

## АНОТАЦІЯ

*Умаров У. А.* Фітохімічне дослідження продуктів комплексної переробки анісу звичайного. – Кваліфікаційна наукова робота на правах рукопису.

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

Дисертаційна робота присвячена фітохімічному дослідженню продуктів комплексної переробки анісу звичайного, отриманню лікарського засобу, розробці методів контролю якості на лікарську рослинну сировину, лікарський засіб і лікарську форму.

За допомогою паперової, тонкошарової хроматографії в об'єктах дослідження (трава, плоди і шрот плодів анісу звичайного) були виявлені полісахариди, органічні кислоти, амінокислоти, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, хлорофіли та каротиноїди.

Встановлено, що в траві анісу звичайного полісахаридів міститься більше, ніж в плодах і шроті. Кількість водорозчинних полісахаридних комплексів досягає максимуму в траві в фазі до цвітіння ( $7,20 \pm 0,32$  %) і по мірі дозрівання рослини зменшується до  $4,37 \pm 0,21$  %. Вміст пектинових речовин в фазі воскової стиглості найбільший ( $15,25 \pm 0,13$  %), тоді як в фазі цвітіння трави кількість пектинових речовин мінімальна ( $7,11 \pm 0,25$  %). Кількість геміцелюлоз починаючи з фази до цвітіння ( $16,94 \pm 0,22$  %) зростає до фази воскової стиглості ( $41,57 \pm 0,13$  %), у фазі плодоношення вміст геміцелюлоз стає в 2,2 рази менше ніж в фазі воскової стиглості ( $18,91 \pm 0,31$  %).

Методом спектрофотометрії було вивчено час повного гідролізу ВРПК, ПР і ГЦ протягом якого в максимальній кількості накопичуються моносахариди. Для цього проводили кількісне визначення вмісту моносахаридів в гідролізаті, отриманому за 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 і 3 години гідролізу. Встановлено, що при

гідролізі ВРПК, максимальний вміст нейтральних моносахаридів досягається за 2 год і становить  $17,80 \pm 0,36$  %. Пектинові речовини повністю гідролізуються за 3 год і вміст нейтральних моносахаридів дорівнює  $44,91 \pm 0,21$  %. Для геміцелюлози досить 1 години, щоб отримати найбільшу кількість моносахаридів, при цьому їх вміст складає  $87,24 \pm 1,14$  %.

Методом РХ встановлено, що в ВРПК, виділеному з трави анісу звичайного, міститься два моносахариди - глюкоза і рамноза. Рамноза з вмістом  $215,5 \pm 0,02$  мг/г є переважаючим цукром, глюкоза присутня в набагато меншій кількості -  $17,50 \pm 0,04$  мг/г. Вміст глюкози в ПР приблизно такий самий -  $12,31 \pm 0,02$  мг/г. В ПР відсутня рамноза; галактоза і арабіноза присутні в кількості  $59,8 \pm 0,04$  мг/г і  $69,5 \pm 0,03$  мг/г відповідно. Беручи до уваги результати досліджень фармакологічних властивостей ВРПК і ПР, виділених з трави анісу звичайного, можна припустити, що наявність саме цих речовин обумовлює високий послаблюючий ефект ПР

В траві та плодах анісу звичайного виявлені яблучна, лимонна, бурштинова кислоти, а в шроті плодів - лимонна кислота. Розроблені електрохімічні методики встановлення сумарного вмісту цієї групи БАР в траві (2,30-3,53 %), плодах (2,88 %) і шроті плодів (1,59 %). Кондуктометрична методика відповідає наступним валідаційним параметрам: специфічність, лінійність, правильність, прецизійність, робастність і може бути використана для кількісного визначення суми вільних органічних кислот в сировині анісу звичайного.

Виявлено наявність 10 амінокислот в траві; 8 – в плодах і 5 – в шроті плодів анісу звичайного. У всіх досліджуваних зразках сировини були ідентифіковані: глутамінова кислота, гліцин, ізолейцин, валін, метіонін. У траві встановлено наявність проліну і треоніну на відміну від плодів і шроту плодів. Спектрофотометричним методом встановлено, що найбільший вміст суми амінокислот ( $0,198 \pm 0,04$  мг/г) в траві анісу звичайного міститься в фазі цвітіння, найменша кількість - у фазі плодоношення ( $0,069 \pm 0,01$  мг/г). В плодах вміст

суми амінокислот ( $0,15 \pm 0,06$  мг/г) у 8,33 разів більше ніж у шроті плодів ( $0,018 \pm 0,01$  мг/г).

Визначено якісний склад і кількісний вміст (пряма спектрофотометрія) гідроксикоричних кислот в сировині. Найбільша їх кількість ( $1,67 \pm 0,08$  %) міститься в траві анісу звичайного в фазі до цвітіння. По мірі дозрівання рослини вміст зменшується і досягає мінімуму в фазу плодоношення ( $0,55 \pm 0,08$  %); в плодах гідроксикоричних кислот в 7,36 разів більше ( $0,81 \pm 0,05\%$ ), ніж в шроті ( $0,11 \pm 0,07$  %).

При дослідженні 60 % метанольного екстракту трави анісу звичайного методом рідинної хроматографії встановлено наявність шести гідроксикоричних кислот. У найбільших кількостях містяться хлорогенова ( $1,33$  мг/г) і *n*-кумарова кислоти ( $1,06$  мг/г). Сінапова кислота виявлена в кількості  $0,25$  мг/г, вміст сірінгової і *транс*-ферулової кислот приблизно однаковий і становить  $0,10$  мг/г і  $0,11$  мг/г, відповідно. В найменшій кількості встановлено вміст *транс*-коричної кислоти ( $0,02$  мг/г). У той же час, в сировині не виявлено галової, *n*-гідроксифенілукусної, кавової і хінної кислот. За результатами спектрофотометричного визначення антиоксидантної активності метанольного екстракту трави анісу звичайного встановлено, що за рівнем своєї активності ( $91,68\%$ ) він практично не поступається аскорбіновій кислоті ( $93,99\%$ ).

Якісний склад і кількісний вміст поліфенольних сполук в траві анісу звичайного визначений методом ВЕРХ. Встановлено, що переважає хлорогенова кислота ( $4,409$  мг/г); сума гідроксикоричних кислот визначена на рівні  $1,221$  мг/г. Також в траві накопичуються значні кількості катехинів ( $3,104$  мг/г), похідних апігеніна ( $3,077$  мг/г) і лютеоліна ( $1,864$  мг/г). Вміст рутину і похідних мірицетину виявлено на рівні  $0,1 - 0,2$  мг/г, в мінорних кількостях присутні кверцетин ( $0,028$  мг/г), похідні нарингеніна ( $0,02$  мг/г), апігенін ( $0,01$  мг/г) і гесперетін ( $0,002$  мг/г). Загальний вміст поліфенолів склав  $17,57$  мг/г. З застосуванням потенціометричного методу з використанням розчину суміші

сполук  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$  як медіаторної системи було визначено рівень антиоксидантної активності поліфенольних сполук трави анісу звичайного. Встановлено, що поліфенольні сполуки трави анісу звичайного виявляють АОА на рівні  $67,76 \pm 0,05$  ммоль/г.

Аналіз жирнокислотного складу трави анісу звичайного, який проводили методом газової хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням виявив 11 жирних кислот. З них насичені жирні кислоти представлені 9, ненасичені - 2 сполуками. Серед насичених жирних кислот значно переважає пальмітинова кислота (11,20 мг/г); ненасичені -  $\alpha$ -ліноленова і лінолева містяться приблизно в однакових кількостях - 5,23 і 4,99 мг/г відповідно. Сумарний вміст насичених жирних кислот у траві становить 16,07 мг/г, а ненасичених - 10,22 мг/г.

Вивчення компонентного складу леткої фракції трави анісу звичайного проведено методом газової хроматографії мас-спектрометрії. Встановлено наявність 11 компонентів, загальний вміст яких становить 3,41 мг/г. В леткій фракції трави анісу звичайного переважають *транс*-анетол (1,10 мг/г), ізоевгенола ацетат (0,91 мг/г) і теллунгіанін G (0,84 мг/г).

Аналіз ліпофільної фракції проводили спектрофотометричним методом. В траві анісу звичайного сумарний вміст хлорофілів становить  $1,344 \pm 0,01$  мг/л, а каротиноїдів -  $0,196 \pm 0,02$  мг/л, в плодах хлорофілів  $1,432 \pm 0,02$  мг/л, каротиноїдів  $0,225 \pm 0,05$  мг/л, в шроті плодів - хлорофілів  $1,365 \pm 0,05$  мг/л, каротиноїдів  $0,188 \pm 0,04$  мг/л.

Методом атомно-емісійної спектрометрії ідентифіковані і встановлені в траві і плодах анісу звичайного по 19 макро-, мікро- та ультрамікроелементів. Розподіл елементів по кількості свідчить, що домінуючими є K, Ca, Na, Mg, Si, P. Вміст калію (2400 мг/100 г), кальцію (690 мг/100 г) і натрію (215 мг/100 г) в траві дещо вищий, ніж у плодах (2050, 530, 100 мг/100 г, відповідно), але магній, силіцій та фосфор дещо в більшій кількості знаходяться в плодах. Така сама залежність спостерігається для Al, Fe, Zn, Mn, Cu; причому вміст зазначених елементів в

різній сировині може різнитися в декілька разів - кількість феруму в плодах (34 мг/100 г) майже в 6 разів перевищує таку в траві (6 мг/100 г), купруму – майже в 4 рази. Вміст інших елементів в досліджуваній сировині становив менше 0,1 мг/100 г і відповідно гранично допустимі концентрації токсичних елементів не перевищені.

Згідно ДФУ встановлені морфолого-анатомічні діагностичні ознаки, а також числові та технологічні параметри трави анісу звичайного - втрата в масі при висушуванні, загальна зола, вміст сторонніх домішок, насипний об'єм, вміст домішок, насипна густина, питома густина, об'ємна густина, пористість, порозність, вільний об'єм шару, коефіцієнт поглинання різними екстрагентами.

Розроблено проект МКЯ «Анісу звичайного трава». Ідентифікацію запропоновано проводити методом ТШХ за наявністю глюкози, галактози та арабінози, кількісне визначення – гравіметричним методом за вмістом пектинових речовин (не менше 13,0 %). Проаналізовано 5 серій сировини на відповідність цим вимогам.

Розроблено технологію отримання ВРПК і ПР з плодів і трави анісу звичайного. Для нового лікарського рослинного засобу - пектинів з трави анісу звичайного («Пектан») запропоновано параметри стандартизації і проведено аналіз 5 серій на відповідність цим вимогам; розроблено проект МКЯ «Анісу звичайного трави пектинові речовини».

Проведеними фармакологічними дослідженнями становлено гостру токсичність, антимікробну активність і послаблювальну дію ВРПК і ПР, виділених з трави анісу звичайного.

Обґрунтовано склад і технологію отримання шипучих гранул ПР з трави анісу звичайного, проведена їх стандартизація за показниками «Розпадання» і «Кількісний вміст пектинових речовин».

*Ключові слова:* аніс звичайний, трава, плоди, шрот плодів, біологічно активні речовини, пектинові речовини, послаблювальна дія, шипучі гранули.

*Список публікацій здобувача*

1. Умаров У.А., Колесник С.В., Маслов А.Ю., Колесник Е.В. Количественное определение суммы гидроксикоричных кислот в плодах аниса обыкновенного. *Фармацевтический журнал*. 2019. №2. С. 27-30 (Особистий внесок - участь у плануванні експерименту, виконанні експериментальної частини досліджень, узагальненні результатів і підготовці статті до друку).
2. Колесник С.В., Кизим Е.Г., Петухова И.Ю., Умаров У.А. Потенциометрический анализ свободных органических кислот в траве аниса обыкновенного. *Вестник Пермской государственной фармацевтической академии*. 2019. № 24. С. 124–127 (Особистий внесок - участь у плануванні експерименту, виконанні експериментальної частини досліджень, узагальненні результатів і підготовці статті до друку).
3. Дослідження гострої токсичності та послаблювальної дії пектинів з трави анісу звичайного / С.В. Колісник, У.А. Умаров, К.В. Динник, М. Фатхуллаєва, А.А. Шабіалов, А.С. Газієва. *Клінічна фармація*. 2020. Т. 24, № 2. С. 52–55 (Особистий внесок - одержання лікарського засобу і підготовка статті до друку).
4. Дослідження елементного складу анісу звичайного / С.В. Колісник, У.А. Умаров, О.В. Гришина, Ю.С. Колісник, О.О. Алтухов. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 2 (63). С. 71–74 (Особистий внесок - брав участь у плануванні експерименту, заготівлі сировини, підготовці статті до друку).
5. Kolisnyk S., Khanin V., Umarov U., Koretnik O. Study of the monosaccharide composition on water-soluble polysaccharide complexes and pectic substances of Pimpinella anisum herbs. *Scientific Journal "ScienceRise: Pharmaceutical Science"*. 2020. № 3 (25). Р. 33–38. Видання в базі Скопус. (Особистий внесок - брав участь

у плануванні експерименту, одержанні полісахаридних комплексів, підготовці статті до друку).

6. Umarov U., Kolisnyk S., Fathullaeva M. Determination of the qualitative composition and quantitative content of hydroxycinnamic acids in the herb of anise (*Pimpinella anisum* L.). *Norwegian Journal of Development of the International science*. 2020. Vol. 2, № 44. P. 43–48 (Особистий внесок - брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

7. Дослідження леткої фракції анісу звичайного / С.В. Колісник, У.А. Умаров, І.О. Журавель, М. Фатхуллаєва, Ю.С. Колісник, А.С. Газієва. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 3 (64). С. 46–50 (Особистий внесок - брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

8. Вивчення жирних кислот трави анісу звичайного / У.А. Умаров, С.В. Колісник, О.О. Алтухов, М. Фатхуллаєва, А.А. Шабілаєв, А.С. Газієва. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2020. Т. 18, вип. 4 (72). С. 56–58 (Особистий внесок - брав участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів дослідження та підготовці статті).

9. Umarov U.A., Maslov O.Yu., Kolisnyk S.V., Fathullaeva M. Development and validation of the Conductometric titration of quantitative determination of free organic acids in the Anise fruits. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*. 2020. Vol. 7, Iss. 3. P. 3874–3883. Видання в базі Скопус. (Особистий внесок - брав участь у плануванні експерименту, проведенні експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

10. Колісник С.В., Гонтова Т.М., Умаров У.А., Гордей К.Р. Встановлення тотожності трави анісу звичайного (*Anisum vulgare* Gaertn.) за морфолого-анатомічними ознаками. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Т. 14, № 1 (35). С. 39–44 (Особистий внесок - брав участь у

підготовці сировини для дослідження і оформленні статті).

11. Вивчення поліфенольних сполук трави анісу звичайного та визначення їхньої антиоксидантної активності / У.А. Умаров, С.В. Колісник, О.В. Колісник, М. Фатхулласєва, Н.К. Чінібекова, М.М. Хамдамов. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2021. Т. 19, вип. 1 (73). С. 42–47 (Особистий внесок - брав участь у плануванні експерименту, проведенні частини експериментальних досліджень, узагальненні результатів та підготовці статті).

12. Умаров У.А., Колісник С.В., Гриценко І.С., Колісник Ю.С., Комісаренко М.А. Застосування пектину трави анісу звичайного як засобу послаблюючої дії: пат. 142351 Україна. № u 2020 00420; заявл. 27.01.2020; опубл. 25.05.2020, Бюл. №10 (Особистий внесок – брав участь у проведенні патентного пошуку, плануванні експерименту, одержанні лікарського засобу і оформленні патенту).

13. Умаров У., Маслов А.Ю., Колесник С.В. Количественное определение суммарного содержания флавоноидов в плодах аниса обыкновенного. *Міждисциплінарний підхід в рішенні естетичних проблем в практиці косметолога*: матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 13 берез. 2019 р. Харків: НФаУ, 2019. С. 159.

14. Умаров У., Маслов А.Ю., Колесник С.В. Количественное определение суммарного содержания фенольных соединений в плодах аниса обыкновенного. *Сучасний рух науки* : матеріали VI міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 4-5 квіт. 2019 р. Дніпро, 2019. С. 1214 – 1217.

15. Umarov U., Avazov O., Komissarenko N.A., Kolisnyk S.V. The quantitative determination of catechins in anise fruits. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVI Міжнар. наук.–практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 10–12 квіт. 2019 р. Харків: НФаУ, 2019. С. 59–60.

16. Умаров У., Колесник С.В., Гриценко І.С. Фракционирование и изучение полисахаридных комплексов плодов аниса обыкновенного. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації* : тези допов. I



Наук.–практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнар-ю участю, м. Харків, 15 трав. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 178.

17. Умаров У.А., Колесник С.В., Гриценко И.С. Количественное определение содержания флавоноидов в траве аниса обыкновенного. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : Вид-во НФаУ, 2019. Вип. 6. С. 469–470.

18. Умаров У., Колесник С.В. Количественное определение полифенольных соединений в траве аниса обыкновенного. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали IV Міжнар. наук.–практ. інтернет–конф., м. Харків, 14–15 листоп. 2019 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2019. С. 229–230.

19. Умаров У.А., Колесник С.В., Гриценко И.С., Колесник Е.В. Арпабодиён ўсимлигидаги гидроксидолчин кислоталарининг микдорини аниклаш. *Farmatsevtika sohasining bugungi holati: muammolar va istiqbollar* : xalqaro olimlar ishtirokidagi respublika ilmiy-amaliy anjumani materiallari. Toshkent, 2019. P. 261–263.

20. Количественное определение содержания свободных органических кислот в траве аниса обыкновенного / У. Умаров, С.В. Колесник, Е.Г. Кизим, И.Ю. Петухова, А.Ю. Маслов. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція* : тези доп. II Наук.–практ. інтернет–конф. з міжнар. участю, 21 листоп. 2019 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2019. С. 354–355.

21. Умаров У., Колесник С.В., Гриценко И.С. Изучение количественного содержания суммы гидроксикоричных кислот в траве аниса обыкновенного. *Сучасний рух науки* : тези доп. IX міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 2-3 груд. 2019 р. Дніпро, 2019. Т. 3. С. 474–477.

22. Умаров У.А., Колесник С.В., Алтухов А.А., Колесник Ю.С. Количественное определение содержания суммы аминокислот в траве аниса обыкновенного. *Інтеграція освіти, науки та бізнесу в сучасному середовищі: зимові диспути* :

тези доп. I Міжнар. наук.–практ. інтернет–конф., 6–7 лют. 2020 р. Дніпро, 2020. Т. 3. С. 347–349.

23. Умаров У.А., Колесник С.В., Дынник Е.В. Макро- и микроэлементный состав аниса обыкновенного. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : матеріали II Міжнар. наук.–практ. Інтернет–конф., м. Харків, 11 берез. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 174.

24. Колесник С.В., Умаров У.А. Количественное определение суммы аминокислот в плодах аниса обыкновенного. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів* : зб. наук. пр. Харків : Вид–во НФаУ, 2020. С. 91–92.

25. Умаров У.А., Колісник С.В., Коретнік О.І. Дослідження моносахаридного складу полісахаридних комплексів, виділених з трави анісу звичайного. *Застосування методів лікування і аніпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці* : матеріали міжнар. наук.–практ. конф., присвяч. пам'яті акад. УАН О. І. Тихонова, м. Харків, 25 берез. 2020 р. Харків : Вид–во НФаУ, 2020. С. 223–224.

26. Умаров У.А., Марченко М.В., Колісник Ю.С. Визначення якісного складу ліпофільного екстракту трави анісу звичайного. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXXVII Міжнар. наук.–практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 8–10 квіт. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 48–49.

27. Абдуллаєва А.Ф., Умаров У.А., Маслов О.Ю. Визначення якісного складу та кількісного вмісту органічних кислот в плодах анісу звичайного. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXXVII Міжнар. наук.–практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 8–10 квіт. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 91–92.

28. Колісник С.В., Умаров У.А. Дослідження леткої фракції трави анісу звичайного. *Інтеграція освіти, науки та бізнесу в сучасному середовищі: літні*

*диспути* : тези доп. II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 17-18 серп. 2020 р. Дніпро, 2020. С. 240–241.

29. Умаров У.А., Колесник С.В., Фатхуллаева М. Фитохимическое исследование продуктов комплексной переработки плодов аниса обыкновенного. *Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы* : материалы междунар. науч.–практ. конф., 13 нояб. 2020 г. Тошкент, 2020. С. 270.

30. Умаров У.А., Колесник С.В., Фатхуллаева М. Определение технологических параметров травы аниса обыкновенного. *Інтеграція освіти, науки та бізнесу в сучасному середовищі: зимові диспути* : тези доп. II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 4-5 лют. 2021 р. Дніпро, 2021. Т. 2. С. 351–353.

31. Umarov U.A., Abdullayeva A.F. Determination of the degree of esterification and mass fraction of polyuronides of Pectin substances of Anise (*Pimpinella Anisum L.*) herbs. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVIII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, присвяч. 150-річчю з дня народж. М. О. Валяшка, м. Харків, 18-19 берез. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 112–113.

32. Умаров У.А., Колесник С.В., Фатхуллаева М. Пигменты травы аниса обыкновенного. *Современные проблемы фармации* : материалы V Междунар. науч. конгр., посвящ. 90-летию Азербайджанского мед. ун-та и 80-летию высшего фармацевт. образования в Азербайджане. Баку, 2021. С. 158–159.

33. Умаров У.А., Здорик А.А., Колесник Е.В. Разработка и стандартизация шипучих гранул с пектиновыми веществами из травы аниса обыкновенного. *Сучасні аспекти створення лікарських засобів* : тези допов. Міжнар. наук.–практ. дистанц. конф., присвяч. 100-річчю каф. аналітичної хімії НФаУ, 16 квіт. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 188.