

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-47-53>
УДК 615.322 + 615.456



Оригинальная статья / Research article

Разработка составов и технологии получения таблеток с экстрактом листьев оливы, стандартизированного по гидрокситирозолу

М. С. Масленникова^{1*}, Н. Л. Соловьёва²

¹ ФГБУН «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи», 109240, Россия, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14

² Институт Фармации им. А. П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

*Контактное лицо: Масленникова Мария Сергеевна. E-mail: sok.mary.serg@gmail.com

ORCID: М. С. Масленникова – <https://orcid.org/0000-0002-6416-7091>; Н. Л. Соловьёва – <https://orcid.org/0000-0002-0781-7553>.

Статья поступила: 21.05.2020

Статья принята в печать: 08.06.2021

Статья опубликована: 25.08.2021

Резюме

Введение. В статье представлены результаты исследования физико-химических свойств сухого экстракта листьев оливы, стандартизированного по гидрокситирозолу, – биологически активному веществу, входящему в химический состав надземных частей оливкового дерева.

Цель. Разработать составы для изготовления таблеток с сухим экстрактом листьев оливы и провести стандартизацию методом ОФ-ВЭЖХ по содержанию гидрокситирозола.

Материалы и методы. Субстанция сухого экстракта листьев оливы, микрокристаллическая целлюлоза (Avicel® PH-112), Аэросил® (Aeroperl® 300 Pharma), Лудипресс® (Ludipress®), лактоза, крахмал картофельный, натриевая соль карбоксиметилированного крахмала, магния стеарат, прямое прессование, ВЭЖХ.

Результаты и обсуждение. Проведены исследования физико-химических свойств сухого экстракта листьев оливы. Выбраны вспомогательные вещества для опытных образцов. Разработаны составы для дальнейшего таблетирования. Проведен комплекс исследований полученных таблеток согласно ГФ XIV на соответствие показателей качества.

Заключение. Проведен обзор научных данных о биологических свойствах сухого экстракта листьев оливы, свидетельствующий о перспективе разработки лекарственных препаратов на его основе. Разработаны составы таблеток с сухим экстрактом листьев оливы и исследованы их показатели качества.

Ключевые слова: гидрокситирозол, полифенолы, сухой экстракт листьев оливы, вспомогательные вещества, ОФ-ВЭЖХ

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Н. Л. Соловьёва, М. С. Масленникова разработали дизайн исследования, провели исследование, анализировали полученные данные. Н. Л. Соловьёва сделала обзор публикаций по теме статьи. М. С. Масленникова написала текст рукописи.

Для цитирования: Масленникова М. С., Соловьёва Н. Л. Разработка составов и технологии получения таблеток с экстрактом листьев оливы, стандартизированного по гидрокситирозолу. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(3):47–53. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-47-53>

Development of Compositions and Technologies for Producing Tablets with Hydroxythyrozol-standardized Extract of Olive Leaves

Maria S. Maslennikova^{1*}, Natalia L. Solovyova²

¹ Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14, Ustinskiy proezd, Moscow, 109240, Russia

² Institute of Pharmacy. A. P. Nelyubina I. M. Sechenov First MSU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

*Corresponding author: Maria S. Maslennikova. E-mail: sok.mary.serg@gmail.com

ORCID: Maria S. Maslennikova – <https://orcid.org/0000-0002-6416-7091>; Natalia L. Solovyova – <https://orcid.org/0000-0002-0781-7553>.

Received: 21.05.2020

Revised: 08.06.2021

Published: 25.08.2021

Abstract

Introduction. The article presents the results of a study of the physicochemical properties of dry extract of olive leaves, standardized by hydroxythyrozol – a biologically active substance that is part of the chemical composition of aerial parts of the olive tree.

Aim. The purpose of the study is to develop tablet Formulations containing dry extract of olive leaves and to standardize by hydroxythyrozol by reversed-phase-HPLC method on the main substance content.

Materials and methods. Substance of dry extract of olive leaves, microcrystalline cellulose (Avicel® PH-112), Aerosil® (Aeroperl® 300 Pharma), Ludipress® (Ludipress®), lactose, potato starch, sodium salt of carboxymethyl starch, magnesium stearate, direct pressing, HPLC.

Results and discussion. Studies of the physicochemical properties of dry extract of olive leaves have been carried out. Selected excipients for the study of tabletable masses. Formulations for further tableting have been developed. A complex of studies of the obtained tablets was carried out according to Russian Pharmacopoeia XIV for compliance with quality indicators.

© Масленникова М. С., Соловьёва Н. Л., 2021

© Maslennikova M. S., Solovyova N. L., 2021

Conclusion. The biological properties of dry extract of olive leaves have been studied, indicating the prospect of developing drugs based on it. Formulations of tablets with dry extract of olive leaves have been developed and their quality indicators have been investigated.

Keywords: hydroxytyrosol, polyphenols, dry extract of olive leaves, pharmaceutical technology, excipients, RP-HPLC

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Natalia L. Solovyova, Maria S. Maslennikova developed the design of the study, conducted the study, analyzed the data obtained. Natalia L. Solovyova made a review of publications on the topic of the article. Maria S. Maslennikova wrote the text of the manuscript.

For citation: Maslennikova M. S., Solovyova N. L. Development of compositions and technologies for producing tablets with hydroxytyrosol-standardized extract of olive leaves. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(3):47–53. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-3-47-53>

ВВЕДЕНИЕ

Семейство Маслиновые (*Oleaceae*) насчитывает около 30 родов лиственных деревьев и кустарников, в том числе род Маслина (*Olea*), одним из основных представителей которого является Маслина европейская (*Olea europaea*) [1, 2].

Олива европейская является богатым источником различных биологически активных веществ. Плод оливы на 50 % состоит из воды, 1,6 % белка, 22 % жирных кислот, 19 % углеводов, 5,8 % целлюлозы, около 1,5 % минеральных веществ [2]. Остальными компонентами плода оливы являются пектины, органические кислоты и гликозиды фенольных соединений [1, 3]. Но помимо плодов, из которых делают масло, в традиционной медицине используют и другие части растения.

Листья и плоды используют в виде настоев, экстрактов и отваров, обладающих широким спектром действия: противоопухолевым, кардиопротекторным, нейропротекторным, жаропонижающим [4], мочегонным, антисептическим [5], антидиабетическим [6], антибактериальным [7]; используют для лечения подагры [8], геморроя и ревматизма [9], бронхиальной астмы [10]. Масло плодов обладает слабительным эффектом [11], используют наружно как средство профилактики против выпадения волос [12]. Смесь из оливкового масла и лимонного сока применяют при желчекаменной болезни [13].

Основными полифенольными соединениями оливкового масла являются олеорупеин, апигенин, лютеолин, пиноресинол и его производные, тирозол, 4-гидроксibenзойная кислота, феруловая кислота, кумаровая кислота и другие [1, 14, 15]. Особый интерес представляет полифенол из группы фенолоспиртов – гидрокситирозол (рисунок 1).

Гидрокситирозол обладает широким спектром биологической активности и представляет интерес для фармацевтической, пищевой, косметической промышленности. Как и большинство полифенолов обладает сильной антиоксидантной активностью [15].

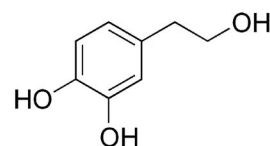


Рисунок 1. 4-(2-гидроксиэтил)-1,2-бензендиол (гидрокситирозол)

Figure 1. 4-(2-Hydroxyethyl)-1,2-benzenediol (Hydroxytyrosol)

Содержание гидрокситирозола в масле и плодах зависит от сорта оливы, спелости и технологии приготовления масла [16]. Количество гидрокситирозола варьирует от 20 до 84 мг/л. В оливковом масле он находится в свободном состоянии, реже в виде соли ацетата [17].

Гидрокситирозол является метаболитом олеорупеина, который придаёт горький привкус оливковому маслу. Его содержание уменьшается по мере созревания плода и переходит в негликозилированную форму [18]. Агликон олеорупеина посредством ферментативного гидролиза в конечном итоге превращается в гидрокситирозол, что является одним из показателей зрелости оливы [3].

Одним из видов субстанций, используемых для производства биологически активных добавок к пище и лекарств на растительной основе, являются сухие экстракты. Потребность в таком виде субстанций вызвана удобством транспортировки и хранения, а главное стабильности биологически активных веществ при правильном выборе условий получения и упаковки. В высушенном экстракте листьев оливы сохраняется 90 % флавоноидов и антиоксидантная активность [19, 20].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для работы использовался сухой экстракт листьев оливы (elaVida™, DSM) в виде субстанции, стандартизованный по гидрокситирозолу (не менее 15 %

основного вещества). Представляет собой порошок кремового цвета без запаха.

В ходе исследований и разработки твердой лекарственной формы с гидрокситирозолом были использованы следующие реактивы: вода очищенная по ФС.2.2.0020.15, полученная на установке обратного осмоса УВОИ-«МФ» 1812С6 (АО «НПК Медиана-Фильтр», Россия); кислота хлористоводородная концентрированная (ГОСТ 3118-77), о.с.ч. (ООО «Кемикал Лайн», Россия); натрия гидроксид (Ph.Eur., BP, USP), х.ч. (CAS: 1310-73-2, Sigma-Aldrich, Германия); спирт этиловый 95 % (ТУ 91-03-0566401-93, ГОСТ Р 51723-2001, ФС.2.1.0036.15), о.с.ч. (ООО «Кемикал Лайн», Россия).

Были проведены следующие исследования сухого экстракта листьев оливы согласно ГФ XIV РФ [21]:

- растворимость (согласно ОФС.1.2.1.0005.15 «Растворимость») [22];
- кислотность (согласно ОФС.1.1.0006.15 «Фармацевтические субстанции») [23]. Исследование проводилось с помощью рН-метра PB-11 (Sartorius, Германия);
- влажность (определяли методом высушивания согласно ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья» [24]). Исследование проводилось на аппарате A&D MS-70 Moisture Analyzer (Япония).

Для создания масс для таблетирования использовались следующие вспомогательные вещества: лактоза ≥ 98 % (CAS: 63-42-3, Sigma-Aldrich, США); крахмал картофельный, х.ч. (CAS: 9005-25-8, Sigma-Aldrich, США); натриевая соль карбоксиметилированного крахмала ≥ 98 % (CAS: 112346-82-4, Yung Zip Chemical Ind. Co., Ltd., Тайвань); микрокристаллическая целлюлоза (Avicel® PH-112), ≥ 98 % (CAS: 9004-34-6 FMC BioPolymer, США); магния стеарат ≥ 90 % (CAS: 557-04-0 Sigma-Aldrich, США); Аэросил® (Aeroperl® 300 Pharma), х.ч. (ООО НПО «ФармВИЛАР», Россия); Лудипресс® (Ludipress®), х.ч. (CAS: 5989-81-1 + 9003-39-8, BASF, Германия).

Оценка качества полученных таблетированных масс проводилась согласно требованиям ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков» ГФ XIV [24]: исследования показателей сыпучести, насыпной плотности и угла естественного откоса проводились на аппарате ERWEKA GTL (ERWEKA GmbH, Германия).

Модельные таблетки изготавливали методом прямого прессования на аппарате ERWEKA EP-1 (ERWEKA GmbH, Германия).

Технологические свойства таблеток, содержащих сухой экстракт листьев оливы, исследовали согласно требованиям, указанным в ОФС 1.4.1.0015.15 «Таблетки» [25] ГФ XIV РФ [21]. Сравнительный анализ проводили согласно нормам, указанным в соответствующем документе.

- описание (оценку внешнего вида таблеток) осуществляли визуально;
- прочность на истирание определяли согласно ОФС.1.4.2.0004.15 «Истираемость таблеток» [26]. Использовался аппарат ERWEKA TAR 220 (ERWEKA GmbH, Германия);

- распадаемость таблеток исследовали согласно ОФС.1.4.2.0013.15 «Распадаемость таблеток и капсул» [27]. Использовался аппарат ERWEKA ZT 221 (ERWEKA GmbH, Германия). Прибор «Качающаяся корзинка». Температура среды растворения ($37 \pm 0,5$) °C;
- прочность на раздавливание оценивали согласно ОФС.1.4.2.0011.15 «Прочность таблеток на раздавливание» [28]. Использовался аппарат ERWEKA TBH 225 D (ERWEKA GmbH, Германия);
- однородность дозирования проводили согласно ОФС.1.4.2.0008.15 «Однородность дозирования» [29]. Применялась высокоэффективная жидкостная хроматография на обращенно-фазовом жидкостном хроматографе Hitachi Chromaster (Hitachi High Technologies, Япония) с УФ-детектированием (длина волны 280 нм).

Условия хроматографирования [30]:

Колонка Nucleodur C18 Gravity (Macherey-Nagel, Германия) 5 мкм, 250 × 4,6 мм. Скорость потока 1 мл/мин. Объем вводимой пробы 20,0 мкл. Температура термостата колонки 40 °C. Подвижная фаза (ПФ) – метанол:вода (80:20). В изократическом режиме. Время проведения анализа – 15 минут. Стандарт: субстанция-порошок, содержание 3-гидрокситирозола не менее 98,0 % (серия H4291-25MG, годеи до 01.2021 г., Sigma-Aldrich, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе разработки таблеток с сухим экстрактом листьев оливы были исследованы физико-технологические свойства сухого экстракта листьев оливы. Результаты растворимости представлены в таблице 1.

Таблица 1. Растворимость сухого экстракта листьев оливы в воде, органических растворителях и этаноле

Table 1. Solubility dry olive leaf extract in water, organic solvents and ethyl alcohol

Растворитель Solvent		Растворимость 1,0 г в 1,0 мл Solubility 1.0 g in 1.0 ml
Вода Water		10 (легко растворим) 10 (easily soluble)
Кислота соляная Hydraulic acid		> 100 (мало растворим) > 100 (slightly soluble)
Щёлочь (0,1 н NaOH) Alkali (0,1 n NaOH)		> 100 (мало растворим), раствор лимонно-жёлтого цвета, темнеющий при стоянии на воздухе > 100 (slightly soluble), lemon-yellow solution, darkens when exposed to air
Спирт, % Alcohol, %	30	5 (легко растворим) 5 (easily soluble)
	50	32 (умеренно растворим) 32 (sparingly soluble)
	70	> 100 (мало растворим) > 100 (slightly soluble)

Определение pH. Водородный показатель равен 5,0. Масса навески сухого экстракта листьев оливы составила 45 мг. Объем растворителя (воды) – 200 мл.

Определение влажности. Потеря массы при высушивании составила 5,2 %.

Определение содержания действующего вещества. Навеску (1,00 г) сухого экстракта листьев оливы растворили в 10 мл этанола 30 %. Содержание гидрокситирозола определяли методом ОФ-ВЭЖХ (см. п. «Условия хроматографирования»). Содержание гидрокситирозола в исследованной субстанции составило 99,38 %, что соответствует спецификации производителя.

На основании полученных результатов исследований физико-технологических свойств сухого экстракта листьев оливы можно сделать вывод, что выбор вспомогательных веществ следует делать среди тех, которые используются для изготовления таблеток методом прямого прессования.

Таким образом, на основании проведенных исследований были разработаны составы для таблетирования, представленные в таблице 2.

В таблице 3 представлены результаты исследований физико-технологических свойств разработанных таблеточных масс.

Полученные результаты исследований свидетельствуют о хорошей сыпучести полученных таблеточных масс согласно таблице 2, представленной в ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков». Следовательно, выбор способа таблетирования сводится к изготовлению таблеток методом прямого прессования.

Таблетки были изготовлены на ручном прессе при давлении 60 кг/см², что составляет около 0,006 МПа. Выбор такого давления связан с достижением наиболее оптимальной прочности таблеток и временем распадаемости [31].

Технологические свойства модельных таблеток представлены в таблице 4.

Таблица 2. Составы для таблетирования

Table 2. Formulations for tableting

№ состава Composition number	Компоненты составов Components of the formulations	%/табл. %/tab.
1	Сухой экстракт листьев оливы Dry extract of olive leaves	45
	Лактоза Lactose	49,5
	Крахмал картофельный Potato starch	4
	Стеарат магния Magnesium stearate	1,25
	Аэросил Aerosil	0,25
2	Сухой экстракт листьев оливы Dry extract of olive leaves	45
	Лактоза Lactose	37,5
	МКЦ Microcrystalline cellulose	12
	Крахмал картофельный Potato starch	4
	Стеарат магния Magnesium stearate	1,25
	Аэросил Aerosil	0,25
3	Сухой экстракт листьев оливы Dry extract of olive leaves	45
	Лудипресс Ludipress	53
	Натрия гликолята крахмал Sodium glycolate starch	1
	Стеарат магния Magnesium stearate	1
4	Сухой экстракт листьев оливы Dry extract of olive leaves	45
	Лактоза Lactose	40
	МКЦ Microcrystalline cellulose	13
	Стеарат магния Magnesium stearate	1
	Аэросил Aerosil	1

Примечание. Содержание гидрокситирозола в таблетке не менее 6,75 %.

Note. The content of hydroxytyrosol in the tablet is not less than 6.75 %.

Таблица 3. Результаты исследований физико-технологических свойств таблеточных масс с сухим экстрактом листьев оливы

Table 3. The results of studies of the physical and technological properties of the tablet masses with dry olive leaf extract

Показатели Indicators	№ состава Composition number				
	1	2	3	4	Сухой экстракт листьев оливы Dry extract of olive leaves
Масса, г Weight, g	50,0	50,0	50,0	50,0	50,0
Сыпучесть, г/сек. * Free flow, g/sec.	4,8–5,0	4,2–4,6	4,7–5,0	3,8–4,2	5,3–6,5
Угол естественного откоса, градус* Angle of repose, degree*	31	31	31,5	31	28,7
Насыпной объем (до/после, мл)* Bulk volume (before/after, ml)*	51/49	63/60	58/53	31/27	58/49

Примечание. * Количество повторностей $n = 5$.

Note. * Number of replicates $n = 5$.

Таблица 4. Технологические свойства модельных составов таблеток и однородность дозирования сухого экстракта листьев оливы

Table 4. Technological properties of model tablet formulations and uniformity of dosing of dry olive leaf extract

Показатели Indicators	№ состава Composition number			
	1	2	3	4
Описание Description	Таблетки круглой формы, белого цвета, без оболочки. Поверхность гладкая, блестящая, однородная, без риски Round tablets, white, without shell. The surface is smooth, shiny, uniform, without risks			
Средняя масса таблетки, мг Average tablet weight, mg	199,0	195,0	200,0	197,0
Диаметр, мм Diameter, mm	9,09	9,05	9,07	9,09
Прочность на истирание, % ¹ Abrasion strength, % ¹	99,4	98,5	99,0	99,0
Распадаемость, мин ² Disintegration, min ²	18,9	26,0	4,5	22,1
Прочность на раздавливание, Н ³ Crushing strength, N ³	74	74	74	80
Однородность дозирования, % ⁴ Dosing uniformity, % ⁴	–	–	13,54	–

Примечание. ¹ Потеря в массе не должна превышать 3 % согласно ОФС.1.4.2.0004.15 «Истираемость таблеток».

² % от введенного в состав сухого экстракта листьев оливы, погрешность метода определения составляет 10 % испытания проводили согласно ОФС.1.4.2.0013.15 «Распадаемость таблеток и капсул».

³ Минимальная прочность для таблеток данного диаметра должна составлять не менее 30 Н согласно ОФС.1.4.2.0011.15 «Прочность таблеток на раздавливание».

⁴ В таблице приведено содержание (%) гидрокси酪素. Испытания проводились согласно ОФС.1.4.2.0008.15 «Однородность дозирования».

Note. ¹ Loss in mass should not exceed 3 % according to OFS.1.4.2.0004.15 "Abrasion of tablets".

² % of the added to the dry extract of olive leaves, the error of the method of determination is 10 %. The tests were carried out according to OFS.1.4.2.0013.15 "Disintegration of tablets and capsules".

³ The minimum strength for tablets of a given diameter should be at least 30 N according to OFS.1.4.2.0011.15 "Crushing strength of tablets".

⁴ The table shows the content (%) of hydroxytyrosol. The tests were carried out in accordance with OFS.1.4.2.0008.15 "Uniformity of dosage".

Согласно результатам технологических свойств, приведенных в таблице 4, составы № 1, 2, 4 не прошли испытания по показателю «Распадаемость» (в таблице знак «–»), поэтому однородность дозирования в них не проверялась.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для производства таблеток, содержащих 45 % сухого экстракта листьев оливы подобраны вспомогательные вещества. Технологические свойства выбранных вспомогательных веществ (лактоза, крахмал картофельный, натриевая соль карбоксиметилированной

го крахмала, микрокристаллическая целлюлоза, магния стеарат, Аэросил®, Лудипресс®) обеспечивают получение таблеток методом прямого прессования. Показатели качества проводились согласно ГФ XIV. Полученные результаты исследований таблеток, изготовленных из состава № 3, содержащего в качестве вспомогательных веществ Лудипресс®, магния стеарат, натриевую соль карбоксиметилированного крахмала, полностью удовлетворяют требованиям Государственной фармакопеи XIV.

Разработанный состав № 3 может быть рекомендован к регистрации в качестве биологически активной добавки к пище, являющейся источником гидрокситирозола – содержание основного вещества составляет не менее 13,5 мг/табл. [30, 32]. Согласно требованиям ТР ТС 029/2012 «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств» данный продукт необходимо проверить на соответствие санитарно-химических и санитарно-биологических показателей согласно требованиям ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», разработать упаковку согласно требованиям ТР ТС 005/2011 «О безопасности упаковки» и макет этикетки согласно требованиям 022/2011 «Пищевая маркировка».

ЛИТЕРАТУРА

- Boscou D. Olive Oil. Chemistry and Technology. 2nd edition. Urbana: Academic Press and AOCS Press; 2006. 282 p.
- Montealegre C., García M. C., del Río C., Marina M. L., García-Ruiz C. Separation of olive proteins by capillary gel electrophoresis. *Talanta*. 2012;97:420–424. DOI: 10.1016/j.talanta.2012.04.055.
- Imran M., Nadeem M., Gilani S. A., Khan S., Sajid M. W., Amir R. M. Antitumor Perspectives of Oleuropein and Its Metabolite Hydroxytyrosol: Recent Updates. *Journal of Food Science*. 2018;83(7):1781–1791. DOI: 10.1111/1750-3841.14198.
- Marković A. K., Torić J., Barbarić M., Brala C. J. Hydroxytyrosol, Tyrosol and Derivatives and Their Potential Effects on Human Health. *Molecules*. 2019;24(10):2001. DOI: 10.3390/molecules24102001.
- Gorzynik-Debicka M., Przychodzen P., Cappello F., Kuban-Jankowska A., Gammazza A. M., Knap N., Wozniak M., Gorska-Ponikowska M. Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(3):686. DOI: 10.3390/ijms19030686.
- Ahamad J., Uthirapathy S., Ameen M. S. M., Anwer E. T., Husain F. H. S., Mir S. R. Chemical Composition and In vitro Antidiabetic Effects of *Olea europaea* Linn. (*Olive*). *Current Bioactive Compounds*. 2020;16(8):1157–1163. DOI: 10.2174/1573407215666191210124636.
- Wei J., Wang S., Pei D., Qu L., Li Y., Chen J., Di D., Gao K. Antibacterial Activity of Hydroxytyrosol Acetate from Olive Leaves (*Olea Europaea* L.). *Natural Product Research*. 2018;32(16):1967–1970. DOI: 10.1080/14786419.2017.1356830.
- Flemmig J., Kuchta K., Arnhold J., Rauwald H. W. *Olea europaea* leaf (Ph.Eur.) extract as well as several of its isolated phenolics inhibit the gout-related enzyme xanthine oxidase. *Phytomedicine*. 2011;18(7):561–566. DOI: 10.1016/j.phymed.2010.10.021.
- Diab M. A., Ibrahim A. K., Hadad G. Review article on chemical constituents and biological activity of *Olea europaea*. *Records of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2020;4(2):36–45. DOI: 10.21608/rpbs.2019.19541.1048.
- Lawrendiadis G. Contribution to the knowledge of the medicinal plants of Greece. *Planta Medica*. 1961;9(2):164–169. DOI: 10.1055/s-0028-1100338.
- Yokoi A., Kamata N. The usefulness of olive oil enema in children with severe chronic constipation. *Journal of Pediatric Surgery*. 2021. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2021.03.024.

12. Gorini I., Iorio S., Ciliberti R., Licata M., Armocida G. Olive oil in pharmacological and cosmetic traditions. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2019;18(5):1575–1579. DOI: 10.1111/jocd.12838.
13. Sheth A., Mitaliya K.D., Joshi S. The Herbs of Ayurveda. Leeds: Shet; 2005.
14. Тутельян В. А., Киселева Т. Л., Кочеткова А. А., Мазо В. К., Саркисян В. А., Глазкова И. В., Воробьева В. М., Сидорова Ю. В., Воробьева И. С., Зорин С. Н., Шепелин В. А., Киселева М. А., Смирнова Е. А., Бессонов В. В., Сокуренок М. С., Жилинская Н. В., Семин М. О. Растительные источники фитонутриентов для специализированных пищевых продуктов антидиабетического действия. М.: Библио-Глобус; 2016. 422 с. DOI: 10.18334/9785990909755.
15. Bertelli M., Kiani A. K., Paolacci S., Manara E., Kurti D., Dhuli K., Bushati V., Miertus J., Pangallo D., Baglivo M., Beccari T., Michelini S. Hydroxytyrosol: A natural compound with promising pharmacological activities. *Journal of Biotechnology*. 2020;309:29–33. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2019.12.016.
16. Persia F. A., Mariani M. L., Fogal T. H., Penissi A. B. Hydroxytyrosol and oleuropein of olive oil inhibit mast cell degranulation induced by immune and non-immune pathways. *Phytomedicine*. 2014;21(11):1400–1405. DOI: 10.1016/j.phymed.2014.05.010.
17. Visioli F., Galli C., Bornet F., Mattei A., Patelli R., Galli G., Caruso D. Olive oil phenolics are dose-dependently absorbed in humans. *FEBS Lett*. 2000;468(2–3):159–60. DOI: 10.1016/S0014-5793(00)01216-3.
18. Fernández-Bolaños J. G., López O., López-García M. Á., Marset A. Biological Properties of Hydroxytyrosol and Its Derivatives. In: *Olive Oil – Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions*. London: IntechOpen; 2012. 375–396 p. DOI: 10.5772/30743.
19. Şahin S., Elhussein E., Bilgin M., Lorenzo J. M., Barba F. J., Roohinejad S. Effect of drying method on oleuropein, total phenolic content, flavonoid content, and antioxidant activity of olive (*Olea europaea*) leaf. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2018;42(5):e13604. DOI: 10.1111/jfpp.13604.
20. Ahmad-Qasem M. H., Barrajon-Catalan E., Micol V., Cárcel J. A., Garcia-Perez J. V. Influence of air temperature on drying kinetics and antioxidant potential of olive pomace. *Journal of Food Engineering*. 2013;119(3):516–524. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2013.06.027.
21. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Доступно по: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ссылка активна на 07.12.2020.
22. ОФС.1.2.1.0005.15. Растворимость. Доступно по: <https://pharmacopeia.ru/ofs-1-2-1-0005-15-rastvorimost>. Ссылка активна на 07.12.2020.
23. ОФС.1.1.0006.15. Фармацевтические субстанции. Доступно по: <https://pharmacopeia.ru/gosudarstvennaya-farmakopeya-xiii-online-gf-13-online/ofs-1-1-0006-15-farmatsevticheskie-subshtantsii/> Ссылка активна на 07.12.2020.
24. ОФС.1.5.3.0007.15. Определение влажности лекарственного растительного сырья. Доступно по: <https://pharmacopeia.ru/ofs-1-5-3-0007-15-opredelenie-vlazhnosti-lekarstvennogo-rastitelnogo-syr'ya/> Ссылка активна на 07.12.2020.
25. ОФС.1.4.2.0016.15. Степень сыпучести порошков. Доступно по: <https://pharmacopeia.ru/ofs-1-4-2-0016-15-stepen-syruchestiporoshkov/> Ссылка активна на 07.12.2020.
26. ОФС.1.4.1.0015.15 Таблетки. Доступно по: <http://pharmacopeia.ru/ofs-1-4-1-0015-15-tabletki/> Ссылка активна на 07.12.2020.
27. ОФС.1.4.2.0013.15. Распадаемость таблеток и капсул. Доступно по: <https://pharmacopeia.ru/ofs-1-4-2-0013-15-raspadaemost-tabletok-i-kapsul/> Ссылка активна на 07.12.2020.
28. ОФС.1.4.2.0011.15. Прочность таблеток на раздавливание. Доступно по: <https://pharmacopeia.ru/ofs-1-4-2-0011-15-prochnost-tabletok-na-razdavlivanie/> Ссылка активна на 07.12.2020.
29. ОФС.1.4.2.0008.15. Однородность дозирования. Доступно по: <https://pharmacopeia.ru/ofs-1-4-2-0008-15-odnorodnost-dozirovaniya/> Ссылка активна на 07.12.2020.
30. Рылина Е. В. Определение индикаторных фенольных соединений нефлавоноидной природы в лекарственном и пищевом растительном сырье методом ВЭЖХ. Дис. ... канд. фарм. наук. М.; 2010. Доступно по: <http://www.dislib.ru/farmaceutika/332152-1-opredelenie-indikatornih-fenolnih-soedineniy-neflavonoidnoy-prirodi-lekarstvennom-pishevom-rastitelnom-sire-metodom-vezhh.php>. Ссылка активна на 07.12.2020.
31. Емшанова С. В. Методологические подходы к выбору вспомогательных веществ для получения таблетированных препаратов методом прямого прессования. *Химико-фармацевтический журнал*. 2008;42(2):38–43. DOI: 10.30906/0023-1134-2008-42-2-38-43.
32. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю). Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/902249109>. Ссылка активна на 07.12.2020.

REFERENCES

1. Boscou D. Olive Oil. Chemistry and Technology. 2nd edition. Urbana: Academic Press and AOCS Press; 2006. 282 p.
2. Montealegre C., García M. C., del Río C., Marina M. L., García-Ruiz C. Separation of olive proteins by capillary gel electrophoresis. *Talanta*. 2012;97:420–424. DOI: 10.1016/j.talanta.2012.04.055.
3. Imran M., Nadeem M., Gilani S. A., Khan S., Sajid M. W., Amir R. M. Antitumor Perspectives of Oleuropein and Its Metabolite Hydroxytyrosol: Recent Updates. *Journal of Food Science*. 2018;83(7):1781–1791. DOI: 10.1111/1750-3841.14198.
4. Marković A. K., Torić J., Barbarić M., Brala C. J. Hydroxytyrosol, Tyrosol and Derivatives and Their Potential Effects on Human Health. *Molecules*. 2019;24(10):2001. DOI: 10.3390/molecules24102001.
5. Gorzynik-Debicka M., Przychodzen P., Cappello F., Kuban-Jankowska A., Gammazza A. M., Knap N., Wozniak M., Gorska-Ponikowska M. Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(3):686. DOI: 10.3390/ijms19030686.
6. Ahamad J., Uthirapathy S., Ameen M. S. M., Anwer E. T., Hussain F. H. S., Mir S. R. Chemical Composition and In vitro Antidiabetic Effects of *Olea europaea* Linn. (*Olive*). *Current Bioactive Compounds*. 2020;16(8):1157–1163. DOI: 10.2174/1573407215666191210124636.
7. Wei J., Wang S., Pei D., Qu L., Li Y., Chen J., Di D., Gao K. Antibacterial Activity of Hydroxytyrosol Acetate from Olive Leaves (*Olea europaea* L.). *Natural Product Research*. 2018;32(16):1967–1970. DOI: 10.1080/14786419.2017.1356830.
8. Flemmig J., Kuchta K., Arnhold J., Rauwald H. W. *Olea europaea* leaf (Ph.Eur.) extract as well as several of its isolated phenolics inhibit the gout-related enzyme xanthine oxidase. *Phytomedicine*. 2011;18(7):561–566. DOI: 10.1016/j.phymed.2010.10.021.
9. Diab M. A., Ibrahim A. K., Hadad G. Review article on chemical constituents and biological activity of *Olea europaea*. *Records of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 2020;4(2):36–45. DOI: 10.21608/rpbs.2019.19541.1048.
10. Lawrendiadis G. Contribution to the knowledge of the medicinal plants of Greece. *Planta Medica*. 1961;9(2):164–169. DOI: 10.1055/s-0028-1100338.
11. Yokoi A., Kamata N. The usefulness of olive oil enema in children with severe chronic constipation. *Journal of Pediatric Surgery*. 2021. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2021.03.024.
12. Gorini I., Iorio S., Ciliberti R., Licata M., Armocida G. Olive oil in pharmacological and cosmetic traditions. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2019;18(5):1575–1579. DOI: 10.1111/jocd.12838.
13. Sheth A., Mitaliya K.D., Joshi S. The Herbs of Ayurveda. Leeds: Shet; 2005.
14. Tutel'yan V. A., Kiseleva T. L., Kochetkova A. A., Mazo V. K., Sarkisyan V. A., Glazkova I. V., Vorob'eva V. M., Sidorova Yu. V., Vorob'eva I. S., Zorin S. N., Shepelin V. A., Kiseleva M. A., Sмирнова Е. А., Бессонов В. В., Сокуренок М. С., Жилинская Н. В., Семин М. О. *Rastitel'nye istochniki fitonutrientov dlya spetsializirovannykh pishchevykh produktov antidiabeticheskogo deystviya* [Plant sources of phytonutrients for food antidiabetic action]. Moscow: Biblio-Globus; 2016. 421 p. (In Russ.) DOI: 10.18334/9785990909755.
15. Bertelli M., Kiani A. K., Paolacci S., Manara E., Kurti D., Dhuli K., Bushati V., Miertus J., Pangallo D., Baglivo M., Beccari T., Michelini S. Hydroxytyrosol: A natural compound with promising pharmacological activities. *Journal of Biotechnology*. 2020;309:29–33. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2019.12.016.
16. Persia F. A., Mariani M. L., Fogal T. H., Penissi A. B. Hydroxytyrosol and oleuropein of olive oil inhibit mast cell degranulation induced by immune and non-immune pathways. *Phytomedicine*. 2014;21(11):1400–1405. DOI: 10.1016/j.phymed.2014.05.010.

17. Visioli F., Galli C., Bornet F., Mattei A., Patelli R., Galli G., Caruso D. Olive oil phenolics are dose-dependently absorbed in humans. *FEBS Lett.* 2000;468(2–3):159–60. DOI: 10.1016/S0014-5793(00)01216-3.
18. Fernández-Bolaños J. G., López Ó., López-García M. Á., Maset A. Biological Properties of Hydroxytyrosol and Its Derivatives. In: *Olive Oil – Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions*. London: IntechOpen; 2012. 375–396 p. DOI: 10.5772/30743.
19. Şahin S., Elhussein E., Bilgin M., Lorenzo J. M., Barba F. J., Roohinejad S. Effect of drying method on oleuropein, total phenolic content, flavonoid content, and antioxidant activity of olive (*Olea europaea*) leaf. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2018;42(5):e13604. DOI: 10.1111/jfpp.13604.
20. Ahmad-Qasem M. H., Barrajon-Catalan E., Micol V., Cárcel J. A., Garcia-Perez J. V. Influence of air temperature on drying kinetics and antioxidant potential of olive pomace. *Journal of Food Engineering*. 2013;119(3):516–524. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2013.06.027.
21. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izdaniya*. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV Edition]. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
22. *OFS.1.2.1.0005.15. Rastvorimost'* [OFS.1.2.1.0005.15. Solubility]. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-1-0005-15-rastvorimost>. Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
23. *OFS.1.1.0006.15. Farmatsevticheskie substantzii* [OFS.1.1.0006.15. Pharmaceutical substances]. Available at: <https://pharmatsopoeia.ru/state-pharmacopeia-ahiiionline-gf-13-online/ofs-1-1-0006-15-pharmatsevtical-substances/>. Accessed: 12.07.2020. (In Russ.)
24. *OFS.1.5.3.0007.15. Opredelenie vlazhnosti lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya* [OFS.1.5.3.0007.15. Determination of the moisture content of medicinal plant materials]. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-5-3-0007-15-opredelenie-vlazhnosti-lekarstvennogo-rastitelnogo-syrya/>. Accessed: 12.07.2020. (In Russ.)
25. *OFS.1.4.2.0016.15. Stepen' sypuchesti poroshkov* [OFS.1.4.2.0016.15. The degree of flowability of powders]. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-2-0016-15-stepen-sypuchesti-poroshkov/>. Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
26. *OFS 1.4.1.0015.15. Tabletki* [OFS 1.4.1.0015.15. Tablets]. Available at: <http://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-1-0015-15-tabletki/>. Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
27. *OFS.1.4.2.0013.15. Raspadaemost' tabletok i kapsul* [OFS.1.4.2.0013.15. Disintegration of tablets and capsules]. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-2-0013-15-raspadaemost-tabletok-i-kapsul/>. Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
28. *OFS.1.4.2.0011.15. Prochnost' tabletok na razdavlivanie* [OFS.1.4.2.0011.15. Crushing strength of tablets]. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-2-0011-15-prochnost-tabletok-na-razdavlivanie/>. Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
29. *OFS.1.4.2.0008.15. Odnorodnost' dozirovaniya* [OFS.1.4.2.0008.15. Dosing uniformity]. Available at: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-4-2-0008-15-odnorodnost-dozirovaniya/>. Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
30. Rylyina E. V. *Opredelenie indikatornykh fenol'nykh soedineniy neflavonoidnoy prirody v lekarstvennom i pishchevom rastitel'nom syr'e metodom VEZhKh* [Determination of indicator phenolic compounds of non-flavonoid nature in medicinal and edible plant materials by HPLC] [dissertation]. Moscow; 2010. Available at: <http://www.dislib.ru/farmacevtika/332152-1-opredelenie-indikatornih-fenolnih-soedineniy-neflavonoidnoy-prirody-lekarstvennom-pishevom-rastitelnom-sire-metodom-vezhh.php>. Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)
31. Emshanova S. V. Methodological approaches to selecting auxiliary substances for the production of tabletized pharmaceutical preparations by direct pressing method. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*. 2008;42(2):38–43. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2008-42-2-38-43.
32. *Edinye sanitarno-epidemiologicheskie i gigienicheskie trebovaniya k produkcii (tovaram), podlezhashchim sanitarno-epidemiologicheskemu nadzoru (kontrolyu)* [Uniform sanitary and epidemiological and hygienic requirements for products (goods) subject to sanitary and epidemiological supervision (control)]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/902249109>. Accessed: 07.12.2020. (In Russ.)