмотичних властивостей клітин та плазми, кровотворення, є активаторами і кофакторами ферментів тощо [5]. Деякі мікроелементи позитивно впливають на імунітет людини. Так, наприклад, силіцій стимулює фагоцитоз і підвищує опірність організму до вірусів і інфекцій [46]. Крім того, вивчення елементного складу ЛРС дозволяє отримати дані щодо вмісту в ній важких металів. Визначення складу мінеральних елементів у сировині обліпихи крушиноподібної проводили методом АЕС [18, 20]. Результати аналізу наведені у табл. 3.22.

**Вміст мінеральних елементів у сировині обліпихи крушиноподібної**

Елементи	Вміст елемента у зразку сировини, мг/100 г		
	листя обліпихи	плоди обліпихи	кора обліпихи
<b>Макроелементи</b>			
Ca	689,40 ± 1,11	149,80 ± 0,56	13,00 ± 0,06
P	99,60 ± 0,19	69,80 ± 0,56	105,00 ± 0,21
K	1154,00 ± 2,78	1500,00 ± 3,00	69,98 ± 0,14
Na	176,40 ± 1,11	85,80 ± 0,17	83,98 ± 0,16
Mg	244,80 ± 0,48	129,80 ± 0,56	110,00 ± 0,56
<b>Мікроелементи</b>			
Fe	41,80 ± 0,56	9,44 ± 0,11	10,48 ± 0,06
Zn	5,77 ± 0,05	1,88 ± 0,06	180,00 ± 0,36
Sr	2,29 ± 0,01	39,80 ± 0,56	180,00 ± 0,36
Mo	6,06 ± 0,07	13,68 ± 0,06	240,00 ± 0,56
Cu	22,96 ± 0,07	64,20 ± 0,56	59,80 ± 0,12
Si	369,40 ± 0,73	76,60 ± 0,68	89,98 ± 0,18
Mn	23,06 ± 0,07	1,20 ± 0,06	4,18 ± 0,06
Al	45,78 ± 0,54	12,98 ± 0,04	27,00 ± 0,06
Pb	<0,03	<0,03	6,58 ± 0,06
<b>Ультрамікроелементи</b>			
Ni	7,66 ± 0,07	17,18 ± 0,06	11,98 ± 0,03

У листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної визначено по 15 елементів: 5 макро-, 9 мікро- і 1 ультрамікроелемент. Серед макроелементів у листі та плодах домінував калій – 1154,00 ± 2,78 мг/100 г і 1500,00 ± 3,00 мг/100 г відповідно, у корі – магній (110,00 ± 0,56 мг/100 г). Домінантними мікроелементами були: силіцій у листі (369,40 ± 0,73 мг/100 г) та плодах (76,60 ± 0,68 мг/100 г) і молібден у корі (240,00 ± 0,56 мг/100 г).

Ультрамикроелемент нікол максимальний вміст мав у плодах обліпихи –  $17,18 \pm 0,06$  мг/100 г, у мінімальній кількості визначений у листі –  $7,66 \pm 0,07$  мг/100 г [18].

Вміст важких металів у сировині обліпихи крушиноподібної знаходився в межах гранично допустимих концентрацій, що регламентуються вимогами ДФУ [10, 18].

### 3.9 Дослідження хлорофілів і каротиноїдів

Із даних літератури відомо, що хлорофіли виявляють антитимікробні, протизапальні, репаративні, антиканцерогенні, фотосенсибілізувальні властивості. Завдяки терпеновій структурі каротиноїди мають антиоксидантну, антисклеротичну, протизапальну, регенерувальну дії [23]. Наявність хлорофілів і каротиноїдів встановлювали методом ТШХ [40, 43].

Результати хроматографічного вивчення наведені на рис. 3.20-3.21.

<b>Верхня частина хроматограми</b>		
зелена зона зелена зона		зелена зона
жовта зона	жовта зона	
зелена зона	жовта зона	зелена зона
жовта зона зелена зона	жовта зона	зелена зона
жовта зона	жовта зона	
жовта зона	жовта зона	жовта зона
<b>Випробовуваний розчин (лист)</b>	<b>Випробовуваний розчин (плоди)</b>	<b>Випробовуваний розчин (кора)</b>

Рис. 3.20 Хроматограма хлорофілів і каротиноїдів сировини обліпихи крушиноподібної (у денному світлі)

Верхня частина хроматограми		
червона флуоресціююча зона		червона флуоресціююча зона
червона флуоресціююча зона		
коричнева флуоресціююча зона	коричнева флуоресціююча зона	
червона флуоресціююча зона	коричнева флуоресціююча зона	червона флуоресціююча зона
коричнева флуоресціююча зона	коричнева флуоресціююча зона	
червона флуоресціююча зона		червона флуоресціююча зона
коричнева флуоресціююча зона	коричнева флуоресціююча зона	
коричнева флуоресціююча зона	коричнева флуоресціююча зона	коричнева флуоресціююча зона
<b>Випробовуваний розчин (лист)</b>	<b>Випробовуваний розчин (плоди)</b>	<b>Випробовуваний розчин (кора)</b>

Рис. 3.21 Хроматограма хлорофілів і каротиноїдів сировини обліпихи крушиноподібної (в УФ-світлі)

У результаті хроматографічного аналізу у листі обліпихи крушиноподібної виявлено 8 зон. Чотири зони мали зелене забарвлення у денному світлі та червону флуоресценцію в УФ-світлі та були віднесені до хлорофілів. Інші 4 зони мали жовте забарвлення у денному світлі та коричневую флуоресценцію в УФ-світлі, що дало змогу віднести їх до каротиноїдів.

У плодах обліпихи виявлено 5 зон із жовтим забарвленням у денному та коричневою флуоресценцією в УФ-світлі, які були ідентифіковані як каротиноїди. Зони з зеленим забарвленням і червоною флуоресценцією не виявлені.

У корі обліпихи крушиноподібної виявлено 3 зони хлорофілів і 1 зону каротиноїдів, про що свідчило забарвлення у денному та флуоресценція в УФ-світлі.

Вміст хлорофілів і каротиноїдів у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної визначали спектрофотометричним методом [7, 23, 40]. Результати кількісного аналізу наведені у табл. 3.23.

Таблиця 3.23

**Результати кількісного визначення хлорофілів і каротиноїдів у сировині обліпихи крушиноподібної**

№ з/п	Сировина, що вивчалася	Вміст у перерахунку на суху сировину, мг/г		
		хлорофіл а	хлорофіл b	каротиноїди
1.	Листя обліпихи крушиноподібної	4,07 ± 0,17	3,21 ± 0,14	7,28 ± 0,26
2.	Плоди обліпихи крушиноподібної	—	—	9,72 ± 0,34
3.	Кора обліпихи крушиноподібної	2,78 ± 0,12	1,83 ± 0,09	2,30 ± 0,11

Примітки:

1. «—» – вміст не визначали;
2. вірогідність похибки  $P < 0,05$ .

Максимальний вміст хлорофілів а і b визначено у листі обліпихи крушиноподібної – 4,07 ± 0,17 мг/г і 3,21 ± 0,14 мг/г відповідно. Вміст хлорофілу а і b у корі у 1,5-1,7 рази менше, ніж у листі, та становив 2,78 ± 0,12 мг/г і 1,83 ± 0,09 мг/г. Оскільки в результаті хроматографічного дослідження у плодах хлорофіли не виявлені, визначення їх вмісту не проводилося. Каротиноїди накопичувалися у сировині обліпихи крушиноподібної у межах 2,30–9,72 мг/г. За вмістом каротиноїди домінували у плодах обліпихи –



9,72 ± 0,34 мг/г. Мінімальний їх вміст визначено у корі рослини – 2,30 ± 0,11 мг/г. Вміст каротиноїдів у листі склав 7,28 ± 0,26 мг/г.

### Висновки до розділу 3

1. Хімічними реакціями та хроматографічними методами у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної встановлено наявність нижчих органічних, зокрема аскорбінової кислоти, жирних, гідроксикарбонових, фенольних, амінокислот, флавоноїдів, дубильних речовин, вуглеводів, хлорофілів, каротиноїдів, макро- та мікроелементів.

2. Вивчено амінокислотний склад листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної методом ВЕРХ. У листі обліпихи домінуючою сполукою була аспарагінова кислота, вміст якої у вільному стані склав 87,70 ± 1,32 мг/100 г, у зв'язаному – 1833,40 ± 27,60 мг/100 г. У плодах аргінін домінував серед вільних амінокислот – 11,20 ± 0,16 мг/100 г, аспарагінова кислота – серед зв'язаних амінокислот – 1023,80 ± 15,34 мг/100 г. Для кори домінантною амінокислотою у вільному стані був аланін (5,90 ± 0,08 мг/100 г), у зв'язаному – аргінін (1548,60 ± 23,22 мг/100 г).

3. У листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної методом ГХ/МС визначено склад жирних кислот. Серед насичених кислот за вмістом переважала у листі – пальмітинова (533,00 ± 7,99 мг/100 г), у плодах – стеаринова (4374,00 ± 65,61 мг/100 г), у корі – арахінова (2085,00 ± 31,24 мг/100 г) кислоти. Олеїнова кислота домінувала за вмістом серед ненасичених кислот у листі – 779,00 ± 11,68 мг/100 г, лінолева – у плодах і корі (1786,00 ± 26,79 мг/100 г і 1382,00 ± 20,72 мг/100 г відповідно). Вміст суми ненасичених жирних кислот був вищий у листі, а насичених – у плодах і корі.

4. Методом ВЕРХ у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної визначено якісний склад фенольних і гідроксикарбонових кислот. Серед ідентифікованих кислот за вмістом переважала хінна кислота в усіх досліджуваних об'єктах: у листі – 65572,75 ± 983,59 мкг/100 г, у плодах —

2644,47 ± 39,67 мкг/100 г, у корі – 3401,74 ± 51,03 мкг/100 г. За вмістом домінували: серед похідних бензойної кислоти гідроксифенілоцтова кислота (1452,53 ± 21,78 мкг/100 г) у листі, галова кислота (414,02 ± 6,22 мкг/100 г) у корі; серед гідроксикоричних кислот хлорогенова кислот (4369,85 ± 65,55 мкг/100 г, 198,97 ± 2,98 мкг/100 г і 231,97 ± 3,48 мкг/100 г) в усіх видах сировини, що вивчалися. У плодах обліпихи не виявлені похідні бензойної кислоти – галова та гідроксифенілоцтова кислоти.

5. Методом ГХ/МС визначено склад вільних та зв'язаних цукрів та їх похідних у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної. У листі обліпихи за вмістом домінувала глюкоза як у вільному, так і у зв'язаному стані – 3,00 ± 0,04 мг/г і 2358,00 ± 35,37 мг/г; у плодах – у вільному стані глюкоза (189,00 ± 2,81 мг/г), у зв'язаному – ксилоза (2603,00 ± 39,05 мг/г); у корі – у вільному стані фруктоза (485,00 ± 7,26 мг/г), у зв'язаному – глюкоза (2585,00 ± 38,78 мг/г). Сорбіт мав максимальний вміст серед похідних цукрів у вільному і зв'язаному стані – 14,78 ± 0,25 мг/г і 2564,00 ± 38,46 мг/г у листі, 1327,00 ± 19,91 мг/г і 2732,00 ± 40,98 мг/г у плодах відповідно. У корі сорбіт мав максимальний вміст у вільному стані – 1412,00 ± 21,18 мг/г, маніт у зв'язаному стані – 1476,00 ± 22,14 мг/г.

6. Методом АЕС у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної визначено по 15 макро- та мікроелементів. Максимальний вміст серед макроелементів у листі та плодах визначено для калію (1154,00 ± 2,78 мг/100 г і 1500,00 ± 3,00 мг/100 г відповідно), у корі – для магнію (110,00 ± 0,56 мг/100 г). Силіцій містився у домінуючих кількостях у листі (369,40 ± 0,73 мг/100 г) та плодах (76,60 ± 0,68 мг/100 г), молібден – у корі (240,00 ± 0,56 мг/100 г). Вміст важких металів знаходився у межах гранично допустимих концентрацій, що регламентуються вимогами ДФУ.

7. Проведено кількісне визначення БАР у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної спектрофотометричним, титриметричним і гравіметричним методами. Встановлено вміст аскорбінової кислоти, вільних органічних та амінокислот, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, суми поліфенольних

сполук, суми водорозчинних полісахаридів, пектинових речовин, хлорофілів і каротиноїдів.

8. Аналіз результатів проведених фітохімічних досліджень показав, що якісний склад та кількісний вміст переважно усіх груп БАР був вищий у листі та плодах обліпихи крушиноподібної. Кора обліпихи дещо поступалася за вмістом визначених БАР порівняно з іншими видами сировини.

*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:*

1. Науменко Л. С., Попова Н. В., Бобрицька Л. О. Гідроксикоричні кислоти обліпихи крушиноподібної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 4 (61). С. 70–74. DOI: 10.24959/ubphj.19.248 (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)

2. Исследование минерального состава сырья облепихи крушиновидной (*Hippophaë rhamnoides* L.) / Л. С. Науменко, Н. В. Попова, Е. В. Гладух, Л. А. Бобрицкая. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 38. С. 46–49. (Особистий внесок – брала участь в обробці, узагальненні результатів та підготовці статті)

3. Науменко Л. С., Попова Н. В. Біоактивні речовини листя обліпихи крушиновидної. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 43. С. 38–41. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)

4. Науменко Л. С., Попова Н. В. Дослідження вуглеводів сировини обліпихи звичайної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 4 (65). С. 64–69. DOI: 10.24959/ubphj.20.287 (Особистий внесок – брала участь в обробці, узагальненні результатів та підготовці статті)

5. Науменко Л. С., Попова Н. В. Жирнокислотний склад сировини обліпихи крушиновидної. *Вісник фармації*. 2022. № 1 (103). С. 26–32. DOI: 10.24959/nphj.22.52 (Особистий внесок – брала участь у плануванні експери-

менту, узагальненні результатів та написанні статті)

6. Naumenko L. S., Kovalev S. V., Popova N. V. Phenolic acids of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.). *Topical issues of new medicines development*: мат. XXVI Міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 10-12 квітня 2019 р. Х.: НФаУ, 2019. С. 54.

7. Науменко Л. С., Попова Н. В. Аминокислоти обліпихи крушиновидної. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку*: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 верес. 2019 р. : у 2 т. Х.: НФаУ, 2019. Т. 1. С. 245.

8. Naumenko L. S., Popova N. V., Bobrytska L. O. Amino acid composition of Sea Buckthorn. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: мат. IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., Харків, 14-15 листопада 2019 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 16.

9. Науменко Л. С., Попова Н. В. Обліпиха крушиноподібна – перспективне джерело створення дієтичних добавок. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 11 березня 2020 р., м. Харків. Х. : НФаУ, 2020. С. 110.

10. Науменко Л. С., Попова Н. В. Обліпиха крушиновидна як перспективне джерело для отримання нових лікарських препаратів. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 2 квіт. 2021 р. Х., 2021. С. 142.

11. Науменко Л. С., Попова Н. В. Перспективи вивчення та застосування листя обліпихи крушиновидної. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи*: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 100-

річчю Національного фармацевтичного університету, м. Харків, 10 вересня 2021 р. / редкол.: А. А. Котвіцька та ін. Х.: НФаУ, 2021. С. 228–229.

12. Науменко Л. С., Попова Н. В. Фітохімічне та фармакологічне вивчення сировини обліпихи. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 8 квітня 2022 р. Х.: 2022. С. 60-61.

13. Науменко Л. С., Журавель І. О. Дослідження біологічно активних речовин обліпихи крушиноподібної кори. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології*: зб. наук. мат. III Міжнар. наук.-практ. конф., присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала, м. Харків, 24 листопада 2023 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2023. С. 355-356.

## РОЗДІЛ 4

### СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛИСТЯ, ПЛОДІВ ТА КОРИ ОБЛІПИХИ КРУШИНОПОДІБНОЇ. ОДЕРЖАННЯ РІДКИХ ЕКСТРАКТІВ З СИРОВИНИ ОБЛІПИХИ КРУШИНОПОДІБНОЇ ТА ВИВЧЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ

4.1 Вивчення морфолого-анатомічної будови листя, плодів та кори обліпихи крушиноподібної

*Макроскопічні ознаки листя.* Листки прості, короткочерешкові, без прилистків, лінійно-ланцетної або ланцетної форми, 2–8 см завдовжки та 0,2–0,8 см завширшки. Основа клиноподібна, верхівка тупувата, рідше злегка загострена. Край цільний, загорнутий донизу. З верхнього боку – темно-зелені з восковим нальотом і добре вираженою центральною жилкою, з нижнього – бурувато-сріблясті через зірчасто-лускате опушення (рис. 4.1). Запах слабкий, своєрідний, посилюється при розтиранні. Смак гіркуватий, дещо в'язучий.



Рис. 4.1 Зовнішній вигляд листя обліпихи крушиноподібної

*Макроскопічні ознаки плода.* Плід – округла, видовжено-округла або циліндрична несправжня соковита кістянка, від світло-жовтого до темно-оранжевого або червоного кольору, іноді з бурими цятками, довжиною 6–11 мм, діаметром – 3–8 мм, з плодоніжкою довжиною 2–6 мм або без. Насінина

одна, видовжено яйцеподібної, округлої або яйцеподібної форми, гладенька, блискуча, з поздовжньою борозенкою, брунатного або майже чорного кольору, з великою зародковою брунькою та міцною, тонкою насінневою оболонкою, завдовжки 3–7 мм, завширшки 1,4-2,2 мм (рис. 4.2). Запах специфічний, ананасовий. Смак кислувато-солодкий.



Рис. 4.2 Зовнішній вигляд плодів (а) і насіння (б) обліпихи крушиноподібної

*Макроскопічні ознаки кори.* Шматочки кори 2-4 см завдовжки, 2-3 мм завтовшки, жолобуватої форми. Зовнішня поверхня кори гладенька, блискуча, від сріблястого до бурувато-зеленого або жовтувато-бурого, внутрішня – світло- або сірувато-коричневого кольору. Злам рівний або коротко занозистий (рис. 4.3). Запах слабкий, посилюється при розтиранні або змочуванні сировини. Смак гіркуватий, в'язучий.



Рис. 4.3 Зовнішній вигляд кори обліпихи крушиноподібної

*Мікроскопічні ознаки листа.* Листок дорзивентральний, гіпостоматичний. Верхня епідерма утворена паренхімними полігональними клітинами з прямими, рівномірно потовщеними оболонками (рис. 4.4).



Рис. 4.4 Верхня епідерма листкової пластинки на препараті з поверхні:  
1 – клітини епідерми, 2 – потовщені клітинні оболонки

Нижня епідерма відрізняється від верхньої дрібнішими клітинами з тонкими прямими оболонками. Клітини нижньої епідерми над центральною жилкою паренхімно-прозенхімні, прямостінні, видовжені вздовж жилки. Продихи численні, наявні лише з нижнього боку, оточені 4–8 біляпродиховими клітинами, тип продихового апарату аномоцитний (рис. 4.5). Кутикула рівна, зморшкувата над жилкою з нижнього боку листка.

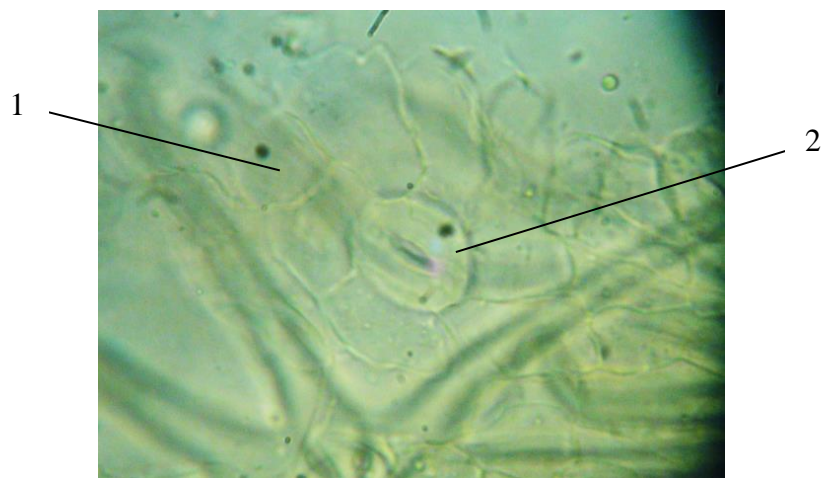


Рис. 4.5 Нижня епідерма листкової пластинки на препараті з поверхні:  
1 – клітини епідерми, 2 – продихи аномоцитного типу



Нижній бік листка характеризується наявністю густого опушення щитоподібними (рис. 4.6) та зірчастими волосками. З верхнього боку спостерігається не значна кількість волосків.

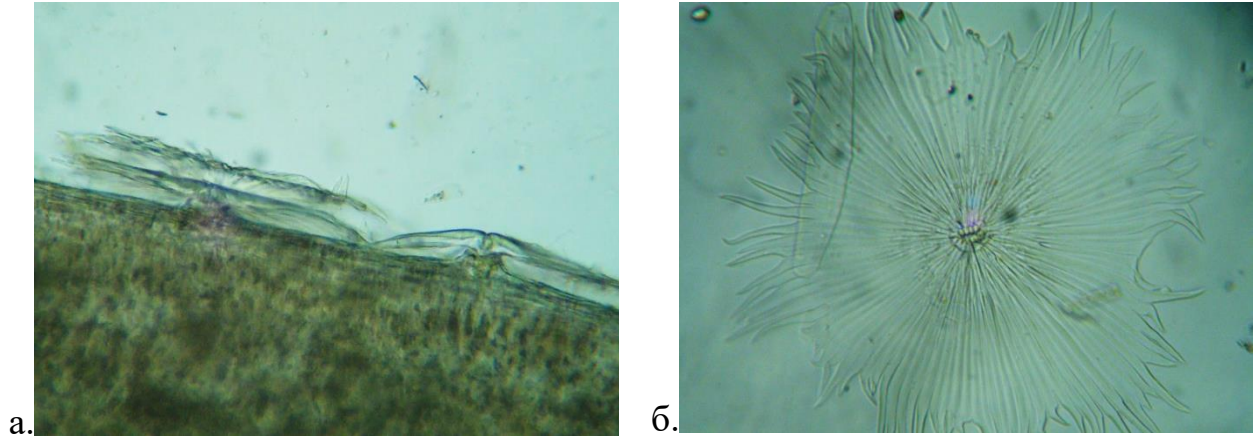


Рис. 4.6 Щитоподібний волосок: а – вид збоку, б – вид зверху

Щитоподібні волоски мають коротку багатоклітинну однорядну ніжку та щиток, який складається з одного рядка радіально розташованих довгих тонкостінних вузьких клітин (рис. 4.7). Зовнішні кінці клітин щитка часто загострені. Якщо щиток опадає, на поверхні залишається ніжка, біля основи якої клітини епідерми утворюють розетку.

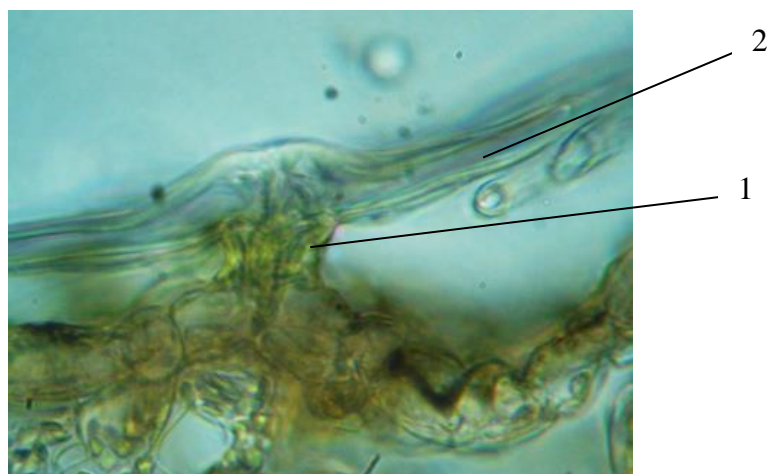


Рис. 4.7 Щитоподібний волосок: 1 – багатоклітинна однорядна ніжка, 2 – щиток

Зірчасті волоски складаються з 5 (10–15, інколи 25) довгих вузьких клітин (рис. 4.8). Епідермальні клітини, які оточують волоски, дрібніші за інші клітини епідерми.

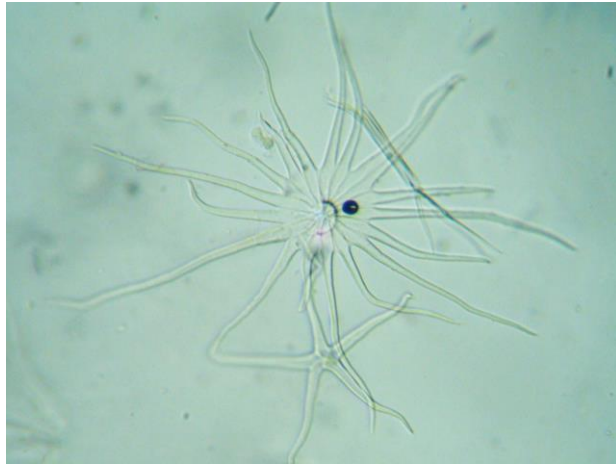


Рис. 4.8 Зірчастий волосок (вид зверху)

З верхнього боку під епідермою розташована двоядна палісадна паренхіма, клітини якої мають різну висоту, тому чіткої межі між шарами не існує (рис. 4.9).

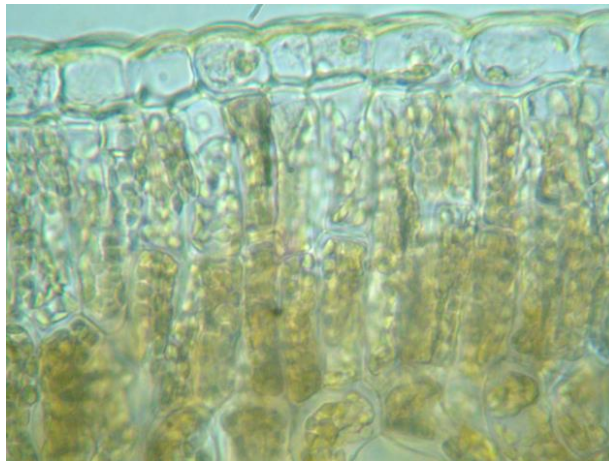


Рис. 4.9 Палісадна паренхіма мезофілу (поперечний переріз)

З нижнього боку під епідермою також можна виділити один шар палісадної паренхіми, яка не завжди добре виражена. Губчаста паренхіма пухка з великими міжклітинниками (рис. 4.10).



Рис. 4.10 Листкова пластинка (поперечний переріз): 1 – палисадна паренхіма з нижнього боку, 2 – пухка губчаста паренхіма

Провідні пучки колатерального типу. Центральна жилка однопучкова. На поперечному перерізі центральної жилки провідний пучок має вигляд напівмісяця (рис. 4.11).

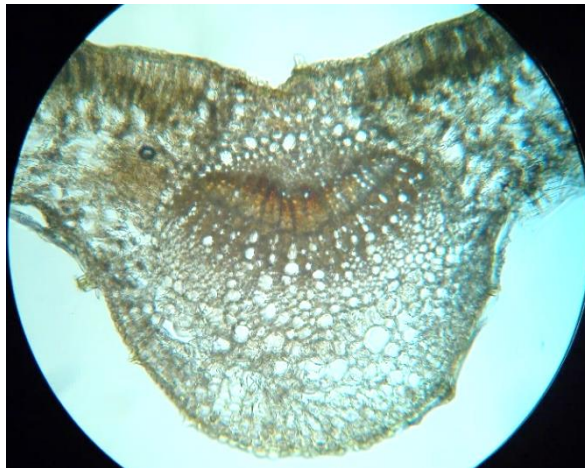


Рис. 4.11 Провідний пучок центральної жилки (поперечний переріз)

Елементи навколо пучка тонкостінні, з боку флоєми механічні тканини не розвинені. Бічні жилки численні, але слабо розвинені. Під епідермою з обох боків наявна кутова коленхіма або коленхіматозна паренхіма. З верхнього боку вона має вигляд вузької ділянки (рис. 4.12), з нижнього боку розвинена сильніше. Основна паренхіма центральної жилки великоклітинна, тонкостінна.

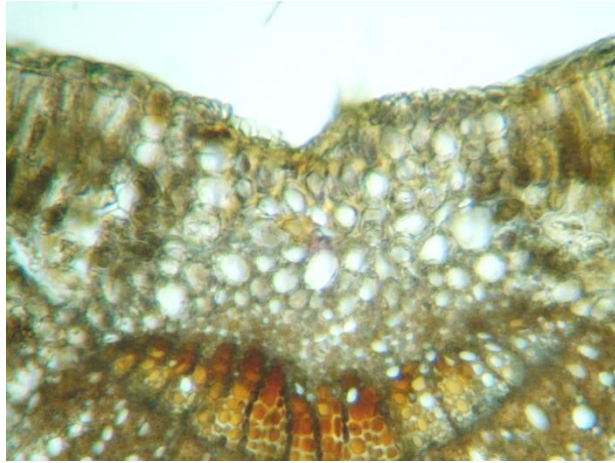


Рис. 4.12 Ділянка коленхіми з верхнього боку (поперечний переріз)

Черешок однопучковий, за будовою аналогічною центральній жилці. На поперечному перерізі має напівкруглу форму (рис. 4.13). Флоема добре виражена, оточує з нижнього боку ксилему.

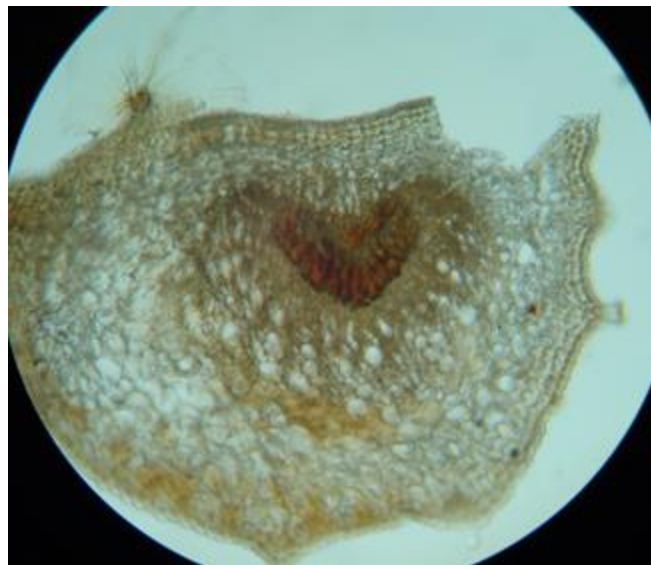


Рис. 4.13 Поперечний переріз черешка листка

Під епідермою добре виражена кутова коленхіма. Клітини епідерми черешка прямостінні. Волоски рясні, характерні для роду. Продихи відсутні.

*Мікроскопічні ознаки плода.* Клітини епідерми плода паренхімні округло-полігональні з прямими стінками (рис. 4.14).

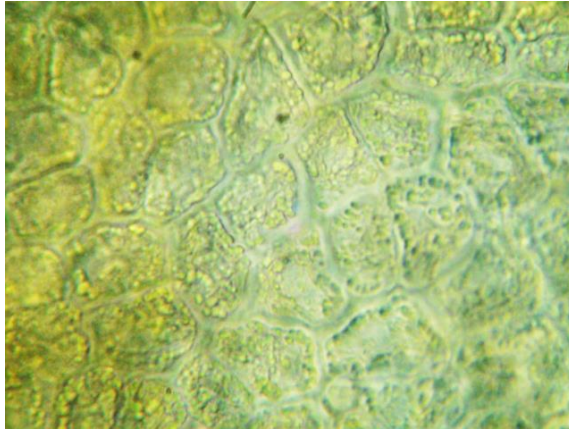


Рис. 4.14 Клітини епідерми плода

На поверхні плода помітні щитоподібні волоски (рис. 4.15) або місця їх прикріплення, навколо яких клітини епідерми дрібніші. Зовнішня оболонка епідермальних клітин потовщена.

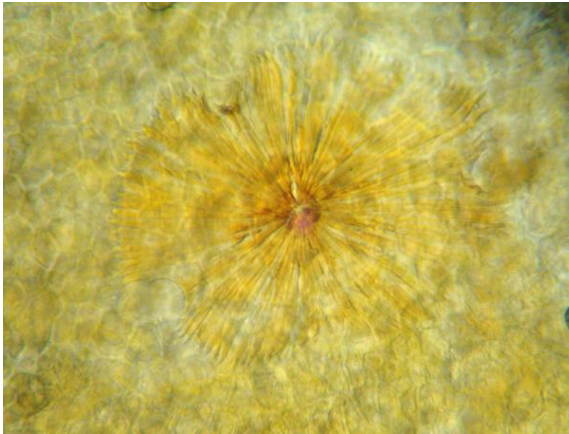


Рис. 4.15 Щитоподібний волосок на поверхні плода

Під епідермою розташовано 1-2 ряди коленхіматозної паренхіми. Паренхімні клітини м'якоті плода різного розміру та форми (рис. 4.16).

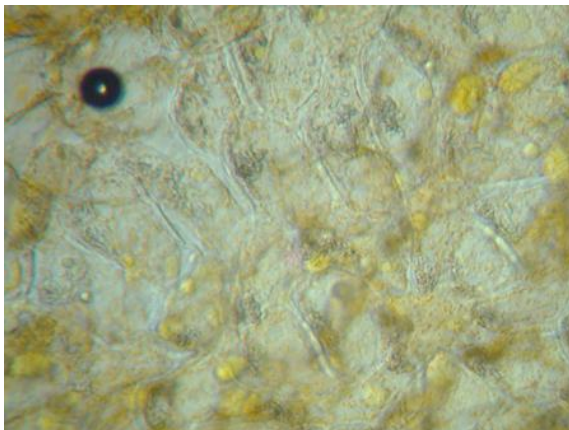


Рис. 4.16 Паренхімні клітини м'якоті плода

По мірі дозрівання плоду відбувається лізис частини паренхімних клітин з утворенням напіврідкої маси з цілими клітинами та розташованими довільно провідними пучками. Усі клітини паренхіми м'якоті містять хромопласти та краплини олії (рис. 4.17).

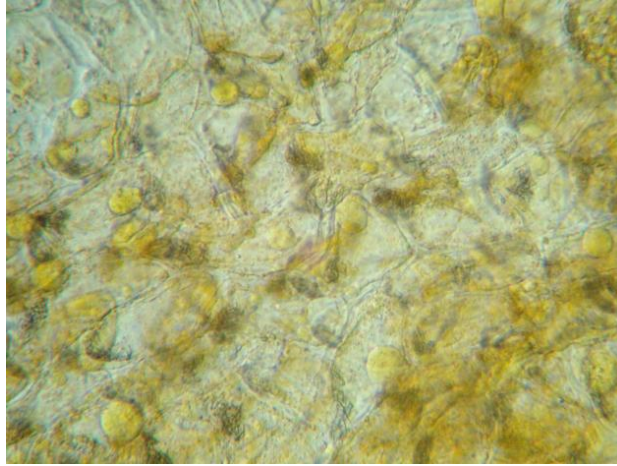


Рис. 4.17 Краплини олії в клітинах паренхіми м'якоті плода

Насіння вкрите тонкою плівкою, яка складається з трьох шарів. Зовнішній шар представлений витягнутими клітинами з намистоподібно потовщеними оболонками (рис. 4.18). Середній шар складається з тонкостінних клітин різної неправильної форми. Клітини внутрішнього шару витягнуті з сильно потовщеними оболонками.

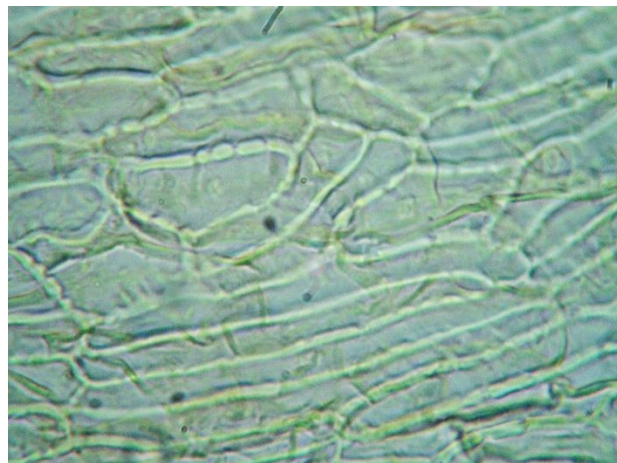


Рис. 4.18 Клітини зовнішнього шару з намистоподібно потовщеними оболонками

Зовнішній шар шкірки насіння на поперечному перерізі представлений видовженими палісадними клітинами з нерівномірно потовщеними оболонками. В нижній частині клітини помітна порожнина. Під шаром палісадних клітин спостерігається декілька рядів дрібних стиснутих паренхімних клітин (рис. 4.19). Далі спостерігається шар великих клітин, за якими розташовані стиснуті клітини (рис. 4.20).



Рис. 4.19 Шкірка насінини (поперечний переріз): 1 – палісадні клітини зовнішнього шару, 2 – дрібні стиснуті паренхімні клітини



Рис. 4.20 Шар великих клітин шкірки насінини

Сім'ядолі під епідермою мають добре виражену палісадну паренхіму (рис. 4.21). У центрі проходить ряд провідних пучків (рис. 4.22). Клітини паренхіми містять поживні речовини.

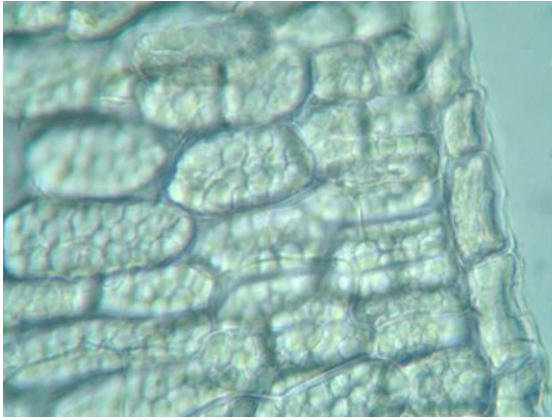


Рис. 4.21 Клітини палисадної паренхіми сім'ядолі



Рис. 4.22 Провідні пучки в центрі сім'ядолі (поперечний переріз)

*Мікроскопічні ознаки кори.* Корок кори складається з 3-4 рядів стиснутих клітин із коричневим вмістом. Нижче розташована фелема, яка представлена шарами рівномірно розташованих зон великих тонкостінних клітин без вмісту (рис. 4.23).

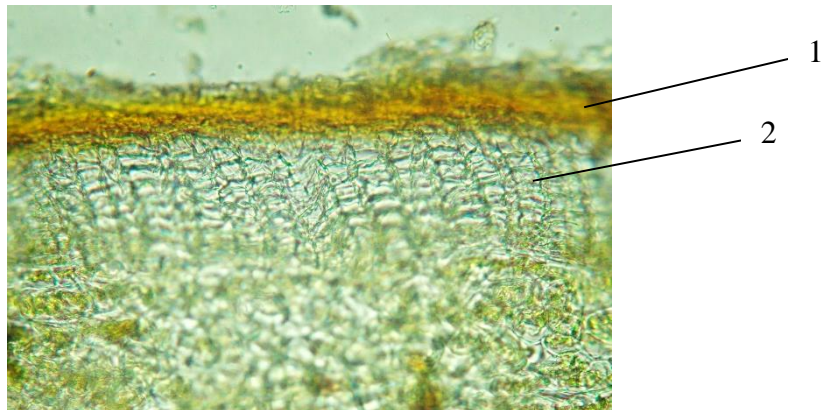


Рис. 4.23 Поперечний переріз кори: 1 – клітини корку із коричневим вмістом, 2 – фелема, що складається з великих тонкостінних клітин

Фелодерма складається з 3-2 рядів витягнутих в тангентальному напрямку клітин, які містять хлоропласти. Клітини корової паренхіми округлі та овальні, містять хлоропласти. Корова паренхіма з великими міжклітинниками (рис. 4.24).

На поперечному перерізі не виділяються зони анатомічної будови. Паренхіма кори з чисельними групами склереїд круглої та овальної форми. Також наявні поодинокі склереїди (рис. 4.24).



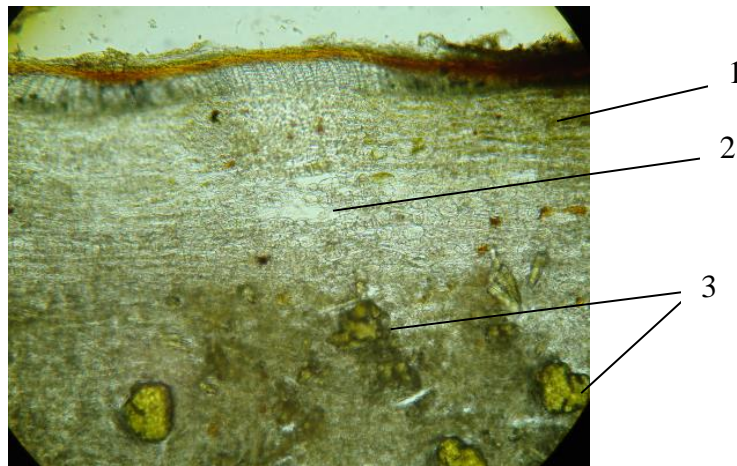


Рис. 4.24 Поперечний переріз кори: 1 – клітини корової паренхіми з хлоропластами, 2 – великі міжклітинники, 3 – групи склереїд

Ситоподібні трубки з часом руйнуються, на що вказують темні нерівні лінії (рис. 4.25).



Рис. 4.25 Поперечний переріз кори: 1 – ситоподібні трубки, що зруйновані

Серцевинні промені одно- або дворядні, хвилясті, з часом зникають, залишаються помітними лише в ксилемі.

#### 4.2 Визначення показників якості сировини обліпихи крушиноподібної

Монографії ДФУ для стандартизації ЛРС вимагають визначення втрати в масі при висушуванні та вмісту загальної золи [11].

Втрату в масі при висушуванні та вміст загальної золи визначали гравіметричним методом [9]. Результати визначення наведені у табл. 4.1.

Таблиця 4.1

**Результати визначення показників якості сировини обліпихи крушиноподібної**

Зразок ЛРС	Вміст, %		
	листя	плоди	кора
Втрата в масі при висушуванні	$7,32 \pm 0,53$	$10,54 \pm 0,63$	$6,35 \pm 0,42$
Загальна зола	$7,54 \pm 0,55$	$4,16 \pm 0,31$	$2,84 \pm 0,21$

Встановлено, що показник втрати в масі при висушуванні був найвищий для плодів обліпихи крушиноподібної та становив  $10,54 \pm 0,63$  %. Кора обліпихи мала найнижче значення втрати в масі при висушування, а саме  $6,35 \pm 0,42$  %. Втрата в масі при висушуванні листя обліпихи визначена у кількості  $7,32 \pm 0,53$  %.

Щодо вмісту загальної золи, то у листі обліпихи визначено найбільшу її кількість –  $7,54 \pm 0,55$  %. Мінімальне значення загальної золи спостерігалося в корі, яке дорівнювало  $2,84 \pm 0,21$  %. У плодах обліпихи загальна зола складала  $4,16 \pm 0,31$  % [18].

Результати визначення показників якості використані при розробці МКЯ на лікарську рослинну сировину.

#### 4.3 Дослідження технологічних параметрів і екстрактивних речовин сировини обліпихи крушиноподібної

Екстрагування рослинної сировини є основною стадією при одержанні засобів на основі природних речовин, яке визначається законами масообміну, властивостями ЛРС, екстрагенту та біологічно активних речовин, що вилу-

чаються. При розробці екстракційних препаратів основною задачею є вилучення максимальної кількості діючих речовин. Вирішення цієї задачі забезпечується врахуванням усіх факторів, які впливають на ефективність процесу екстракції [4, 51]. Тому нами було визначено технологічні параметри листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної та вміст екстрактивних речовин в досліджуваній сировині. Результати визначення технологічних параметрів наведені в табл. 4.2.

Таблиця 4.2

### Технологічні параметри сировини обліпихи крушиноподібної

Параметр	Значення		
	листя	плоди	кора
Середній розмір часток сировини, см	$0,10 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,01$	$0,10 \pm 0,01$
Питома густина, г/см <sup>3</sup>	$1,43 \pm 0,11$	$1,56 \pm 0,12$	$1,74 \pm 0,13$
Об'ємна густина г/см <sup>3</sup>	$0,64 \pm 0,05$	$0,76 \pm 0,06$	$0,78 \pm 0,06$
Насипна густина, г/см <sup>3</sup>	$0,27 \pm 0,02$	$0,30 \pm 0,02$	$0,34 \pm 0,03$
Пористість сировини	$0,50 \pm 0,04$	$0,60 \pm 0,05$	$0,70 \pm 0,05$
Нарізність шару	$0,62 \pm 0,05$	$0,75 \pm 0,06$	$0,81 \pm 0,06$
Коефіцієнт поглинання екстрагенту:			
- води	$1,70 \pm 0,12$	$1,30 \pm 0,10$	$1,50 \pm 0,11$
- 70 % етанол	$1,80 \pm 0,13$	$1,50 \pm 0,11$	$1,90 \pm 0,13$
- 96 % етанол	$1,50 \pm 0,11$	$1,20 \pm 0,09$	$1,30 \pm 0,10$

Визначені технологічні параметри були використані при розробці способу одержання рідкого екстракту з сировини обліпихи крушиноподібної.

Для вибору оптимального екстрагента було проведено визначення вмісту екстрактивних речовин із застосуванням води очищеної, 70 % та 96 % етанолу. Дослідження проводили гравіметричним методом [11]. Результати визначення наведені в табл. 4.3

**Вміст екстрактивних речовин в сировині обліпихи крушиноподібної**

Екстрагент	Вміст, %		
	листя	плоди	кора
Вода очищена	19,56 ± 0,58	19,35 ± 0,57	15,06 ± 0,45
70 % етанол	39,13 ± 1,25	27,95 ± 0,97	21,50 ± 0,67
96 % етанол	23,92 ± 0,75	23,65 ± 0,74	17,20 ± 0,52

Встановлено, що при використанні води очищеної вихід екстрактивних речовин з листя та плодів обліпихи крушиноподібної був майже однаковий і становив  $19,56 \pm 0,58$  % і  $19,35 \pm 0,57$  % відповідно. Вміст екстрактивних речовин у корі при використанні цього екстрагенту був нижчий і склав  $15,06 \pm 0,45$  %. Така ж тенденція спостерігалася й при використанні 96 % етанолу: у листі вміст екстрактивних речовин визначений у кількості  $23,92 \pm 0,75$  %, у плодах –  $23,65 \pm 0,74$  %, у корі –  $17,20 \pm 0,52$  %. Найбільший вміст екстрактивних речовин в усіх видах сировини, що вивчалася, визначений при використанні 70 % етанолу. Крім того, листя мали максимальний вміст екстрактивних речовин при вилученні цим екстрагентом –  $39,13 \pm 1,25$  %. Також слід зазначити, що у корі обліпихи крушиноподібної спостерігався мінімальний вміст екстрактивних речовин для усіх екстрагентів, що були використанні у дослідженні.

Таким чином, за результатами визначення екстрактивних речовин як оптимальний екстрагент був обраний 70 % етанол для сировини обліпихи крушиноподібної, що вивчалася.

#### 4.4 Одержання рідких екстрактів обліпихи крушиноподібної

Важливими показниками, окрім технологічних параметрів сировини, є фактори, які впливають на екстракцію: природа екстрагента, співвідношення

сировина–екстрагент, метод та тривалість екстракції, температурний режим, тощо [51]. Для одержання рідких екстрактів листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної застосовували сучасний метод вакуумно-фільтраційної екстракції, який дозволяє максимально вилучати БАР, а також має низьку собівартість, незатратний у часі, не потребує високоартісного обладнання. Оптимальне співвідношення сировина–екстрагент обрано для плодів обліпихи крушиноподібної – 1:10, для листя та кори – 1:5 [36]. Технологічна схема наведена на рис. 4.26.

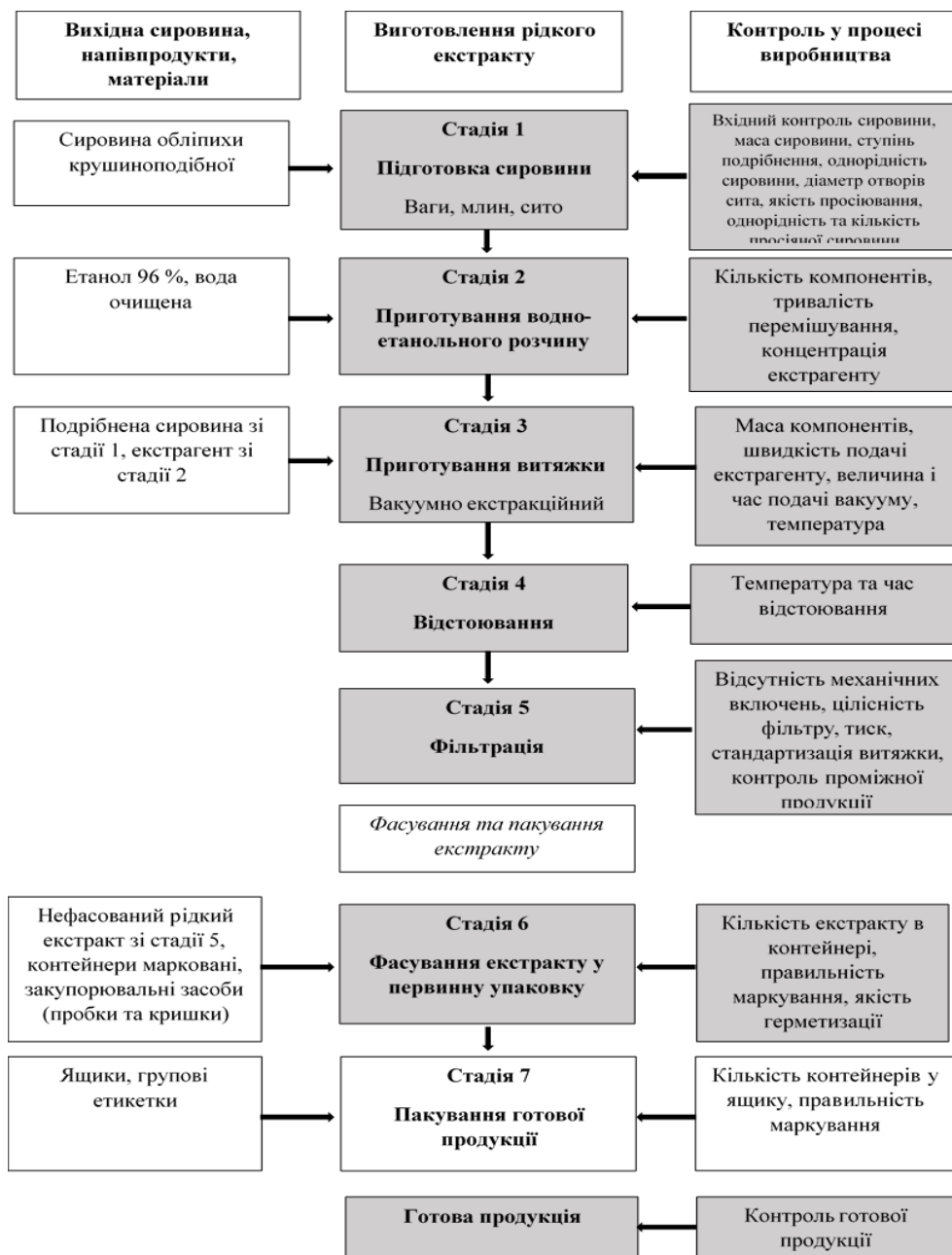


Рис. 4.26 Технологічна схема одержання рідких екстрактів обліпихи крушиноподібної

Виготовлення рідких екстрактів з листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної здійснювали таким чином.

Сировину в співвідношенні сировина–екстрагент 1:10 або 1:5 частинами зважували на вагах у тарі, подрібнювали на млинку, просіювали крізь сито з отворами діаметром 2 мм. Частки сировини, які були більші за 2 мм, повертали на повторне подрібнення. Подрібнену рослинну сировину завантажували у вакуумно-фільтраційний екстрактор. На сировину подавали екстрагент до утворення «дзеркала» та залишали для настоювання. Після повного проходження екстрагента в нижній резервуар підключали вакуум до остаточного виходу екстракту та знову на сировину подавали екстрагент до утворення «дзеркала» і повторювали цей етап. Об'єднані витяжки перемішували 15-20 хв, поміщали в збірник для відстоювання і залишали при температурі 8 °С на 48 год з подальшим фільтруванням екстракту в збірник. Отриманий готовий екстракт фасували у чисті сухі флакони місткістю 100 мл, пакували та маркували. Відбирали середню пробу для проведення повного аналізу на відповідність вимогам проєкту МКЯ [36].

#### 4.5 Дослідження рідких екстрактів обліпихи крушиноподібної

Якісний склад флавоноїдів та гідроксикоичних кислот рідких екстрактів листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної вивчали методом ТШХ [11]. Хроматографування проводили у порівнянні зі СЗ кофейної, хлорогенової, розмаринової кислот, рутину, лютеоліну та ФСЗ лютеолін-7-О-глюкозиду. Результати аналізу наведені на рис. 4.27.

<b>Верхня частина хроматограми</b>			
	блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона
лютеолін: жовтогаряча флуоресціююча зона	жовтогаряча флуоресціююча зона (лютеолін)	жовтогаряча флуоресціююча зона (лютеолін)	
кофейна кислота: блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона (кофейна кислота)	блакитна флуоресціююча зона (кофейна кислота)	блакитна флуоресціююча зона (кофейна кислота)
	блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона	
	жовтогаряча флуоресціююча зона	жовтогаряча флуоресціююча зона	жовтогаряча флуоресціююча зона
лютеолін-7-О-глюкозид: жовтогаряча флуоресціююча зона	жовтогаряча флуоресціююча зона (лютеолін-7-О-глюкозид)	жовтогаряча флуоресціююча зона (лютеолін-7-О-глюкозид)	
хлорогенова кислота: блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона (хлорогенова кислота)	блакитна флуоресціююча зона (хлорогенова кислота)	блакитна флуоресціююча зона (хлорогенова кислота)
	жовтогаряча флуоресціююча зона	жовтогаряча флуоресціююча зона	
рутин: жовтогаряча флуоресціююча зона	жовтогаряча флуоресціююча зона (рутин)	жовтогаряча флуоресціююча зона (рутин)	жовтогаряча флуоресціююча зона (рутин)
<b>Розчин порівняння</b>	<b>Випробовуваний розчин (екстракт листя)</b>	<b>Випробовуваний розчин (екстракт плодів)</b>	<b>Випробовуваний розчин (екстракт кори)</b>

Рис. 4.27 Хроматограма флавоноїдів і гідроксикоричних кислот рідких екстрактів сировини обліпихи крушиноподібної

На хроматограмі розчину порівняння повинні виявлятися (в порядку зростання  $R_f$ ): жовтогаряча флуоресціююча зона, що відповідає рутину, блакитна флуоресціююча зона, що відповідає хлорогеновій кислоті; жовтогаряча флуоресціююча зона, що відповідає лютеолін-7-О-глюкозиду; блакитна флуоресціююча зона, що відповідає кофейній кислоті; жовтогаряча флуоресціююча зона, що відповідає лютеоліну

На хроматограмі випробовуваних розчинів рідких екстрактів листя і плодів обліпихи крушиноподібної виявлено по 9 зон, 5 з яких знаходилися на рівні зон на хроматограмі розчину порівняння, що відповідали їм за флуоресценцією і забарвленням у денному світлі, та були ідентифіковані як рутин ( $R_f = 0,18$ ), хлорогенова кислота ( $R_f = 0,32$ ), лютеолін-7-О-глюкозид ( $R_f = 0,42$ ), кофейна кислота ( $R_f = 0,82$ ) і лютеолін ( $R_f = 0,84$ ). Крім того, виявлено по 2 зони з жовтогарячою та блакитною флуоресценцією.

На хроматограмі випробовуваного розчину рідкого екстракту кори обліпихи крушиноподібної виявлено 5 зон з жовтогарячою та блакитною флуоресценцією. 3 зони розташовані на рівні зон на хроматограмі розчину порівняння, відповідали їм за флуоресценцією та забарвленням у денному світлі, що дало змогу ідентифікувати їх як рутин, хлорогенову та кофейну кислоти. Також мали місце інші зони з блакитною та жовтогарячою флуоресценцією.

Для стандартизації одержаних рідких екстрактів нами було визначено показники якості згідно з вимогами ДФУ 2,0 і 2.1 [9, 11]. Результати дослідження наведені у табл. 4.4.



**Показники якості рідких екстрактів сировини обліпихи  
крушиноподібної**

Показник	Вміст		
	рідкий екстракт листя	рідкий екстракт плодів	рідкий екстракт кори
Вміст етанолу, %	69,00 ± 4,22	68,00 ± 4,16	70,00 ± 4,28
Вміст важких металів, %	0,010 ± 0,001	0,010 ± 0,001	0,010 ± 0,001
Відносна густина, г/см <sup>3</sup>	0,885 ± 0,070	0,889 ± 0,065	0,883 ± 0,072
Сухий залишок, г/л	14,27 ± 0,89	15,21 ± 0,95	13,18 ± 0,82
Мікробіологічна чистота			
Загальна кількість аеробних мікроорганізмів, КУО/мл	1·10 <sup>3</sup>	1·10 <sup>3</sup>	1·10 <sup>3</sup>
Загальна кількість дріжджових та плісневих грибів	1·10 <sup>2</sup>	1·10 <sup>2</sup>	1·10 <sup>2</sup>
Наявність <i>Escherichia coli</i>	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено

Результати визначення показників якості рідких екстрактів обліпихи крушиноподібної, наведені у табл. 4.4, використані при розробці проекту методів контролю якості.

УФ-спектри рідких екстрактів листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної наведені на рис. 4.28-4.30.

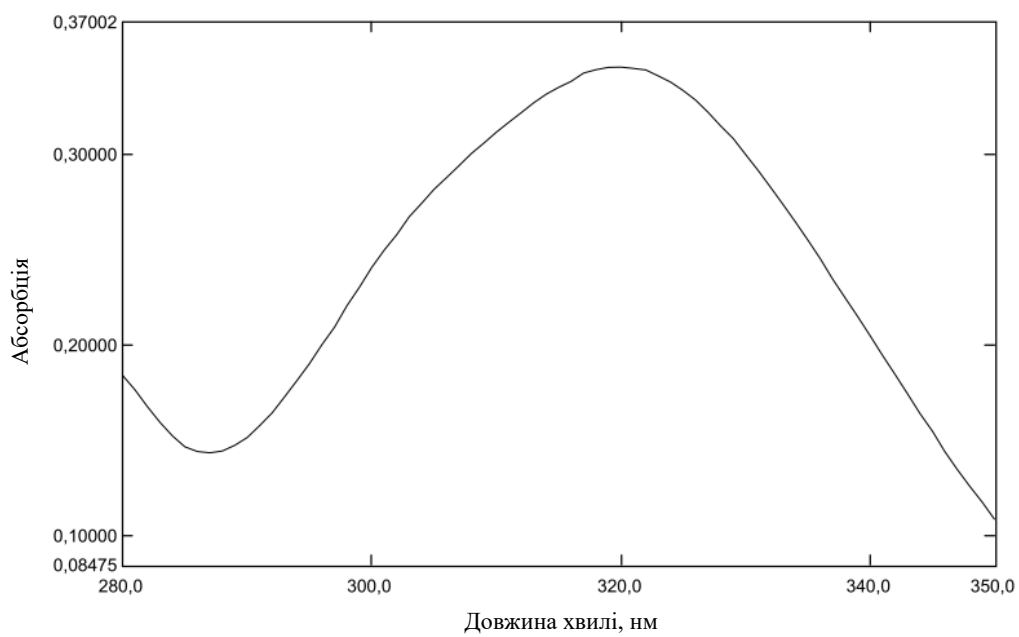


Рис. 4.28 УФ-спектр рідкого екстракту листя обліпихи крушиноподібної

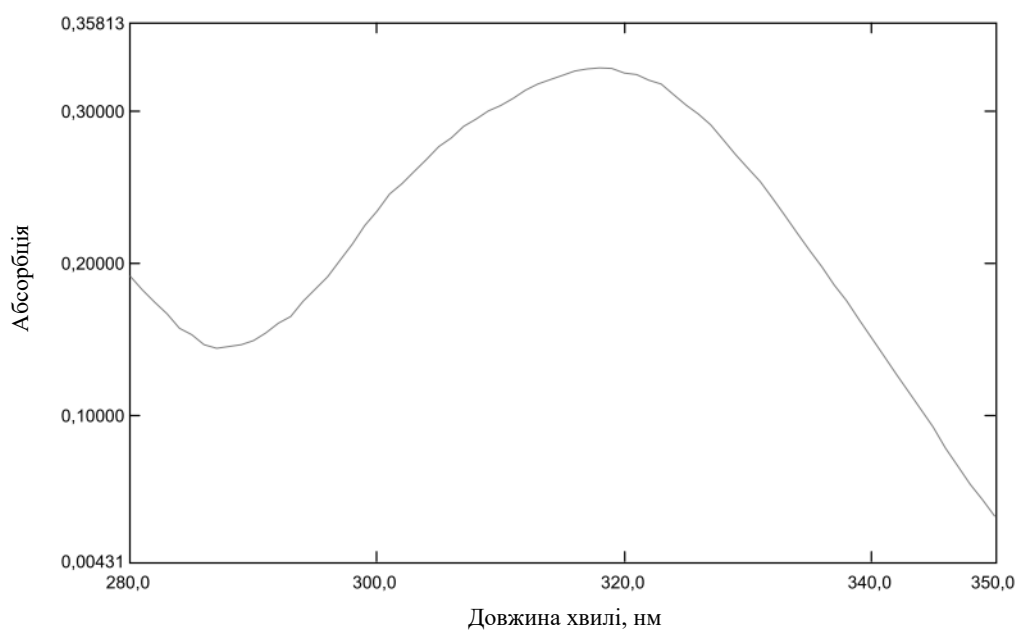


Рис. 4.29 УФ-спектр рідкого екстракту плодів обліпихи крушиноподібної

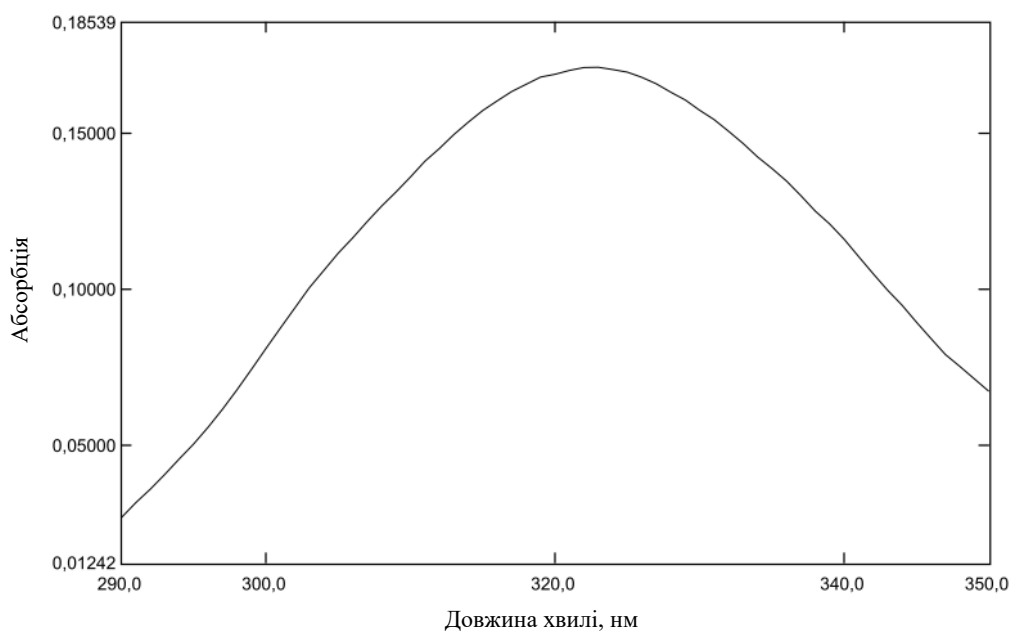


Рис. 4.30 УФ-спектр рідкого екстракту кори обліпихи крушиноподібної

Аналіз одержаних УФ-спектрів показав наявність максимуму поглинання при 319 нм, що притаманно гідроксикоричним кислотам, а саме хлорогеновій кислоті. Тому при визначенні вмісту суми гідроксикоричних кислот в рідких екстрактах перерахунок вели саме на цю сполуку.

Кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот, флавоноїдів і поліфенольних сполук у рідких екстрактах сировини обліпихи крушиноподібної здійснювали спектрофотометричним методом за методиками ДФУ 2.0 [9-11]. Результати аналізу наведені у табл. 4.5.

*Таблиця 4.5*

**Вміст БАР у рідких екстрактах сировини обліпихи крушиноподібної**

Група БАР	Вміст, %		
	рідкий екстракт листя	рідкий екстракт плодів	рідкий екстракт кори
Гідроксикоричні кислоти	1,83 ± 0,08	1,55 ± 0,07	0,96 ± 0,05
Флавоноїди	4,77 ± 0,19	2,64 ± 0,12	1,52 ± 0,07
Поліфенольні сполуки	11,12 ± 0,44	5,29 ± 0,23	14,41 ± 0,57

Результати визначення вмісту БАР у рідких екстрактах сировини обліпихи крушиноподібної показали високий вміст речовин фенольної природи, а саме гідроксикоричних кислот, флавоноїдів і поліфенольних сполук. У максимальній кількості в усіх рідких екстрактах були визначені поліфенольні сполук: у рідкому екстракті листя –  $11,12 \pm 0,44$  %, у рідкому екстракті плодів –  $5,29 \pm 0,23$  %, у рідкому екстракті кори –  $14,41 \pm 0,57$  %.

#### 4.6 Вивчення фармакологічної активності рідких екстрактів сировини обліпихи крушиноподібної

##### 4.6.1 Визначення цитотоксичної концентрації рідких екстрактів

Для визначення  $CC_{50}$  рідких екстрактів використовували клітини СНЕВ. У досліджах застосовували не менше десяти рядків лунок в плашки з культурами клітин для кожного розведення екстрактів в живильному середовищі. За  $CC_{50}$  приймали його найбільшу концентрацію, яка не викликала дегенерацію клітин [60, 63, 82, 129]. Результати дослідження наведені у табл. 4.6-4.8.

*Таблиця 4.6*

#### **Результати визначення $CC_{50}$ рідких екстрактів в культурі клітин МДСК, чутливих до вірусу грипу**

Розведення екстрактів, мкг/мл	Рідкий екстракт листя	Рідкий екстракт плодів	Рідкий екстракт кори
1	2	3	4
1:5	10/10	10/10	10/10
1:10	10/10	5/10	10/10
1:20	10/10	0/10	8/10
1:40	0/10	0/10	6/10
1:80	0/10	0/10	6/10

1	2	3	4
1:160	0/10	0/10	0/10
1:320	0/10	0/10	0/10
1:640	0/10	0/10	0/10
CC <sub>50</sub>	1:30	1:10	1:100

Примітки:

1. чисельник – число лунок з дегенерацією монослою;
2. знаменник – число лунок, взятих в експеримент.

Аналіз представлених результатів досліджень щодо цитотоксичної дії рідких екстрактів сировини обліпихи крушиноподібної показав їх малу токсичність для культур клітин.

Таблиця 4.7

**Результати визначення CC<sub>50</sub> рідких екстрактів сировини обліпихи крушиноподібної в культурі клітин ВНК, чутливих до вірусу герпесу**

Розведення екстрактів, мкг/мл	Рідкий екстракт листя	Рідкий екстракт плодів	Рідкий екстракт кори
1:5	10/10	10/10	10/10
1:10	10/10	8/10	10/10
1:20	10/10	0/10	10/10
1:40	0/10	0/10	10/10
1:80	0/10	0/10	8/10
1:160	0/10	0/10	0/10
1:320	0/10	0/10	0/10
1:640	0/10	0/10	0/10
CC <sub>50</sub>	1:30	1:20	1:120

Примітки:

1. чисельник – число лунок з дегенерацією монослою;
2. знаменник – число лунок, взятих в експеримент.

У культурі клітин ВНК спостерігалась та ж закономірність, що й в клітинах МДСК, тоб то усі досліджувані екстракти були малотоксичними до культур клітин [32, 33, 36].

Таблиця 4.8

**Результати визначення  $CC_{50}$  рідких екстрактів в культурі клітин СНЕВ, чутливих до коронавірусу ТГС**

Розведення екстрактів, мкг/мл	Рідкий екстракт листя	Рідкий екстракт плодів	Рідкий екстракт кори
1:5	10/10	10/10	10/10
1:10	10/10	0/10	10/10
1:20	10/10	0/10	10/10
1:40	0/10	0/10	10/10
1:80	0/10	0/10	7/10
1:160	0/10	0/10	0/10
1:320	0/10	0/10	0/10
1:640	0/10	0/10	0/10
$CC_{50}$	1:30	1:10	1:100

Примітки:

1. Чисельник – число лунок з дегенерацією монослою;
2. Знаменник – число лунок, взятих в експеримент.

У культурі клітин СНЕВ встановлена та ж закономірність, що й в клітинах МДСК і ВНК:  $CC_{50}$  рідкого екстракту листя обліпихи крушиноподібної дорівнювала 1:30, рідкого екстракту плодів обліпихи крушиноподібної – 1:10, рідкого екстракту кори обліпихи крушиноподібної – 1:100.

#### 4.6.2 Вивчення протівірусної активності рідких екстрактів

Визначення *антигрипозної активності* проводили в умовах *in vitro* з використанням добової перещеплюваної культури клітин МДСК із суцільним шаром [60, 63, 82, 129]. Для дослідження використовували рідкі екстракти у розведенні: листя та кора – від 1:200 до 1:3200, для плодів – від 1:50 до 1:800.

Результати аналізу наведені на рис. 4.31-4.33.



Рис. 4.31 Вплив рідкого екстракту листя обліпихи крушиноподібної на репродукцію вірусу грипу H1N1



Рис. 4.32 Вплив рідкого екстракту плодів обліпихи крушиноподібної на репродукцію вірусу грипу H1N1

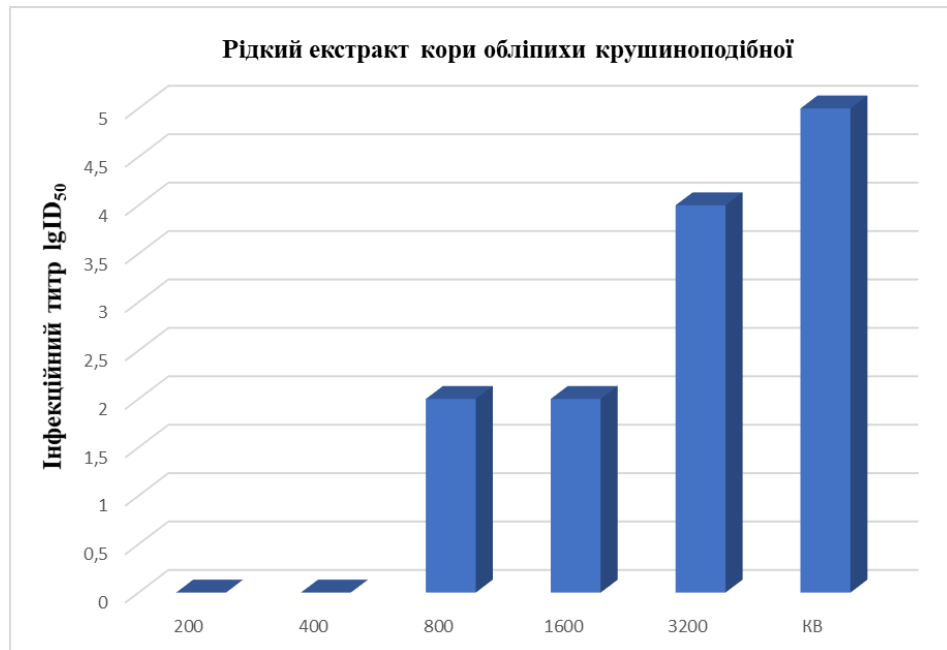


Рис. 4.33 Вплив рідкого екстракту кори обліпихи крушиноподібної на репродукцію вірусу грипу H1N1

Згідно з результатами проведеного аналізу рідкі екстракти сировини обліпихи крушиноподібної ефективно інгібували репродукцію вірусу грипу в усіх досліджуваних розведеннях від 5,0 до 2,0 lgТЦД<sub>50</sub> [32, 33, 36].

Вивчення *протигерпесної активності* рідких екстрактів досліджували на перещеплюваній культурі клітин ВНК та ВПГ-2 [60, 63, 82, 129]. Результати аналізу наведено на рис. 4.34-4.36.



Рис. 4.34 Вплив рідкого екстракту листя обліпихи крушиноподібної на репродукцію ВПГ-2





Рис. 4.35 Вплив рідкого екстракту плодів обліпихи крушиноподібної на репродукцію ВПГ-2



Рис. 4.36 Вплив рідкого екстракту кори обліпихи крушиноподібної на репродукцію ВПГ-2

Результати вивчення протигерпесної активності показали, що усі досліджувані екстракти пригнічували репродукцію ВПГ-2 [32, 33, 36].

Дослідження *антикороновірусної активності* рідких екстрактів сировини обліпихи крушиноподібної проводили на моделі коронавірусу ТГС [60, 63, 82, 129]. Результати аналізу наведені на рис. 4.37-4.39.



Рис. 4.37 Інфекційний титр вірусу ТГС щодо рідкого екстракту листя обліпихи крушиноподібної



Рис. 4.38 Інфекційний титр вірусу ТГС щодо рідкого екстракту плодів обліпихи крушиноподібної



Рис. 4.39 Інфекційний титр вірусу ТГС щодо рідкого екстракту плодів обліпихи крушиноподібної

Встановлено, що досліджувані рідкі екстракти листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної статистично достовірно інгібували репродукцію коронавірусу ТГС [32, 33, 36].

Критерієм оцінки інгібувальної активності антивірусних препаратів в системах *in vitro* є IS більше 16 і зниження інфекційного титру на 1,5-2,0 lg ТЦД<sub>50</sub>. У табл. 4.9 представлені узагальнені результати досліджень по визначенню СС<sub>50</sub>, ЕС<sub>50</sub>, IS рідких екстрактів сировини обліпихи крушиноподібної [60, 63, 82, 129].

Таблиця 4.9

**Показники СС<sub>50</sub>, ЕС<sub>50</sub>, IS при визначенні антивірусної активності рідких екстрактів сировини обліпихи крушиноподібної**

Показник	Рідкий екстракт листя	Рідкий екстракт плодів	Рідкий екстракт кори
1	2	3	4
Дія на вірус Н1N1			
СС <sub>50</sub> , мкг/мл	1:100	1:160	1:30

1	2	3	4
EC <sub>50</sub> , мкг/мл	1:1600	1:1600	1:1600
IS	16	10	53
Інгібіція інфекційного титру в lg ID <sub>50</sub>	5,0-1,0	5,0-1,0	3,5-1,5
Дія на ВПГ-2			
CC <sub>50</sub> , мкг/мл	1:120	1:160	1:30
EC <sub>50</sub> , мкг/мл	1:3200	1:3200	1:3200
IS	26,6	20	106,6
Інгібіція інфекційного титру в lg ID <sub>50</sub>	9,0-5,0	9,0-6,0	8,5-5,5
Дія на вірус ТГС			
CC <sub>50</sub> , мкг/мл	1:100	1:160	1:30
EC <sub>50</sub> , мкг/мл	1:3200	1:3200	1:3200
IS	32	20	106,6
Інгібіція інфекційного титру в lg ID <sub>50</sub>	7,0-2,0	9,0-4,0	7,0-3,0

Результати дослідження рідких екстрактів листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної по відношенню до вірусів грипу H1N1, ВПГ-2 та коронавірусу ТГС показали виражену противірусну активність та інгібувальний вплив на їх репродукцію. Проведений скринінг противірусної активності рідких екстрактів сировини обліпихи крушиноподібної на експериментальних моделях вірусів грипу H1N1, ВПГ-2 та коронавірусу ТГС виявив ефекти з індексом селективності від 106 до 20. За індексом селективності найбільш ефективним був рідкий екстракт плодів обліпихи крушиноподібної та може бути рекомендований для подальшого вивчення та створення на його основі препаратів противірусної дії [32, 33, 36].

## 4.6.3 Вивчення антимікробної активності рідких екстрактів

Дослідження антимікробної активності рідких екстрактів обліпихи крушиноподібної проводили методом дифузії в агар у модифікації «колодязів» [1, 50]. Результати вивчення наведені у табл. 4.10.

Таблиця 4.10

**Антибактеріальна активність рідких екстрактів сировини обліпихи  
крушиноподібної**

Екстракти	Діаметри зон затримки росту в мм (M±m) (p≤0,05)					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Candida albicans</i> ATCC 653/885
Рідкий екстракт листя	22, 23, 23	22, 21, 21	18, 18, 18	20, 19, 20	22, 23, 23	23, 23, 23
Рідкий екстракт плодів	20, 20, 20	18, 18, 19	17, 18, 18	23, 22, 22	21, 21, 22	23, 24, 24
Рідкий екстракт кори	22, 21, 22	20, 21, 20	19, 19, 18	22, 23, 23	22, 23, 22	25, 24, 25

Встановлено, що досліджувані рідкі екстракти мали виражену антимікробну дію, затримували ріст паличко- та кокоподібних мікроорганізмів. Рідкий екстракт листя обліпихи крушиноподібної викликав затримку росту чотирьох з шести штамів мікроорганізмів – *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* та *Candida albicans*. *Proteus vulgaris* та *Pseudomonas aeruginosa* були менш чутливими до його дії. Рідкий екстракт плодів обліпихи крушиноподібної був найбільш ефективним серед досліджуваних екстрактів: затримка росту спостерігалась для *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* та *Candida albicans*. Рідкий екстракт кори обліпихи крушиноподібної незначно

поступався за ефективністю іншим екстрактам. *Proteus vulgaris* мав найменшу чутливість до усіх рідких екстрактів, що вивчалися [32, 33, 35, 36].

#### Висновки до розділу 4

1. Вивчено морфолого-анатомічну будову листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної та визначено основні діагностичні ознаки досліджуваної сировини.

2. Визначено показники якості та технологічні параметри листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної. Втрата в масі при висушуванні листя склала  $7,32 \pm 0,53$  %, плодів –  $10,54 \pm 0,63$  %, кори –  $6,35 \pm 0,42$  %. Вміст загальної золи у листі обліпихи становив  $7,54 \pm 0,55$  %, у плодах –  $4,16 \pm 0,31$  %, у корі –  $2,84 \pm 0,21$  %. Результати визначення технологічних параметрів були використані при розробці способу одержання рідких екстрактів з сировини, що вивчалася.

3. Гравіметричним методом визначено вміст екстрактивних речовин при використанні води очищеної, 70 % та 96 % етанолу в сировині обліпихи крушиноподібної: у листі –  $19,56 \pm 0,58$  %,  $39,13 \pm 1,25$  % і  $23,92 \pm 0,75$  %; у плодах –  $19,35 \pm 0,57$  %,  $27,95 \pm 0,97$  % і  $23,65 \pm 0,74$  %; у корі –  $15,06 \pm 0,45$  %;  $21,50 \pm 0,67$  % і  $17,20 \pm 0,52$  % відповідно. 70 % етанол обрано як оптимальний екстрагент для досліджуваної сировини.

4. Розроблено та запропоновано технологію одержання рідких екстрактів листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної та проведено їх фітохімічне дослідження. Методом ТШХ в одержаних екстрактах ідентифіковано гідроксикоричні кислоти та флавоноїди. Спектрофотометричним методом в рідких екстрактах визначено вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та поліфенольних сполук. У рідкому екстракті листя вміст визначених БАР склав  $1,83 \pm 0,08$  %,  $4,77 \pm 0,19$  % і  $11,12 \pm 0,44$  %; у рідкому екстракті плодів –  $1,55 \pm 0,07$  %,  $2,64 \pm 0,12$  % і  $5,29 \pm 0,23$  %; у рідкому екстракті кори –  $0,96 \pm 0,05$  %,  $1,52 \pm 0,07$  % і  $14,41 \pm 0,57$  % відповідно.

5. Для одержаних рідких екстрактів листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної у дослідах *in vitro* проведено вивчення цитотоксичної дії та фармакологічної активності. Встановлено, що усі екстракти, що вивчалися, були малотоксичними на культури клітин, які використовувались у дослідах, та виявляли виражену противірусну та антимікробну активності.

*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:*

1. Науменко Л. С., Попова Н. В. Перспективи вивчення та застосування листя обліпихи крушиновидної. Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету, м. Харків, 10 вересня 2021 р. / редкол.: А. А. Котвіцька та ін. Х.: НФаУ, 2021. С. 228–229.

2. Исследование минерального состава сырья облепихи крушиновидной (*Hippophaë rhamnoides* L.) / Л. С. Науменко, Н. В. Попова, Е. В. Гладух, Л. А. Бобрицкая. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 38. С. 46–49.

3. Науменко Л. С., Попова Н. В. Фітохімічне та фармакологічне вивчення сировини обліпихи. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 8 квітня 2022 р. Х.: 2022. С. 60-61.

4. Науменко Л., Журавель І. Вивчення протимікробної активності екстрактів обліпихи крушиноподібної. *Annals of Mechnikov Institute*. 2023. № 4. С. 42-45.

5. Науменко Л. С., Попова Н.В. Спосіб одержання лікарського екстракту з плодів обліпихи: пат. України на корисну модель № u 2023 05721; Заявл. 28.11.2023; Опубл. 27.032024; Бюл. № 13.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено результати експериментального вирішення наукової задачі, яка полягає у комплексному порівняльному фармакогностичному вивченні листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної, одержанні лікарських засобів на основі досліджуваних видів сировини, їх хімічному та фармакологічному аналізі, а також розробці параметрів стандартизації лікарської рослинної сировини та перспективного лікарського рослинного засобу.

1. Проведено аналіз сучасної наукової літератури та узагальнено відомості щодо актуальності проведення досліджень сировини обліпихи крушиноподібної для створення ефективних лікарських засобів протівірусної та антимікробної дії, розробки параметрів стандартизації сировини та одержаного лікарського рослинного засобу.

2. У листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної хімічними реакціями, ПХ, ТШХ, ГХ/МС, ВЕРХ хроматографією виявлено та визначено вміст фенольних, гідроксикарбонових, жирних, нижчих органічних і амінокислот, вуглеводів, флавоноїдів, дубильних речовин, хлорофілів і каротиноїдів. Методом АЕС визначено мінеральний склад листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної. Виявлено та визначено вміст 15 макро- та мікроелементів. Серед макроелементів у листі та плодах у максимальній кількості визначено калій ( $1154,00 \pm 2,78$  мг/100 г і  $1500,00 \pm 3,00$  мг/100 г відповідно), у корі – магній ( $110,00 \pm 0,56$  мг/100 г). Серед мікроелементів у листі та плодах домінантним був силіцій ( $369,40 \pm 0,73$  мг/100 г і  $76,60 \pm 0,68$  мг/100 г відповідно), у корі – молібден ( $240,00 \pm 0,56$  мг/100 г). Вміст важких металів знаходився у межах гранично допустимих концентрацій, що регламентуються вимогами ДФУ.

3. Методом ВЕРХ у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібної визначено якісний склад фенольних, гідроксикарбонових і амінокислот. У листі обліпихи ідентифіковано 11, у плодах – 7, у корі – 10 фенольних кислот



і 1 гідроксикарбонова кислота у трьох видах сировини. У всіх досліджуваних об'єктах за вмістом переважала хінна кислота: у листі –  $65572,75 \pm 983,59$  мкг/100 г, у плодах –  $2644,47 \pm 39,67$  мкг/100 г, у корі –  $3401,74 \pm 51,03$  мкг/100 г. У листі обліпихи виявлено та ідентифіковано по 14 вільних і зв'язаних, у плодах – 9 вільних і 14 зв'язаних, у корі – 12 вільних і 15 зв'язаних амінокислот. У листі обліпихи за вмістом переважала аспарагінова кислота ( $87,70 \pm 1,32$  мг/100 г у вільному та  $1833,40 \pm 27,60$  мг/100 г у зв'язаному стані), у плодах серед вільних амінокислот домінував аргінін ( $11,20 \pm 0,16$  мг/100 г), серед зв'язаних – аспарагінова кислота ( $1023,80 \pm 15,34$  мг/100 г), у корі у вільному стані мажоритарною сполукою був аланін ( $5,90 \pm 0,08$  мг/100 г), у зв'язаному – аргінін ( $1548,60 \pm 23,22$  мг/100 г).

4. Визначено компонентний склад вільних і зв'язаних цукрів та їх похідних, а також жирних кислот у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібною методом ГХ/МС. Глюкоза визначена у найбільшій кількості як у вільному, так і у зв'язаному стані у листі обліпихи ( $3,00 \pm 0,04$  мг/г і  $2358,00 \pm 35,37$  мг/г); у плодах – у вільному стані ( $189,00 \pm 2,81$  мг/г), у корі – у зв'язаному ( $2585,00 \pm 38,78$  мг/г). Серед похідних цукрів максимальний вміст визначено для сорбіту як у вільному, так і зв'язаному стані:  $14,78 \pm 0,25$  мг/г і  $2564,00 \pm 38,46$  мг/г у листі,  $1327,00 \pm 19,91$  мг/г і  $2732,00 \pm 40,98$  мг/ у плодах відповідно. У корі сорбіт мав максимальний вміст тільки у вільному стані –  $1412,00 \pm 21,18$  мг/г. Пальмітинова ( $533 \pm 7,99$  мг/100 г) серед насичених кислот переважала за вмістом у листі, стеаринова ( $4374,00 \pm 65,61$  мг/100 г) у плодах, арахінова ( $2085,00 \pm 31,24$  мг/100 г) у корі. Серед ненасичених кислот у листі домінувала олеїнова кислота  $779,00 \pm 11,68$  мг/100 г, у плодах і корі – лінолева ( $1786,00 \pm 26,79$  мг/100 г і  $1382,00 \pm 20,72$  мг/100 г відповідно).

5. Спектрофотометричним, титриметричним і гравіметричним методами у листі, плодах і корі обліпихи крушиноподібною визначено вміст БАР: аскорбінової кислоти ( $80,00 \pm 3,20$  мг/100 г у листі,  $440,00 \pm 17,60$  мг/100 г у

плодах), вільних органічних кислот ( $1,08 \pm 0,08$  %,  $1,96 \pm 0,14$  % і  $0,71 \pm 0,06$  % відповідно), суми вільних амінокислот ( $0,89 \pm 0,04$  %,  $0,55 \pm 0,02$  % і  $0,75 \pm 0,03$  % відповідно), гідроксикоричних кислот ( $1,54 \pm 0,06$  %,  $1,25 \pm 0,05$  % і  $0,43 \pm 0,02$  % відповідно), флавоноїдів ( $4,10 \pm 0,15$  %,  $2,27 \pm 0,09$  % і  $1,18 \pm 0,05$  % відповідно), суми поліфенольних сполук ( $9,46 \pm 0,26$  %,  $4,33 \pm 0,18$  % і  $13,11 \pm 0,40$  % відповідно), суми водорозчинних полісахаридів ( $8,72 \pm 0,55$  %,  $10,09 \pm 0,63$  % і  $6,54 \pm 0,43$  % відповідно), пектинових речовин ( $2,23 \pm 0,17$  %,  $4,20 \pm 0,30$  % і  $1,19 \pm 0,24$  % відповідно), каротиноїдів ( $7,28 \pm 0,26$  мг/г,  $9,72 \pm 0,34$  мг/г і  $2,30 \pm 0,11$  мг/г відповідно), хлорофілу а ( $4,07 \pm 0,17$  мг/г у листі,  $2,78 \pm 0,12$  мг/г у корі) і хлорофілу b ( $3,21 \pm 0,14$  мг/г у листі,  $1,83 \pm 0,09$  мг/г у корі).

6. Для листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної встановлено основні діагностичні морфолого-анатомічні ознаки. Визначено показники якості (втрату в масі при висушуванні: листя –  $7,32 \pm 0,53$  %, плоди –  $10,54 \pm 0,63$  %, кора –  $6,35 \pm 0,42$  %; вміст загальної золи: у листі –  $7,54 \pm 0,55$  %, у плодах –  $4,16 \pm 0,31$  %, у корі –  $2,84 \pm 0,21$  %) та технологічні параметри сировини обліпихи крушиноподібної. Визначено вміст екстрактивних речовин при використанні води очищеної, 70 % та 96 % етанолу в сировині обліпихи крушиноподібної: у листі –  $19,56 \pm 0,58$  %,  $39,13 \pm 1,25$  % і  $23,92 \pm 0,75$  %; у плодах –  $19,35 \pm 0,57$  %,  $27,95 \pm 0,97$  % і  $23,65 \pm 0,74$  %; у корі –  $15,06 \pm 0,45$  %;  $21,50 \pm 0,67$  % і  $17,20 \pm 0,52$  % відповідно. За результатами визначення оптимальним екстрагентом обрано 70 % етанол. На підставі досліджень обрано параметри стандартизації сировини та розроблено проекти МКЯ «Обліпихи крушиноподібної листя», «Обліпихи крушиноподібної плоди», «Обліпихи крушиноподібної кора».

7. Розроблено технологію одержання рідких екстрактів з листя, плодів і кори обліпихи крушиноподібної. Методом ТШХ у рослинних екстрактах ідентифіковані гідроксикоричні кислоти та флавоноїди. У рідких екстрактах спектрофотометричним методом визначено вміст гідроксикоричних кислот, флавоноїдів і поліфенольних сполук. У всіх одержаних екстрактах поліфено-

льні сполуки містились у найбільшій кількості: у рідкому екстракті листя –  $11,12 \pm 0,44$  %, у рідкому екстракті плодів –  $5,29 \pm 0,23$  %, у рідкому екстракті кори –  $14,41 \pm 0,57$  %. Встановлено, що одержані рідкі екстракти малотоксичні та виявляли виражену противірусну та антимікробну активності. Слід відмітити, що найвища противірусна та антимікробна активності спостерігались для рідкого екстракту плодів обліпихи крушиноподібної. На найефективніший за фармакологічними дослідженнями рідкий екстракт розроблено проєкт МКЯ «Обліпихи крушиноподібної плодів екстракт рідкий».

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бактеріологічний контроль поживних середовищ: Інформ. лист / МОЗ України № 05.4.1/1670. Київ, 2001. 12 с.
2. Войцехівська О. В., Ситар О. В., Таран Н. Ю. Фенольні сполуки: різноманіття, біологічна активність, перспективи застосування. *Вісник Харківського національного аграрного університету ім. В. В. Докучаєва. Серія «Біологія»*. 2015. №1(34). С.104-119.
3. ВФС 42-1741-87. Плод облепихи свіжий.
4. Гарна С. В., Ветров П. П., Георгіянц В. А. Взаємозв'язок основних технологічних параметрів рослинної сировини. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2012. №1(8). С. 54-57.
5. Горобець А. О. Вітаміни і мікроелементи як специфічні регулятори фізіологічних та метаболічних процесів в організмі дітей та підлітків. *Перинатологія і Педіатрія*. 2019. №4(80). С. 75–92.
6. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. 11-е изд., доп. М.: Медицина, 1989. 408 с.
7. Гриненко У. В., Журавель І. О. Визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів в листі шпинату городнього (*Spinacia oleracea* L.). *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2017. Т. 28. С. 29–33.
8. Грицик Л. М., Тучак Н. І., Грицик А. Р. Ідентифікація та кількісне визначення органічних кислот у траві видів приворотня. *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 3. С. 83-87.
9. Державна фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доп. 1. Х.: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. 360 с.
10. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Х.: ДП «Українсь-

кий науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1130 с.

11. Державна Фармакопея України: у 3 т. / ДП «Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів». 2-ге вид. Х.: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів, 2014. Т. 3. 732 с.

12. Державний реєстр лікарських засобів України [Електронний ресурс] // Міністерство охорони здоров'я України. Фармацевтичне управління. Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України. Режим доступу: <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlist?opendocument> (дата звернення: 06.03.2024).

13. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні. К., 2018. 447 с.

14. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту мінеральних елементів у сировині матіюли дворогої (*Matthiola bicornis* (Sibth. & Sm.) DC.) сорту Вечірній аромат / В. О. Пінкевич, Н. Є. Бурда, І. О. Журавель, І. В. Орленко. *Фітотерапія. Часопис*. 2021. № 3. С. 36-39.

15. Заключна інформація щодо підсумків епідемічного сезону з грипу та гострих респіраторних інфекцій 2021/2022 років / Центр громадського здоров'я МОЗ України. К., 2022. 11 с.

16. Заключна інформація щодо підсумків епідемічного сезону з грипу та гострих респіраторних інфекцій 2022–2023 років (03.10.2022–21.05.2023) / Центр громадського здоров'я МОЗ України. К., 2023. 14 с.

17. Застосування екстракту з листя *Hipporhae rhamnoides* у терапії вітряної віспи в дітей / С. О. Крамарьов та ін. *Актуальна інфектологія*. 2018. Т. 6, № 2. С. 50–55.

18. Исследование минерального состава сырья облепихи крушиновидной (*Hipporhaë rhamnoides* L.) / Л. С. Науменко, Н. В. Попова, Е. В. Гладух, Л. А. Бобрицкая. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 38. С. 46–49.

19. Іосипенко О. О., Кисличенко В. С., Омельченко З. І. Вивчення амінокислотного складу листя кабачків. *Медицина та клінічна хімія*. 2020. Т. 22, № 2. С. 72–80.

20. Іосипенко О. О., Кисличенко В. С., Омельченко З. І. Мінеральний склад листя кабачків. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, № 2 (30). С. 148-152.

21. Квашніна Л. В., Ігнатова Т. Б. Забезпеченість організму дітей дошкільного віку довголанцюговими поліненасиченими жирними кислотами і можливості корекції їх дефіциту. *Здоров'я України*. 2018. №1(44). С. 20–23.

22. Кисличенко О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження жирних кислот у сланях пармелії перлинової. *Фітотерапія. Часопис*. 2017. № 4. С. 40–43.

23. Кисличенко О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження фотосинтезувальних пігментів трави канни садової деяких сортів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, №2 (30). С. 141–147.

24. Кисличенко О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту суми амінокислот у сировині моркви посівної сортів «Яскрава», «Нантська харківська», «Оленка», «Комет» та «Афалон». *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 1. С. 41–45.

25. Науменко Л. С., Журавель І. О. Дослідження біологічно активних речовин обліпихи крушиноподібної кори. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології*: Зб. наук. мат. III Міжнар. наук.-практ. конф., присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала, м. Харків, 24 листопада 2023 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2023. С. 355-356.

26. Науменко Л. С., Попова Н. В. Амінокислоты облепихи крушиновидной. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку*: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 верес. 2019 р. : у 2 т. Х.: НФаУ, 2019. Т. 1. С. 245.

27. Науменко Л. С., Попова Н. В. Біоактивні речовини листя обліпихи крушиновидної. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 43. С. 38–41.

28. Науменко Л. С., Попова Н. В. Дослідження вуглеводів сировини обліпихи звичайної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 4 (65). С. 64–69.

29. Науменко Л. С., Попова Н. В. Жирнокислотний склад сировини обліпихи крушиновидної. *Вісник фармації*. 2022. № 1 (103). С. 26–32.

30. Науменко Л. С., Попова Н. В. Обліпиха крушиновидна як перспективне джерело для отримання нових лікарських препаратів. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 2 квіт. 2021 р. Х., 2021. С. 142.

31. Науменко Л. С., Попова Н. В. Обліпиха крушиноподібна – перспективне джерело створення дієтичних добавок. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 11 березня 2020 р., м. Харків. Х. : НФаУ, 2020. С. 110.

32. Науменко Л. С., Попова Н. В. Перспективи вивчення та застосування листя обліпихи крушиновидної. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи*: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету, м. Харків, 10 вересня 2021 р. / редкол.: А. А. Котвіцька та ін. Х.: НФаУ, 2021. С. 228–229.

33. Науменко Л. С., Попова Н. В. Фітохімічне та фармакологічне вивчення сировини обліпихи. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 8 квітня 2022 р. Х.: 2022. С. 60-61.

34. Науменко Л. С., Попова Н. В., Бобрицька Л. О. Гідроксикоричні кислоти обліпихи крушиноподібної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 4 (61). С. 70–74.

35. Науменко Л., Журавель І. Вивчення протимікробної активності екстрактів обліпихи крушиноподібної. *Annals of Mechnikov Institute*. 2023. № 4. С. 42-45.

36. Науменко Л. С., Попова Н. В. Спосіб одержання лікарського екстракту з плодів обліпихи: пат. Українина корисну модель № u 2023 05721; Заявл. 28.11.2023; Опубл. 27.032024; Бюл. № 13.

37. Оленников Д. Н., Танхаева Л. М. Методика количественного определения группового состава углеводного комплекса растительных объектов. *Химия растительного сырья*. 2006. № 4. С. 29–33.

38. Пінкевич В. О., Бурда Н. Є., Журавель І. О. Визначення полісахаридів у сировині матіюли дворогої сорту Цариця ночі. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 11 березня 2020 р. Х., 2020. С. 131.

39. Пінкевич В. О., Журавель І. О. Визначення вмісту танінів у сировині матіюли дворогої (*Matthiola bicornis* (Sibth. & Sm.) DC.) сортів Цариця ночі та Вечірній аромат. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 1. С. 70-72.

40. Пінкевич В. О., Журавель І. О., Осолодченко Т. П. Дослідження фотосинтезувальних пігментів сировини матіюли дворогої (*Matthiola bicornis* (Sibth. & Sm.) DC.) та антимікробної активності екстрактів на її основі. *Annals of Mechnikov Institute*. 2021. № 3. С. 69-72.

41. Попова Н. В., Литвиненко В. И., Куцанян А. С. Лекарственные растения мировой флоры: энциклопед. справочник. Х.: Діса плюс, 2016. 540 с.

42. Практикум з ідентифікації лікарської рослинної сировини: навч. посіб. / В. М. Ковальов та ін. Тернопіль : ТДМУ/ 2014. 264 с.



43. Практикум по фармакогнозии: учеб. пособие для студ. вузов / В. Н. Ковалев и др. Х.: Золотые страницы, 2003. 640 с.
44. Рухмакова О. А., Ярних Т. Г. Перспективи використання солодки голої як імуномодуючого засобу у педіатрії. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2014. № 1(14). С. 47-49.
45. Сорочан О. О., Штеменко Н. І. Методи аналізу амінокислот: навч. метод. посіб. Д.: РВВ ДНУ, 2005. 60 с.
46. Сучасна фітотерапія: навч. посіб. / С. В. Гарна, І. М. Владимірова, Н. Б. Бурд та ін. Х.: «Друкарня Мадрид», 2016. 580 с.
47. Тверда І. І., Яремчук О. В., Жубрид М. Т. Роль імунокорекції в лікуванні інфекційних захворювань. *Лікарська справа*. 2023. № 1(1166). С. 19–27.
48. ТУ 64-4-72-88. Плод облепихи сухой.
49. Федорченко С. В., Курта С. А. Хроматографічні методи аналізу: навч. посіб. Івано-Франківськ: Прикарп. нац. ун-т ім. В. Стефаніка, 2012. 146 с.
50. Чутливість до антибактеріальних препаратів збудників позалікарняних інфекцій / Т. П. Осолодченко та ін. *Annals of Mechnikov Institute*. 2015. № 1. С. 29-38.
51. Шпичак О. С. Визначення технологічних параметрів лікарської рослинної сировини, що входить до складу комплексного апіфітопрепарату «Апісед». *Вісник фармації*. 2013. №1(73). С. 3-8.
52. 14-Noreudesmanes and a phenylpropane heterodimer from sea buckthorn berry inhibit Herpes simplex type 2 virus replication / D. Rédei et al. *Tetrahedron*. 2019. Vol. 75, Is. 10. P. 1364–370.
53. A Comprehensive Review on Extraction, Structure, Detection, Bioactivity, and Metabolism of Flavonoids from Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) / N. He et al. *Journal of Food Biochemistry*. 2023. Vol. 23. P. 1–27.

54. An Alternative Potential Natural Genetic Resource: Sea Buckthorn [*Elaeagnus rhamnoides* (syn.: *Hippophae rhamnoides*)] / W. Letchamo et al. M. Ozturk et al. (eds.). *Global Perspectives on Underutilized Crops*, 2018. P. 25–82.

55. Analysis of bioactive substances of three varieties of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L. «askola», «leikora» and «orangeveja») by HPLC and spectrophotometric methods / G. Ficek et al. *European Journal of Horticultural Science*. 2019. Vol. 84. P. 31–38.

56. Analysis of the monosaccharide composition of purified polysaccharides in *Ganoderma atrum* by capillary gas chromatography / Y. Chen et al. *Phytochemical Analysis*. 2009. Vol. 20, Iss. 6. P. 503–510.

57. Analysis on the Constituents of Branches, Berries, and Leaves of *Hippophae rhamnoides* L. by UHPLC-ESI-QTOF-MS and Their Anti-Inflammatory Activities / W.-H. Zheng et al. *Natural Product Communications*. 2019. Vol. 14(8). P. 1-10.

58. Andersson S. C. Carotenoids, Tocochromanols and Chlorophylls in Sea Buckthorn Berries (*Hippophae rhamnoides*) and Rose Hips (*Rosa* sp.). Variation during Ripening, and among Cultivars/Species and Years: Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, 2009. 61 p.

59. Antibacterial Activity of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) against Pathogenic Microbes / S. R. Tanwar et al. *International Journal of Advanced Research in Science, Communication and Technology*. 2022. Vo. 2, Is. 3. P. 211–215.

60. Anti-human immunodeficiency virus (anti-HIV) natural products with special emphasis on HIV reverse transcriptase inhibitors / T. B. Ng, B. Huang, W. P. Fong, Yeung H. W. *Life Sciences*. 1997. Vol. 61, № 10. P. 933–949.

61. Antioxidant and Antibacterial Activity of *Hippophae rhamnoides* Methanolic Leaf Extracts from Dry Temperate Agro-climatic Region of Himachal Pradesh / N. S. Gill et al. *Journal of Plant Sciences*. 2012. Vol. 7, Is. 5. P. 194–200.

62. Antioxidant and antimicrobial properties of a phenolic-rich leaf fraction of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) *in vitro* / M. S. Yogendra Kumar et al. *Food chemistry*. 2013. Vol. 141(4). P. 3443-3450.

63. Antiviral properties of plant flavonoids - DNA and RNA synthesis inhibitors / L. G. Palchikovska, O. V. Vasylchenko, M. O. Platonov et al. *Biopolymers and Cell*. 2013. Vol. 29, № 2. P. 150–156.

64. Athar J., Ayesha M., Riffat A. A review on pharmacological activities of *Hippophae rhamnoides*. *International Journal Of Research In Pharmacy And Chemistry*. 2021. Vol. 11(1). P. 1–9.

65. Batbold U., Liu J.-J. Chemosensitization Effect of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Pulp Oil via Autophagy and Senescence in NSCLC Cells. *Foods*. 2022. Vol. 11. P. 1517–1534.

66. Bayir H., Şimşek İ. B., Bayir Y. *Hippophae rhamnoides* L. Botanical, Medicinal, Traditional, and Current Use of Plant and Fruits: A Review. *New Trends in Medicine Sciences*. 2024. Vol. 5(1). P. 35–44.

67. Benefits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) pulp oil-based mouthwash on oral health / I. Smida et al. *Journal of Applied Microbiology*. 2019. Vol. 126(5). P. 1594–1605.

68. Biologically active compounds of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) / Z. Burčová et al. 6 th International Scientific Conference Renewable Energy Sources, May 31-June 2, 2016. Tatranské Matliare, High Tatras, Slovak Republic, 2016. P. 1–4.

69. Carotenoid composition of berries and leaves of six varieties of Romanian sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) / R. Pop et al. *Food chemicals*. 2014. Vol. 147. P. 1–9.

70. Carotenoids in Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Berries during Ripening and Use of Pheophytin a as a Maturity Marker / S. C. Andersson et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009. Vol. 57(1). P. 250–258.

71. Carotenoids, Tocopherols and Antioxidant Activity of Lipophilic Extracts from Sea Buckthorn Berries (*Hippophaë rhamnoides*), Apricot Pulp and

Apricot Kernel (*Prunus armeniaca*) / E. A. Pop et al. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology*. 2015. Vol 72, № 2. P. 14–21.

72. Characterization of the Nutritional Components of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Fruits / W. Ohkawa et al. *XXVII International Horticultural Congress-IHC2006: International Symposium on Asian Plants with Unique Horticultural* 769. 2006. P. 169–175.

73. Chemical composition and remedial perspectives of *Hippophae rhamnoides* Linn. / A. Rehman et al. *Postępy Biologii Komórki*. 2018. T. 45, № 3. P. 199–210.

74. Chemical Composition Of Sea Buckthorn Leaves, Branches And Bark / I. Gradt et al. *Proceedings Of The Latvian Academy Of Sciences. Section B*. 2017. Vol. 71, № 3(708). P. 211–216.

75. Chemical constituents of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) fruit in populations of central Alborz Mountains in Iran / A. Kuhkheil et al. *Research Journal of Pharmacognosy*. 2017. Vol. 4(3). P. 1–12.

76. Chinese Pharmacopoeia. Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2020. Beijing: China Medical Science Press; 2020: P. 191.

77. Christaki E. *Hippophae Rhamnoides* L. (Sea Buckthorn): a Potential Source of Nutraceuticals. *Food and Public Health*. 2012. Vol. 2(3). P. 69–72.

78. Comparative assessment of phytochemical profiles, antioxidant and antiproliferative activities of Sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries / R. Guo et al. *Food Chemistry*. 2017. Vol. 221. P. 997–1003.

79. Comparison of selected aromacompounds in cultivars of sea buckthorn / E. Vitova et al. *Chemical Papers*. 2015. Vol. 69(6). P. 881–888.

80. Composition Of Phenolic Acids In Sea Buckthorn Berries (*Hippophaë rhamnoides* L.) / R. Zadernovsky et al. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2005. Vol. 82. P. 175–179.

81. Considerations On The Relationship Between Chromosome Constitution And Biochemical Phenotype In Five Ecotypes Of Seabuckthorn / E. Truță et al.

*Analele Științifice ale Universității «Alexandru Ioan Cuza», Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară.* 2011. T. XII. P. 65–74.

82. Cultivating of hepatitis C virus in transfected cell cultures / J. I. Porva, S. L. Rybalko, S. T. Dyadyun et al. *Laboratory Diagnostics.* 2010. Vol. 51, № 1. P. 20–23.

83. Dashek W. V. *Methods in Plant Electron Microscopy and Cytochemistry.* New York: Humana Press, 2000. 301 p.

84. Discovery of Anti-Coronavirus Cinnamoyl Triterpenoids Isolated from *Hippophae rhamnoides* during a Screening of Halophytes from the North Sea and Channel Coasts in Northern France / M. Al Ibrahim et al. *International Journal of Molecular Sciences.* 2023. Vol. 24. P. 16617–16636.

85. Effect of *Hippophae rhamnoides* leaf extract against Dengue virus infection in human blood-derived macrophages / M. Jaina et al. *Phytomedicine.* 2008. Vol. 15. P. 793–799.

86. Effect of sea buckthorn protein on the intestinal microbial community in streptozotocin-induced diabetic mice / H. Yuan et al. *International Journal of Biological Macromolecules.* 2018. Vol. 107. P. 1168–1174.

87. Effect of Seabuckthorn (*Hippophae Rhamnoides*) Leaves, Pulp and Oil on Growth Performance, Carcass Characteristics and Meat Quality of Broilers Chicken / G. P. Pathak et al. *Journal of Poultry Science and Technology.* 2015. Vol. 3, Is. 1. P. 20–23.

88. Effect of seabuckthorn extract on delayed chlorophyll fluorescence on Cd and Co ions treated wheat seedlings / R. A. Ganiyeva et al. *Journal of Environmental Biology.* 2009. Vol. 30(6). P. 1055–1058.

89. Effects of sea buckthorn oil intake on vaginal atrophy in postmenopausal women: A randomized, double-blind, placebo-controlled study / P. S. Larmo et al. *Maturitas.* 2014. Vol. 79. P. 316–321.

90. Enescu C. M. Sea-buckthorn: A species with a variety of uses, especially in land reclamation. *Dendrobiology.* 2014. Vol. 72. P. 41–46.

91. Erebra: el. res. (<https://compendium.com.ua/dec/263453/>). In Ukraine.

92. Extreme Effects of Seabuckthorn Extracts on Influenza Viruses and Human Cancer Cells and Correlation between Flavonol Glycosides and Biological Activities of Extracts / G. Enkhtaivan et al. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2017. Vol. 24, Is. 7. P. 1646–1656.

93. Fatty Acid Composition of Developing Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Berry and the Transcriptome of the Mature Seed / T. Fatima et al. *PLoS ONE*. 2012. Vol. 7(4). P. 1–18.

94. Fatty acid, phytochemical, oxidative stability and in vitro antioxidant property of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) oils extracted by supercritical and subcritical technologies / L. Zheng et al. *LWT -- Food Science and Technology*. 2017. Vol. 86. P. 507–513.

95. Genotypic and Morphometric Effecton Fruit Oil Contentin Seventeen Natural Population of Sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) from Trans-Himalaya / G. Korekar et al. *National Academy Science Letters*. 2013. Vol. 36. P. 603–607.

96. Geor R.d J., Harris P. A. Nutrition for the equine athlete: Above and beyond nutrients alone. In *Equine Sports Medicine and Surgery* (Second Edition). 2014. P. 819–834.

97. Guan T. T. Y., Cenkowski S., Hydamaka A. Effect of Drying on the Nutraceutical Quality of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *sinensis*) Leaves. *Journal Of Food Science*. 2005. Vol. 70, № 9. P. 514–518.

98. Guerrant G. O., Moss C. W. Determination of monosaccharides as aldonitrile, O-methyloxime, alditol, and cyclitol acetate derivatives by gas-chromatography. *Analytical Chemistry*. 1984. Vol. 56, № 4. P. 633–638.

99. Gupta D., Kaul V. Qualitative Analysis of Bioactive Compounds in Leaves of *Hippophaë rhamnoides* L. *The National Academy of Sciences*. 2013. Vol. 36(5). P. 477–481.

100. Hao D. C., Gu X.-J., Xiao P. G. Chemotaxonomy: a phylogeny-based approach. In *Medicinal Plants. Chemistry, Biology and Omics*. 2015. P. 1–48.

101. Hao D. C., Gu X.-J., Xiao P. G. High-throughput sequencing in medicinal plant transcriptome studies. In Book *Medicinal Plants. Chemistry, Biology and Omics*. 2015. P. 49–96.
102. Healing effect of sea buckthorn, olive oil, and the irixture on full-thickness burnwounds / M. Edraki et al. *Advances in Skin and Wound Care*. 2014. Vol. 27. P. 317–323.
103. Hepatoprotective effects of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) against carbon tetrachloride induced damage in rats / S. Geetha et al. *Journal of The Science of Food and Agriculture*. 2008. Vol. 88(9). P. 1592–1597.
104. Herbal approaches to pathological states. In *Principles and Practice of Phytotherapy* (Second Edition). *Modern Herbal Medicine*. 2013. P. 140–182.
105. Hipponorterpenes A and B, two new 14-noreudesmane-type sesquiterpenoids from the juice of *Hippophae rhamnoides* / X.-L. Zhang et al. *Phytochemistry Letters*. 2022. Vol. 52. P. 82–86.
106. *Hippophae rhamnoides* L. leaf and twig extracts as rich sources of nutrients and bioactive compounds with antioxidant activity / M. Kubczak et al. *Scientific Reports*. 2022. Vol. 12(1). P. 1095–1108.
107. *Hippophae rhamnoides* L.: A Comprehensive Review on the Botany, Traditional Uses, Phytonutrients, Health Benefits, Quality Markers, and Applications / Q.-G. Ma et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2023. Vol. 71, Is.12. P. 4769–4788.
108. *Hippophae rhamnoides* polysaccharides dampen pseudorabies virus infection through downregulating adsorption, entry and oxidative stress / C. Huan et al. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022. Vol. 207. P. 454–463.
109. *Hippophae* sp.: A Boon for High-Altitude Maladies / M. Manickam et al. In *Management of High Altitude Pathophysiology*. 2018. P. 29–68.
110. Identification and analysis of aminoacids in *Hippophaë rhamnoides* fruits / S. Ma et al. *Protection Forest Science and Technology*. 2019. Vol. 9. P. 39–40.

111. Jalakas M., Kelt K., Karp K. The yield and fruit quality of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) after rejuvenation cutting. *Agronomy Research*. 2003. Vol. 1. P. 31–36.
112. 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.
113. Karyotypic Studies in Ecotypes of *Hippophaë rhamnoides* L. from Romania / E. Truță et al. *Silvae Genetica*. 2010. Vol. 59, Is. 4. P. 175–182.
114. Kashif M., Ullah S. Chemical Composition and Minerals Analysis of *Hippophae rhamnoides*, *Azadirachta indica*, *Punica granatum* and *Ocimum sanctum* Leaves. *World Journal of Dairy & Food Sciences*. 2013. Vol. 8(1). P. 67–73.
115. Kaur T., Singh G., Kapoor D. N. A review on pharmacognostic, phytochemical and pharmacological data of various species of *Hippophae* (Sea buckthorn). *International Journal of Green Pharmacy*. 2017. Vol. 11(1). P. 62–75.
116. Kumar S., Sagar A. Microbial Associates of *Hippophae rhamnoides* (Seabuckthorn). *Plant Pathology Journal*. 2007. Vol. 6, Is. 4. P. 299–305.
117. Lewis K. Platforms for antibiotic discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2013. Vol. 12, Is. 5. P. 371–387.
118. Li T. S. C., Schroeder W. R. Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): A Multipurpose Plant. *HortTechnology*. 1996. Vol. 6(4). 370–380.
119. Main Agro-Morphological and Biochemical Berry Characteristics of Wild-Grown Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *caucasica* Rousi) Genotypes in Turkey / G. İlhan et al. *Sustainability*. 2021. Vol. 13. P. 1198–1211.
120. Marcus J. B. Fluid Basics: Healthfully Meeting Fluid Needs: Healthy Fluid Choices, Roles and Applications. In *Culinary Nutrition. The Science and Practice of Healthy Cooking*. 2013. P. 333–370.
121. Metabolite profiling and expression analysis of flavonoid, vitamin C and tocopherol biosynthesis genes in the antioxidant-rich sea buckthorn



(*Hippophaë rhamnoides* L.) / T. Fatima et al. *Phytochemistry*. 2015. Vol. 118. P. 181-191.

122. Monitoring of HPLC profiles of selected polyphenolic compounds in sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) plant parts during annual growth cycle and estimation of their antioxidant potential / M. Bittova et al. *Central European Journal of Chemistry*. 2014. Vol. 12. P. 1152–1161.

123. Morphological variability, biochemical parameters of *Hippophae rhamnoides* L. berries and implications for their targeted use in the food-processing industry / T. Z. Moskalets et al. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2019. № 9(4). P. 749–764.

124. Naumenko L. S., Kovalev S. V., Popova N. V. Phenolic acids of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.). *Topical issues of new medicines development: мат. XXVI Міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 10-12 квітня 2019 р. Х.: НФаУ, 2019. С. 54.*

125. Naumenko L. S., Popova N. V., Bobrytska L. O. Amino acid composition of Sea Buckthorn. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії: мат. IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., . Харків, 14-15 листопада 2019 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 16.*

126. Nutritional Biomarkers of Aging / A. Siepelmeyer et al. In *Molecular Basis of Nutrition and Aging. A Volume in the Molecular Nutrition Series*. 2016. P. 109–120.

127. Nutritional Characterization Of Organic Seabuckthorn Pomace / I. Stanciu et al. *Scientific Papers. Series B, Horticulture*. 2022. Vol. LXVI, № 1. P. 913–918.

128. Olas B. The beneficial health aspects of sea buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A.Nelson) oil. *Journal of Ethnopharmacology*. 2018. Vol. 213. P. 183–190.

129. Ono K., Nakane H. Mechanisms of inhibition of various cellular DNA and RNA polymerases by several flavonoids. *Journal of Biochemistry*. 1990. Vol. 108, № 4. P. 609–613.
130. Oral D-mannose in recurrent urinary tract infections in women: a pilot study / D. Porru et al. *Journal of Clinical Urology*. 2015. Vol. 7, Is. 3. P. 208–213.
131. Patial V., Asrani R. K., Patil R. D. Safety evaluation of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves in Japanese quail. *Veterinary World*. 2013. Vol. 6(9). P. 596–600.
132. Pharmacognostic Studies on the Leaves of *Hippophae rhamnoides* L. and *Hippophae salicifolia* D. Don / K. Ilango et al. *Research Journal of Medicinal Plants*. 2013. Vol. 7, Is. 1. P. 58–67.
133. Pharmacological and nutritional importance of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) / S. Chandra et al. *The Pharma Innovation Journal*. 2018. Vol. 7. P. 258–263.
134. Phenolic compounds and antioxidant activities of tea-type in fusions processed from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) leaves / X. Et al. *Food Chemistry*. 2019. Vol. 272. P. 1–11.
135. Phenolic content and antioxidant capacity of various solvent extracts from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) fruit pulp, seeds, leaves and stem bark / G. Korekar et al. *Acta Alimentaria*. 2011). Vol. 40(4). P. 449–458.
136. Phytochemical Analysis of the Fruits of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*): Identification of Organic Acid Derivatives / Y. Lee et al. *Plants*. 2021. Vol. 10(5). P. 860–870.
137. Phytochemical and morpho-physiological variations in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) populations of Taleghan region in Iran / A. Kuhkheil et al. *Journal of Medicinal Plants*. 2020. Vol. 19(76). P. 21–35.
138. Phytochemical and Pharmacological Profile of Seabuckthorn Oil: A Review / R. Kumar et al. *Research Journal of Medicinal Plants*. 2011. Vol. 5, Is. 5. P. 491–499.

139. Phytochemical composition and antibacterial activity of the essential oils from different parts of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) / X. F. Yue et al. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2017. Vol. 25. P. 327–332.

140. Phytochemical Composition and Biological Activity of Berries and Leaves from Four Romanian Sea Buckthorn (*Hippophae Rhamnoides* L.) Varieties / A. Criste et al. *Molecules*. 2020. Vol. 25. P.1170–1190.

141. Phytochemistry, health benefits, and food applications of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): A comprehensive review / Z. Wang et al. *Frontiers in Nutrition*. 2022. Vol. 9. P. 1–20.

142. Piłat B., Bieniek A., Zadernowski R. Common Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) As An Alternative Orchard Plant. *Polish Journal Of Natural Sciences*. 2015. Vol. 30(4). P. 417–430.

143. Polyphenolic Compounds and Antioxidant Activity of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) / A. Raal et al. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*. 2023. Vol. 92(11). P. 2965–2979.

144. Popova N. V., Naumenko L. S., Bobritskaya L. A. Perspective for studying of sea buckthorn zoned in Ukraine. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: мат. III міжнар. наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 26-28 листопада 2018 р.* / редкол.: А. Л. Загайко, Т. М. Гонтова, Н. І. Львівська, К. Р. Гордей. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 19.

145. Potential antiviral activity of isorhamnetin against SARS-CoV-2 spike pseudotyped virus in vitro / Y. Zhan et al. *Drug Development Research*. 2021. Vol. 82. P. 1124–1130.

146. Producing Sea Buckthorn of High Quality: Proceedings of the 3rd European Workshop on Sea Buckthorn EuroWorkS2014 Naantali, Finland, October 14-16, 2014; S. Kauppinen, E. Petruneva (Eds.). Natural Resources Institute Finland, Helsinki, 2015. 100 p.

147. Research Status and Development Prospects of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Resources in China / D. Mei et al. *Forests*. 2023. Vol. 14. P. 2461–2478.

148. Rhythms of volatile release from female and male sea buckthorn plants and electrophysiological response of sea buckthorn carpentermoths / R. Wang et al. *Journal of Plant Interactions*. 2014. № 9. P. 763–774.

149. Saidi K., Alirezalu A., Akbari Z. Evaluation of the chemical composition, fatty acids and antioxidant activity fruits and seeds of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides L.*) grown wild in Iran. *Natural Product Research*. 2016. Vol. 30. P. 366–368.

150. Schröder J. The Chalcone/Stilbene Synthase-type Family of Condensing Enzymes. *Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. 1999., Vol. 1. P. 749–771.

151. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) as a potential source of nutraceuticals and its therapeutic possibilities - a review / J. Krejcarová et al. *Acta Veterinaria Brno*. 2015. Vol. 84. P. 257–268.

152. Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) Leaf Extracts Protect Neuronal PC-12 Cells from Oxidative Stress / C. H. Cho et al. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2017. Vol. 27(7). P. 1257–1265.

153. Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) Waste Biomass after Harvesting as a Source of Valuable Biologically Active Compounds with Nutraceutical and Antibacterial Potential / S. Janceva et al. *Plants*. 2022. Vol. 11. P. 642–661.

154. Sea Buckthorn Leaf Extract Inhibits Glioma Cell Growth by Reducing Reactive Oxygen Species and Promoting Apoptosis / S. J. Kim et al. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2017. Vol. 182. P. 1663–1674.

155. Sea Buckthorn Leaf Powders: The Impact of Cultivar and Drying Mode on Antioxidant, Phytochemical, and Chromatic Profile of Valuable Resource / L. Raudone et al. *Molecules*. 2021. Vol. 26. P. 4765–4781.

156. Sea buckthorn oil as a valuable source of bioaccessible exanthophylls / C. Tudor et al. *Nutrients*. 2020. Vol. 12. P. 76.

157. Sea buckthorn seed oil reduces blood cholesterol and modulates gut microbiota / W. Hao et al. *Journal of Functional Foods*. 2019. Vol. 10. P. 5669–5681.

158. Sea Buckthorn, Dry Eye, and Vision / P. S. Larmo et al. In *Handbook of Nutrition, Diet and the Eye*. 2014. P. 473–480.

159. Sea buckthorn, its bioactive constituents, and mechanism of action: potential application in female reproduction / M. Mihal et al. *Frontiers in Endocrinology*. 2023. Vol. 14. P. 1–14.

160. Sea buckthorn: new promising varieties and using their berries for the manufacture of functional products / T. Z. Moskalets et al. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2021. Vol. 11(2). P. 137–143.

161. Sea Buckthorn: Review / K. Chande et al. *International Journal of Science and Research Methodology*. 2023. Vol. 25(2). P. 28–36.

162. Short-term responses to salinity of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seedlings in the extremely cold and saline Qinghai region of China / J. Qin et al. *Forestry Studies in China*. 2009. Vol. 11, №4. P. 231–237.

163. Shukla S. K., Kumar V. Bioactive Foods and Supplements for Protection against Liver Diseases. In Book *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease*. 2013. P. 557–567.

164. Sukontaprapun B., Charoenkiatkul S., Thiyajai P. Key Organic Acids in Indigenous Plants in Thailand. *American Journal of Plant Sciences*. 2019. Vol. 10, № 10. P. 1855-1870.

165. Suryakumar G., Gupta A. Medicinal and therapeutic potential of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *Journal of Ethnopharmacology*. 2011. Vol. 138, Is. 2. P. 268–278.

166. Targeted Metabolome and Transcriptome Analyses Reveal the Pigmentation Mechanism of *Hippophae* (Sea Buckthorn) Fruit / J. Liang et al. *Foods*. 2022. Vol. 11(20). P. 3278–3295.

167. The anti-hepatitis B virus activity of sea buckthorn is attributed to quercetin, kaempferol and isorhamnetin / M. K. Parvez et al. *Biomedical Reports*. 2022. Vol. 17, Is. 5. P. 1–7.

168. The bioactive components as well as the nutritional and health effects of sea buckthorn / R. Ren et al. *The Royal Society of Chemistry's*. 2020. Vol. 10. P. 44654–44671.

169. The Use of Sea Buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) and Milk Thistle (*Silybum marianum* L.) in Alloxan Induced Diabetes Mellitus in Rats / F. Muselin et al. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2016. Vol. 49. P. 280–283.

170. Total content of polyphenols, flavonoids, rutin, and antioxidant activity of sea buckthorn juice / F. Kreps et al. *BioResources*. 2021. Vol. 16(3). P. 4743–4751.

171. Triterpenoids from *Hippophae rhamnoides* L. and Their Nitric Oxide Production-Inhibitory and DPPH Radical-Scavenging Activities / Z.-G. Yang et al. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2007. Vol. 55(1). P. 15–18.

172. Triterpenoids, phenolic compounds, macro- and microelements in anatomical parts of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries, branches and leaves / K. Tkacz et al. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021. Vol. 103. P. 104107–104121.

173. Varshneya C., Kant V., Mehta M. Total phenolic contents and free radicals scavenging activities of different extracts of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) pomace with out seeds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2012. Vol. 63. P. 153–159.

174. Vitamin C Content in Sea Buckthorn Berries (*Hippophaë rhamnoides* L. ssp. *rhamnoides*) and Related Products: A Kinetic Study on Storage Stability and the Determination of Processing Effects / D. Gutzeit et al. *Journal of Food Science*. 2008. Vol. 73, № 9. P. 615–620.

175. WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants / World Health Organization. Geneva, 2003. 72 p.

176. Yang B., Kallio H. P. Fatty Acid Composition of Lipids in Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Berries of Different Origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001. Vol. 49. P. 1939–1947.

177. Zielińska A., Nowak I. Abundance of active ingredients in seabuckthorn oil. *Lipids in Health and Disease*. 2017. Vol. 16(1). P. 95–105.

178. Zuchowski J. Phytochemistry and pharmacology of sea buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides*; syn. *Hippophae rhamnoides*): progress from 2010 to 2021. *Phytochemistry Reviews*. 2023. Vol. 22. P. 3–33.

## **ДОДАТКИ**



## Додаток А

## Список публікацій здобувача

1. Науменко Л. С., Попова Н. В., Бобрицька Л. О. Гідроксикоричні кислоти обліпихи крушиноподібної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 4 (61). С. 70–74. DOI: 10.24959/ubphj.19.248 (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
2. Науменко Л. С., Попова Н. В. Дослідження вуглеводів сировини обліпихи звичайної. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 4 (65). С. 64–69. DOI: 10.24959/ubphj.20.287 (Особистий внесок – брала участь в обробці, узагальненні результатів та підготовці статті)
3. Исследование минерального состава сырья облепихи крушиновидной (*Hippophaë rhamnoides* L.) / Л. С. Науменко, Н. В. Попова, Е. В. Гладух, Л. А. Бобрицкая. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 38. С. 46–49. (Особистий внесок – брала участь в обробці, узагальненні результатів та підготовці статті)
4. Науменко Л. С., Попова Н. В. Біоактивні речовини листя обліпихи крушиновидної. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 43. С. 38–41. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
5. Науменко Л. С., Попова Н. В. Жирнокислотний склад сировини обліпихи крушиновидної. *Вісник фармації*. 2022. № 1 (103). С. 26–32. DOI: 10.24959/nphj.22.52 (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та написанні статті)
6. Науменко Л., Журавель І. Вивчення протимікробної активності екстрактів обліпихи крушиноподібної. *Annals of Mechnikov Institute*. 2023. № 4. С. 42–45. DOI: 10.5281/zenodo.10257260
7. Науменко Л. С., Попова Н. В. Спосіб одержання лікарського екстракту з плодів обліпихи: пат. Українина корисну модель № u 2023 05721; Заявл. 28.11.2023; Опубл. 27.03.2024; Бюл. № 13.

8. Popova N. V., Naumenko L. S., Bobritskaya L. A. Perspective for studying of sea buckthorn zoned in Ukraine. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: мат. III Міжнар. наук.-практ. internet-конф.*, м. Харків, 26-28 листопада 2018 р. / редкол.: А. Л. Загайко, Т. М. Гонтова, Н. І. Ільїнська, К. Р. Гордей. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 19.

9. Naumenko L. S., Kovalev S. V., Popova N. V. Phenolic acids of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.). *Topical issues of new medicines development: мат. XXVI Міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів*, м. Харків, 10-12 квітня 2019 р. Х.: НФаУ, 2019. С. 54.

10. Наumenко Л. С., Попова Н. В. Аминокислоти облепихи крушиновидной. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України*, м. Харків, 19-20 верес. 2019 р. : у 2 т. Х.: НФаУ, 2019. Т. 1. С. 245.

11. Naumenko L. S., Popova N. V., Bobrytska L. O. Amino acid composition of Sea Buckthorn. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії: мат. IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф.*, м. Харків, 14-15 листопада 2019 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2019. С. 16.

12. Наumenко Л. С., Попова Н. В. Обліпиха крушиноподібна – перспективне джерело створення дієтичних добавок. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: мат. II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф.*, м. Харків, 11 березня 2020 р. Х. : НФаУ, 2020. С. 110.

13. Наumenко Л. С., Попова Н. В. Обліпиха крушиновидна як перспективне джерело для отримання нових лікарських препаратів. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: мат. III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф.*, м. Харків, 2 квіт. 2021 р. Х.,

2021. С. 142.

14. Науменко Л. С., Попова Н. В. Перспективи вивчення та застосування листя обліпихи крушиновидної. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи*: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 100-річчю Національного фармацевтичного університету, м. Харків, 10 вересня 2021 р. / редкол.: А. А. Котвіцька та ін. Х.: НФаУ, 2021. С. 228–229.

15. Науменко Л. С., Попова Н. В. Фітохімічне та фармакологічне вивчення сировини обліпихи. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 8 квітня 2022 р. Х.: 2022. С. 60-61.

16. Науменко Л. С., Журавель І. О. Дослідження біологічно активних речовин обліпихи крушиноподібної кори. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології*: Зб. наук. мат. III Міжнар. наук.-практ. конф., присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала, м. Харків, 24 листопада 2023 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2023. С. 355-356.

Продовж. дод. А

### **Апробація результатів дисертації**

1. III Міжнародна науково-практична internet-конференція «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (Харків, 26-28 листопада 2018 р., форма участі – публікація тез);

2. XXVI Міжнародна науково-практична конференція молодих учених та студентів «Topical issues of new medicines development» (Харків, 10-12 квітня 2019 р., форма участі – публікація тез);

3. Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку» (Харків, 19-20 вересня 2019 р., форма участі – публікація тез);

4. IV Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 14-15 листопада 2019 р., форма участі – публікація тез);

5. II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 11 березня 2020 р, форма участі – публікація тез);

6. III Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 2 квітня 2021 р., форма участі – публікація тез);

7. Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 100-річчю Національного фармацевтичного університету «Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи» (Харків, 10 вересня 2021 р., форма участі – публікація тез);

8. IV Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських

засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (Харків, 8 квітня 2022 р., форма участі – публікація тез)

9. III Міжнародній науково.-практичній конференції, присвяченої 100-річчю з Дня народження Д. П. Сала «Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології» (Харків, 24 листопада 2023 р., форма участі – публікація тез).

## Додаток Б



ПРОЄКТ

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Національного фармацевтичного  
університету, професор

Інна ВЛАДИМИРОВА

25 » « вересня » 2024 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

## МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

*Hipporhaës rhamnoides folia**Обліпихи крушиноподібної листя*

Лікарська сировина у мішках з тканини або льно-джуто-кенафних

## Продовж. дод. Б

На хроматограмі виявляються зони з інтенсивною блакитно-зеленою флуоресценцією, що відповідають зонам хлорогенової та кофейної кислот, оранжевою флуоресценцією, що відповідають зонам рутину та гіперозиду, та жовтою флуоресценцією, що відповідають зонам лютеоліну та кверцетину. Також можуть виявлятися інші зони з блакитною, фіолетовою, жовтою та оранжевою флуоресценцією.

**2. Випробовування.** Втрата в масі при висушуванні не більше 7,5 % (ДФУ 2.0, Т.1, 2.2.32), загальної золи не більше 8,0 % (ДФУ 2.0, Т.1, 2.4.16).

**3. Кількісне визначення.**

*Сума поліфенольних сполук*

Кількісний вміст визначають за методикою, наведеною у ДФУ 2.0, т. 1, загальна стаття 2.8.14 «Визначення танінів у лікарських засобах рослинного походження».

Вміст суми поліфенольних сполук у перерахунку на пірогалол має бути не менше 9,0 %.

**УПАКОВКА**

Здрібнену сировину упаковують у мішки з тканини або льно-джуто-кенафні не більше 25 кг.

**МАРКУВАННЯ**

На етикетці мішка або тюка українською мовою вказують «Україна», «Розробка НФаУ, м. Харків», його товарний знак і адресу, назву сировини латинською та українською мовами, масу сировини при вологості 10%, умови зберігання, номер партії, термін придатності.

**ЗБЕРІГАННЯ**

У сухому, захищеному від світла місці.

**ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ**

2 роки.

**Антимікробний засіб**

Професор кафедри фармакогнозії та  
нутриціології, доктор фармацевтичних  
наук, професор

Ірина ЖУРАВЕЛЬ

« 23 » січня 2024 р.

Аспірант кафедри фармакогнозії  
танутриціології

Любов НАУМЕНКО

« 23 » січня 2024 р.

Продовж. дод. Б



ПРОЄКТ

Директор з науково-педагогічної роботи  
Національного фармацевтичного  
університету, професор

Інна ВЛАДИМИРОВА

«25» «січня» 2024 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

**МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ***Hippophaës rhamnoides fructus**Обліпихи крушиноподібної плоди*

Лікарська сировина у мішках з тканини або льно-джуто-кенафіних



## Продовж. дод. Б

На хроматограмі виявляються зони з інтенсивною блакитно-зеленою флуоресценцією, що відповідають зонам хлорогенової та кофейної кислот. Також можуть виявлятися інші зони з блакитною та фіолетовою флуоресценцією.

**2. Випробовування.** Втрата в масі при висушуванні не більше 11,0 % (ДФУ 2.0, Т.1, 2.2.32), загальної золи не більше 5,0 % (ДФУ 2.0, Т.1, 2.4.16).

**3. Кількісне визначення.***Гідроксикоричні кислоти*

Кількісний вміст визначають за методикою, наведеною у ДФУ 2.0, т. 3, «Кропива листя<sup>N</sup>»

Вміст суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту має бути не менше 1,0 %.

**УПАКОВКА**

Здрібнену сировину упаковують у мішки з тканини або льно-джутокенафні не більше 25 кг.

**МАРКУВАННЯ**

На етикетці мішка або тюка українською мовою вказують «Україна», «Розробка НФаУ, м. Харків», його товарний знак і адресу, назву сировини латинською та українською мовами, масу сировини при вологості 10%, умови зберігання, номер партії, термін придатності.

**ЗБЕРІГАННЯ**

У сухому, захищеному від світла місці.

**ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ**

2 роки.

**Противірусний, антимікробний засіб**

Професор кафедри фармакогнозії та  
нутриціології, доктор фармацевтичних  
наук, професор

Ірина ЖУРАВЕЛЬ  
« 23 » січня 2024 р.

Аспірант кафедри фармакогнозії  
танутриціології

Любов НАУМЕНКО  
« 23 » січня 2024 р.

Продовж. дод. Б



ПРОЄКТ

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Національного фармацевтичного  
університету, професор

Інна ВЛАДИМИРОВА

25 » « січня » 2024 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

**МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ***Hippophaës rhamnoides cortex**Обліпихи крушиноподібної кора*

Лікарська сировина у мішках з тканини або льно-джуто-кенафних

## Продовж. дод. Б

**УПАКОВКА**

Здрібнену сировину упаковують у мішки з тканини або льно-джутокенафні не більше 25 кг.

**МАРКУВАННЯ**

На етикетці мішка або тюка українською мовою вказують «Україна», «Розробка НФаУ, м. Харків», його товарний знак і адресу, назву сировини латинською та українською мовами, масу сировини при вологості 10%, умови зберігання, номер партії, термін придатності.

**ЗБЕРІГАННЯ**

У сухому, захищеному від світла місці.

**ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ**

2 роки.

**Противірусний, антимікробний засіб**

Професор кафедри фармакогнозії та  
нутриціології, доктор фармацевтичних  
наук, професор

Ірина ЖУРАВЕЛЬ  
« 13 » січня 2024 р.

Аспірант кафедри фармакогнозії  
танутриціології

Любов НАУМЕНКО  
« 13 » січня 2024 р.

Продовж. дод. Б



ПРОЄКТ

Директор з науково-педагогічної роботи  
Національного фармацевтичного  
університету, професор

Інна ВЛАДИМИРОВА

« 25 » « січня » 2024 р.

Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

## МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

*Hippophaës rhamnoides fructi extractum fluidum*

*Обліпихи крушиноподібної плодів екстракт рідкий*

у флаконах по 100 мл

## Продовж. дод. Б

$S_D$  – середнє значення площ піка хлорогенової кислоти, обчислене з хроматограм розчину порівняння;

$m_0$  – маса наважки хлорогенової кислоти, у міліграмах.

Сума гідроксикоричних кислот, у перерахунку на хлорогенову кислоту, має бути не менше 1,5 %.

**УПАКОВКА**

По 100 мл препарату у флакони полімерні, закупорені кришками під різьбову горловину з контролем першого відкриття за ТУ У 25.2-32414582-002-2004, або 100 мл препарату у банки полімерні для медичних препаратів і лікарських засобів, закупорені кришками під різьбову горловину з контролем першого відкриття за ТУ У 26.1-19046619-007:2007.

На кожний флакон або банку наклеюють етикетку з паперу офсетного імпортного або етикетку самоклеючу.

Кожний флакон або банку разом з інструкцією для медичного застосування поміщають у коробку з картону.

Групова і транспортна тара відповідно до ГОСТ 17768-90.

**УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ**

В оригінальній упаковці при температурі не вище 25°C.

**ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ**

2 роки.

Противірусний, антимікробний засіб

Професор кафедри фармакогнозії та  
нутриціології, доктор фармацевтичних  
наук, професор

Ірина ЖУРАВЕЛЬ

« 23 » січня 2024 р.

Аспірант кафедри фармакогнозії  
танутриціології

Любов НАУМЕНКО

« 23 » січня 2024 р.

## Додаток В



## Додаток Г

## «ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор Державної Установи «Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова Національної академії медичних наук України»  
«Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова НАМН України»  
д.мед.н., професор Мінухін В.В.  
« 11 » січня 2024 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати дослідження гідроксикоричних кислот обліпихи крушиноподібної.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії та нутриціології, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. Аспірант Науменко Л.С.
3. **Джерела інформації:** Науменко Л.С., Попова Н.В., Бобрицька Л.О. Гідроксикоричні кислоти обліпихи крушиноподібної / Український біофармацевтичний журнал. 2019. № 4. С. 70 -74.  
<https://doi.org/10.24959/ubphj.19.248>
4. **Де впроваджено:** лабораторія та клінічний відділ молекулярної імунофармакології ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України».
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
7. **Строки впровадження:** 2023-2024 рр.

Затверджено на засіданні лабораторії протокол № 6 від 28.12.2023

Завідувач лабораторії та клінічного відділу молекулярної імунофармакології Державної Установи «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України», доктор фармацевтичних наук, професор

Мартинов А.В.

Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
Проректор з наукової роботи  
Тернопільського національного медичного  
університету імені І. Я. Горбачевського  
МОЗ України  
д. біол. н., професор Кліш І.М.  
« 12 » жовтня 2024 р.

#### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** результати дослідження жирнокислотного складу сировини обліпихи крушиновидної.
- 2. Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії та нутриціології, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. Аспірант Науменко Л.С.
- 3. Джерела інформації:** Науменко Л.С., Попова Н.В. Жирнокислотний склад сировини обліпихи крушиновидної / Журнал Вісник фармації. 2022. № 1. С. 26-32.  
<https://doi.org/10.24959/nphj.22.52>
- 4. Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу кафедри фармації факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.
- 5. Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
- 7. Строки впровадження:** 2023-2024 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 5 від 20.12.2023

Завідувачка кафедри фармації факультету  
післядипломної освіти  
Тернопільського національного  
медичного університету  
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,  
доктор біологічних наук, професор



Л.С. Фіра



Продовж. дод. Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи та інновацій  
Національного медичного університету  
імені О.О. Богомольця  
д.мед.н., професор Земсков С.В.



« 24 » \_\_\_\_\_ 2024 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** результати дослідження протимікробної активності екстрактів обліпихи крушиноподібної.
- 2. Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії та нутриціології, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. Аспірант Науменко Л.С.
- 3. Джерела інформації:** Науменко Л.С., Журавель І.О. Вивчення протимікробної активності екстрактів обліпихи крушиноподібної. *Annals of Mechnikov's Institute*. 2023. № 4. С. 42-45. DOI: 10.5281/zenodo.10257260
- 4. Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.
- 5. Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
- 6. Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
- 7. Строки впровадження:** 2023-2024 навч. рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол №13 акт від 24.01.2024

Завідувачка кафедри фармакогнозії та ботаніки

Національного медичного університету

імені О.О. Богомольця,

доктор біологічних наук, професор

В.М. Мінарченко

Продовж. дод. Г

«Затверджую»

Проректор закладу вищої освіти з  
наукової роботи Тернопільського  
національного медичного університету  
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України  
доктор біологічних наук, професор  
І. М. КЛИЦЬ *фв* 02 2024 р.



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** результати дослідження вуглеводів сировини обліпихи крушиноподібної.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет (м. Харків), кафедра фармакогнозії та нутриціології, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. аспірант Науменко Л.С.
3. **Джерела інформації:** Науменко Л.С., Попова Н.В. Дослідження вуглеводів сировини обліпихи крушиноподібної. Український біофармацевтичний журнал. 2020. № 4. С. 64-69.  
<https://doi.org/10.24959/ubphj.20.287>
4. **Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.
5. **Форма впровадження:** науково-дослідна робота.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини.
7. **Строки впровадження:** 2023-2024 навчальний рік.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 1 від 23 січня 2024 р.

Завідувач кафедри фармакогнозії з  
медичною ботанікою  
Тернопільського національного  
медичного університету  
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,  
доктор фармацевтичних наук, професор

С. М. Марчишин