

Міністерство охорони здоров'я України  
Національний фармацевтичний університет

Міністерство охорони здоров'я України  
Національний фармацевтичний університет

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Умаров Улугбек Акбарович**

УДК 615.32:582.794.1:581.47:001.891:615.246.4

## **ДИСЕРТАЦІЯ**

**Фітохімічне дослідження продуктів комплексної переробки анісу звичайного**

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

У.А. Умаров

Науковий керівник: Колісник Сергій Вікторович, доктор фармацевтичних наук,  
професор

Харків-2021

## АНОТАЦІЯ

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

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

Дисертаційна робота присвячена 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 плодів. 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: глютамінова 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 катехінів (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 легкої фракції трави анісу звичайного проведено методом газової хроматографії мас-спектрометрії. Встановлено наявність 11 компонентів, загальний вміст яких становить 3,41 мг/г. В легкій 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. У 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 К, Са, 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, 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 встановлено 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. Шабілалов, 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). P. 33–38. (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 легкої 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. Шабілалов, 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. (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. Фатхуллаєва, 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 И.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 миқдорини 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 апіпрепаратів 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., Фатхуллаєва 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., Фатхуллаєва 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., Фатхуллаєва 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.

## ANNOTATION

*Umarov U.A.* Phytochemical study of products of complex processing of anise ordinary – A qualifying scientific work as a manuscript.

The thesis for the degree of Doctor of Philosophy degree in specialty 226 «Pharmacy, industrial pharmacy» (22- Health care). - National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The thesis is devoted to phytochemical research of products of complex processing of anise, obtaining of drug, development of methods of quality control on medicinal plant raw material, drug and dosage form.

Polysaccharides, organic acids, amino acids, hydroxycinnamic acids, flavonoids, chlorophylls and carotenoids were detected by paper, thin-layer chromatography in the objects of study (herb, fruits and meal of anise fruits).

It is established that the anise herb contains more polysaccharides than fruits and meal of fruits. The amount of water-soluble polysaccharide complexes reaches a maximum in the herb in the pre-flowering phase ( $7,20 \pm 0,32$  %) as the plant matures decreases to  $4,37 \pm 0,21$  %. The content of pectin substances in the phase of wax ripeness is the highest ( $15,25 \pm 0,13$  %), while in the flowering phase of the herb the amount of pectin substances is minimal ( $7,11 \pm 0,25$  %). The amount of hemicelluloses from the phase to flowering ( $16,94 \pm 0,22$  %) increases to the phase of wax ripeness ( $41,57 \pm 0,13$  %), in the fruiting phase the content of hemicelluloses becomes 2,2 times less than in the phase of wax ripeness ( $18,91 \pm 0,31$  %).

The time of complete hydrolysis of WSPC, PS and HC during which monosaccharides accumulate in the maximum amount was studied by spectrophotometry. To do this, we quantified the content of monosaccharides in the hydrolysate obtained after 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 and 3 hours of hydrolysis. It was found that in the hydrolysis of WSPC,

the maximum content of neutral monosaccharides is reached in 2 h and is  $17,80 \pm 0,36$  %. Pectin substances are completely hydrolyzed in 3 h and the content of neutral monosaccharides is  $44,91 \pm 0,21$  %. For hemicellulose 1 hour is enough to get the largest amount of monosaccharides, with their content is  $87,24 \pm 1,14$  %.

The LC method found that WSPC, isolated from the anise herb, contains two monosaccharides - glucose and rhamnose. Rhamnose with a content of  $215,5 \pm 0,02$  mg/g is the predominant sugar, glucose is present in much smaller quantities –  $17,50 \pm 0,04$  mg/g. The glucose content in the PS is approximately the same –  $12,31 \pm 0,02$  mg/g. There is no rhamnose in the PS; galactose and arabinose are present in amounts of  $59,8 \pm 0,04$  mg/g and  $69,5 \pm 0,03$  mg/g, respectively. Taking into account the results of studies of the pharmacological properties of WSPC and PS, isolated from the anise herb, we can assume that the presence of these substances causes a high laxative effect of PS.

Malic, citric, and succinic acids were found in the herb and fruits of anise, and citric acid in fruit meal. Electrochemical methods for establishing the total content of this group of BAS in herb (2,30-3,53 %), fruits (2,88 %) and fruit meal (1,59 %) have been developed. The conductometric method corresponds to the following validation parameters: specificity, linearity, accuracy, precision, robustness and can be used to quantify the amount of free organic acids in the raw material of anise.

The presence of 10 amino acids in the herb was detected; 8 - in the fruits and 5 - in the meal of anise fruits. In all tested samples of raw materials were identified: glutamic acid, glycine, isoleucine, valine, methionine. The presence of proline and threonine in the herb was found in contrast to fruits and fruit meal. The spectrophotometric method showed that the highest content of the sum of amino acids ( $0,198 \pm 0,04$  mg/g) in the herb of anise is contained in the flowering phase, the smallest amount - in the fruiting phase ( $0,069 \pm 0,01$  mg/g). The content of the sum of amino acids ( $0,15 \pm 0,06$  mg/g) in fruits is 8,33 times higher than in fruit meal ( $0,018 \pm 0,01$  mg/g).

The qualitative composition and quantitative content (direct spectrophotometry) of hydroxycinnamic acids in raw materials were determined. The largest amount of them ( $1,67 \pm 0,08$  %) is contained in the herb of anise in the pre-flowering phase. As the plant matures, the content decreases and reaches a minimum in the fruiting phase

( $0,55 \pm 0,08$  %); in the fruits of hydroxycinnamic acids 7,36 times more ( $0,81 \pm 0,05$  %) than in fruit meal ( $0,11 \pm 0,07$  %).

In the study of 60 % methanolic extract of anise herb by liquid chromatography, the presence of six hydroxycinnamic acids was found. The largest amounts contain chlorogenic (1,33 mg/g) and *p*-coumaric acids (1,06 mg/g). Sinapic acid is detected in the amount of 0,25 mg/g, the content of syringic and *trans*-ferulic acids is approximately the same and is 0,10 mg/g and 0,11 mg/g, respectively. The content of *trans*-cinnamic acid (0,02 mg/g) was found in the smallest amount. At the same time, gallic, *p*-hydroxyphenylacetic, caffeic and quinic acids were not detected in the raw materials. According to the results of spectrophotometric determination of the antioxidant activity of methanol extract of anise herb, it was found that the level of its activity (91,68 %) is almost not inferior to ascorbic acid (93,99 %).

The qualitative composition and quantitative content of polyphenolic compounds in the herb of anise were studied by HPLC. It was found that chlorogenic acid predominates (4,409 mg/g); the amount of hydroxycinnamic acids is determined at the level of 1,221 mg/g. Significant amounts of catechins (3,104 mg/g), apigenin derivatives (3,077 mg/g) and luteolin (1,864 mg/g) also accumulate in the herb. The content of rutin and myricetin derivatives was detected at the level of 0,1 – 0,2 mg/g, in minor amounts there are quercetin (0,028 mg/g), naringenin derivatives (0,02 mg/g), apigenin (0,0 mg/g) and hesperetin (0,002 mg/g). The total polyphenol content was 17,57 mg/g. Using the potentiometric method using a solution of a mixture of compounds  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$  as a mediator system, the level of antioxidant activity of polyphenolic compounds of anise herb was determined. It was found that polyphenolic compounds of anise herb detect AOA at the level of  $67,76 \pm 0,05$  mmol/g.

Analysis of the fatty acid composition of anise herb was performed by gas chromatography with mass spectrometric detection revealed 11 fatty acids. Of these, saturated fatty acids are 9, unsaturated - 2 compounds. Among saturated fatty acids, palmitic acid (11,20 mg/g) predominates; unsaturated -  $\alpha$ -linolenic and linoleic are contained in approximately equal amounts – 5,23 and 4,99 mg/g, respectively. The total content of saturated fatty acids in herb is 16,07 mg/g, and unsaturated – 10,22 mg/g.

The study of the component composition of the volatile fraction of anise herb was also carried out by gas chromatography mass spectrometry. The presence of 11 components with a total content of 3,41 mg/g was established. The volatile fraction of anise herb is dominated by *trans*-anethole (1,10 mg/g), isoeugenol acetate (0,91 mg/g) and tellungianin G (0,84 mg/g).

Analysis of the lipophilic fraction was performed spectrophotometrically. In the herb of anise the total content of chlorophylls is  $1,344 \pm 0,01$  mg/l, and carotenoids –  $0,196 \pm 0,02$  mg/l, in the fruits of chlorophylls  $1,432 \pm 0,02$  mg/l, carotenoids  $0,225 \pm 0,05$  mg/l, in fruits meal - chlorophylls  $1,365 \pm 0,05$  mg/l, carotenoids  $0,188 \pm 0,04$  mg/l.

19 macro-, micro- and ultramicroelements were identified and established in the herb and fruits of anise by the method of atomic emission spectrometry. The distribution of elements by number indicates that the dominant are K, Ca, Na, Mg, Si, P. The content of potassium (2400 mg/100 g), calcium (690 mg/100 g) and sodium (215 mg/100 g) in the herb slightly higher than in fruits (2050, 530, 100 mg/100 g, respectively), but magnesium, silicon and phosphorus are slightly higher in fruits. The same dependence is observed for Al, Fe, Zn, Mn, Cu; moreover, the content of these elements in different raw materials can vary several times - the amount of iron in the fruits (34 mg/100 g) is almost 6 times higher than in herb (6 mg/100 g), copper - almost 4 times. The content of other elements in the test raw material was less than 0,1 mg/100 g and, accordingly, the maximum permissible concentrations of toxic elements are not exceeded.

According to the SPhU established morphological and anatomical diagnostic features, as well as numerical and technological parameters of anise herb - weight loss during drying, total ash, impurities, bulk volume, bulk density, specific gravity, bulk density, porosity, free volume of the layer, absorption coefficient by various extractants.

The QCM project «*Pimpinella anisum* herb» is developed. It is proposed to carry out identification by TLC in the presence of glucose, galactose and arabinose, quantitative determination - by gravimetric method on the content of pectin substances (not less than 13,0 %). 5 batches of raw materials were analyzed for correspondence with these requirements.

The technology of obtaining WSPC and PS from fruits and herb of anise has been developed. For a new herbal medicine - pectins from the herb of anise («Pectan»), standardization parameters were proposed and 5 batches were analyzed for correspondence with these requirements; developed the project QCM «*Pimpinella anisum* herb pectin substances».

The conducted pharmacological researches revealed acute toxicity, antimicrobial activity and laxative effect of WSPC and PS isolated from the anise herb.

The composition and technology of obtaining effervescent granules of PS from anise herb are substantiated, their standardization according to the indicators "Decomposition" and "Quantitative content of pectin substances" is carried out.

*Key words:* *Pimpinella anisum*, herb, fruits, fruit meal, biological active substances, pectin substances, laxative effect, effervescent granules.



## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	19
ВСТУП .....	20
РОЗДІЛ 1 АНІС ЗВИЧАЙНИЙ – ПЕРСПЕКТИВНЕ ДЖЕРЕЛО БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН (Огляд літератури) .....	27
1.1 Коротка ботанічна характеристика анісу звичайного .....	27
1.2 Походження, географічне поширення та ресурси анісу звичайного .....	28
1.3 Хімічний склад анісу звичайного .....	28
1.4 Застосування анісу звичайного в медицині та народному господарстві .....	39
Розділ 2 ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	45
2.1 Об'єкти дослідження .....	45
2.2 Відомості про обладнання, методи і реактиви .....	45
2.3 Методики визначення БАР в сировині анісу звичайного .....	48
РОЗДІЛ 3 ВИВЧЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ І ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БАР В ПЛОДАХ, ШРОТІ ПЛОДІВ І ТРАВІ АНІСУ ЗВИЧАЙНОГО.....	67
3.1 Визначення полісахаридів.....	67
3.2 Визначення органічних кислот .....	72
3.3 Визначення амінокислот .....	79
3.4 Визначення гідроксикоричних кислот.....	80
3.5 Визначення флавоноїдів.....	83
3.6 Визначення поліфенольних сполук.....	84
3.7 Вивчення жирнокислотного складу трави анісу звичайного .....	91
3.8 Вивчення компонентного складу легкої фракції трави анісу звичайного .....	93
3.9 Визначення хлорофілів і каротиноїдів.....	95

	18
3.10 Вивчення елементного складу.....	96
3.11 Вивчення продуктів комплексної переробки плодів і трави анісу звичайного.....	98
Висновки до розділу 3 .....	101
<b>РОЗДІЛ 4 СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТРАВИ АНІСУ ЗВИЧАЙНОГО. ОДЕРЖАННЯ, СТАНДАРТИЗАЦІЯ І ПІДТВЕРДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ З ТРАВИ АНІСУ ЗВИЧАЙНОГО. РОЗРОБКА ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ ТА ЇЇ СТАНДАРТИЗАЦІЯ.....</b>	
4.1 Вивчення числових і технологічних параметрів трави анісу звичайного ...	106
4.2 Макро- та мікроскопічне дослідження трави анісу звичайного .....	108
4.3 Одержання лікарського засобу з трави анісу звичайного і його стандартизація. Встановлення фармакологічної активності.....	116
4.4 Одержання шипучих гранул на основі ПР, виділених з трави анісу звичайного.....	129
4.5 Стандартизація шипучих гранул з ПР, виділеними з трави анісу звичайного .....	132
Висновки до розділу 4 .....	133
ВИСНОВКИ.....	135
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	137
ДОДАТКИ .....	158

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

- АОА - антиоксидантна активність;
- БАР - біологічно активні речовини;
- ПХ - паперова хроматографія;
- ВРПК - водорозчинні полісахаридні комплекси;
- ВЕРХ - високоефективна рідинна хроматографія;
- ВЕРХ-УФ - високоефективна рідинна хроматографія з ультрафіолетовим детектуванням;
- ДСЗ - державний стандартний зразок;
- ДФУ - Державна Фармакопея України;
- ГХ/МС - газова хроматографія з мас-спектрометричним детектуванням;
- ГЦ - геміцелюлоза;
- ДФПГ - 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил;
- РХ - рідинна хроматографія;
- ІК<sub>50</sub> - інгібуюча концентрація;
- ІХ - іонна хроматографія;
- КП - коефіцієнт поглинання;
- КЕ - капілярний електрофорез;
- ЛД<sub>50</sub> - середня смертельна доза;
- ЛВБК - лігнін-вуглевод-білковий комплекс;
- ПР - пектинові речовини;
- ТШХ - тонкошарова хроматографія;
- ФСЗ - фармакопейний стандартний зразок;
- х.ч. - хімічно чистий;
- ч.д.а. - чистий для аналізу;
- I<sub>L</sub> - ступінь подібності;
- I<sub>T</sub> - індекс подібності часу утримування;
- RSD - відносне стандартне відхилення;
- SD - стандартне відхилення

## ВСТУП

### **Обґрунтування вибору теми дослідження**

Вивчення лікарської рослинної сировини і створення на його основі лікарських препаратів залишається перспективним напрямком в терапії ряду захворювань. Однією з широко культивованих в Україні та багатьох країнах світу рослин є аніс звичайний (*Pimpinella anisum* L.), плоди якого є фармакопейною сировиною і який широко використовується в народній медицині як вітрогінний, відхаркувальний, жарознижувальний, сечогінний і протиспазматичний засіб.

У медичній практиці застосовуються ряд препаратів на основі анісової олії, після виробництва якої залишається велика кількість шроту плодів, а також трави рослини, що містять значну кількість біологічно активних речовин і практично не вивчених.

Комплексне порівняльне фармакогностичне вивчення і стандартизація сировини анісу звичайного, а саме плодів, шроту плодів і трави анісу звичайного є актуальним і обґрунтованим.

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

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану Проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексних наукових робіт Національного фармацевтичного університету за темами «Фармакогностичне вивчення біологічно активних речовин, створення лікарських засобів рослинного походження» (№ державної реєстрації 0103U000476) і «Фармакогностичне вивчення лікарської рослинної сировини і розробка фітотерапевтичних засобів на її основі» (№ державної реєстрації 0103U000476).

### **Мета і завдання дослідження**

Метою дисертаційної роботи є комплексне фармакогностичне вивчення плодів, шроту плодів і трави анісу звичайного, стандартизація сировини, створення лікарського рослинного засобу на основі БАР анісу, розробка методів контролю якості на лікарську рослинну сировину і лікарський засіб.

Для досягнення поставленої мети, необхідно було вирішити наступні завдання:

- ✓ проаналізувати і узагальнити дані першоджерел по ботанічній характеристиці, ареалах поширення, вивченню хімічного складу і застосування в медицині анісу звичайного;
- ✓ вивчити і виділити діагностичні макро- і мікроскопічні ознаки сировини анісу звичайного, дослідити серії трави анісу звичайного відповідно до вимог ДФУ;
- ✓ дослідити якісний склад і кількісний вміст основних груп біологічно активних сполук в сировині;
- ✓ розробити методики кількісного визначення органічних кислот в сировині з використанням сучасних електрохімічних методів, провести їх валідацію;
- ✓ встановити технологічні та числові параметри досліджуваної сировини, вибрати параметри його стандартизації;
- ✓ отримати фітозасоби з досліджуваного об'єкта і провести його стандартизацію;
- ✓ дослідити фармакологічну активність лікарських рослинних засобів з сировини анісу звичайного;
- ✓ розробити методики контролю якості на сировину і фітозасоби.

*Об'єкт дослідження* - комплексне фармакогностичне вивчення плодів, шроту плодів і трави анісу звичайного і одержаних фітозасобів.

*Предмет дослідження* - визначення, ідентифікація, кількісне визначення БАР (фенольних сполук, органічних і жирних кислот, полісахаридів, компонентів ефірної олії), макро- і мікроелементів; визначення морфологічних і анатомічних діагностичних ознак трави; стандартизація сировини, встановлення її технологічних параметрів; розробка технології отримання лікарського рослинного засобу, встановлення його фармакологічного профілю і стандартизація.

### **Методи дослідження**

Макроскопічні, органолептичні і мікроскопічні - опис, ідентифікація, стандартизація сировини; фізичні - визначення в масі при висушуванні, загальної золи; фізико-хімічні - тонкошарова хроматографія, паперова хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія, хромато-мас-спектрометрія, атомно-

емісійна спектрометрія, спектрофотометрія в УФ- і видимій області спектра, титриметрія з потенціометричним і кондуктометричним встановленням кінцевої точки титрування; технологічні - визначення об'ємної маси, питомої маси, насипної маси, пористості, порозності, вільного об'єму шару, плинності, коефіцієнта поглинання екстрагенту; фармакологічні *in vivo* і *in vitro* – АОА, послаблювальна і антимікробна дія за стандартними методиками; статистичну обробку отриманих експериментальних даних проводили за допомогою програм STATISTICA для Windows 95, Microsoft Excel 2010 відповідно до вимог ДФУ.

### **Наукова новизна отриманих результатів**

Вперше проведено комплексне порівняльне фармакогностичне вивчення сировини плодів, шроту плодів і трави анісу звичайного. Досліджено якісний склад і кількісний вміст біологічно активних речовин сировини, ліпофільних фракцій, водних і спиртових екстрактів і ефірних олій. Ідентифіковані фенольні сполуки, а саме гідроксикоричні кислоти, зокрема хлорогенова, *n*-кумарова, сінапова і флавоноїди - рутин, кверцетин, глікозиди лютеоліна і апігеніна, встановлений рівень їх антиоксидантної активності; компоненти ефірної олії (*транс*-анетол, *ізо*-евгенола ацетат, теллунгіанін G); карбонові кислоти - жирні (пальмітинова, лінолева,  $\alpha$ -ліноленова) і низькомолекулярні аліфатичні (яблучна, лимонна, бурштинова); хлорофіли і каротиноїди; елементи (калій, натрій, кальцій, магній).

Вперше отримані - водорозчинний полісахаридний комплекс (вихід 4,73-7,20%), пектинові речовини (вихід 7,11-15,25%) і геміцелюлози (вихід 16,94-41,57%) з трави анісу звичайного, вивчено оптимальний час гідролізу, ідентифіковані моносахариди (ВРПК - глюкоза, рамноза; ПР - глюкоза, галактоза, арабіноза).

Виявлено наявність 10 амінокислот в траві, 8 – в плодах і 5 – в шроті плодів анісу звичайного. Встановлено вміст суми амінокислот в сировині.

Вперше розроблені методики кількісного визначення органічних кислот в сировині з використанням сучасних електрохімічних методів аналізу, проведена їх валідація.

Вперше методом атомно-емісійної спектроскопії ідентифіковані і встановлені в сировині 19 елементів. Вміст важких металів встановлено в межах, нормованих ДФУ.

Вперше в процесі дослідження були визначені і описані відповідно вимогам ДФУ діагностичні ознаки трави анісу звичайного, визначені параметри стандартизації сировини трави анісу звичайного.

Розроблено технологію отримання ВРПК і пектинових речовин з плодів і трави анісу звичайного. Для отриманого лікарського рослинного засобу з трави анісу звичайного запропоновано параметри стандартизації по втраті в масі при висушуванні, загальній золі і кількісному вмісту полісахаридів.

Вперше встановлена гостра токсичність, антимікробна і послаблювальна активність ВРПК і ПР трави анісу звичайного. Новизна досліджень захищена Патентом України на корисну модель № 142351 від 25.05.2020.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Отримані результати фармакогностичного і фармакологічного дослідження свідчать про можливість проведення комплексної переробки анісу звичайного і використання лікарських рослинних засобів на його основі в практичній медицині.

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

Дані дослідження морфолого-анатомічної будови і хімічного складу сировини анісу звичайного впроваджені в навчальний процес і науково-дослідну роботу ряду установ вищої освіти України і Узбекистану: кафедри якості, стандартизації та сертифікації ліків ІПКСФ Національного фармацевтичного університету; кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету; кафедри аналітичної хімії Ташкентського фармацевтичного інституту.

### **Особистий внесок здобувача**

Безпосередньо автором:

- проведено інформаційно-патентний пошук по темі дисертаційної роботи;
- досліджені серії зразків трави анісу за морфолого-анатомічними ознаками;
- проведено порівняльне вивчення хімічного складу і кількісного вмісту основних груп біологічно активних речовин в плодах, шроті плодів і траві анісу звичайного;
- виділені і стандартизовані пектинові речовини з трави анісу;
- проаналізовано та систематизовано результати дослідження послаблювальної дії ВРПК і пектинових речовин трави анісу;
- одержані шипучі гранули на основі пектинових речовин трави анісу і проведена їх стандартизація.

Наукові роботи опубліковані в співавторстві з Колісником С.В., Масловим О.Ю., Гриценком І.С., Авазовим О., Комісаренко М.А., Колісник О.В., Кизим О.Г., Петуховою І.Ю., Динник К.В., Коретнік О.І., Марченко М.В., Абдуллаєвою А.Ф., Колісник Ю.С., Фатхуллаєвою М., Шабіталовим А.А., Газієвим А.С., Гришиною О.В., Ханіним В.А., Журавель І.О., Алтуховим О.О., Гонтовою Т.М., Гордій К.Р., Чінібековою Н.К., Хамдамовим М.М., Здориком О.А.

Співавторами наукових робіт є науковий керівник і вчені, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий внесок.

Постановка мети, завдань дослідження, а також обговорення і узагальнення результатів проведено за участю наукового керівника.

### **Апробація результатів дисертації**

Основні положення роботи викладені та обговорені на науково-практичних конференціях різного рівня: Міжнародна науково-практична конференція «Міждисциплінарний підхід в рішенні естетичних проблем в практиці косметолога» (Харків, 13 березня 2019 р.); VI Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасний рух науки» (Дніпро, 4 – 5 квітня 2019 р.); XXVI Міжнародна науково-практична конференція молодих учених та студентів «Topical issues of new medicines development» (Харків, 10-12 квітня 2019 р.); I Науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та



клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 15 травня 2019 р.); VIII Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (Харків, 7-8 листопада 2019 р.); IV Міжнародна науково-практична інтернет – конференція «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 14-15 листопада 2019 р.); Xalqaro olimlar ishtirokidagi respublika ilmiy-amaliy anjumani materiallari «Farmatsevtika sohasining bugungi holati: Muammolar va istiqbollar» (Toshkent, 15-16 noyabr 2019 y.); II Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 21 листопада 2019 р.); IX міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасний рух науки» (Дніпро, 2-3 грудня 2019 р.); I Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Інтеграція освіти, науки та бізнесу в сучасному середовищі: зимові диспути» (Дніпро, 6-7 лютого 2020 р.); 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.); IV Міжнародна науково-практична дистанційна конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів» (Харків, 20 березня 2020 р.); Міжнародна науково-практична конференція, присвячена пам'яті академіка УАН О.І. Тихонова «Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці» (Харків, 25 березня 2020 р.); XXVII Міжнародна науково-практична конференція молодих учених та студентів «Topical issues of new medicines development» (Харків, 8-10 квітня 2020 р.); II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Інтеграція освіти, науки та бізнесу в сучасному середовищі: літні диспути» (Дніпро, 17-18 серпня 2020 р.); Международная научно-практическая конференция «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы» (Тошкент, 13 ноября 2020 г.); II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Інтеграція освіти, науки та бізнесу в сучасному середовищі: зимові диспути» (Дніпро, 4-5 лютого

2021 р.); XXVIII Міжнародна науково-практична конференція молодих учених та студентів, присвячена 150-річчю з дня народження М.О. Валяшка «Topical issues of new medicines development» (Харків, 18-19 березня 2021 р.); V Международный научный конгресс, посвященный 90-летию Азербайджанского медицинского университета и 80-летию высшего фармацевтического образования в Азербайджане «Современные проблемы фармации» (Баку, 2021); Міжнародна науково-практична дистанційна конференція, присвячена 100-річчю кафедри аналітичної хімії НФаУ «Сучасні аспекти створення лікарських засобів» (Харків, 16 квітня 2021 р.).

### **Структура і обсяг дисертації**

Дисертаційна робота викладена на 175 сторінках машинописного тексту, складається з анотації, вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел, додатків. Обсяг основного тексту становить 126 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 41 таблицею і 25 рисунками. Список використаних джерел містить 184 найменування, з них 63 кирилицею і 121 латиною.

**РОЗДІЛ 1**  
**АНИС ЗВИЧАЙНИЙ – ПЕРСПЕКТИВНЕ ДЖЕРЕЛО БІОЛОГІЧНО**  
**АКТИВНИХ РЕЧОВИН**  
**(Огляд літератури)**

1.1 Коротка ботанічна характеристика анісу звичайного

Родина Селерові (*Apiaceae* або *Umbelliferae*) представлена 3780 видами в 434 родах [1]. Рід Бедринець (*Pimpinella*) включає 170-180 видів рослин, які ростуть по всій земній кулі, вважається найбільшим в родині селерових [2]. Одним з видів цього роду є аніс звичайний (*Pimpinella anisum* L.).

*Pimpinella* - середньовічна назва рослини неясної етимології; *anisum* від грецької назви рослини *anison* [3]. Інші назви: аніс (рус.); аніс (укр.); *anise* (англ.); *anisun* (араб.); *badian* (перськ.); *anis* (фр.); *anis-biberrell* (нім.) [4, 5, 6, 7].

*Опис.* Трав'янистий однорічник. Корінь тонкий, веретеноподібний. Нижні листя черешкові, ниркоподібні, цільні, крупно-зубчасті або лопатеві. Середні листя трійчасті з клиноподібними бічними сегментами. Верхні листки від короткочерешкових до сидячих у вузьких піхвах; перисторозсічені з вузькими кінчиками [8].

Квітки дрібні, суцвіття представляють собою зонтики середнього розміру з 7-15 опушеними променями. Обгортки зазвичай немає, але іноді буває одиничний приквітник. Чашолистків майже немає. Пелюстки білі, довжиною близько 1,5 мм, з війчастим краєм; опушені зовні, з довгим зазубреним кінчиком [9]. Цвіте в червні-липні.

Плід (схізокарпій або кремокарпій) яйцевидний або серцеподібний, з боків приплющений, 3-5 мм в довжину і 2-3 мм в ширину, від сірувато-зеленого до сірувато-коричневого кольору; мерикарпій широкояйцеподібний, 5-реберний з короткими волосками і численними олійними каналцями [9]. Плодоносить в серпні.

Насіння має солодкий смак, характерний запах і аромат, що підсилюються при подрібненні. Насіння грубе на дотик; первинні гребні тонкі, світлі і однорідні по ширині, короткі роздвоєні стілоподи на вершині [10].

### 1.2 Походження, географічне поширення та ресурси анісу звичайного

Точне місце походження анісу невідомо [11], але його батьківщиною вважається Середземномор'я (Мала Азія) [12].

У дикому вигляді аніс зустрічається тільки на острові Хіос (Егейський архіпелаг). Культивується майже у всіх країнах світу: Італії, Франції, Голландії, Японії, Іспанії, Туреччині, Індії, Китаї, Мексиці, Чилі та ін. [13].

Промислові плантації анісу є в багатьох країнах Північної Африки, Південної Європи, Центральної Америки. У Росії культура анісу була розпочата більше 150 років тому в Воронежській губернії. В даний час основним районом промислового вирощування анісу звичайного як і раніше залишається Воронежська область, крім того, його культивують у Білгородській області, на Північному Кавказі та Україні [14].

Найбільш сприятливими для анісу вважаються рівні ділянки чорноземних родючих ґрунтів, які мають гарну структуру і чистих від бур'янів [13].

В якості лікарської сировини використовуються плоди анісу звичайного - *Fructus Anisi vulgaris*, які заготовляють під час побуріння 60-80 % зонтиків. Траву скошують машинами, досушують у валках, а потім обмолочують і очищають від домішок. Зберігають в аптеках в ящиках, банках або бляшанках; на складах - в мішках [3].

### 1.3 Хімічний склад анісу звичайного

А. Одех і А. Аллаф представили результати дослідження ефірної олії анісу звичайного (табл. 1.1) [15].

Таблиця 1.1

## Склад ефірної олії плодів анісу звичайного

№	Ідентифіковані сполуки	Концентрація (%)
1	$\alpha$ -Пінен	0,59
2	$\beta$ -Пінен	0,12
3	$\beta$ -Мірцен	0,50
4	$\alpha$ -Феландрен	0,17
5	$\beta$ -Карен	0,21
6	$\alpha$ -Терпінен	0,74
7	<i>n</i> -Цимен	0,87
8	Лімонен	3,54
9	<i>z</i> -Оцимен	0,90
10	$\gamma$ - Терпінен	0,50
11	<i>цис</i> -Ліналоол оксид	0,41
12	4-Терпінен	0,79
13	Естрагол	3,70
14	<i>цис</i> -Анетол	0,30
15	<i>транс</i> -Анетол	52,20
16	<i>цис</i> -Дигідрокарвон	0,21
17	Карвон	0,12
18	$\beta$ -Елемен	0,60
19	Каріофілен	0,20
20	$\alpha$ -Гумулен	0,47
21	Е,Е-Фарнезен	0,13
22	Фенхон	10,30
23	Метилевгенол	0,50
24	$\beta$ -Бісаболен	7,01
25	<i>n</i> -Анісовий альдегід	1,40
26	$\alpha$ -Копаєн	2,10
27	Гермакрен	0,48
28	<i>цис</i> -Ментон	1,21
29	Метилізоевгенол	0,14
30	$\gamma$ -Кадінен	0,42
31	Камфора	0,28
32	Еукаліптол	0,40

Були ідентифіковані 32 речовини, серед яких переважали *транс*-анетол (52,2 %), фенхон (10,3 %),  $\beta$ -бісаболен (7,0 %), естрагол (3,7 %), лімонен (3,54 %).

В цій же роботі представлені результати дослідження поліфенольних сполук, які містяться в 50 % етанольному екстракті плодів анісу звичайного (табл. 1.2).

Таблиця 1.2

**Вміст поліфенольних сполук в 50 % етанольному екстракті плодів анісу звичайного**

Поліфенольні сполуки	Вміст, %
Ферулова кислота	1,49
Карнезол	3,98
Карнозил	4,17
Елагова кислота	14,36
Галова кислота	1,24
Розмаринова кислота	1,33
Кверцетин	3,54
Разом	6,79

Як видно з представлених даних, в 50 % етанольному екстракті плодів анісу звичайного домінують елагова кислота (14,36 %), карнозил (4,17 %), карнезол (3,98 %) і кверцетин (3,54 %). Сумарний вміст інших речовин - до 2 %.

У той же час, Мартінсом і співр. вивчено вміст фенольних сполук в 80 % метанольному екстракті плодів анісу звичайного (табл. 1.3) [16].

Таблиця 1.3

**Вміст фенольних сполук в 80 % метанольному екстракті плодів анісу звичайного**

№	R <sub>t</sub> , хв	Сполука	Вміст в екстракті, мг/г
1	5,1	3-О-кофеїлхінна кислота	2,31 ± 0,03
2	6,0	Похідне <i>n</i> -кумарової кислоти	0,64 ± 0,01
3	7,1	4-О-кофеїлхінна кислота	2,38 ± 0,01
4	7,8	5-О-кофеїлхінна кислота	4,01 ± 0,02
5	14,0	Лютеолін-2"-О-гексозил-6-С-гексозид	0,27 ± 0,01
6	14,5	Лютеолін-2"-О-пентозил-6-С-гексозид	1,48 ± 0,01
7	15,8	Лютеолін-6-С-глюкозид	3,37 ± 0,01
8	17,0	Апігенін-6-С-гексозид-7-О-гексозид	1,86 ± 0,02
9	17,7	Апігенін-2"-О-пентозил-6-С-гексозид	11,55 ± 0,07
10	18,1	Апігенін-2''-О-пентозил-6-С-гексозид	0,61 ± 0,02
11	18,7	Апігенін-2'''-О-пентозил-6-С-гексозид	1,33 ± 0,05
12	19,0	Метиллютеолін-2"-О-пентозил-6-С-гексозид	0,63 ± 0,02
13	19,5	Апігенін-6-С-глюкозид	5,56 ± 0,07
14	20,4	Лютеолін-6-С-глюкозид	1,43 ± 0,01
15	22,0	3,5-О-Дикофеїлхінна кислота	3,16 ± 0,05
16	24,7	4,5-О-Дикофеїлхінна кислота	1,51 ± 0,05
		Фенольні кислоти	14,01 ± 0,06
		Флавоноїди	28,08 ± 0,17
		Фенольні сполуки	42,09 ± 0,11

Було встановлено, що в аналізованому екстракті насіння анісу звичайного з глікозидів апігеніну вміст апігенін-2''-О-пентозил-6-С-гексозиду найбільший ( $11,55 \pm 0,07$  мг/г). З глікозидів лютеоліна, переважає лютеолін-6-С-глюкозид. Кількість 3-О-кофеїлхіної і 4-О-кофеїлхіної кислот майже однакова ( $2,31 \pm 0,03$  і  $2,38 \pm 0,01$ , відповідно), а 5-О-кофеїлхінна кислота за вмістом серед гідроксикоричних кислот ( $4,01 \pm 0,02$  мг/г) є домінуючою.

Слід зазначити, що сумарний вміст фенольних кислот ( $14,01 \pm 0,06$  мг/г) у 2 рази менше ніж флавоноїдів ( $28,08 \pm 0,17$  мг/г), при сумарному вмісті фенольних сполук  $42,09 \pm 0,11$  мг/г.

Дослідники Університету Камеріно (Італія) провели фітохімічне дослідження ефірної олії і полярних сполук анісу [17]. Ідентифіковано 4 гідроксикоричних кислоти (ферулова кислота, хлорогенова кислота, неохлорогенова кислота і 3,5-дикофеїлхінна кислота) з найбільшим вмістом неохлорогенової кислоти. З глікозидів апігеніна і лютеоліна домінують апігенін-2''-О-пентозил-6-С-гексозид ( $0,721$  мг/г), лютеолін-6-С-гексозид ( $0,532$  мг/г). Вміст епікатехіну ( $0,060$  мг/г) у 2 рази перевищує вміст катехіну ( $0,033$  мг/г). Лютеолін ( $0,209$  мг/г) за кількістю в 3 рази переважає апігенін ( $0,066$  мг/г).

У спільній роботі вчених Тунісу і Бельгії були проаналізовані етилацетатний і етанольний екстракти плодів анісу звичайного, заготовлених в Тунісі і Єгипті. В етилацетатному екстракті виявлені по 6 фенольних кислот, 5 флавоноїдів і 1 кумарин, в етанольному екстракті - 5 фенольних кислот і 6 флавоноїдів (табл. 1.4). Серед фенольних кислот, виявлених в етилацетатному екстракті плодів анісу звичайного з обох регіонів домінувала хлорогенова кислота  $2,99 \pm 0,01$  мг/мл і  $1,85 \pm 0,01$  мг/мл відповідно. У складі флавоноїдів, ідентифікованих в цьому ж екстракті, нарингін міститься в найбільшій кількості ( $3,27 \pm 0,03$  мг/мл і  $2,55 \pm 0,01$  мг/мл відповідно). В екстракті не ідентифіковано кавову кислоту (фенольна кислота), ларцитрін, цирсіматрін (флавоноїди). Етанольний екстракт багатий розмариновою кислотою  $1,38 \pm 0,04$  мг/мл і  $1,18 \pm 0,03$  мг/мл; ларцитріном  $1,88 \pm 0,07$  мг/мл і  $1,54 \pm 0,03$  мг/мл відповідно. В етанольному екстракті плодів анісу

звичайного не встановлено присутність хлорогенової і сірінгової кислот (фенольні кислоти), кумарину (кумарини), апігеніну (флавоноїди) [18].

Таблиця 1.4

**Фенольні сполуки етилацетатних і етанольних екстрактів плодів анісу звичайного**

Сполука	Етилацетатний екстракт		Етанольний екстракт	
	Туніс	Єгипет	Туніс	Єгипет
	мг/мл	мг/мл	мг/мл	мг/мл
Фенольні кислоти	4,68	3,18	1,88	1,40
Галова кислота	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,07 ± 0,01
Хлорогенова кислота	2,99 ± 0,01	1,85 ± 0,01	-	-
Кавова кислота	-	-	0,20 ± 0,02	0,05 ± 0,01
Сірінгова кислота	0,03 ± 0,01	0,10 ± 0,01	-	-
<i>n</i> -Кумарова кислота	0,53 ± 0,00	0,28 ± 0,01	0,21 ± 0,03	0,04 ± 0,01
Розмаринова кислота	1,11 ± 0,01	0,79 ± 0,01	1,38 ± 0,04	1,18 ± 0,03
Елагова кислота	0,02 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,06 ± 0,01
Флавоноїди	5,25	4,27	5,41	4,20
Епікатехін-3- <i>O</i> -галлат	0,14 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,64 ± 0,03	0,39 ± 0,03
Рутин	0,12 ± 0,02	0,19 ± 0,01	0,82 ± 0,01	0,55 ± 0,01
Кверцетин	0,51 ± 0,03	0,41 ± 0,01	0,99 ± 0,02	0,69 ± 0,02
Нарингін	3,27 ± 0,03	2,55 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,02 ± 0,00
Апігенін	0,57 ± 0,00	0,49 ± 0,01	-	-
Ларцитрін	-	-	1,88 ± 0,07	1,54 ± 0,03
Цирсиматрін	-	-	1,04 ± 0,05	1,01 ± 0,02
Кумарини	0,64	0,56	-	-
Кумарин	0,64 ± 0,01	0,56 ± 0,01	-	-
Неідентифіковані	0,25 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,15 ± 0,02	0,13 ± 0,01
Разом	10,18	7,65	7,44	5,73

Проводячи порівняльний аналіз метанольних і водних елюатів плодів анісу звичайного Фужімату Е. і співавт. (табл. 1.5, 1.6) встановили наявність в метанольному елюаті 3 багатоатомних спиртів з переважанням *трео*-анетолгліколя (103 мг/г) і 41 глікозиду.



Таблиця 1.5

## Склад метанольного елюату плодів анісу звичайного

Сполука	Вміст, мг/г
Багатоатомні спирти	
1. трео-Анетолгліколь	103
2. еритро-Анетолгліколь	43
3. (1'R,2'R)-гваякол гліцерол	4
Глікозиди	
1. (E)-4-кумариловий спирт 4-O-β-D- глюкопіранозид	283
2. Бензил β-D-глюкопіранозид	89
3. Метилсінгат 4-O-β-D-глюкопіранозид	80
4. (1'R,2'R)-гваяколгліцерол 3'-O-β-D-глюкопіранозид	73
5. (1'R,2'R)-4-O-метилгваякол гліцерол 3'-O-β-D-глюкопіранозид	68
6. Ікаризид D1	62
7. трео-1'-(4- гідроксифеніл)пропан 1'2'-діол 4-O-β-D-глюкопіранозид	54
8. Ікаризид F2	39
9. 1'-(4- гідроксифеніл)пропан-2',3'-діол 4-O-β-D-глюкопіранозид	35
10. Ікаризид D2	33
11. бетулалбузид	30
12. (3R,6E)-8-гідроксиліналоол 3-O-β-D-глюкопіранозид	27
13. Ваніллозид	23
14. 4-Гідрокси-3,5-диметоксибензиловий спирт 4-O-β-D-глюкопіранозид	21
15. 2-С-Метил-D-ерітрітол 1-O-β-D-(6-гідроксибензоїл)глюкопіранозид	20
16. (1'R,2'S)-анетолгліколь 2'-O-β-D-глюкопіранозид	18
17. 4-Гідроксифенілпропіл-β-D-глюкопіранозид	17
18. (2S)-2-бутанол-β-D-апіофуранозил-(1→6)-β-D-глюкопіранозид	13
19. еритро-1'-(4-гідроксифеніл)пропан-1',2'-діол-4-O-β-D-глюкопіранозид	12
20. (E)-1'-(2-гідрокси-5-метоксифеніл)пропен-β-O-D-глюкопіранозид	11
21. (1'S,2'S)-1'-(4- гідроксифеніл)пропан-1',2'-діол-2'-O-β-D-глюкопіранозид	10
22. (1'S,2'R)-анетолгліколь 2'-O-β-D-глюкопіранозид	9
23. (E)-3- гідроксіанетол-β-D-глюкопіранозид	9
24. 3-гідроксиестрагол-β-D-O-глюкопіранозид	9
25. (1'S,2'R)-гваякол гліцерол 3'-O-β-D-глюкопіранозид	9
26. (1'R,2'R)-анетолгліколь 2-O-β-D-глюкопіранозид	8
27. (1'R,2'R)-1'-(4-гідроксифеніл) пропан-1',2'-діол-2'-O-D-глюкопіранозид	8
28. Тахіозид	7
29. Іканзид B2	7
30. 2-Метоксифеніл-β-D-глюкопіранозид	6
31. Ізотахіозид	6
32. 4-Гідроксибензил-β-D-глюкопіранозид	5
33. (1'R,2'S)-1'-(4-гідроксифеніл)пропан-1',2'-діол-2'-O-β-D-глюкопіранозид	4
34. 2-С-метил-D-ерітрітол 1-O-β-D-(6-O-4-метоксибензоїл) глюкопіранозид	4
35. Віридозид	4
36. (1'S,2'R)-1'-(4-гідроксифеніл)пропан-1',2'-діол-2'-O-β-D-глюкопіранозид	3
37. (Z)-4-кумариловий спирт 4-O-β-D-глюкопіранозид	3
38. Гексан-1,5-діол-1-O-β-D-глюкопіранозид	3
39. Ікаризид B1	3
40. (1'S,2'S)-анетолгліколь 2'-O-β-D-глюкопіранозид	3
41. 4-O-метилгваяколгліцерол 2'-O-β-D-глюкопіранозид	1

У водному елюаті були виявлені 5 багатоатомних спиртів і 10 глікозидів [19].

Таблиця 1.6

**Склад водного елюату плодів анісу звичайного**

Сполука	Вміст, мг/г
<b>Багатоатомні спирти</b>	
1. D-манітол	62
2. 2-C-метил-D-ерітрітол	52
3. Гліцерин	8
4. 1-Дезокситреїтол	2
5. 1-Дезокси-1-ерітрітол	2
<b>Глікозиди</b>	
1. 2-C-метил-D-ерітрітол 1-O- D- глюкопіранозид	62
2. 2-C-метил-D-ерітрітол 3-O-β-D-глюкопіранозид	46
3. 2-C-метил-D-ерітрітол 1-O-D-фруктофуранозид	32
4. 2-C-метил-D-ерітрітол 4-O-β-D-фруктофуранозид	15
5. Етан-1,2-діол β-D-глюкопіранозид	12
6. 2-C-метил-D-ерітрітол 4-O-β-D-глюкопіранозид	11
7. 2-C-метил-D-ерітрітол 3-O-β-D-фруктофуранозид	8
8. (1'R,2'R)-гваякол гліцерол 4-O-β-D-глюкопіранозид	6
9. Етил-β-D-глюкопіранозид	6
10. 1-Дезокси-1-ерітрітол 3-O-β-D-глюкопіранозид	2

Методом газової хроматографії-мас-спектрометрії в ефірних оліях, отриманих методом гідродистиляції з плодів анісу звичайного, зібраних в центральній Туреччині, ідентифікована пальмітинова кислота (3 мг/г) [20].

Пізніше пальмітинова кислота в кількості 8 мг/г виявлена в етанольному екстракті плодів анісу. Також встановлено наявність її метилових і етилових ефірів (5 мг/г), а також ефірів стеаринової (2 мг/г) і олеїнової кислот (4 мг/г) [21].

У свою чергу дослідниками з Тунісу і Бельгії був вивчений склад жирних кислот гексанового екстракту плодів анісу звичайного (табл. 1.7) [18].

Як видно з таблиці, в плодах анісу звичайного заготовлених в Тунісі і Єгипті переважають ненасичені жирні кислоти, з яких вміст петрозелінової кислоти найбільший ( $4,660 \pm 0,22$  мг/г), α-ліноленова кислота накопичується в незначних кількостях ( $0,058 \pm 0,04$ ). Серед насичених жирних кислот домінуючою є пальмітинова кислота ( $1,320 \pm 0,09$  мг/г), тоді як мінімальна кількість припадає на арахідонову кислоту ( $0,007 \pm 0,01$  мг/г). Сумарний вміст ненасичених жирних

кислот в плодах анісу звичайного (9,171 мг/г) у 14 разів більше ніж насичених (0,657 мг/г) у плодах анісу звичайного з Тунісу, а в плодах з Єгипту сумарний вміст ненасичених жирних кислот (8,063 мг/г) в 5,56 рази перевищує сумарний вміст насичених жирних кислот (1,45 мг/г).

Таблиця 1.7

**Вміст жирних кислот гексанового екстракту плодів анісу звичайного, мг/г**

Жирні кислоти	Туніс	Єгипет
<i>Насичені</i>		
Капрінова кислота	0,016 ± 0,03	0,011 ± 0,01
Лауринова кислота	0,052 ± 0,01	0,044 ± 0,02
Міристинова кислота	0,007 ± 0,01	0,002 ± 0,00
Пальмітинова кислота	0,490 ± 0,22	1,320 ± 0,09
Стеаринова кислота	0,085 ± 0,04	0,066 ± 0,01
Арахідонова кислота	0,007 ± 0,01	0,007 ± 0,00
<i>Сума</i>	0,657 мг/г	1,45 мг/г
<i>Ненасичені</i>		
Петрозелінова кислота	4,660 ± 0,22	3,840 ± 0,11
Олеїнова кислота	2,105 ± 0,08	1,847 ± 0,13
Лінолева кислота	2,299 ± 0,44	2,318 ± 0,22
α-Ліноленова кислота	0,107 ± 0,01	0,058 ± 0,04
<i>Сума</i>	9,171 мг/г	8,063 мг/г
<i>Сума насичених і ненасичених жирних кислот</i>	9,828 мг/г	9,513 мг/г

Картніг Т. і співр. досліджували хлороформний екстракт коренів анісу звичайного, в якому виявили кумарини (скополетин 25 мг/г, умбелліферон 5 мг/г, бергаптен 1 мг/г) і фітостерини (стигмастерол 20 мг/г) [22].

Пізніше французькими вченими вивчені кумарини, що містяться в плодах анісу звичайного [23]. В результаті проведених досліджень встановлено вміст умбелліферону, 4'-геранілоксиферулової кислоти, 7-ізопентеніл оксикумарину, аураптену і умбелліпреніну.

Вченими Туніського Університету з плодів анісу були виділені водорозчинні полісахаридні комплекси та визначено якісний склад і кількісний вміст моносахаридів отриманих комплексів. У їх складі були виявлені 8 моносахаридів.

У найбільшій кількості містяться галактоза (3,347 мг/г),  $\beta$ -D-глюкоза (2,671 мг/г),  $\alpha$ -D-маноза (1,821 мг/г). Вміст  $\beta$ -D-галактози, D-фруктози,  $\alpha$ -D-глюкози,  $\alpha$ -L-галактози в межах від 0,5 мг/г до 0,1 мг/г, в мінімальних кількостях визначена арабіноза (0,067 мг/г) [24].

Комбінацією аніонообмінної, гель-фільтрації і колонкової хроматографії після екстракції гарячою водою з плодів анісу звичайного були виділені фракції лігнін-вуглевод-білкових комплексів (ЛВБК) і встановлений їх хімічний склад (табл. 1.8) [25].

Як видно з таблиці, до ЛВБК входять лігнін, цукри, уронові кислоти і білки, а сумарна кількість біологічно активних речовин зменшується в такій послідовності: білки > цукри > лігнін > уронові кислоти. У складі лігніну встановлено наявність 3 ароматичних альдегідів (ванілін, сиреневий альдегід, *n*-гідроксибензальдегід), 2 фенолкарбонових кислот (ванілінова і *n*-гідроксибензойна), 1 ненасиченої ароматичної карбонової кислоти (корична кислота), 1 кетона (*n*-гідроксіацетофенон).

Виявлені цукри представлені 3 пентозами (арабіноза, ксилоза, рамноза), 2 гексозами (галактоза, глюкоза) і галактуроновою кислотою. Глюкоза домінує в усіх фракціях ЛВБК, при цьому спостерігається низький вміст ксилози. Кількість арабінози і галактуронової кислоти однакові.

З 14 амінокислот, наявність яких було встановлено в ЛВБК, вміст гліцину максимальний, а тирозину - мінімальний.

Аналізуючи їстівні рослини, Л. Манчестер і співавт. екстрагували з плодів анісу холодним етанолом мелатонін і встановили його вміст методом ВЕРХ в кількості 7 нг/г в перерахунку на масу сухої сировини [26].

Ряд робіт присвячений дослідженню мінерального складу анісу звичайного.

Д. Ібрахім в своїй статті зазначив, що плоди анісу є багатим джерелом кальцію, заліза, міді, калію, марганцю, цинку і магнію. 100 г сухого насіння містять 36,96 мг або 462 % добової норми заліза [27].

## Хімічний склад лігнін-вуглевод-білкових комплексів плодів анісу

Сполука	Вміст сполук у фракціях ЛВБК, г		
	ЛВБК 1	ЛВБК 2	ЛВБК 3
Лігнін	0,121	0,377	0,308
Сума цукрів	0,602	0,190	0,211
Уронові кислоти	0,154	0,023	0,020
Білки	0,138	0,518	0,521
<i>Мономер лігніну</i>			
Ванілін	+	+	+
Сірінгальдегід	-	-	+
<i>n</i> -Гідроксибензальдегід	+	+	+
Ванілінова кислота	-	+	+
<i>n</i> -Гідроксибензойна кислота	-	+	+
<i>n</i> -Гідроксіацетофенон	+	+	+
Корична кислота	+	+	+
<i>Склад цукрів</i>			
Арабіноза	0,182	0,428	0,242
Ксилоза	0,063	0,059	0,097
Рамноза	0,152	-	-
Галактоза	0,179	0,050	-
Глюкоза	0,217	0,465	0,660
Галактуронова кислота	0,182	0,428	0,242
<i>Амінокислоти</i>			
Аспарагін	0,065	0,029	0,024
Глутамін	0,192	0,086	0,091
Серін	0,107	0,067	0,082
Гліцин	0,185	0,197	0,223
Аргінін	0,049	0,043	0,034
Треонін	0,059	0,057	0,061
Аланін	0,074	0,096	0,098
Пролін	0,045	0,092	0,080
Тирозин	-	0,025	0,028
Валін	0,034	0,067	0,071
Ізолейцин	0,059	0,067	0,058
Лейцин	0,063	0,085	0,064
Фенілаланін	0,018	0,037	0,035
Лізін	0,05	0,054	0,052

Методами рентгенівської флуоресцентної спектроскопії і рентгенівської флуоресцентної спектроскопії повного відбиття проведено порівняльний аналіз мінерального складу листя анісу (табл. 1.9).

**Мінеральний склад листя анісу звичайного**

Елементи	Мінеральний склад листя анісу звичайного, мкг/г	
	Метод рентгенівської флуоресцентної спектрометрії повного відбиття	Метод рентгенівської флуоресцентної спектрометрії
K	13500 ± 580	12900 ± 600
Ca	15500 ± 300	14900 ± 400
Cr	<4,20	<24,1
Mn	52,9 ± 4,2	50,3 ± 7,8
Fe	374 ± 12	385 ± 6
Ni	<1,30	<2,42
Cu	13,7 ± 3,1	15,1 ± 2,8
Zn	60,7 ± 1,0	60,2 ± 2,5
Br	-	2,76 ± 0,45
Rb	2,10 ± 0,11	2,54 ± 0,44
Sr	54,8 ± 1,5	48,5 ± 1,7
Pb	<1,00	<1,70

Вміст калію, кальцію, марганцю, заліза, міді, цинку, рубідію та стронцію, встановлений обома методами майже однаковий, а домінуючими елементами в листях анісу звичайного є калій і кальцій. Хром, нікель, рубідій і свинець містяться в невисоких кількостях. Метод рентгенівської флуоресцентної спектрометрії повного відбиття не виявив в листі анісу звичайного бром, методом же рентгенівської флуоресцентної спектрометрії встановлено його вміст в кількості  $2,76 \pm 0,45$  мкг/г [28].

А. Сардар вивчала вплив різних рівнів засоленості ґрунтів на зростання анісу звичайного. На підставі дослідження був зроблений висновок, що сольовий стрес негативно впливає на розвиток і зростання, впливаючи на висоту рослин, масу пагонів і коренів, індекс стабільності мембран, вміст хлорофілів «a» і «b» і каротиноїдів, головним чином через більш високу концентрацію токсичних іонів і дефіциту основних елементів, особливо  $K^+$  і  $Ca^{2+}$ , які беруть участь в осморегуляції. Для зменшення негативного впливу засоленості на продуктивність рослини, важливо зменшити її вплив на проростання і зростання розсади [29].

Також було встановлено, що обробка цинком негативно впливала на параметри росту і вміст фотосинтетичних пігментів анісу. Накопичення цинку спостерігалось як в коренях, так і в надземній частині рослини, хоча більш помітно в надземних частинах анісу, що робить їх споживання небезпечним для здоров'я людини через токсичність цього металу. З іншого боку, здатність рослин анісу накопичувати велику кількість Zn піднімає гіпотезу про їх використання для біоремедіації ґрунтів, забруднених цинком [30].

#### 1.4 Застосування анісу звичайного в медицині та народному господарстві

Аніс звичайний - відома з давніх часів рослина, яка широко використовувалась стародавніми греками, римлянами і арабами [31, 32].

Найперша згадка про застосування плодів анісу в медицині припадає на 1500 рік до н.е. (Єгипет). Рослина описується в папірусі Еберса як засіб від метеоризму [33]. З розвитком торгівлі використання анісу розширилося, і він став широко застосовуваними ліками в Середземномор'ї, Східній Азії і Європі. Грецький лікар Діоскорид описав аніс в своєму медичному трактаті «De materia medica» (70 рік н.е.), де рекомендував його як глистогінний засіб, а також засіб від головного болю та застуди [34].

Приблизно в той самий час римський державний діяч Пліній Старший писав у своїй «Naturalis historia», що кращий аніс надходить з острова Крит і «зазвичай вважається, що немає нічого більш корисного для черевної порожнини і кишечника, ніж аніс» [35]. Пліній також рекомендував використовувати аніс при судамах і припадках.

Традиційна китайська медицина, де плоди анісу використовувалися ще в 5 столітті н.е., називала аніс засобом від кашлю і шлунково-кишкових розладів, а індійською аюрведичною системою медицини аніс був відзначений як засіб для зменшення газів в шлунку і ароматна пряність [33]. Жителі Амазонії використовували його як м'який засіб для лікування дітей з болями в животі.

У традиційній іранській медицині аніс використовувався як знеболювальне при мігрени, а також як вітрогінний, ароматичний, дезінфікуючий і сечогінний засіб. У деяких традиційних текстах аніс згадується як засіб від меланхолії, кошмарів, а також від епілепсії і нападів [36].

В народній медицині аніс і його ефірна олія використовуються для широкого спектру терапевтичних цілей як сечогінний, м'який відхаркувальний, транквілізуючий, що посилює секреторну і моторну функцію травної системи, протигрибковий, антибактеріальний, протисудомний, вітрогінний засіб, лактогенний, спазмолітичний засіб та ін. [37, 38, 39, 40, 41, 42, 43].

Проведені в останні роки дослідження дозволили встановити ряд нових фармакологічних властивостей, властивих анісу звичайному.

Так, було досліджено антиоксидантну дію етанольного екстракту плодів анісу. Екстракт показав значну антиоксидантну активність (50 % інгібуюча концентрація  $[IC_{50}]$ , 3,02 мг/мл) з використанням тесту 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу (ДФПГ), також мав значну активність зі значенням  $IC_{50}$  72,7 мкг/мл, що також вказує на його протизапальний ефект *in vivo* [21].

Етанольний і етилацетатний екстракти насіння анісу, вирощених в різних географічних регіонах Північної Африки, також показали значний антиоксидантний ефект, при цьому етилацетатний екстракт насіння виявився активнішим ніж етанольний [18].

У дослідженні Р. Шобха і співавт. показано, що серед метанольної, бензольної, гексанової, етилацетатної, *n*-бутанольної і водної фракцій, етилацетатна фракція також проявила найвищий антиоксидантний ефект в модельній системі лінолевої кислоти ( $IC_{50}$  185 мкг/мл) і моделі гомогената печінки ( $IC_{50}$  199 мкг/мл), ймовірно завдяки наявності фенольних сполук, а саме апігеніна і лютеоліна, встановлених хроматографічним аналізом [32].

Водний екстракт плодів анісу має сприятливу дію при лікуванні неалкогольної жирової хвороби печінки [44], може надавати позитивний ефект при неврологічних розладах, викликаних інтоксикацією свинцем [45], сприяти зниженню рівня цукру в крові та збільшенню маси тіла, зміцненню імунологічної



системи, а також підвищенню гормональної активності [27]. Однак, він може викликати гіпотензію і брадикардію [46].

Петролейно-ефірні, хлороформні, етилацетатні і метанольні екстракти анісу звичайного (1:10 і 2:10) були високоактивними (діаметр затримки росту 30-40 мм) проти *B. subtilis*. Етилацетатний екстракт виявляв помірну активність (діаметр затримки росту 15 мм) проти *E. coli*. Метанольний екстракт показав високу активність (діаметр затримки росту 16 мм) проти *E. coli* і володів різною активністю проти всіх тест-організмів. Результати можна було порівняти з результатами стандартних препаратів гентаміцину і ніціну [47].

70 % метанольний екстракт насіння анісу може широко використовуватися в екологічно чистому виробництві потенційних антиоксидантних і антимікробних наночастинок із сріблом для безпечного біомедичного застосування [48].

Результати, отримані в дослідженнях бразильських дослідників, показують, що ефірна олія анісу в концентрації 10 мг/мл *in vitro* має бактеріостатичну активність щодо *C. perfringens* [49].

Вивчався вплив на *Staph. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 8739, *Micrococcus luteus* ефірної олії анісу [50].

Фітопрепарати, що містять ефірну олію анісу, можуть бути використані в якості відхаркувальних засобів в поєднанні з амоксициліном або ципрофлоксацином при інфекціях *Streptococcus pneumoniae* без зниження ефективності антибіотиків [51].

Інкапсульована в мікроемульсію ефірна олія (1,45-4,01 мл/л) анісу була дуже ефективною в якості ларвіцидів комарів, зменшуючи появу дорослих особин *C. quinquefasciatus*, важливого переносника філяріоза [52]; дана лікарська форма також показала більш високу антимікробну активність проти *Candida albicans*, *Microsporium canis*, *Escherichia coli* і *Staphylococcus aureus* [53].

Ефірна олія анісу і її окремі сполуки проявили помітну токсичність проти *Sitophilus oryzae* при концентрації 7,69  $\mu$ л/л в повітрі після 24 і 48 годин впливу [54], також встановлено, що ефірна олія в концентрації 0,75  $\mu$ л/мл володіє протигрибковою дією [55].

В 2011 році вченими з Японії досліджено протівірусну дію лігнін-вуглевод-білкового комплексу. В результаті роботи зроблено висновок, що ЛВБК з плодів анісу звичайного може сприяти запобіганню вірусної інфекції [25].

Діетиловий ефірний екстракт плодів анісу після упарювання екстрагента, може надавати гепатопротекторну дію при гепатотоксичності, спричиненої  $CCl_4$  [56]; *n*-гексановий екстракт також має захисні ефекти як *in vitro*, так і *in vivo* проти гепатотоксичності, спричиненої  $CCl_4$ , за рахунок наявності в його складі антиоксидантних компонентів [57].

На сьогоднішній день в Україні зареєстровані [58]:

- РП UA/8828/01/01 - Нашатирно-анісові краплі (Краплі оральні, розчин); виробник - ТОВ "Тернофарм", Україна;

- РП UA/6177/01/01 - Бронхіальний бальзам Белл'с (Розчин для перорального застосування); виробник - Євро Лайфкер Лтд, Великобританія;

- РП UA/12716/01/01 - Бронхомед Бальзам (Розчин для перорального застосування); виробник - Євро Лайфкер Лтд, Велика Британія;

- РП UA/0625/01/01 - Грудні краплі від кашлю; виробник - ТОВ "Тернофарм", Україна;

- РП UA/8738/01/01 - Аріда (Суша мікстура від кашлю для дітей); виробник - ТОВ "Тернофарм", Україна.

В табл. 1.10 наведені деякі лікарські засоби і дієтичні продукти, до складу яких входять БАР анісу звичайного [59].

У харчовій промисловості аніс застосовується як ароматизатор для рибних продуктів, морозива, солодоців і жувальних гумок [60, 61].

Слід зазначити, що насіння рослин *Ariaceae* (Сельдерейні) є інгредієнтом вибору при виготовленні хліба, печива, бісквітів, корисними спеціями в м'ясної промисловості [62].

Щільна частина жирної анісової олії запропонована в якості замітника масла какао в медичній практиці та кондитерському виробництві. Анетол слугує основною сировиною для синтезу анісового альдегіду, який використовується в парфумерії [63].

**Лікарські засоби та дієтичні продукти, до складу яких входять БАР анісу  
звичайного**

Назва, Форма випуску	Склад	Показання до застосування
Brady's- Magentropfen, шлункові краплі	Спиртовий екстракт 1,2 г кори хінного дерева і по 0,3 г кориці, анісу, коріандру і фенхелю, мірри, сандалового дерева, тирличу і цитрусових коренів	Використовується при легких розладах травлення (таких як здуття живота) і втрата апетиту
Blahungstee N	Аніс, календула, кмін, волошка, кориця, фенхель, меліса, лист перцевої м'яти	Застосовується при порушенні травлення
Elixir Bonjean	Мелісса, гірке апельсинове дерево, зелений аніс, кмін, кашу	Застосовується при розладах травлення
Mucinum a l'Extrait de Cascara, таблетки	Зелений аніс (фрукти) (порошок) 30,0 мг, болдо (лист) (порошок) 50,0 мг, сени (лист) сухий екстракт	Рекомендується при короткочасному лікуванні запорів у дорослих
Витрум® бьюти плюс, таблетки	Вітаміни, амінокислоти, екстракти листя кропиви дводомної, листя зеленого чаю, листя оливи, листя ламінарії пальчастої, листя м'яти перцевої, кореню імбиру, квіток лаванди, кориці китайської	Полівітамінний препарат
Floradix Multipretten N, драже	Екстракти і ефірні олії кмину, фенхелю, анісу, коріандру, зірчастого анісу і листя м'яти перцевої	Вітаміни
Majocarmin-Tee	Аніс, кмін, ромашка, фенхель, лист перцевої м'яти	Запобігає гінгівіту і зменшує зубний наліт
Cadifen	Фенхель (плоди) 35%; ромашка (квітки) 20%; аніс (плоди) 15%; кмін (плоди) 15%; солодка (корінь) 10%; коріандр (плоди) 5%	Харчова добавка, що поліпшує травлення, застосовується для видалення повітря і газів з шлунку і кишечника
Cadimint, Фільтр-пакетики	Фенхель, солодка, ромашка, м'ята, зелений аніс, кмін, коріандр	Поліпшення травлення
Kernosan Heidelberger Poudre, порошок	Полин 15%, плоди анісу 15%, плоди кмину 15%, плоди кропу 15%, ягоди ялівцю 10%, деревій 15%, корінь анісу 15%	Використовується при розладах травлення, таких як метеоризм, відчуття переповнення
Herb and Honey Cough Elixir, рідкий екстракт	Рідкий екстракту анісу, квіти бузини, ісландський мох, корінь алтея, трава чебрецю	Застосовується для полегшення симптомів сухого та дратівного кашлю
Revitonil	Аніс, гвоздика, ехінацея, евкаліпт, фенхель, солодка, м'ята перцева	Імуностимулюючий засіб
Neo-Atropan	Аніс, беладона, гіосціамус, папаверину гідрохлорид	Застосовується при різних станах, що супроводжуються спазмом гладкої мускулатури
Asthmatee EF-EM- ES	Аніс, арніка, какао, корінь омани, шандра, материнка	Застосовується при ударах і хворобливих відчуттях
Lassatina, таблетки	Аніс, беладона, каскар, солодка, чілібуха, ревінь, сенна	Послаблюючий засіб

Аналіз літературних джерел показав, що аніс звичайний (*Pimpinella anisum*) широко використовується в народній медицині як вітрогінний, відхаркувальний, жарознижуючий, сечогінний і протиспазматичний засіб. У медичній практиці широко застосовуються ряд препаратів на основі анісової олії, хімічний склад і фармакологічна активність якої почали досліджуватися досить давно, але відомості про дослідження шроту плодів рослини і трави, які містять значну кількість біологічно активних речовин в доступній літературі відсутні. Показники якості на траву анісу звичайного також відсутні.

Тому, комплексне порівняльне фармакогностичне вивчення і стандартизація сировини анісу звичайного, а саме плодів, шроту плодів і трави анісу звичайного є актуальним і обґрунтованим.

## Розділ 2

### ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Об'єкти дослідження

Об'єктами дослідження були трава, яку заготовляли в різні фази вегетації рослини, плоди і шрот плодів, що залишається після перегонки ефірної олії анісу звичайного. Трава і плоди анісу звичайного були заготовлені в ботанічному саду м. Ташкент і на дослідних ділянках ботанічного саду НФаУ, м. Харків в 2018-2020 роках. Плоди анісу для вирощування закупували в аптечній мережі фірми «911». Трава складалася зі стебел, листя і квіток, недозрілих плодів (достовірність визначена куратором гербарію Харківського Національного університету імені В. Н. Каразіна, канд. біол. наук, доцентом Ю. Г. Гамулею, номер гербарного зразка CWU0057573) [64].

#### 2.2 Відомості про обладнання, методи і реактиви

Для хроматографування використовували різні марки хроматографічного паперу FN 1,3,7,14, а також хроматографічні пластинки «Silufol» (UV-254, UV-366) і «Sorbfil» - ПТСХ-А-УФ.

Для дослідження застосовувалися методи висхідної, низхідної, одновимірної і двовимірної хроматографії на папері і хроматографії в тонкому шарі (ТШХ) [65], ВЕРХ та ГХ/МС.

Для приготування хроматографічних систем використовували розчинники кваліфікації ч.д.а. або х.ч.; співвідношення у системах розчинників позначено цифрами, взято в об'ємних одиницях. Для хроматографування були використані наступні рухомі фази:

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

№ 2 – *n*-бутанол - оцтова кислота льодяна - вода (4:1:5);

№ 3 – *n*-бутанол - мурашина кислота - вода (5:0,5:2);

№ 4 – *n*-бутанол - піридин - вода (6:4:3);

№ 5 – ацетон - *n*-бутанол - вода (7:2:1);

№ 6 – хлороформ - оцтова кислота льодяна - вода (13:6:2);

№ 7 – етилацетат - оцтова кислота льодяна - мурашина кислота - вода (100:11:11:25);

№ 8 – етилацетат - мурашина кислота - вода (3:1:1);

№ 9 – 15 % кислота оцтова;

№ 10 – 2 % кислота оцтова;

№ 11 – *n*-пропанол - амоніак (6:4);

№ 12 – гексан - ацетон (6:2);

№ 13 – гексан - ацетон (6:4);

2. В якості хромогенних реактивів використовували:

A - пари амоніаку;

B – 5 % етанольний розчин алюмінію хлориду;

C – 2 % етанольний розчин алюмінію хлориду;

D – 1 % етанольний розчин нінгідрину;

E – 0,2 % етанольний розчин бромкрезолового зеленого;

F – 0,04 % етанольний розчин бромфенолового синього;

G – реактив Фелінга (мідно-тарtratний реактив);

H – анілінфталатний реактив (0,33 г аніліну і 1,66 г фталевої кислоти в 100 мл *n*-бутанолу, насиченого водою);

I – 10 % етанольний розчин фосфорномолібденової кислоти.

Спектри поглинання в УФ і видимому світлі знімали на спектрофотометрах Shimadzu UV-1800, Hewlett Packard 8453, СФ-46 в кюветах з товщиною шару 10 мм.

Вивчення гідроксикоричних кислот проводили методом РХ на хроматографі Agilent Technologies 1200.

Вивчення поліфенольних сполук проводили методом ВЕРХ за допомогою рідинної хроматографічної системи Prominence LC-20 Shimadzu.

Для визначення вільних органічних кислот застосовували метод потенціометрії, для чого використовували рН-метр - РН-150МИ, з електродом скляним комбінованим ЕСК-10605 і рН-метр - НІ2550, з електродом скляним комбінованим НІ 1131.

Розробку та валідацію методики кондуктометричного визначення суми вільних органічних кислот проводили з використанням рН-метра НІ2550, що оснащений кондуктометричним електродом НІ76310.

Вивчення моносахаридного складу ВРПК і ПР проводили методом РХ на хроматографі Agilent 1290.

Для визначення елементного складу використовували спектрограф ДФС-8 і фотопластинки ПФС-02.

Дослідження карбонових кислот і летких сполук проводили на газовому хроматографі Agilent Technologies 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973inert.

Макроскопічний аналіз сировини проводили з використанням свіжої і висушеної сировини неозброєним оком і з використанням лупи ( $\times 10$ ). Для проведення мікроскопічного аналізу використовували висушену сировину, фіксовану в суміші спирт-гліцерин-вода (1:1:1), і включаючи рідини тимчасових мікропрепаратів - розчини гліцерину і хлоралгідрату. Дослідження поперечних і поздовжніх зрізів, епідерми та препаратів з поверхні проводили з використанням загальноприйнятих методик за допомогою обладнання: мікроскопи МБС 9, МС 10 (окуляри  $\times 5$ ,  $\times 10$ ,  $\times 15$ , об'єктиви  $\times 10$ ,  $\times 40$ ), Micromed XS-4130 (окуляр WF15X, об'єктиви  $\times 40/0,65$ ,  $\times 10/0,25$ ) з мікрофотонасадкою (КНР). Мікрофотографії зроблені фотокамерою Samsung PL50 (КНР).

Фармакологічні дослідження проводили *in vivo* та *in vitro*.

Визначення антиоксидантної активності водно-етанольних витяжок проводили методом потенціометрії з використанням рН-метра - НІ 2550, з редокс-електродом EZDO PO50.

Статистична обробка отриманих експериментальних даних проводилася за допомогою програм STATISTICA для Windows 95, Microsoft Excel 2010 відповідно до вимог ДФУ [65].

### 2.3 Методики визначення БАР в сировині анісу звичайного

#### *Одержання витягів для вивчення якісного складу трави, плодів і шроту плодів анісу звичайного*

Для вивчення якісного складу БАР трави, плодів і шроту плодів анісу звичайного були одержані водні та водно-етанольні витяжки.

Витяжки отримували відповідними екстрагентами в співвідношенні сировина : екстрагент 1:5 при нагріванні зі зворотним холодильником на водяній бані при температурі: водні витяжки – 100 °С, водно-етанольні - 80-90 °С, час екстракції - 2 рази по 1 годині. Отримані витяжки фільтрували через паперовий фільтр, об'єднували і концентрували.

Водні витяжки використовували для визначення полісахаридів, амінокислот, органічних кислот, гідроксикоричних кислот; водно-етанольні - для визначення флавоноїдів і гідроксикоричних кислот.

Для вивчення ліпофільної фракції витяжки отримували вичерпною екстракцією хлороформом в апараті Сокслета.

#### *Методики визначення вмісту БАР в траві, плодах і шроті плодів анісу звичайного*

Методом прямої спектрофотометрії визначали суму гідроксикоричних кислот за довжини хвилі 327 нм в перерахунку на хлорогенову кислоту на приладі Shimadzu UV-1800 (Японія) [66, 67].

#### *Визначення гідроксикоричних кислот методом рідинної хроматографії*

Методом рідинної хроматографії встановлювали якісний склад і кількісний вміст гідроксикоричних кислот трави анісу звичайного. Наважку сировини кожної проби (0,2-0,6 г) екстрагували 10 мл 60 % розчину метанолу на ультразвуковій бані при 80 °С протягом 4 годин в скляних герметичних віалах з тефлоновою кришкою.



Отриманий екстракт центрифугували при 3000 об/хв і фільтрували через одноразові мембранні фільтри з порами 0,22 мкм. Хроматографування проведено на приладі Agilent Technologies 1200. В якості рухомої фази використовували метанол (А) і 0,1 % розчин мурашиної кислоти у воді (В). Елюювання 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, USA), швидкість потоку через колонку 0,5 мл/хв., Температура термостата 30 °С, об'єм інжекції 4 мкл. Детектування проводили з використанням діод-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 250 і 275 нм і фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 210-700 нм [68].

Ідентифікацію та кількісний аналіз проводили з використанням стандартних розчинів фенольних сполук (галової кислоти, гідроксифенілоцтової кислоти, хлорогенової кислоти, кавової кислоти, сірінгової кислоти, *n*-кумарової кислоти, *транс*-ферулової кислоти, сінапової кислоти, *транс*-коричної кислоти, хінної кислоти).

Вміст сполук (X) (мкг/г) визначали за формулою:

$$X = \frac{c \cdot V}{m}, \quad (2.1)$$

де:

c - концентрація сполуки, визначена хроматографічно, мкг/мл;

V - об'єм екстракту, мл;

m - маса сировини, з якої проводили екстракцію, г.

2. Вміст суми поліфенольних сполук визначали спектрофотометричним методом в перерахунку на галову кислоту при 270 нм [67, 69].

*Вивчення поліфенолів трави анісу звичайного методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ)*

Для екстракції поліфенолів з трави анісу звичайного, до наважки зразка додавали 70 % етанол в співвідношенні 1 г зразка на 20 мл розчину етанолу. Екстракцію проводили в герметичній ємкості протягом 5 діб при кімнатній температурі і періодичному перемішуванні відповідно до методу [70]. Екстракцію

проводили без доступу світла для запобігання трансформації екстрагованих речовин під впливом світла. Екстракти перед аналізом фільтрували з використанням шприцевого фільтра Supelco Iso-Disc Filters PTFE 25-4 (25 мм x 0,45 мкм).

Аналіз екстракту проводили методом ВЕРХ за допомогою рідинної хроматографічної системи Prominence LC-20 Shimadzu (Японія), що складається з наступних функціональних модулів: дегазатор DGU-20A3, насосний модуль LC-20AD, автосемплер-холодильник SIL-20AC, фотометричний детектор SPD-20AV, термостат СТО-20А, колонка Agilent Technologies Microsorb-MV-150 (обернено-фазова, модифікований силікагель C18 (- (CH<sub>2</sub>)<sub>17</sub>CH<sub>3</sub>), довжина 150 мм, діаметр 4,6 мм, розмір зерен сорбенту 5 мкм).

Умови ВЕРХ:

1) Склад рухомої фази (елюенту): метанол і 0,9 % розчин фосфатної кислоти в деіонізованій воді (реактиви Sigma-Aldrich, Німеччина).

2) Режим хроматографування - градієнтний. Режим хроматографування був розроблений для якісного розподілу окремих фенольних кислот і флавоноїдів у рослинних екстрактах [71, 72]. Початкове співвідношення компонентів елюенту: 1:9. Вміст метанолу в елюенті в ході аналізу змінювався за наступною схемою:

- перші 13 хвилин - підвищення з 10 до 40 %;
- з 13-ої до 20-ої хвилини - підвищення від 40 до 53 %;
- з 20-ої до 26-ої хвилини - підвищення від 53 до 55 %;
- з 26-ої до 40-ої хвилини - утримування 55 %;
- з 40-ої до 41-ої хвилини - зниження до 10 %;
- з 41-ої до 56-ої хвилини - утримування 10 %.

3) Швидкість руху елюенту - 0,5 мл/хв.

4) Температура колонки - 40 °С.

5) Об'єм введеної проби - 5 мкл.

Ідентифікаційні характеристики стандартів отримували в умовах хроматографування, аналогічних тим, які були використані в ході дослідження

екстракту. Калібрувальні залежності «площа піка - вміст стандарту» були лінійними з коефіцієнтами кореляції не нижче  $r = 0,996$  [73].

3. Кількісне визначення вмісту флавоноїдів в перерахунку на рутин проводили на спектрофотометрі Hewlett Packard 8453 при 417 нм [66, 74].

4. Для кількісного визначення сумарного вмісту вільних органічних кислот в сировині анісу звичайного застосовували кислотну-основне титрування 0,1 М розчином натрію гідроксиду зі змішаним індикатором (фенолфталеїн і метиленовий синій). Визначення кінцевої точки титрування ускладнене в зв'язку з нерізкою зміною забарвлення змішаного індикатора (синя - лілово-фіолетова). Більш перспективним є метод потенціометричного титрування. Цей метод не вимагає застосування коштовного устаткування, додаткових реактивів та реагентів, характеризується достатньою чутливістю і експресністю [75].

Відважували 5,0 г (точна наважка) подрібненої сировини і поміщали в колбу зі шліфом об'ємом 250 см<sup>3</sup>. Заливали 200 см<sup>3</sup> дистильованої води, витримували 2 години на киплячій водяній бані, потім охолоджували і фільтрували. Кількісно переносили отриманий фільтрат в мірну колбу об'ємом 250 см<sup>3</sup>, доводили об'єм колби водою до мітки (розчин А). Розчин для титрування готували наступним чином: 10 см<sup>3</sup> розчину А відбирали піпеткою Мора, поміщали в мірну колбу об'ємом 250 см<sup>3</sup>, доводили до мітки свіжопрокип'яченою дистильованою водою [67,76,77,78,79]. Як титрант використовували 0,1 М розчин натрію гідроксиду, стандартизований по оксалатній кислоті (H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O) фармакопейної чистоти [80].

Для проведення потенціометричного титрування збирали гальванічний ланцюг з переносом (рис. 2.1) і вимірювали електрорушійну силу цього ланцюга в процесі титрування.

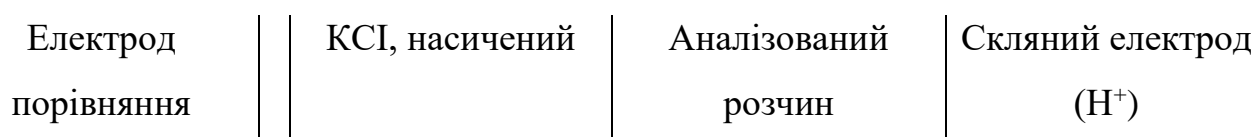


Рис. 2.1 Гальванічний ланцюг з переносом

Для титрування застосовували комбінований скляний електрод НІ 1131. Вимірювання електрорушійної сили проводили на рН-метрі - рН - НІ2550 з точністю вимірювання  $\pm 0,5$  мВ. За отриманими даними будували інтегральну криву титрування. Висота стрибка на кривих титрування в точці еквівалентності становила  $\sim 450$  мВ, що свідчить про достатню чутливість запропонованої методики [81]. Для визначення об'єму 0,1 М розчину натрію гідроксиду, який пішов на титрування ( $V_t$ , см<sup>3</sup>) будували диференційні криві титрування по першій і другій похідних. Вміст вільних органічних кислот (X, %) в перерахунку на яблучну кислоту в абсолютно сухій сировині розраховували за формулою:

$$X = \frac{V * 0,0067 * 250 * 100 * 100 * \text{кп}}{m * 10 * (100 - w)} \quad (2.2)$$

де:

0,0067 - кількість яблучної кислоти, г, яка відповідає 1 см<sup>3</sup> 0,1000 М розчину натрію гідроксиду;

$V_t$  - об'єм розчину натрію гідроксиду, що витрачається на титрування см<sup>3</sup>;

КП - поправочний коефіцієнт до концентрації розчину натрію гідроксиду;

m - маса наважки сухої сировини, г;

w - втрата в масі при висушуванні сировини, %.

*Методика визначення вільних органічних кислот методом  
кондуктометричного титрування*

5,0 г (точна наважка) подрібненої сировини поміщали в колбу об'ємом 250 мл зі шліфом, заливали 200 мл води очищеної і витримували протягом 2 годин на киплячій водяній бані. Після охолодження розчин кількісно переносили в мірну колбу на 250 мл і доводили до мітки (розчин А) [67, 76, 77, 78, 79].

10 мл розчину А поміщали в комірку для титрування і додавали 250 мл свіжопрокип'яченої води. Після цього приготовлений розчин титрували стандартизованим водним розчином натрію гідроксиду методом кондуктометричного титрування. Після кожного додавання титранту розчин перемішували за допомогою магнітної мішалки протягом 30 с і відзначали сталу провідність. Додавання титранту продовжували до тих пір, поки не зникало значне

змінення провідності при подальшому додаванні титранту. Крім того, було проведено холостий експеримент, згідно з яким холостий об'єм 0,1 моль/л розчину натрію гідроксиду становив 0,01 мл. Точка еквівалентності визначалася графічним методом. Графік побудований шляхом нанесення об'єму титранту на вісь X і значень провідності на вісь Y, які виражені в мікросіменсах ( $\mu\text{S}$ ) [122].

5. Суму амінокислот визначали в перерахунку на глютамінову кислоту при 568 нм спектрофотометрично [82].

6. Вміст хлорофілів і каротиноїдів визначали спектрофотометричним методом. Екстракція сировини проводилася 90 % етанолом. Вміст окремих пігментів встановлювали за допомогою трьоххвильового методу, визначали оптичну густину одержаного розчину на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 440 нм (каротиноїди), 665 нм (хлорофіл «a») і 649 нм (хлорофіл «b»), в кюветі з товщиною шару 10 мм. Концентрацію хлорофілів *a* і *b* в отриманому розчині (С, мг/л) розраховували за рівнянням Вінтерманс і Де Мотс [83], каротиноїдів - за рівнянням Ветштейна [84]:

$$C_a = 13,70 \cdot A_{665} - 5,76 \cdot A_{649} \quad (2.3)$$

$$C_b = 25,80 \cdot A_{649} - 7,60 \cdot A_{665} \quad (2.4)$$

$$C_k = 4,7 \cdot A_{440} - 0,27 \cdot C_{(a+b)}, \quad (2.5)$$

де *A* – оптична густина досліджуваного розчину при довжині хвилі 440, 649 або 665 нм.

7. Одержання ВРПК проводили з повітряно-сухої сировини, подрібненої до розміру часток 2-3 мм і потім очищеної від ліпофільних домішок вичерпною екстракцією хлороформом в апараті Сокслета. Точну наважку знежиреної (10,0 г) сировини тричі екстрагували гарячою водою на киплячій водяній бані зі зворотним холодильником, в співвідношенні сировини і екстрагенту 1:20 і 1:10 протягом 60 і 30 хвилин відповідно, періодично перемішуючи. Екстракти об'єднували, фільтрували і випарювали до 1/3 об'єму. Полісахариди осаджували п'ятикратним об'ємом 96 % етанолу [85]. Для визначення вмісту полісахаридів застосовували гравіметричний метод [86]. Шрот після отримання ВРПК тричі екстрагували сумішшю 0,5 % розчину кислоти оксалатної і амонію оксалату (1:1) в

співвідношенні сировини і екстрагенту 1:20 протягом 2 годин на водяній бані. Отримані екстракти об'єднували, відфільтрували, упарювали до 1/5 початкового об'єму і осаджували п'ятикратною кількістю 96% етанолу. Отриманий осад відфільтровували, промивали 96 % етанолом, висушували на повітрі і зважували [85]. Отримували ПР.

Після отримання ВРПК і ПР зі шроту, що залишився, виділяли ГЦ [67].

*Встановлення моносахаридного складу отриманих ВРПК, ПВ і ГЦ*

Гідроліз проводився 10 % розчином сірчаної кислоти в співвідношенні 1:50 протягом 0,5; 1, 1,5; 2; 2,5; 3 і 3,5 годин. Гідролізати нейтралізували барію карбонатом за універсальним індикатором до нейтральної реакції (рН=7). Розчин фільтрували, промивали осад  $\text{BaSO}_4$  водою. До фільтрату додавали п'ятикратний об'єм 96 % етанолу і залишали на 24 години. Осад відфільтровували, а фільтрат упарювали до сухого залишку. Сухий залишок (нейтральні моносахариди) розчиняли в етанолі і використовували для ПХ [87].

*Кількісне визначення нейтральних моносахаридів*

Для кількісного визначення нейтральних моносахаридів 0,1 г (точна наважка) полісахариду поміщали в колбу ємністю 50 мл, гідролізували *кислотою хлористоводневою розведеною Р* (5 мл) при температурі 100-105 °С протягом 2 годин, пробки відбирали для аналізу кожні 30 хв. Вміст колби нейтралізували барію карбонатом до рН=5,3, відфільтровували і кількісно переносили в мірну колбу ємністю 25 мл, об'єм розчину доводили *водою Р* до мітки (розчин А). 2,0 мл розчину А поміщали в мірну колбу ємністю 25,0 мл, додавали 1 мл 1 % розчину пікринової кислоти, 3 мл 20 % розчину натрію карбонату безводного. Нагрівали на водяній бані протягом 10 хв, охолоджували, об'єм розчину доводили *водою Р* до мітки. Паралельно в тих же умовах проводили дослідження з 2,0 мл розчину ДСЗ глюкози. Оптичну густину забарвленого розчину вимірювали на спектрофотометрі при довжині хвилі 460 нм. Розчин порівняння: в мірну колбу ємністю 25,0 мл додавали 1,0 мл 1 % розчину пікринової кислоти, 3 мл 20 % розчину натрію карбонату безводного, 1 мл *води Р*. Отриману суміш нагрівали на водяній бані протягом 10 хв, охолоджували до кімнатної температури і об'єм розчину доводили до мітки

водою Р. Суму нейтральних моносахаридів в перерахунку на глюкозу вираховували за формулою:

$$x = \frac{A \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 100}{A_0 \cdot m \cdot 20} \quad (2.6)$$

де:

A - оптична густина досліджуваного розчину;

A<sub>0</sub> - оптична густина розчину ДСЗ глюкози;

m<sub>0</sub> - маса наважки ДСЗ глюкози, г;

m - маса наважки полісахариду, г [88].

*Визначення масової частки вологи, ступеня етерифікації і масової частки поліуронідів ПР*

Визначення масової частки вологи, ступеня етерифікації і масової частки поліуронідів ПВ визначали згідно ДЕСТУ ГОСТ 6088:2009 [89].

Для визначення масової частки вологи, наважку ПР масою 3,0 г (точна наважка) зважували у бюксі з закритою кришкою. Потім відкритий бюкс з наважкою поміщали в нагріту сушильну шафу і сушили при температурі 103 °С протягом 1,5 год. Після висушування бюкс закривали кришкою, поміщали в ексікатор на 30 хв, охолоджували до кімнатної температури і зважували.

Масову частку вологи у відсотках обчислювали за формулою:

$$\omega_B = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_3} * 100 \quad (2.7)$$

де:

m<sub>1</sub> - маса бюкса з наважкою до висушування, г;

m<sub>2</sub> - маса бюкса з наважкою після висушування, г;

m<sub>3</sub> - маса порожнього бюкса, г;

100 - коефіцієнт перерахунку.

За остаточний результат приймали середнє арифметичне результатів двох паралельних вимірювань, розрахованих з точністю до другого десяткового знаку.

Наважку пектину масою 0,5 г (точна наважка) зважували в сухому фільтрувальному тиглі і заливали його 70 % етиловим спиртом, підкисленим хлористоводневою кислотою, перемішували до отримання маси пюреподібної

консистенції. Тигель приєднували до колби з тубусом м'якою гумовою пластиною з отвором. Колбу приєднували до джерела розрідження. Пектин промивали тією ж спиртовою сумішшю (по 20 см<sup>3</sup>), перемішуючи скляною паличкою і періодично відсмоктуючи фільтрат, до негативної реакції на іон алюмінію з розчином алізарину. Для якісного визначення алюмінію краплю фільтрату поміщали на фільтрувальний папір і обробляли парами амоніаку. У присутності іонів алюмінію з'являлася червона пляма алюмінієвого лаку. Потім пектин промивали етиловим спиртом з об'ємною часткою 75 % (по 20 см<sup>3</sup>) до негативної реакції на хлорид-іон (до декількох крапель фільтрату на годинниковому склі додавали розчин аргентуму нітрату). Промивання вважали закінченим у разі припинення утворення білого осаду аргентуму хлориду. Після цього промивали три рази (по 20 см<sup>3</sup>) етиловим спиртом.

Промиту пробу кількісно переносили в конічну колбу місткістю 500 см<sup>3</sup>, змивали її залишки з тигля дистильованою водою, нагрітою до 40 °С і доводили об'єм дистильованою водою до 100 см<sup>3</sup>. Колбу щільно закривали і ретельно струшували її вміст до повного розчинення пектину. Пробу титрували 0,1 М розчином натрію гідроксиду з фіксуванням кінцевої точки титрування трьома способами: з індикатором Хінтона без очищення від іонів алюмінію і хлорид-іонів, з індикатором Хінтона після очищення від іонів алюмінію і хлорид-іонів, після очищення від іонів алюмінію і хлорид-іонів потенціометрично (РН-метр - НІ2550, з електродом скляним комбінованим НІ 1131).

Брали до уваги об'єм витраченого розчину натрію гідроксиду. Потім додавали 50 см<sup>3</sup> того ж розчину натрію гідроксиду, щільно закривали колбу і залишали на 1 годину для омилення етерифікованих карбоксильних груп. Після цього до розчину додавали піпеткою 50 см<sup>3</sup> 0,1 М розчину хлористоводневої кислоти, а її залишок відтитровували розчином натрію гідроксиду.

Ступінь етерифікації (E) у відсотках розраховували за формулою:

$$E = \frac{V_2}{V_1 + V_2} * 100 \quad (2.8)$$

де:



$V_1$  - об'єм розчину натрію гідроксиду з молярною концентрацією 0,1 М, який використовується для першого титрування, мл;

$V_2$  - об'єм розчину натрію гідроксиду з молярною концентрацією 0,1 М, який використовується для другого титрування, мл;

100 - коефіцієнт перерахунку.

Для визначення масової частки поліуронідів пробу готували і титрували як зазначено вище. Масову частку поліуронідів у відсотках розраховували за формулою:

$$\omega_{\text{п}} = \frac{1,76V_1 + 1,9V_2}{V} * 100 \quad (2.9)$$

де:

1,76 і 1,9 - титри вільних і відповідно етерифікованих кілець полігалактуронової кислоти, які визначаються розчином натрію гідроксиду з концентрацією 0,1 М;

$V_1$  - об'єм розчину натрію гідроксиду з концентрацією 0,1 М, який використовується для першого титрування, мл;

$V_2$  - об'єм розчину натрію гідроксиду з концентрацією 0,1 М, який використовується для другого титрування, мл;

$V$  - об'єм досліджуваної проби;

100 - коефіцієнт перерахунку [90].

*Вивчення моносахаридного складу ПР і ВРПК, отриманих з трави анісу  
звичайного*

Встановлення моносахаридного складу отриманих пектинових речовин і ВРПС проводили методом рідинної хроматографії (ДФУ \*, 2.2.29, 2.2.46) [65].

*Випробуваний розчин:* 400 мг рослинного екстракту (точна наважка) промивали 20,0 мл спирту етилового 96 % на паперовому фільтрі «синя стрічка». Далі промитий екстракт поміщали в мірну колбу місткістю 50,0 мл, розчиняли в 10 мл соляної кислоти (2:5) і кип'ятили зі зворотним холодильником протягом години. Колбу охолоджували до кімнатної температури і додавали 10,0 мл розчину натрію гідроксиду (7,9 %). Розчин кількісно, за допомогою 15 мл води переносили в колбу місткістю 25 мл, доводили об'єм розчину до мітки водою, перемішували і

фільтрували через мембранний фторопластовий фільтр з розміром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші 0,5 мл фільтрату.

*Розчин порівняння:* Точну наважку ФСЗДФУ сахариду, поміщали в мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняли в 60 мл води, перемішували до розчинення наважки, доводили об'єм розчину до мітки водою і перемішували.

*Розчин для перевірки придатності хроматографічної системи:* 5 мл розчину порівняння поміщали в мірну колбу місткістю 50 мл і доводили об'єм розчину до мітки водою.

Хроматографували 10 мкл розчину для перевірки придатності хроматографічної системи на рідинному хроматографі Agilent 1290, отримуючи від 2 до 6 хроматограм відповідноДФУ RSD.

Хроматографували 10 мкл розчину порівняння, і випробовуваний розчин, отримуючи кількість хроматограм не менш ніж для розчину для перевірки придатності хроматографічної системи.

Умови хроматографування:

- колонка розміром 300 × 7,8 мм Aminex HPLX-87C, або аналогічна валідована колонка, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;
- детектування - рефрактометричне (1 сек);
- швидкість рухомої фази - 1,0 мл/хв;
- температура термостата колонки - 30 °С;
- рухома фаза А: вода Р;
- рухома фаза В: ацетонітрил для хроматографії Р.

Вміст сахариду С (мг/г) обчислювали за формулою:

$$X = \frac{S_i \cdot m_0 \cdot 25}{S_0 \cdot 100} * 1000 \quad (2.10)$$

де:

$S_i$  - середнє значення площ піків сахариду, обчислене з хроматограм випробованого розчину;

$S_0$  - середнє значення площ піків сахариду, обчислене з хроматограм розчину порівняння;

$m_0$  - маса наважки ФСЗДФУ сахариду, мг;

Перевірка придатності хроматографічної системи:

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються наступні умови:

- ефективність хроматографічної колонки, розрахована з хроматограм розчину порівняння повинна бути не менше;
- коефіцієнт симетрії піків сахаридів з хроматограм розчину порівняння, повинен бути від 0,8 до 1,5 [91].

8. Вивчення якісного складу та кількісного вмісту елементів в сировині проводили методом атомно-емісійної спектрометрії [65].

Експеримент проведено у відділі аналітичної хімії функціональних матеріалів і об'єктів навколишнього середовища ДНУ НТК "Інститут монокристалів" НАН України.

Досліджувані зразки випарювали з кратерів спектральних графітових електродів ОСЧ 7-3. Дугу змінного струму отримували за допомогою генератора ИВС-28. Для отримання і фотографування спектру використовували дифракційний спектрограф ДФС-8, фотопластинки ПФС-02. Встановлювали наступні умови експерименту: сила струму дуги - 16 А, частота підпалювальних імпульсів - 100 розрядів в секунду, фаза експозиції - 60 секунд, фаза підпалювання 60 °С, аналітичний проміжок - 2 мм, ширина щілини спектрографа - 0,015 мм. Основою для градуювальних зразків служила суміш оксидів і солей металів, що відповідають складу різнотрав'я. Серію градуювальних зразків з добавками елементів, що визначаються ( $1-1 \cdot 10^{-3}$  мас. %) готували шляхом ретельного перемішування основи і оксидів цих елементів. Спектри фотографували в області 240 - 350 нм. Градуювальні графіки будували в координатах: середнє значення різниці почорніння лінії і фону - логарифм вмісту елемента в градуювальних зразках. За графіками знаходили вміст елемента в золі і розраховували його кількісний вміст в досліджуваній сировині [92].

9. Аналіз жирнокислотного складу трави анісу проводили методом газової хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням.

Наважку рослинної сировини, розтертої до порошкоподібного стану, поміщали в скляну віалу і додавали 2,0 мл 2 % розчину ацетилхлориду в метанолі і 10 мкл розчину (10 мг/мл) нонадеканової кислоти, в якості внутрішнього стандарту. Суміш ретельно перемішували і поміщали на ультразвукову баню при 80 °С. Метилування жирних кислот проводили протягом 2 годин. Отримані метилові ефіри жирних кислот екстрагували гексаном (1,0 мл).

Аліквоту екстракту (1,0 мл) використовували для хроматографічного дослідження. Хроматографічне розділення проводили на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA). Колонка капілярна HP-5ms (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм, Agilent technologies, USA). Температура випаровувача 250 °С, температура інтерфейсу 280 °С. Розділення проводили в режимі програмування температури - початкову температуру 150 °С витримували протягом 4 хв, піднімали з градієнтом 5 °С/хв до 300 °С. Кінцеву температуру витримували протягом 6 хв. Пробу об'ємом 1 мкл, вводили в режимі поділу потоку 1:50. Детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z). Швидкість потоку газу-носія через колонку 1,0 мл/хв. Ідентифікацію метилових ефірів жирних кислот проводили з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. Вміст жирних кислот визначали за формулою:

$$X = \frac{S_x * m_{\text{внст}} * 1000}{S_{\text{внст}} * m}, \quad (2.11)$$

де:

$m_{\text{внст}}$  - маса внутрішнього стандарту на пробу;

$m$  - маса наважки сировини;

$S_x$  - площа піка досліджуваної речовини;

$S_{\text{внст}}$  - площа піка внутрішнього стандарту [93].

10. Леткі сполуки трави анісу звичайного вивчали методом газової хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням.

Наважку сировини, розтертої до порошкоподібного стану, поміщали в скляну колбу і додавали 10-20 мл деіонізованої води і 1,0 мл тетрадекану (0,1 мг/мл) в якості внутрішнього стандарту.

Колбу під'єднували до зворотного холодильника, отвір закривали стерильною ватою. Суміш ретельно перемішували і поміщали на ультразвукову баню з підігрівом. Нагрівання регулювали так, щоб теплою залишалася нижня третина холодильника. Екстракцію летких сполук проводили протягом 2 ч.

Отримані леткі сполуки змивали зі стінок холодильника 6,0 мл гексану. Гексановий екстракт упарювали до кінцевого об'єму 1,0 мл. Аліквоту екстракту (1,0 мл) використовували для хроматографічного дослідження.

Хроматографічне розділення проводили на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA). Колонка капілярна HP-5ms (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм, Agilent technologies, USA). Температура випаровувача - 250 °С, температура інтерфейсу - 280 °С. Розділення проводили в режимі програмування температури - початкову температуру 60 °С витримували протягом 2 хв, підвищували з градієнтом 5 °С/хв до 300 °С. Кінцеву температуру витримували протягом 6 хв. Пробу об'ємом 2 мкл вводили в режимі розділення потоку 1:50. Детектування проводили в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z). Швидкість потоку газу-носія через колонку - 1,0 мл/хв. Ідентифікацію сполук проводили з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби.

Вміст летких сполук визначали за формулою:

$$X = \frac{S_x * m_{\text{внст}} * 1000}{S_{\text{вст}} * m}, \quad (2.12)$$

де:

$m_{\text{внст}}$  - маса внутрішнього стандарту на пробу;

$m$  - маса наважки сировини;

$S_x$  - площа піка досліджуваної речовини;

$S_{\text{вст}}$  - площа піка внутрішнього стандарту [94, 95].

11. Визначення втрати в масі при висушуванні і золи загальної проводили за методикою, наведеною в ДФУ, 2.2.32 і 2.4.16 відповідно [65].

12. Визначення екстрактивних речовин в сировині анісу звичайного проводили за ДФУ [65].

13. Визначення насипного об'єму до і після усадки проводили відповідно до вимог ДФУ, 2.9.15 [96].

14. Визначення насипної густини, питомої густини, об'ємної густини, пористості, порозності, вільного об'єму шару, коефіцієнта поглинання екстрагенту проводили відповідно до методик [97, 98].

15. Стандартизацію шипучих гранул з ПР проводили за ДФУ [65].

16. Визначення антиоксидантної активності

#### *Спектрофотометричне визначення*

Антиоксидантну активність визначали з використанням ДФПГ. Відбирали по 1 мл 60 % метанольного екстракту (в співвідношенні сировина : екстрагент 1:17) ( $E_0$ ), розводили в мірній колбі тим же екстрагентом до 50 мл (розведення  $E_1$ ). 1 мл  $E_1$  розводили в мірній колбі тим же екстрагентом до 50 мл (розведення  $E_2$ ) і так далі.

Як стандарт використовували аскорбінову кислоту (0,0352 г в 10 мл відповідного екстрагента) ( $A_0$ ). Відбирали 0,5 мл  $A_0$  і додавали 4,5 мл того ж екстрагента ( $A_1$ ). Відбирали 0,5 мл  $A_1$  і додавали 4,5 мл того ж екстрагента ( $A_2$ ). Відбирали 0,5 мл  $A_2$  і додавали 4,5 мл того ж екстрагента ( $A_3$ ).

Для приготування розчину ДФПГ, 10 мг ДФПГ (точна наважка) поміщали в мірну колбу з темного скла місткістю 250,0 мл, розчиняли в 100 мл метанолу, перемішували до розчинення наважки, доводили об'єм розчину до мітки тим же розчинником і перемішували.

Як розчин порівняння використовували відповідний екстрагент.

Відбирали по 2 мл розчинів: відповідного екстрагента - контроль (К), аскорбінової кислоти ( $A_0 - A_3$ ), досліджуваного екстракту ( $E_0 - E_5$ ), до кожного додавали по 2 мл розчину ДФПГ (приготованого раніше) і витримували без доступу світла 30 хв.

Вимірювали поглинання всіх розчинів на приладі Shimadzu UV-1800 (Японія) в кварцових кюветах з товщиною поглинаючого шару 10 мм при довжині хвилі 517 нм, починаючи з розчину порівняння, потім - К, А<sub>0</sub> - А<sub>3</sub> і далі Е<sub>0</sub> - Е<sub>5</sub> по зростанню концентрації. Антиоксидантну активність обчислювали за формулою:

$$AO = \frac{A_K - A_D}{A_K} * 100\% \quad (2.13)$$

де:

АО -антиоксидантна активність,%

А<sub>к</sub> - поглинання контролю

А<sub>д</sub> - поглинання досліджуваного зразка (А<sub>0</sub> - А<sub>3</sub>, Е<sub>0</sub> - Е<sub>5</sub>) [99, 100].

#### *Потенціометричне визначення*

Для визначення АОА застосовували потенціометричний метод з використанням К<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/К<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] як медіаторної системи з концентрацією компонентів 0,002/0,00002 моль/л і рН на рівні 7,2 (фосфатний буфер). З отриманого 70 % етанольного екстракту (в співвідношенні сировина : екстрагент 1:20) відбирали аліквоту 10,0 мл (розчин Б) і поміщали в мірну колбу місткістю 25 мл, доводили об'єм розчину 70 % етанолом до мітки і перемішували (розчин В). Для приготування розчину рутину 0,05 г (точна наважка) рутину (ФС-42-2508-87) вносили в мірну колбу ємністю 100 мл, розчиняли в 70 % етанолі, доводили об'єм розчину до мітки і перемішували. Вимірювали початковий потенціал вихідного розчину медіаторної системи, далі в електрохімічну комірку вносили 1 мл екстракту і вимірювали кінцевий потенціал, після цього визначали різницю між початковим і кінцевим потенціалами (рН-метр - Hanna 2550, з редокс-електродом EZDO PO50).

Паралельно в тих же умовах вимірювали антиоксидантну активність розчину рутину [73].

17. Гостру токсичність ПР («Пектан»), виділених з трави анісу звичайного досліджували на базі «Наукового центра стандартизації лікарських засобів» (м. Ташкент, Узбекистан) під керівництвом доктора біологічних наук Р.Т. Туляганова. Гостра токсичність вивчена на здорових білих мишах, які пройшли карантин, з масою тіла 19-21 г, обох статей. З «Пектану» готували водний розчин і вводили

мишам одноразово внутрішньошлунково в дозах 3000 мг/кг (0,3 мл) і 5000 мг/кг (0,5 мл) [101].

Тварини перебували під постійним наглядом протягом першої години, далі протягом першого дня експерименту спостереження проводилися кожену годину і один раз на добу в наступні 13 днів експерименту. Як показники функціонального стану тварин враховувалися загальний стан мишей і їх поведінка, інтенсивність і характер рухової активності, наявність судом, координація рухів, реакція на зовнішні подразники і тонус скелетних м'язів, апетит, маса тіла, кількість і консистенція фекальних мас. В ході експерименту здійснювали контроль за клінічним станом тварин: наявність/відсутність ознак отруєння, час їх появи, загибель мишей.

Всі піддослідні тварини знаходилися в стандартних умовах утримання, на загальному раціоні харчування з вільним доступом до води та їжі [101].

Після завершення експерименту визначали ЛД<sub>50</sub> [102].

18. Послаблювальну дію досліджували на базі «Наукового центра стандартизації лікарських засобів» (м. Ташкент, Узбекистан) під керівництвом доктора біологічних наук Р.Т. Туляганова. Специфічну активність (послаблювальна дія) ВРПК і «Пектану», виділених з трави анісу звичайного вивчали на білих щурах, масою тіла 200-220 г в порівнянні з препаратом «Сенадекс» виробництва ТОВ Стиролбіофарм, Україна.

Білі безпородні щури обох статей, нагодовані останній раз за 6 годин до експерименту (стандартний раціон віварію), були поміщені окремо в клітини, застелені чистим фільтрувальним папером. Дослідні та контрольні групи складались з 6 тварин кожна. Досліджувані зразки вводили в такий спосіб:

- 1 група - контрольна (в/ш вода очищена в еквівалентному об'ємі).
- 2 група - дослідна - одноразово в/ш «Пектан» в дозі 250 мг/кг;
- 3 група - дослідна - одноразово в/ш ВРПК в дозі 100 мг/кг;
- 4 група - дослідна - одноразово в/ш препарат «Сенадекс» виробництва ТОВ Стиролбіофарм, Україна в дозі 250 мг/кг;



Через 18 годин після введення досліджуваних зразків рахували загальну кількість фекалій від кожної тварини всіх аналізованих груп. Відсоток збільшення калу вважали за послаблювальний ефект [103].

19. Антимікробну активність «Пектану», виділеного з трави анісу звичайного визначали на базі «Наукового центра стандартизації лікарських засобів» (м. Ташкент, Узбекистан) під керівництвом доктора біологічних наук Р.Т. Туляганова методом дифузії в агар на щільному живильному середовищі шляхом порівняння розмірів зон пригнічення росту тест-мікробів, що утворюються при випробуванні розчинів певних концентрацій стандартного зразка і випробуваного препарату [104].

Для аналізу використовували стерильні чашки Петрі однакового діаметра з рівним плоским дном. У чашки, встановлені на горизонтальному столику наливали по 20 мл живильного середовища певного складу, зараженого 18-20 годинною культурою тест - штамів (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*). Для досліджень використовували відповідні поживні середовища.

Приготування інокулюму: для приготування інокулюму використовували чисті добові культури мікроорганізмів, які виростили на щільних поживних середовищах. Відбирали кілька однотипних, чітко ізольованих колоній. Петлею переносили невелику кількість матеріалу з верхівок колоній в пробірку зі стерильним 0,9 % розчином NaCl, доводячи щільність інокулюму точно до 0,5 за стандартом МакФарланда. Інокулюм використовували протягом 15 хв після приготування.

Проведення аналізу: для проведення випробувань готували 1 % і 10 % розчини зразка з «Пектану». На застиглій поверхні агару, в центрі скляним циліндром робили лунки. В лунки вносили 1 % і 10 % розчини в зазначених концентраціях в шести чашках Петрі.

Інкубація: чашки поміщали в термостат при температурі  $(36 \pm 1)$  °C на 18-24 години.

Після інкубації в термостаті вимірювали зони пригнічення росту мікроорганізмів, що утворюються розчинами порівнюваних препаратів, мікробіологічної лінійкою з точністю до 1 мм. За розмірами зон оцінювали мікробіологічну активність порівнюваних препаратів.

## РОЗДІЛ 3

### ВИВЧЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ І ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БАР В ПЛОДАХ, ШРОТІ ПЛОДІВ І ТРАВІ АНІСУ ЗВИЧАЙНОГО

#### 3.1 Визначення полісахаридів

Полісахариди - це група вуглеводів, утворена з моносахаридних одиниць, пов'язаних глікозидним зв'язком ( $\alpha$  або  $\beta$ -конфігурація). Ці сполуки в основному отримують з різних природних джерел, таких як бактеріальні, грибкові, морські організми і рослини [105].

Полісахариди виконують три важливих типи біологічних функцій в живих організмах, виступаючи в якості енергетичного резерву, структурних компонентів клітин і тканин або захисних речовин [106].

Полісахариди широко використовуються у фармацевтичній промисловості в якості розпушувача, наповнювача і в системах доставки ліків, специфічних для конкретної області [107]. Відомо, що полісахариди вищих рослин виявляють різні фармакологічні ефекти, такі як протипухлинний, імуномодулюючий; антиоксидантну, гепатопротекторну, противиразкову дію і т.д. [108, 109, 110].

Полісахариди в траві, плодах і шроті плодів анісу виявляли по реакції утворення з 96 % етанолом аморфного осаду [111]. Попередньо в гідролізатах полісахаридів з реактивом G встановлювали присутність моносахаридів, а їх склад - методами ПХ, ТШХ в системах розчинників № 1, 2, 4, 5, 11 в порівнянні з ФСЗ моносахаридів після прояву реактивом Н. В результаті якісного аналізу в складі полісахаридів трави, плодів і шроту плодів анісу виявлені глюкоза і арабіноза [91, 112].

Кількісний вміст полісахаридів визначали за методикою наведеною в пункті 2.3 цієї дисертаційної роботи.

Результати визначення вмісту полісахаридів в траві в різні фази вегетації, плодах і шроті плодів анісу звичайного представлені в табл. 3.1 [91, 113, 114].

**Вміст полісахаридів в траві, плодах і шроті плодів анісу звичайного**

ЛРС	Кількісний вміст, (%) в перерахунку на абсолютно суху сировину (n = 5)		
	ВРПК	ПР	ГЦ
Трава в фазі до цвітіння	7,20 ± 0,32	10,89 ± 0,27	16,94 ± 0,22
Трава в фазі цвітіння	5,72 ± 0,26	7,11 ± 0,25	22,70 ± 0,17
Трава в фазі воскової стиглості	4,37 ± 0,21	15,25 ± 0,13	41,57 ± 0,13
Трава в фазі плодоношення	4,73 ± 0,27	13,22 ± 0,36	18,91 ± 0,31
Плоди	5,70 ± 0,33	7,02 ± 0,15	9,81 ± 0,23
Шрот плодів	0,54 ± 0,08	6,10 ± 0,12	8,72 ± 0,35

Встановлено, що в траві анісу звичайного полісахаридів міститься більше, ніж в плодах і шроті. Кількість ВРПК досягає максимуму в траві в фазі до цвітіння ( $7,20 \pm 0,32$  %) по мірі дозрівання рослини зменшується до  $4,37 \pm 0,21$  %. Вміст ПР в фазі воскової стиглості найбільший ( $15,25 \pm 0,13$  %), тоді як в фазі цвітіння трави кількість ПР мінімальна ( $7,11 \pm 0,25$  %). Кількість ГЦ починаючи з фази до цвітіння ( $16,94 \pm 0,22$  %) зростає до фази воскової стиглості ( $41,57 \pm 0,13$  %), у фазі плодоношення вміст ГЦ 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 годин гідролізу. Дане визначення ґрунтується на реакції моносахаридів з пікриновою кислотою.

Після статистичної обробки результатів встановлено, що при гідролізі ВРПК, максимальний вміст нейтральних моносахаридів досягається за 2 год і становить  $17,80 \pm 0,36$  % (рис. 3.1).

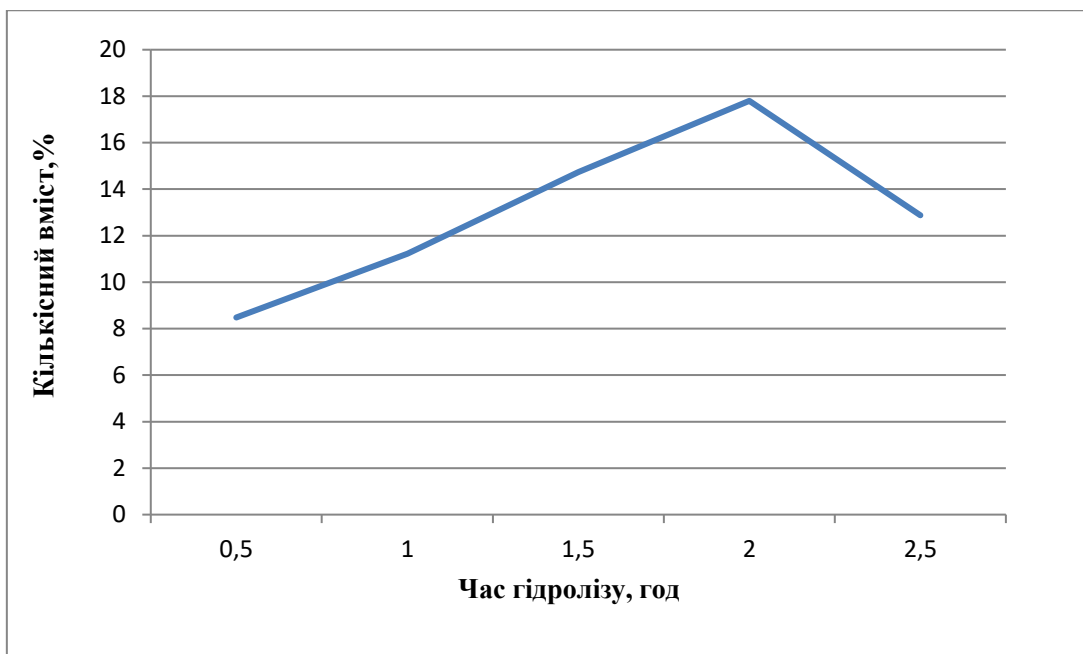


Рис. 3.1 Залежність кількісного вмісту моносахаридів від часу гідролізу ВРПК

Пектинові речовини повністю гідролізуються за 3 год і вміст нейтральних моносахаридів дорівнює  $44,91 \pm 0,21$  % (рис. 3.2).

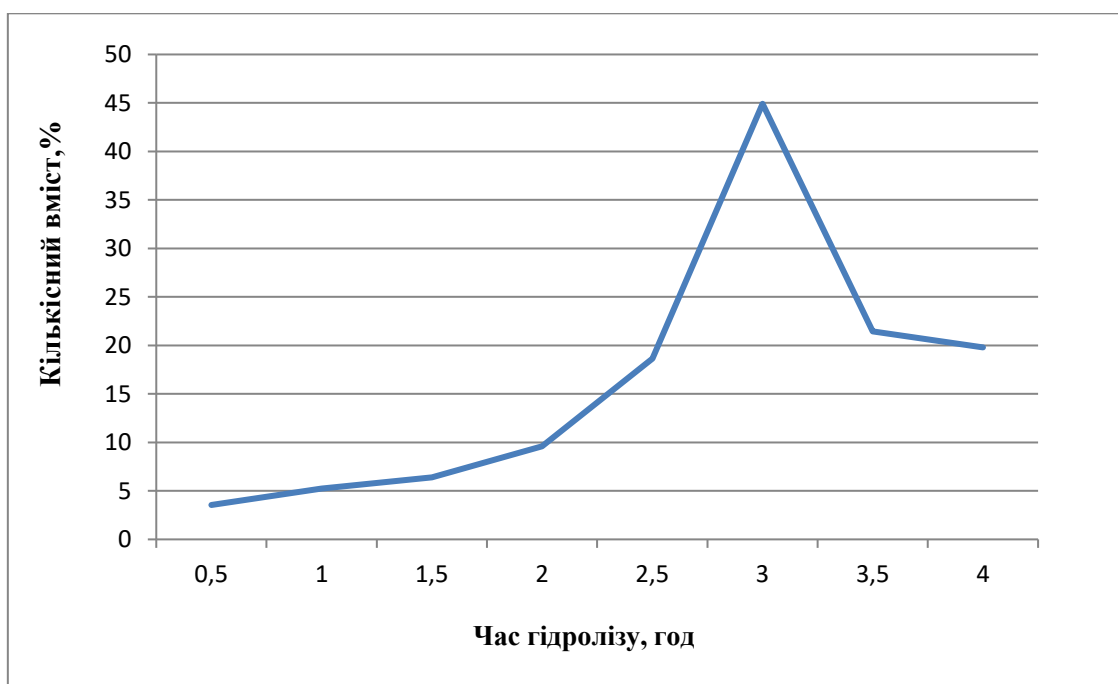


Рис. 3.2 Залежність кількісного вмісту моносахаридів від часу гідролізу ПР

Для геміцелюлози достатньо 1 години, щоб отримати найбільшу кількість моносахаридів, при цьому їх вміст складає  $87,24 \pm 1,14$  % (рис. 3.3).

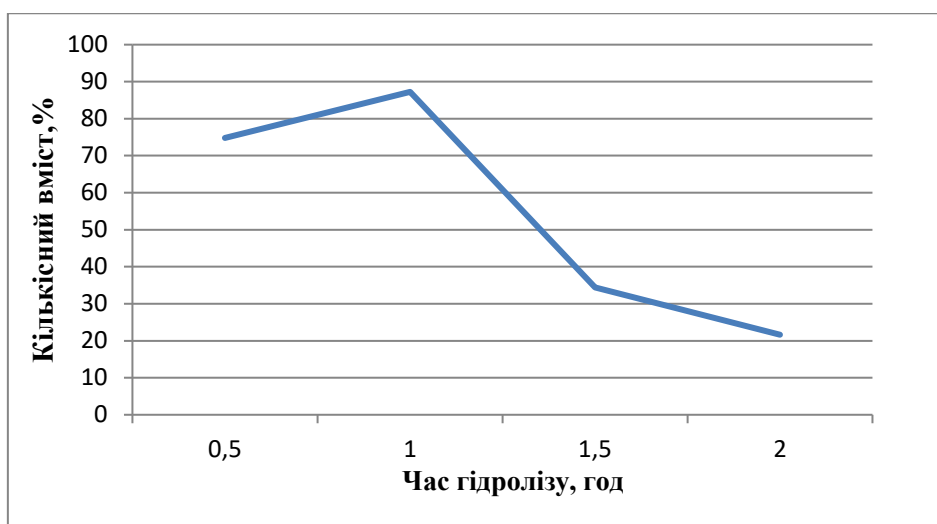


Рис. 3.3 Залежність кількісного вмісту моносахаридів від часу гідролізу ГЦ

Зниження кількісного вмісту моносахаридів в гідролізатах пояснюється тим, що в разі тривалого впливу на гідролізати мінеральних кислот при нагріванні відбувається перетворення гексоз на гідроксиметилфурфурол і продукти його розпаду - мурашину і левулінову кислоти [85].

Хроматограми визначення моносахаридного складу ВРПК і ПР методом РХ наведені на рис. 3.4 і 3.5 відповідно. Результати дослідження представлені в табл. 3.2.

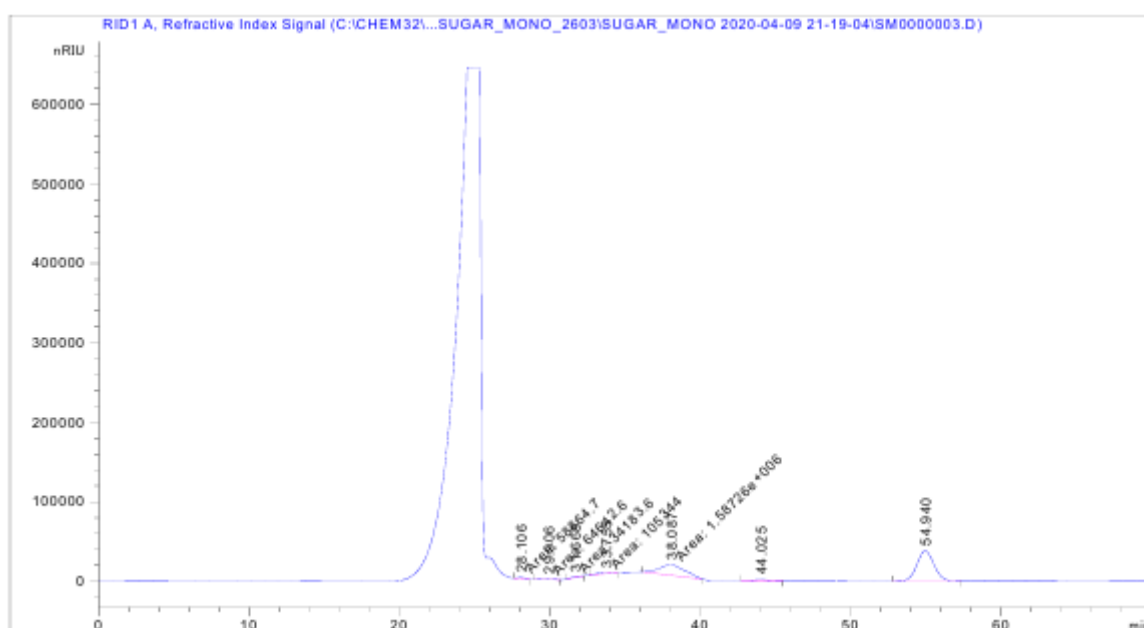


Рис. 3.4 Хроматограма ВРПК трави анісу звичайного

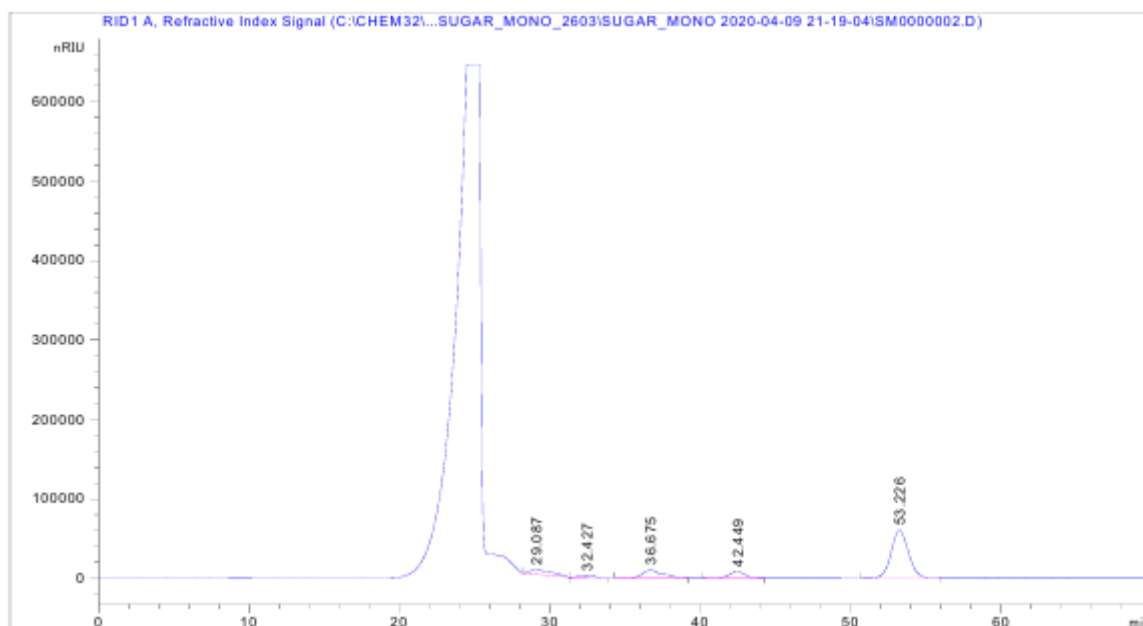


Рис. 3.5 Хроматограма ПР трави анісу звичайного

У ВРПК, виділеному з трави анісу звичайного, виявлено 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.

Таблиця 3.2

#### Моносахаридний склад ВРПК і ПР трави анісу звичайного

Речовина	Вміст, мг/г	Час утримування, хв
<i>ВРПК</i>		
Глюкоза	$17,50 \pm 0,04$	32,427
Рамноза	$215,5 \pm 0,02$	38,087
<i>ПР</i>		
Глюкоза	$12,31 \pm 0,02$	32,427
Галактоза	$59,82 \pm 0,04$	36,675
Арабіноза	$69,51 \pm 0,03$	42,449

В ПР не виявлена 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 [91].

### 3.2 Визначення органічних кислот

Органічним кислотам властиві бактерицидна, жовчогінна дія [115]. В даний час для аналізу органічних кислот широко використовуються такі аналітичні методи, як титриметрія, іонна хроматографія (ІХ) [116, 117], високоефективна рідинна хроматографія з ультрафіолетовим детектуванням (ВЕРХ-УФ) [118], капілярний електрофорез (КЕ) [119], газова хроматографія і тонкошарова хроматографія [120].

Визначення органічних кислот проводили методами ПХ і ТШХ в порівнянні з ФСЗ в рухомих фазах № 1, 3, 7, 8 після обробки хромогенними реактивами Е, F.

В результаті проведеного аналізу в траві та плодах анісу звичайного виявлені яблучна ( $R_f = 0,58$ ), лимонна ( $R_f = 0,51$ ), бурштинова кислоти ( $R_f = 0,40$ ), а в шроті плодів - лимонна кислота ( $R_f = 0,51$ ) [121, 122].

Результати потенціометричного визначення вільних органічних кислот в траві, плодах і шроті плодів анісу звичайного і метрологічні характеристики наведені в табл. 3.3.

Як видно з представлених даних, найбільша кількість органічних кислот ( $4,02 \pm 0,03$  %) міститься в траві анісу звичайного в фазі до цвітіння, найменша кількість - у фазі плодоношення ( $1,05 \pm 0,01$  %). Плоди за вмістом органічних кислот ( $2,88 \pm 0,06$  %) в 2 рази перевищують шрот ( $1,48 \pm 0,02$  %) [121, 123, 124]. При цьому метод потенціометричного титрування при визначенні вільних органічних кислот в траві анісу звичайного характеризується достатньою чутливістю, відтворюваністю і точністю.

Нами розроблена методика кондуктометричного визначення кількісного вмісту вільних органічних кислот в траві анісу звичайного в різні фази вегетації в перерахунку на яблучну кислоту.

Згідно з результатами визначення, була отримана кондуктометрична крива титрування (рис. 3.6).



**Вміст вільних органічних кислот в траві, плодах і шроті плодів  
анісу звичайного**

ЛРС	м. Ташкент	Метрологічні характеристики (n=6, P=95 %)	м. Харків	Метрологічні характеристики (n=6, P=95 %)
Трава в фазі до цвітіння	4,02 ± 0,03	X=4,02 S=9,04·10 <sup>-3</sup> Δ=2,51·10 <sup>-2</sup> ε= 0,50 %	3,53 ± 0,02	X=3,53 S=5,43·10 <sup>-3</sup> Δ=1,79·10 <sup>-2</sup> ε= 0,48 %
Трава в фазі цвітіння	3,12 ± 0,02	X=3,12 S=1,64·10 <sup>-2</sup> Δ=1,81·10 <sup>-2</sup> ε= 0,58 %	2,75 ± 0,01	X=2,75 S=4,68·10 <sup>-3</sup> Δ=9,95·10 <sup>-3</sup> ε= 0,52 %
Трава в фазі воскової стиглості	2,09 ± 0,01	X=2,09 S=8,62·10 <sup>-3</sup> Δ=1,29·10 <sup>-2</sup> ε= 0,76 %	2,41 ± 0,01	X=2,41 S=5,10·10 <sup>-3</sup> Δ=1,25·10 <sup>-2</sup> ε= 0,52 %
Трава в фазі плодоношення	1,05 ± 0,01	X=1,05 S=1,10·10 <sup>-3</sup> Δ=7,98·10 <sup>-3</sup> ε= 0,76 %	2,30 ± 0,01	X=2,30 S=5,10·10 <sup>-3</sup> Δ=1,17·10 <sup>-2</sup> ε= 0,51 %
Плоди	2,31 ± 0,01	X=2,31 S=5,48·10 <sup>-3</sup> Δ=1,52·10 <sup>-2</sup> ε= 0,66 %	2,88 ± 0,06	X=2,89 S=2,3·10 <sup>-2</sup> Δ=6,4·10 <sup>-2</sup> ε= 2,21 %
Шрот плодів	1,48 ± 0,02	X=1,48 S=5,48·10 <sup>-3</sup> Δ=1,52·10 <sup>-2</sup> ε= 1,02 %	1,59 ± 0,04	X=1,60 S=1,58·10 <sup>-2</sup> Δ=4,4·10 <sup>-2</sup> ε= 2,75 %

Вміст загальної кількості вільних органічних кислот в перерахунку на яблучну кислоту в абсолютно сухій сировині у відсотках розраховували за формулою:

$$X = \frac{(V_{\text{екв}} - V_x) \cdot 0,0067 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100 \cdot K}{m \cdot 10 \cdot (100 - W)} \quad (3.1)$$

де:

0,0067 - кількість яблучної кислоти, еквівалентна 1 мл розчину натрію гідроксиду (0,1 моль/л), г;

$V_{\text{екв}}$  - об'єм розчину натрію гідроксиду (0,1 моль/л), використаний для титрування, мл;

$V_x$  - об'єм розчину натрію гідроксиду (0,1 моль/л), який витрачено на титрування в холостому досліді, мл;

$m$  - маса сировини, г;

$K$  - поправочний коефіцієнт для розчину натрію гідроксиду 0,1 моль/л;

$W$  - втрата маси при висушуванні сировини у відсотках.

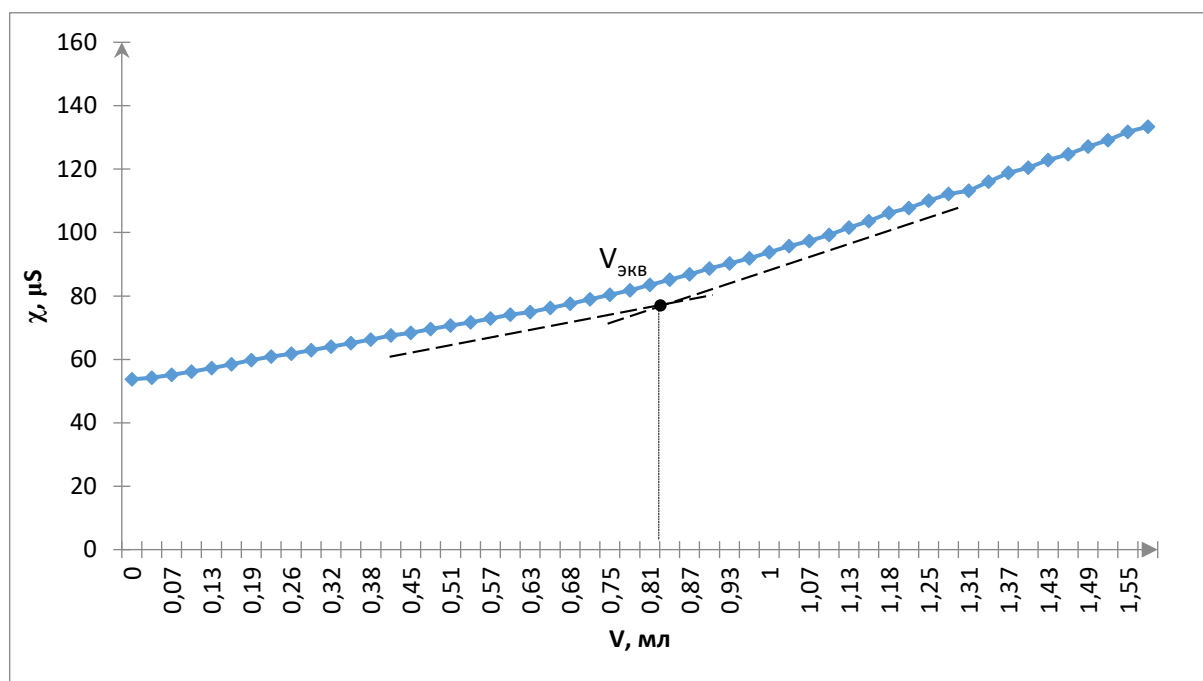


Рис. 3.6 Крива кондуктометричного титрування визначення суми вільних органічних кислот в плодах анісу звичайного

*Валідація методики кондуктометричного визначення суми вільних органічних кислот в плодах анісу звичайного*

Методика валідована відповідно до вимог ДФУ за такими параметрами [65]:

*1. Специфічність*

Специфічність методики була вивчена за проведенням холостого досліді.

*2. Лінійність*

Для визначення лінійності методики було взято 10 різних наважок сировини, які відповідають 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 %, 120 %, 130 %, 140 %, 150 % від робочої наважки сировини (5,0 г). Методом найменших квадратів було визначено коефіцієнт кореляції, коефіцієнт при змінній, вільний член.

### *3. Правильність*

Для того, щоб перевірити правильність розробленої методики використовувався метод добавок при триразовому аналізі трьох рівнів концентрацій органічних кислот, відповідно 80, 100, 120 % від робочої концентрації суми вільних органічних кислот. Критерієм прийнятності правильності є відсоток відновлення, який повинен становити від 95 до 105%.

### *4. Прецизійність*

Прецизійність методики була перевірена шляхом приготування водних витягів з плодів анісу з використанням однакового набору реактивів і за участю одного аналітика.

Прецизійність методики була перевірена в рамках збіжності і проміжної прецизійності. Збіжність методики оцінювалася по аналізу шести приготованих водних екстрактів із плодів анісу, відповідних 100 % робочих концентрацій. Проміжна прецизійність методики оцінювалася так само, як і збіжність, тільки при проведенні аналізів в різні дні. Критерій прийнятності виражається в RSD, %, який не повинен перевищувати 2 %.

### *5. Робастність*

Робастність методики була перевірена при різних рівнях концентрацій - 80, 100 і 120% суми вільних органічних кислот. Критерієм прийнятності робастності становить RSD,% в умовах того, що аналізи були проведені двома різними аналітиками, а також з використанням двох різних бюреток, RSD,% повинно бути не менше 2%.

### *Результати валідації методики*

Для перевірки правильності, відомі кількості яблучної кислоти в трьох різних концентраціях були додані в досліджувану водну витяжку. Відсоток відновлення склав від 98,61 % до 101,25 %. Результати дослідження показані в табл. 3.4. Значення RSD, % становить 1,04 %, низьке значення RSD підтверджує високу ступінь відповідності між розрахованим і отриманим результатом вмісту суми вільних органічних кислот в досліджуваних пробах.

Таблиця 3.4

## Результати визначення правильності методики

Початковий вміст (мкг/мл)	Додано (мкг/мл)	Знайдено (мкг/мл)	Знайдена кількість у витяжці (мкг/мл)	Відновлення, %	SD, %	RSD, %
0,0222	0,0177	0,0398	0,0176	99,31	1,05	1,04
0,0222	0,0177	0,0399	0,0177	100,20		
0,0222	0,0177	0,0397	0,0175	98,61		
0,0222	0,0222	0,0446	0,0224	101,12		
0,0222	0,0222	0,0443	0,0221	99,38		
0,0222	0,0222	0,0447	0,0225	101,25		
0,0222	0,0266	0,0486	0,0264	99,43		
0,0222	0,0266	0,0485	0,0263	98,86		
0,0222	0,0266	0,0491	0,0269	101,22		

Прецизійність методики була підтверджена збіжністю і проміжною прецизійністю. Значення RSD, % для збіжності і проміжної прецизійності становили 1,32 % та 1,62 % відповідно. Значення RSD, % становить менше 2 %, що свідчить про точність методики (табл. 3.5, табл. 3.6).

Таблиця 3.5

## Результати визначення збіжності методики

Номер зразка	Еквівалентний об'єм титранту, мл
1	0,80
2	0,79
3	0,81
4	0,80
5	0,78
6	0,79
Середнє значення, мл	0,80
SD	0,0104
Довірчий інтервал, мл	0,01
RSD, %	1,32

Таблиця 3.6

<b>Результати визначення проміжної прецизійності</b>		
Номер зразка	Еквівалентний об'єм титранту, мл	
	Перший день	Другий день
1	0,80	0,81
2	0,81	0,80
3	0,79	0,78
4	0,78	0,79
5	0,80	0,80
6	0,81	0,82
Середнє значення, мл	0,80	0,80
SD	0,0117	0,0141
Довірчий інтервал, мл	0,01	0,01
RSD, %	1,62	

Робастність методики була встановлена шляхом визначення суми органічних кислот при використанні двох різних бюреток і проведенні титрування різними аналітиками. RSD, % в першому випадку становить 1,29 %, а в другому - 1,48 %. Значення RSD, % становить менше 2 %, що є доказом робастності методики (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

### Результати визначення робастності методики

Концентрація суми вільних органічних кислот, %	Еквівалентний об'єм титранту, мл				RSD, %	
	Перший аналітик	Другий аналітик	Перша бюретка	Друга бюретка	Різні аналітики	Різні бюретки
80	0,64	0,64	0,65	0,63	1,48	1,29
80	0,66	0,65	0,64	0,62		
80	0,65	0,63	0,63	0,64		
100	0,82	0,80	0,80	0,81		
100	0,81	0,82	0,79	0,80		
100	0,79	0,81	0,81	0,79		
120	0,96	0,96	0,96	0,95		
120	0,98	0,95	0,97	0,94		
120	0,97	0,93	0,95	0,96		

Лінійність була доведена в діапазоні концентрацій від 50 % до 150 %. Калібрувальна крива була побудована в координатах: об'єм титранту - концентрація суми вільних органічних кислот (рис. 3.7).

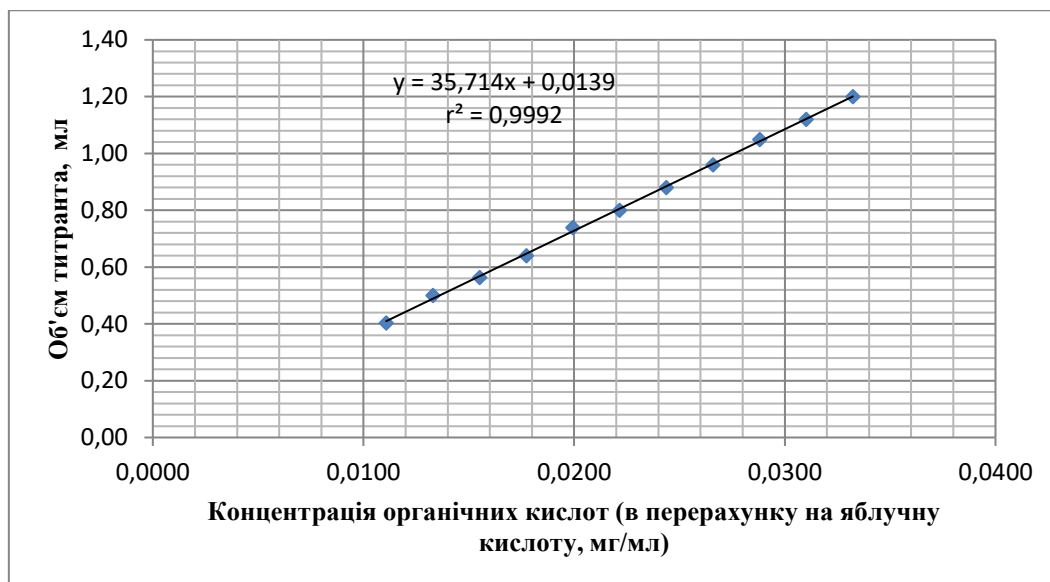


Рис. 3.7 Калібрувальна крива залежності об'єму титранту від вмісту вільних органічних кислот (в перерахунку на яблучну кислоту, мг/мл) в витяжці плодів анісу звичайного

Рівняння регресії має наступний вигляд:  $y = 35,714x + 0,0139$ . Коефіцієнт кореляції дорівнює 0,9992, що свідчить про пряму залежність об'єму титранту від концентрації вільних органічних кислот в досліджуваних витяжках (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

#### Результати визначення лінійності методики

№	Маса сировини, г	Концентрація		Еквівалентний об'єм титранту, см <sup>3</sup>
		мг/см <sup>3</sup>	%	
1	2,4998	0,0112	50	0,40
2	3,004	0,0134	60	0,50
3	3,5002	0,0156	70	0,56
4	4,0005	0,0177	80	0,64
5	4,5003	0,0200	90	0,74
6	5,0002	0,0222	100	0,80
7	5,5004	0,0244	110	0,88
8	6,0001	0,0266	120	0,96
9	6,5005	0,0288	130	1,05
10	7,0006	0,0310	140	1,12
11	7,4997	0,0332	150	1,20

Рівняння регресії:  $y = 35,714x + 0,0139$   
Коефіцієнт при змінній (b): 35,714, вільний член (a): 0,0139  
Коефіцієнт кореляції, r: 0,9992

При вивченні специфічності методики було показано, що розчинник та ймовірні домішки не впливають на результат кількісного визначення суми вільних органічних кислот.

### 3.3 Визначення амінокислот

Клітини рослин містять низькі рівні білка в порівнянні з клітинами тварин, оскільки велика частина структури рослин складається з великої кількості вуглеводів (целюлози та інших). Відомо, що мономерами білків є амінокислоти і вони беруть участь в безлічі клітинних реакцій, таких як ріст і розвиток рослин, внутрішньоклітинний контроль рН, генерація метаболічної енергії або окислювально-відновної сили [125, 126, 127, 128, 129, 130, 131].

Методами ПХ і ТШХ в рухомій фазі № 1 з реактивом D в порівнянні з ФСЗ амінокислот виявляли амінокислоти в траві, плодах і шроті плодів анісу звичайного. За результатами дослідження було виявлено наявність 10 амінокислот в траві (пролін, аргінін, гліцин, глютамінова кислота, гістидин, ізолейцин, треонін, валін, метіонін, лейцин), 8 - в плодах (аргінін, глютамінова кислота, гліцин, гістидин, ізолейцин, валін, метіонін, лейцин) і 5 - в шроті плодів (глютамінова кислота, гліцин, ізолейцин, валін, метіонін).

У всіх досліджуваних зразках сировини були ідентифіковані: глютамінова кислота, гліцин, ізолейцин, валін, метіонін. У траві встановлено наявність проліну і треоніну на відміну від плодів і шроту плодів анісу звичайного.

Кількісний вміст суми амінокислот в сировині в перерахунку на глютамінову кислоту визначали спектрофотометричним методом. Результати визначення вмісту суми амінокислот у траві, плодах і шроті плодів анісу звичайного приведені в табл. 3.9.

Як видно з представлених даних, найбільший вміст суми амінокислот ( $0,198 \pm 0,04$  мг/г) встановлено в траві анісу звичайного в фазі цвітіння, найменша кількість - у фазі плодоношення ( $0,069 \pm 0,01$  мг/г). У плодах анісу звичайного 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) [132, 133].

**Вміст суми амінокислот у траві, плодах і шроті плодів анісу звичайного**

Вміст суми амінокислот, мг/г		
ЛРС	м. Ташкент	м. Харків
Трава в фазі до цвітіння	0,152 ± 0,1	0,162 ± 0,01
Трава в фазі цвітіння	0,129 ± 0,01	0,198 ± 0,04
Трава в фазі воскової стиглості	0,088 ± 0,03	0,095 ± 0,02
Трава в фазі плодоношення	0,069 ± 0,01	0,072 ± 0,01
Плоди	0,090 ± 0,02	0,15 ± 0,06
Шрот плодів	0,018 ± 0,01	0,027 ± 0,01

**3.4 Визначення гідроксикоричних кислот**

Гідроксикоричні кислоти - похідні фенілпропаноїдної структури C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> - основна підгрупа фенольних кислот, широко поширених в рослинному світі. Багато їх міститься в каві, чайному листі, червоному вині, різних фруктах (особливо червоних), овочах і цільнозернових. У природі важливу роль відіграють такі гідроксикоричні кислоти, як кавова, ферулова, *n*-кумарова і сінапінова кислоти [134].

Кавова кислота (3,4-діоксикорична кислота), яка присутня в харчових продуктах в основному у вигляді хлорогенової кислоти (5-кофеїлхінна кислота, ефір кавової кислоти). Вона діє як антиоксидант, інгібує вільні радикали і хелатує прооксидантні іони металів, проявляє такі види біологічної активності як протимікробна [135], противірусна [136] і протипухлинна [137].

Ферулова кислота (3-метокси-4-дигідроксикорична кислота) є дуже поширеною поліфенольною сполукою. У харчових продуктах вона зазвичай присутня в мономерній і димерній формі, ковалентно кон'югована складноєфірним зв'язком з полісахаридами, глікопротеїнами, поліамінами, лігніном і гідроксильними жирними кислотами. Ферулова кислота має антиоксидантну,



протимікробну, протизапальну, холестеринзнижуючу і протиракову активність; здатна запобігати тромбозу і атеросклерозу [138, 139]. Крім того, ферулова кислота надає також захисну дію на кишкову ішемію-реперфузійне пошкодження [140] і нейродегенеративні порушення [139].

*n*-Кумарова кислота (4-оксикорична кислота) виявлена в рослинах і грибах у вільній формі або кон'югованою з моно-, оліго- і полісахаридами, алкіловими спиртами, органічними кислотами, амінами і лігнінами. *n*-Кумарова кислота і її кон'югати мають біологічну активність, в тому числі антиоксидантну, протизапальну [141]; виявляють антимуtagenний, противиразковий, антиагрегантний і протипухлинний ефект. Згідно до останніх клінічних досліджень, *n*-кумарова кислота може застосовуватись для лікування атеросклерозу, ішемії серця, ультрафіолетового ушкодження тканин ока, подагри і діабету [142].

Сінапінова кислота, що володіє антиоксидантними і протизапальними властивостями, присутня у різних фруктах і овочах. Вона утворюється в результаті метоксильного і гідроксильного заміщення кавової кислоти з утворенням проміжної ферулової кислоти, яка потім метилується з утворенням сінапової кислоти. Метоксильні і гідроксильні групи в структурі сінапінової кислоти мають високу активність по видаленню радикалів [143].

Методами ПХ і ТШХ ідентифікували гідроксикоричні кислоти в траві, плодах і шроті плодів анісу звичайного в рухомих фазах № 1, 9, 10; хроматограми проявляли реактивом А.

В результаті дослідження в порівнянні з ФСЗ гідроксикоричних кислот в траві було ідентифіковано наявність хлорогенової, *n*-кумарової, ферулової кислот [99], в плодах - хлорогенової, *n*-кумарової, а в шроті плодів -хлорогенової кислоти.

Результати визначення кількісного вмісту суми гідроксикоричних кислот методом прямої спектрофотометрії, наведені в табл. 3.10.

Як видно з представлених даних, найбільша кількість гідроксикоричних кислот ( $1,67 \pm 0,08$  %) міститься в траві анісу звичайного в фазі до цвітіння. По мірі дозрівання рослини їх вміст зменшується і досягає мінімуму в фазу плодоношення

-  $0,55 \pm 0,08$  %. Встановлено, що в плодах гідроксикоричних кислот в 7,36 разів більше ( $0,81 \pm 0,05\%$ ), ніж в шроті ( $0,11 \pm 0,07$  %) [144, 145].

Таблиця 3.10

**Кількісний вміст гідроксикоричних кислот в траві, плодах і шроті  
плодів анісу звичайного**

Вміст гідроксикоричних кислот, %		
ЛРС	м. Ташкент	м. Харків
Трава в фазі до цвітіння	$1,67 \pm 0,08$	$1,22 \pm 0,05$
Трава в фазі цвітіння	$0,82 \pm 0,04$	$0,97 \pm 0,06$
Трава в фазі воскової стиглості	$0,75 \pm 0,04$	$0,73 \pm 0,04$
Трава в фазі плодоношення	$0,67 \pm 0,08$	$0,55 \pm 0,08$
Плоди	$0,81 \pm 0,05$	$0,76 \pm 0,04$
Шрот плодів	$0,14 \pm 0,06$	$0,11 \pm 0,07$

При дослідженні 60 % метанольного екстракту трави анісу звичайного методом рідинної хроматографії встановлено наявність шести гідроксикоричних кислот (рис. 3.8, табл. 3.11).

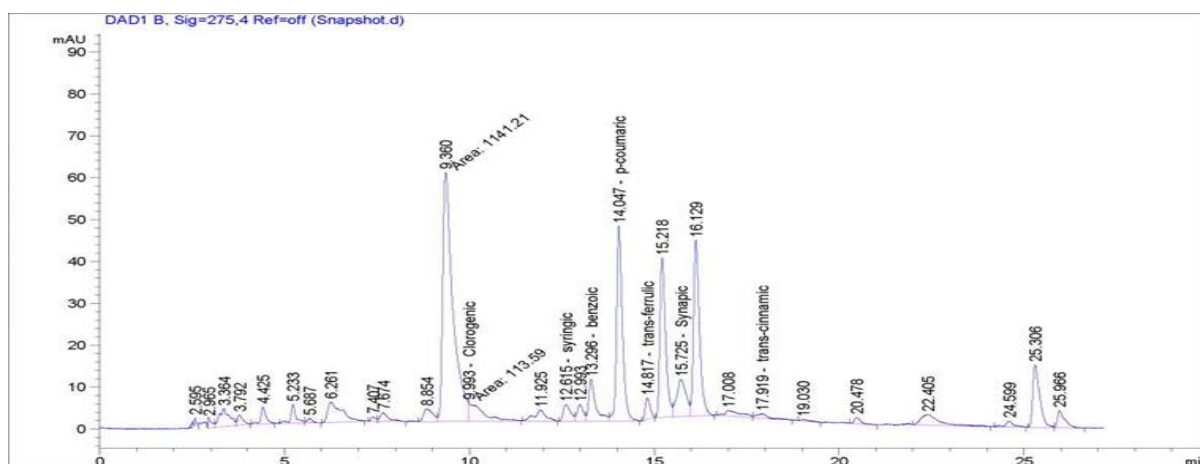


Рис. 3.8 Хроматограма гідроксикоричних кислот трави анісу звичайного

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. І, нарешті, 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.

Таблиця 3.11

**Вміст гідроксикоричних кислот в траві анісу звичайного**

№	Речовина	Час утримування, хв	Площа піку, mA*s	Вміст, мг/г
1	Галова кислота	4,81	НІ	НІ
2	<i>n</i> -Гідроксифенілоцтова кислота	8,33	НІ	НІ
3	Хлорогенова кислота	9,99	113,58	1,33
4	Кавова кислота	10,73	НІ	НІ
5	Сірінгова кислота	12,61	55,02	0,10
6	Бензойна кислота	13,29	133,63	0,27
7	<i>n</i> -Кумарова кислота	14,04	516,18	1,06
8	<i>транс</i> -Ферулова кислота	14,81	48,9	0,11
9	Сінапова кислота	15,72	157,64	0,25
10	<i>транс</i> -Корична кислота	17,91	27,67	0,02
11	Хінна кислота	23,01	НІ	НІ
<b>Сума гідроксикоричних кислот</b>				<b>2,88</b>

Примітка. \*НІ - не ідентифіковано

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%) [99].

### 3.5 Визначення флавоноїдів

Флавоноїди є вторинними метаболітами рослин. Повідомлялося про більш ніж 8000 фенольних сполук. Слід зазначити, що половина з них - це флавоноїди, представлені у вигляді аглікона, глікозидів та метильованих похідних [146, 147]. Флавоноїди мають антиоксидантну, протипухлинну, антибактеріальну дію, захищають шкіру від дії УФ-випромінювання [146, 148, 149, 150, 151].

Флавоноїди в траві, плодах і шроті плодів анісу звичайного вивчали методами ПХ і ТШХ. Для їх виявлення використовували рухомі фази № 1, 6, 7, 9, реактиви А, В і ФСЗ флавоноїдів. У траві анісу звичайного були виявлені рутин, кверцетин, в плодах - рутин, лютеолін, в шроті плодів - рутин.

Кількісний вміст флавоноїдів в сировині в перерахунку на рутин визначали спектрофотометрично (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

### Вміст флавоноїдів в траві, плодах і шроті плодів анісу звичайного

ЛРС	Вміст флавоноїдів, %	
	м. Ташкент	м. Харків
Трава в фазі до цвітіння	0,58 ± 0,05	0,41 ± 0,06
Трава в фазі цвітіння	0,45 ± 0,06	0,31 ± 0,07
Трава в фазі воскової стиглості	0,47 ± 0,07	0,35 ± 0,08
Трава в фазі плодоношення	0,15 ± 0,06	0,22 ± 0,07
Плоди	0,17 ± 0,03	0,18 ± 0,06
Шрот плодів	0,13 ± 0,04	0,15 ± 0,04

Як видно з представлених даних, найбільша кількість флавоноїдів ( $0,58 \pm 0,05$  %) міститься в траві анісу звичайного в фазі до цвітіння, найменша кількість в фазі плодоношення ( $0,15 \pm 0,06$  %). Результати дослідження показують, що в плодах більше флавоноїдів ( $0,18 \pm 0,06$  %), ніж в шроті ( $0,13 \pm 0,04$  %) [114, 152].

### 3.6 Визначення поліфенольних сполук

Поліфенольні сполуки як вторинні метаболіти є компонентами захисту рослин від комах і мікроорганізмів [153, 154]. Результатами фармакологічних досліджень доведено, що ця група БАР виявляє антиоксидантну [155], протизапальну [156], антиангіогенну [157], антиметастатичну дію [158].

Кількісний вміст поліфенолів в сировині визначали спектрофотометричним методом в перерахунку на галову кислоту (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

**Вміст поліфенольних сполук в траві, плодах і шроті плодів анісу звичайного**

Вміст поліфенольних сполук, %		
ЛРС	м. Ташкент	м. Харків
Трава в фазі до цвітіння	0,48 ± 0,05	0,51 ± 0,06
Трава в фазі цвітіння	0,81 ± 0,06	0,85 ± 0,04
Трава в фазі воскової стиглості	0,42 ± 0,08	0,44 ± 0,04
Трава в фазі плодоношення	0,30 ± 0,06	0,34 ± 0,05
Плоди	1,36 ± 0,04	1,28 ± 0,05
Шрот плодів	1,14 ± 0,05	0,94 ± 0,08

Отримані результати показують, що кількісний вміст поліфенольних сполук досягає максимуму в фазу цвітіння (0,85 ± 0,04 %), у фазі плодоношення рослини їх вміст стає меншим (0,30 ± 0,06 %). У плодах вміст поліфенольних сполук (1,36 ± 0,04 %) більше, ніж в траві (0,85 ± 0,04 %) і шроті плодів (0,94 ± 0,08 %) [114, 159].

В дослідженні поліфенолів трави анісу звичайного методом ВЕРХ методологічно ідентифікацію речовин в екстракті проводили шляхом порівняння часу утримування і спектральних характеристик досліджуваних речовин з аналогічними характеристиками набору стандартів у відповідності зі способом ідентифікації поліфенолів, як описано в роботі [160]. Для точної ідентифікації або визначення приналежності досліджуваних речовин до конкретних груп поліфенолів використовували такі стандарти: хлорогенова і кавова кислоти (гідроксикоричні кислоти); катехін (катехіни); мірицетин, кверцетин і рутин (флавоноли); нарингенін, нарингін, гесперидин і гесперитін (флавонони); лютеолін і апігенін (флаволи); дайдзеїн, геністеїн і геністин (ізофлаволи); ціанідин (антоціани) (Sigma-Aldrich, Німеччина). Як спектральні характеристики речовин (h) використовували висоти піків цих речовин на хроматограмах за довжин хвиль 255, 286 і 350 нм по висоті піку при довжині хвилі 225 нм:

$$h_{255} = \frac{H_{255}}{H_{225}}, \quad (3.2)$$

$$h_{286} = \frac{H_{286}}{H_{225}}, \quad (3.3)$$

$$h_{350} = \frac{H_{350}}{H_{225}} \quad (3.4)$$

де:

$H_{225}, H_{255}, H_{286}, H_{350}$  - висоти піків при 225, 255, 286, 350 нм;

$h_{255}, h_{286}, h_{350}$  - відносні висоти піків при 255, 286, 350 нм.

Наведені довжини хвиль є середніми значеннями максимумів поглинання світла в ультрафіолетовій області для використаних в дослідженні стандартів, відомості про яких були взяті з джерел [161, 162, 163]. Для ідентифікації речовин розраховували такі індекси подібності між досліджуваною речовиною і стандартом за формулами:

$$I_T = 1 - |T_{st} - T_u| \quad (3.5)$$

$$I_{255} = 1 - \left| h_{255st} - h_{255u} \right| \quad (3.6)$$

$$I_{286} = 1 - \left| h_{286st} - h_{286u} \right| \quad (3.7)$$

$$I_{350} = 1 - \left| h_{350st} - h_{350u} \right| \quad (3.8)$$

де:

$I_T$  - індекс подібності часу утримування;

$T_{st}$  - час утримування стандарту, хв;

$T_u$  - час утримування досліджуваної речовини, хв;

$I_{255}, I_{286}, I_{350}$  - індекси подібності спектральних характеристик;

$h_{255st}, h_{286st}, h_{350st}$  - спектральні характеристики стандарту;

$h_{255u}, h_{286u}, h_{350u}$  - спектральні характеристики досліджуваної речовини.

Найменший з трьох за значенням індекс подібності спектральних характеристик визначав ступінь подібності ( $I_L$ ) речовини і стандарту за цими характеристиками. Чим вище  $I_L$ , тим більша ймовірність точної ідентифікації речовини. Такий метод дозволяє з високою точністю ідентифікувати сполуки в разі їх відповідності за часом утримування одночасно декільком стандартам, і навпаки

- виявити різні форми певного поліфенолу (глікозиди і аглікони), які мають схожі спектральні характеристики [160].

Критерієм точної відповідності досліджуваної речовини будь-якому стандарту були прийняті величини  $I_L$  і  $I_T$  не нижче 0,7. Речовини, подібні за спектральним характеристикам з будь-яким стандартом, але відмінні за індексом  $I_T$ , розглядали як речовини, що належать до тієї ж групи поліфенолів, і цей стандарт. При цьому, якщо пік досліджуваного флавоноїду формується раніше піку стандарту-аглікону, то такі речовини ідентифікували як глікозиди цього аглікону, а їх зміст розраховували по калібрувальним залежностям наявного стандарту будь-якого глікозиду цього аглікону. Наприклад, вміст невідомого глікозиду нарингеніну визначали по калібруванню нарингіна, а вміст невідомих глікозидів флавонолів - калібруванням по рутину (як глікозидній формі кверцетину). Речовини, ступінь подібності яких зі стандартом катехіна був не нижче 0,7 і піки цих речовин розташовувалися в діапазоні між піком катехіна і найбільш раннім піком флавоноїду, ідентифікували як катехіни. Решта подібних катехіну речовини, зараховували до групи катехіноподібних поліфенолів.

Речовини, ступінь подібності яких з будь-яким стандартом була нижче 0,7, зараховували до групи неідентифікованих поліфенолів і їх вміст визначали за стандартами, ступінь подібності з якими була найбільшою. Також як неідентифіковані поліфеноли визначали речовини, що мають ступінь подібності зі стандартами флавоноїдів вище 0,7 і піки яких на хроматограмах розташовувалися за межами діапазону піків стандартів флавоноїдів, які використовували в даному дослідженні. Речовини, які не поглинають випромінювання при довжині хвилі 225 нм, також вважали неідентифікованими і такими, які не належать до поліфенолів, їх не враховували.

На рис. 3.9 приведена хроматограма екстракту трави анісу звичайного.

Детектування піків речовин на виході з хроматографічної колонки проводили УФ-детектором при довжині хвилі 255 нм. Всього на хроматограмах екстракту трави анісу звичайного ідентифіковано 88 піків, які були проаналізовані за індексами подібності зі стандартами, які використовували в дослідженні; з них 24

були віднесені до групи «неідентифікованих». На хроматограмі позначені основні піки, номери яких збігаються з номерами ідентифікованих речовин в табл. 3.14.

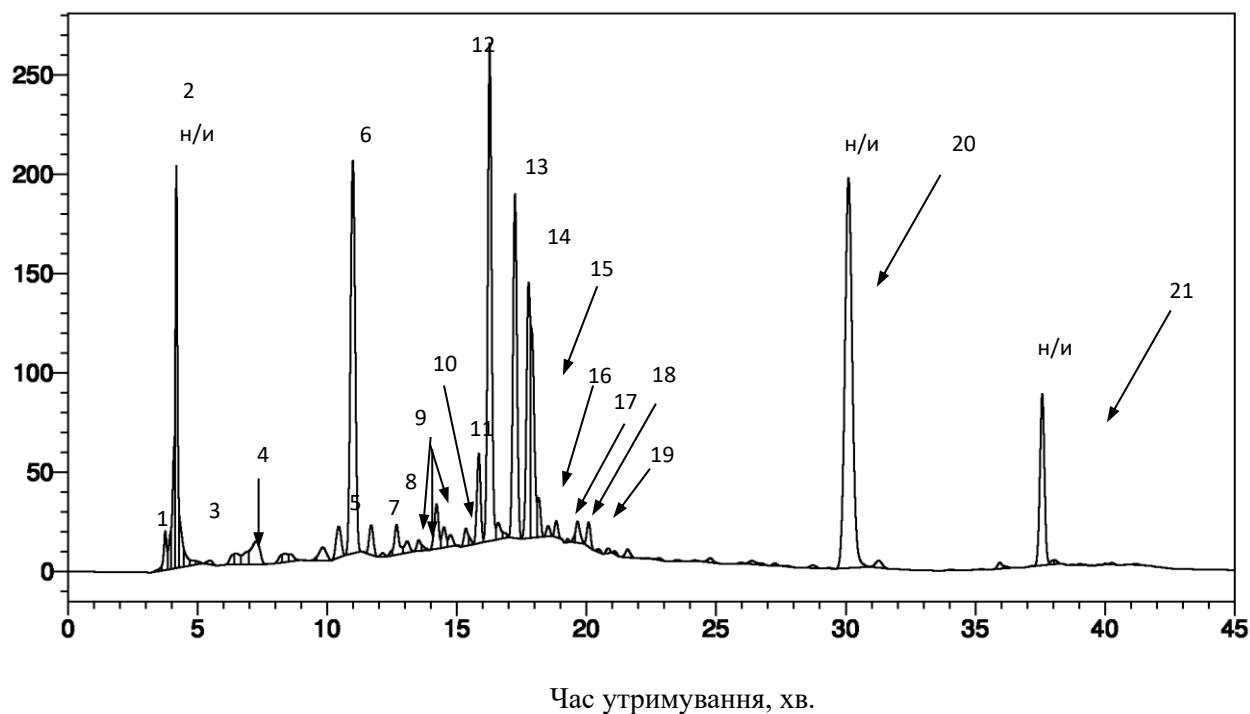


Рис. 3.9 Хроматограма поліфенольних сполук спиртового екстракту зразка трави анісу звичайного, отримана при довжині хвилі детектування 255 нм.

Згідно описаного раніше алгоритму і з урахуванням високих індексів подібності зі стандартними речовинами  $I_T$  і  $I_L$  сполуки № 5 і № 19 ідентифіковані як хлорогенова кислота і кверцетин. Речовина № 15 ідентифікована як рутин, враховуючи високе значення індексу подібності часу утримування ( $I_T$ ) зі стандартом рутину; низька схожість спектральних характеристик може бути обумовлена домішкою сторонніх речовин, які формують разом з рутином пік № 15 на хроматограмі.

Крім того, в екстракті виявлені похідні мірицетину, апігеніну і лютеоліну, які ідентифіковані як глікозидні форми цих агліконів через високу схожість спектральних характеристик і менші значення часу утримування проти стандарту, як було зазначено раніше. Також в екстракті присутні похідні гідроксикоричних кислот і катехіни.



**Поліфенольні сполуки спиртового екстракту трави анісу звичайного**

Номер піку	T, хв	I <sub>L</sub>	I <sub>T</sub>	Стандарт з найбільшою подібністю	Ідентифікація
1	3,767	0,863	-4,317	катехін	катехіноподібна сполука
2	4,193	-4,619	-11,610	геністин	н/і
3	6,932	0,817	-2,968	кавова кислота	фенольна кислота
4	10,444	0,935	0,567	хлорогенова кислота	фенольна кислота
5	10,990	0,950	0,887	хлорогенова кислота	хлорогенова кислота
6	11,394	0,867	-1,31	катехін	катехін
7	13,757	0,666	-1,857	кавова кислота	фенольна кислота
8	14,221	0,900	-2,344	хлорогенова кислота	фенольна кислота
9	15,479	0,736	-2,880	мірицетин	глікозид мірицетину
10	15,845	0,856	-5,94	лютеолін	глікозид лютеоліну
11	16,263	0,903	-5,522	лютеолін	глікозид лютеоліну
12	17,236	0,910	-6,519	апигенін	глікозид апигеніну
13	17,759	0,917	-5,996	апигенін	глікозид апигеніну
14	17,859	0,866	-3,926	лютеолін	глікозид лютеоліну
15	18,127	0,408*	0,973	кверцетин	рутин
16	18,513	0,658	0,154	мірицетин	глікозид мірицетину
17	19,647	0,892	-2,138	лютеолін	глікозид лютеоліну
18	20,382	0,643	-0,0226	мірицетин	глікозид флавонолу
19	21,579	0,755	0,968	кверцетин	кверцетин
20	30,081	-1,825	-12,278	геністин	н/і
21	37,568	0,495	-19,178	нарингін	н/і

Кількісний вміст поліфенольних сполук етанольного екстракту трави анісу звичайного розраховували на 1 г сухого зразка трави. Встановлено, що з поліфенольних сполук в екстракті переважає хлорогенова кислота (4,409 мг/г); сума гідроксикоричних кислот визначена на рівні 1,221 мг/г. Також в траві накопичуються значні кількості катехінів (3,104 мг/г), похідних апигеніна (3,077 мг/г) і лютеоліна (1,864 мг/г).

Вміст рутина і похідних мірицетину виявлено на рівні 0,1 - 0,2 мг/г, в міnorних кількостях присутні кверцетин (0,028 мг/г), похідні нарингеніна (0,019 мг/г), апигенін (0,009 мг/г) і гесперетин (0,002 мг/г). Загальний вміст поліфенолів визначали як суму вмісту флавоноїдів, неідентифікованих поліфенолів і фенольних кислот - він склав 17,576 мг/г.

Логічним продовженням роботи було визначення рівня антиоксидантної активності поліфенольних сполук трави анісу звичайного. Для цього застосовували потенціометричний метод з використанням розчину суміші сполук  $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$  як медіаторної системи. Кількісну оцінку АОА визначали за аскорбіновою кислотою (рис. 3.10). Значення АОА екстракту трави анісу звичайного (ммоль/г) визначали за формулою:

$$AOA = \frac{V_1 * C_x * V_3 * 100}{m_H * V_2 * (100 - W)} \quad (3.9)$$

де:

$V_1$  - об'єм розчину А, л;

$V_2$ - об'єм розчину Б, л;

$V_3$ - об'єм розчину В, л;

$C_x$ - значення АОА за градууювальною прямою, ммоль/л;

$m_H$ - маса наважки сировини, г;

$W$  - втрата в масі при висушуванні, %.

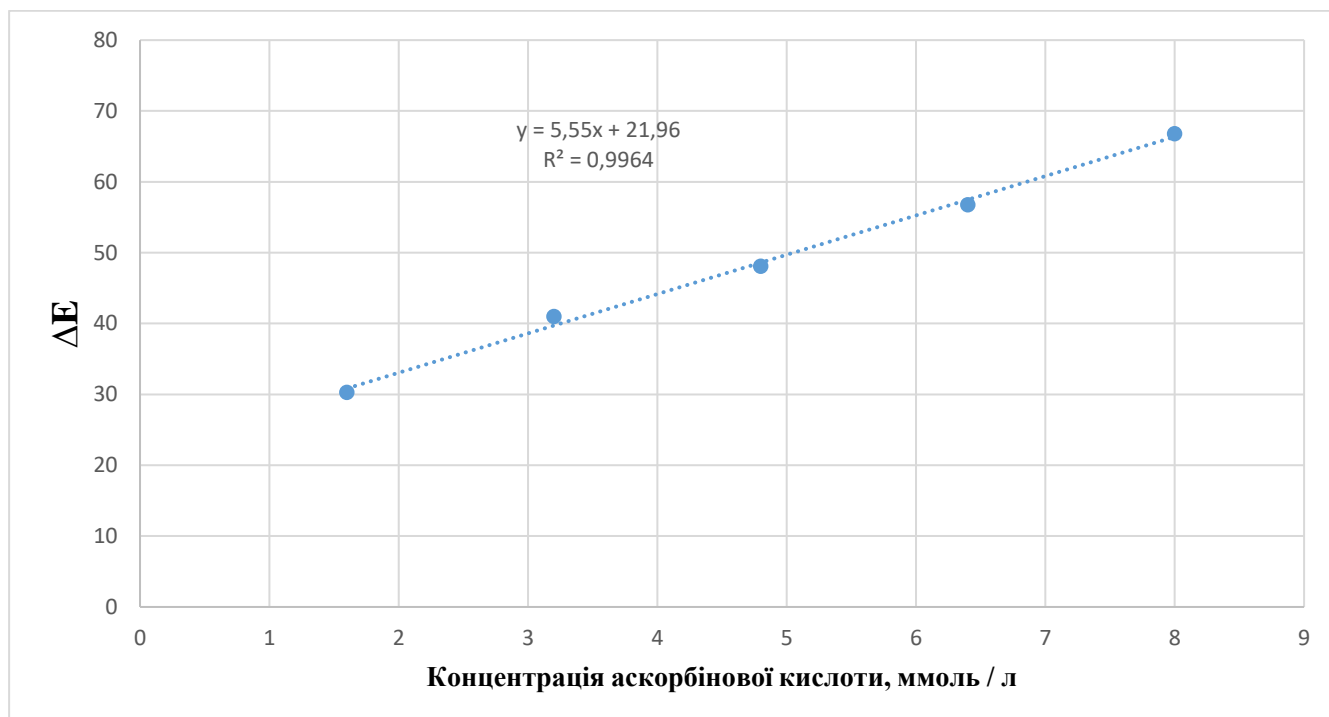


Рис. 3.10 Градууювальна пряма зміни потенціалу стандартних розчинів аскорбінової кислоти

Також за цим методом було обчислено значення АОА для рутину (ммоль/г) за формулою:

$$AOA = \frac{V * C_x * 100}{m_H * (100 - W)} \quad (3.10)$$

де:

V - об'єм розчину, л;

C<sub>x</sub>- значення АОА за градуовальною прямою, ммоль/л;

m<sub>H</sub> - маса наважки рутину, г;

W - втрата в масі при висушуванні, %.

В результаті проведених експериментів було встановлено, що поліфенольні сполуки трави анісу звичайного виявляють АОА на рівні  $67,76 \pm 0,05$  ммоль/г, але рутин проявив вищий рівень АОА, який становив  $3979,59 \pm 0,08$  ммоль/г [73].

### 3.7 Вивчення жирнокислотного складу трави анісу звичайного

Сьогодні особливий інтерес дослідники виявляють до біологічно активних речовин ліпофільної природи, зокрема до жирних кислот [164]. Жирні кислоти є складовими фосфоліпідів, які вважаються «будівельними блоками» клітинних мембран [165], основними і незамінними компонентами всіх рослинних клітин, що забезпечують структурну цілісність і енергію для різних метаболічних процесів, а також виступають як медіатори трансдукції сигналу [166]. Численними дослідженнями було доведено, що поліненасичені жирні кислоти позитивно впливають на серцево-судинну систему [167], розвиток плода та вікові захворювання (хвороба Альцгеймера і деменція) [168]; мають протизапальну дію [169].

Аналіз жирнокислотного складу трави анісу звичайного проводили методом газової хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням.

В результаті проведеного дослідження виявлено 11 жирних кислот (рис. 3.11).

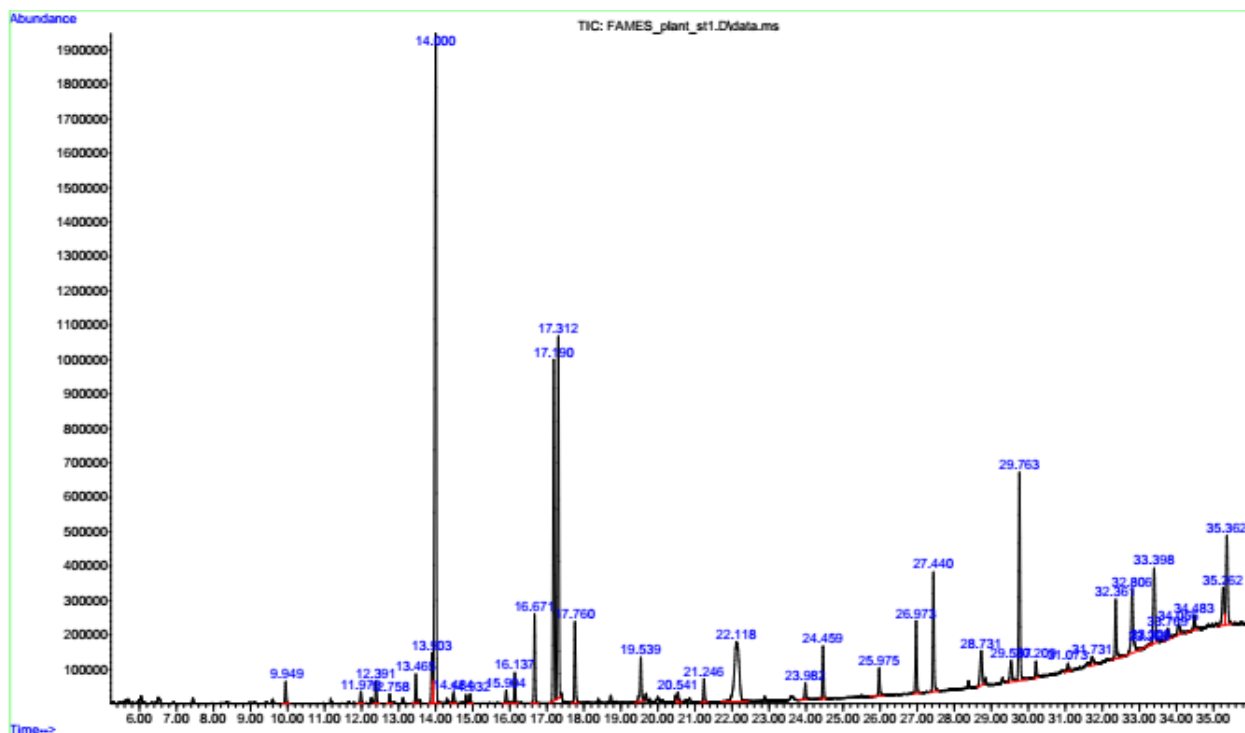


Рис. 3.11 Хроматограма жирних кислот трави анісу звичайного

Таблиця 3.15

## Жирнокислотний склад трави анісу звичайного

№	Насичені жирні кислоти	Час утримування, хв	Площа піку	Вміст, мг/г
	Нонадеканова кислота	Внутрішній стандарт		
1	Міристинова кислота	9,949	0,74	0,28
2	Пентадеканова кислота	11,979	0,41	0,16
3	Пальмітинова кислота	14,000	29,52	11,20
4	Маргаринава кислота	15,904	0,44	0,17
5	Стеаринова кислота	17,760	2,96	1,12
6	Арахінова кислота	21,246	0,82	0,31
7	Бегенова кислота	24,459	1,94	0,74
8	Лігноцерінова кислота	27,440	4,34	1,64
9	Церотинова кислота	29,537	1,18	0,45
	Сума			16,07
	Ненасичені жирні кислоти			
10	Лінолева кислота	17,190	13,16	4,99
11	α-ліноленова кислота	17,312	13,80	5,23
	Сума			10,22
	Сума насичених і ненасичених жирних кислот			26,29

З них насичені жирні кислоти представлені 9, ненасичені - 2 сполуками. Серед насичених жирних кислот значно переважає пальмітинова кислота (11,20 мг/г); ненасичені - α-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 (табл. 3.15).

В результаті проведеного визначення якісного складу та кількісного вмісту жирних кислот в траві анісу звичайного методом газової хроматографії мас-спектрометрії ідентифіковано 11 жирних кислот з сумарним вмістом 26,29 мг/г [93].

### 3.8 Вивчення компонентного складу леткої фракції трави анісу звичайного

Хімічно ефірні олії являють собою багату суміш численних біоактивних хімічних компонентів, таких як терпени, терпеноїди та феноли [170]. Ефірні олії виконують ряд важливих функцій для рослин: залучення корисних комах і запилювачів, захист рослин від деяких стресів навколишнього середовища (спеки, холоду і т.і.) і захист рослин від шкідників і/або мікроорганізмів [171]. Вони мають антимікробну, протигрибкову, антиоксидантну, противірусну, інсектицидну дію [172].

Компонентний склад леткої фракції трави анісу звичайного визначали методом газової хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням. Хроматограма представлена на рис. 3.12.

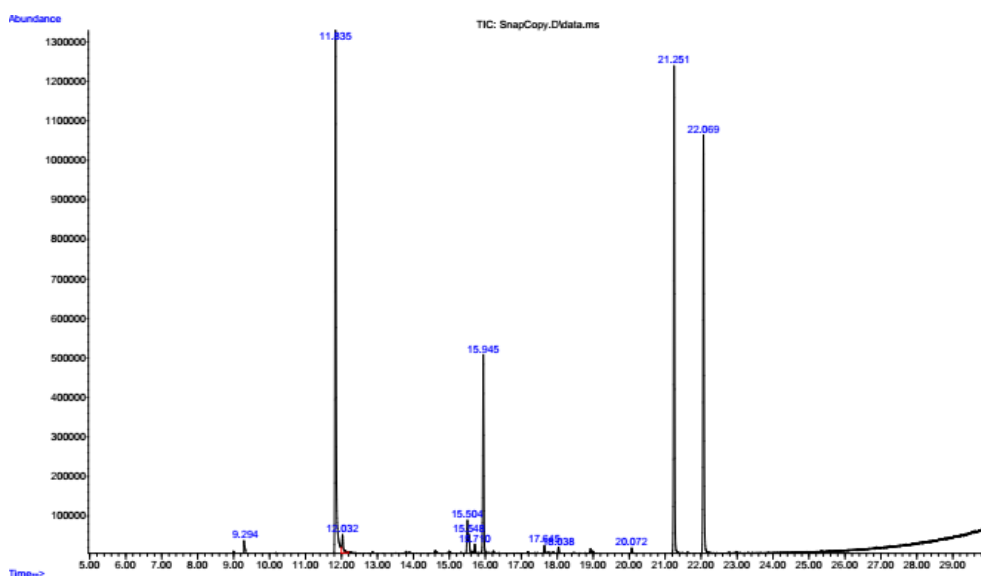


Рис. 3.12 Хроматограма летких сполук трави анісу звичайного

На хроматограмі домінують піки *транс*-анетола, ізоєвгенола ацетату і телунгіаніна G. У табл. 3.16 представлено вміст компонентів леткої фракції трави анісу звичайного.

Таблиця 3.16

## Компонентний склад леткої фракції трави анісу звичайного

№	Леткі сполуки	Час утримання, хв	Площа піку	Вміст, мг/г
1	Бутанамін-2	9,294	0,69	0,02
2	<i>транс</i> -Анетол	11,835	32,20	1,10
3	Тридекан	12,032	Внутрішній стандарт	
4	$\gamma$ -Хімахален	15,504	2,01	0,07
5	$\beta$ -Кубебен	15,548	1,13	0,04
6	$\alpha$ -Зінгіберен	15,710	0,56	0,02
7	$\beta$ -Бісаболен	15,945	10,86	0,37
8	1-(2,6-Диметилфеніл)-2-пропанамін	17,645	0,54	0,02
9	Ксантуренова кислота	18,038	0,42	0,01
10	<i>транс</i> -Ізоєвгенол	20,072	0,42	0,01
11	Ізоєвгенол ацетат	21,251	26,53	0,91
12	Телунгіанін G	22,069	24,66	0,84
	Сума			3,41 мг/г

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), ізоєвгенола ацетат (0,91 мг/г) і телунгіанін G (0,84 мг/г) [94,95].

Раніше було встановлено склад ефірної олії плодів анісу звичайного, заготовлених в Україні (табл. 3.17) [173].

Як видно з результатів досліджень, *транс*-анетол домінує в траві та плодах (1,1 мг/г і 920,1 мг/г відповідно). В траві виявлено наявність ацетоізоєвгенола (0,91

мг/г), телунгіаніна G (0,84 мг/г), бутанаміна-2 (0,02 мг/г),  $\beta$ -кубебена (0,04 мг/г),  $\beta$ -бісаболена (0,37 мг/г), 1-(2,6-диметилфеніл)-2-пропанаміну (0,02 мг/г), ксантуруенової кислоти (0,01 мг/г) і ізоевгенола (0,01 мг/г), не представлені в плодах. В плодах крім *транс*-анетола в значних кількостях присутні метилхавікол (17,3 мг/г), карвон (0,7 мг/г), *цис*-анетол (3,7 мг/г), *n*-анісовий альдегід (0,9 мг/г),  $\alpha$ -хімахален (1,0 мг/г),  $\alpha$ -куркумен (1,1 мг/г), 2-(1-*транс*-пропеніл)-4-метоксифеніл-2-метилбутират (35,6 мг/г), 2-(1-*транс*-епоксипропіл)-4-метоксифеніл-2-метилбутират (7,1 мг/г), які не містяться в траві.

Таблиця 3.17

### Склад компонентів ефірної олії плодів анісу звичайного

Леткі сполуки	Час утримування, хв	Вміст, мг/г
Метилхавікол	14,39	17,3
Карвон	15,95	0,7
<i>цис</i> -Анетол	16,23	3,7
<i>n</i> -Анісовий альдегід	16,61	0,9
<i>транс</i> -Анетол	17,69	920,1
$\alpha$ -Хімахален	22,47	1,0
$\gamma$ -Хімахален	23,38	9,2
$\alpha$ -Куркумен	23,53	1,1
$\alpha$ -Зінгіберен	23,90	1,7
Невідома речовина	27,40	1,1
2-(1- <i>транс</i> -Пропеніл)-4-метоксифеніл-2-метилбутират	30,66	35,6
2-(1- <i>транс</i> -Епоксипропіл)-4-метоксифеніл-2-метилбутират	31,34	7,1
Сума		999,5

### 3.9 Визначення хлорофілів і каротиноїдів

Складовою частиною ліпофільних екстрактів рослин є ліпіди, каротиноїди, хлорофіли та ін. [174]. Серед зазначених класів сполук важливу роль відіграють хлорофіли і каротиноїди. Каротиноїди належать до полієнових сполук. Їм властиві антиканцерогенні [175], антимуутагенні, імуномодулюючі властивості [176], тоді як

хлорофіл підсилює процеси кровотворення, має антимікробну, тонізуючу дію [177]. Вихід ліпофільних речовин з трави, плодів і шроту плодів наведено в табл. 3.18.

Таблиця 3.18

**Вихід ліпофільних речовин з трави, плодів і шроту плодів  
анісу звичайного**

ЛРС	Вихід ліпофільних речовин, %
Трава в фазі до цвітіння	1,54 ± 0,04
Трава в фазі цвітіння	1,53 ± 0,06
Трава в фазі воскової стиглості	1,38 ± 0,04
Трава в фазі плодоношення	1,30 ± 0,08
Плоди	7,00 ± 0,05
Шрот плодів	5,32 ± 0,04

Результати показують, що плоди і шрот плодів анісу звичайного багаті ліпофільними речовинами ( $7,00 \pm 0,05$  і  $5,32 \pm 0,04$ , відповідно), в траві в різні фази вегетації вміст ліпофільних речовин майже однаковий і знаходиться в межах 1,30 – 1,54 %. Кількісний вміст хлорофілів і каротиноїдів визначали спектрофотометрично. Сумарний вміст хлорофілів становить  $1,344 \pm 0,01$  мг/л, а каротиноїдів -  $0,196 \pm 0,02$  мг/л [179], в плодах хлорофілів  $1,432 \pm 0,02$  мг/л, каротиноїдів  $0,225 \pm 0,05$  мг/л, а в шроті плодів - хлорофілів  $1,365 \pm 0,05$  мг/л, каротиноїдів  $0,188 \pm 0,04$  мг/л.

### 3.10 Вивчення елементного складу

Основними елементами, з яких будується жива речовина є Н, С, N, О та S. Їх концентрації сягають г/кг. Макромінерали Na, Mg, P, Cl, K і Ca, що слугують структурними елементами клітин мають концентрацію порядку г/кг. Решта елементів Періодичної системи, що містяться в концентрації мг/кг або мкг/кг, називаються слідовими. Деякі зі слідових елементів є життєво необхідними для функціонування живих систем. Натомість для кожного з них існує рівень концентрації, що відповідає адекватному впливу на живу систему і кожний елемент, навіть життєво необхідний, може бути потенційно токсичним при



концентраціях, що перевищують рівень адекватного впливу. Залежність біологічної функції слідового елемента в живій системі від його концентрації в їжі або середовищі схематично показана на відомій діаграмі Бертрана [180,181].

Результати дослідження елементного складу трави та плодів анісу звичайного наведені в табл. 3.19.

Таблиця 3.19

**Елементний склад трави та плодів анісу звичайного**

№	Елемент	Вміст елемента, мг/100 г	
		трава	плоди
1	K	2400	2050
2	Ca	690	530
3	Na	215	100
4	Mg	215	305
5	Si	105	265
6	P	52	265
7	Al	21	38
8	Fe	6	34
9	Sr	5,1	1,5
10	Zn	2,4	5,3
11	Mn	1,5	2,3
12	Cu	0,21	0,76
13	Mo	0,069	0,038
14	Ni	0,043	0,076
15	Pb	<0,03	<0,03
16	Co	<0,03	<0,03
17	Cd	<0,01	<0,01
18	Hg	<0,01	<0,01
19	As	<0,01	<0,01

Дослідженням встановлено, що якісний елементний склад для трави і плодів анісу звичайного однаковий. В обох видах досліджуваної сировини міститься 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 в той самий час 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. Наприклад, кількість феруму в плодах (34 мг/100 г) майже в 6 разів

перевищує таку в траві (6 мг/100 г), купрум – майже в 4 рази. Вміст інших елементів в досліджуваній сировині становить менше 0,1 мг/100 г і відповідно гранично допустимі концентрації токсичних елементів не перевищені [92,182].

### 3.11 Вивчення продуктів комплексної переробки плодів і трави анісу звичайного

Плоди анісу звичайного заготовляють під час дозрівання 50-60 % зонтиків; трава скошується і обмолочується. Виходячи з цього, відходом даної технологічної операції є трава після обмолоту. Метою нашої подальшої роботи стало фітохімічне дослідження продуктів комплексної переробки анісу звичайного. Для цього згідно статті ДФУ «Анісу плоди» [111] отримана ефірна олія з плодів і трави анісу звичайного. Шрот після перегонки ефірної олії відфільтровували. Водні фільтрати упарювали до 1/3 початкового об'єму і осаджували ВРПК п'ятикратною кількістю 96 % етанолу. У фільтратах після осадження ВРПК і шроті плодів і трави визначали вміст гідроксикоричних кислот в перерахунку на хлорогенову кислоту; органічні кислоти в перерахунку на яблучну кислоту; поліфенольні сполуки в перерахунку на галову кислоту і флавоноїди в перерахунку на рутин. Крім того, з висушеного шроту виділяли пектинові речовини (триразова екстракція 0,5 % розчинами амонію оксалату і оксалатної кислоти (1:1) в співвідношенні сировина : екстрагент (1:20) протягом 2 год). Отримані екстракти відфільтровували, упарювали до 1/5 початкового об'єму і осаджували п'ятикратною кількістю 96 % етанолу [85]. Результати визначень БАР, які додатково можна отримувати із застосуванням комплексної переробки плодів і трави анісу звичайного представлені на рис. 3.13 і рис. 3.14.

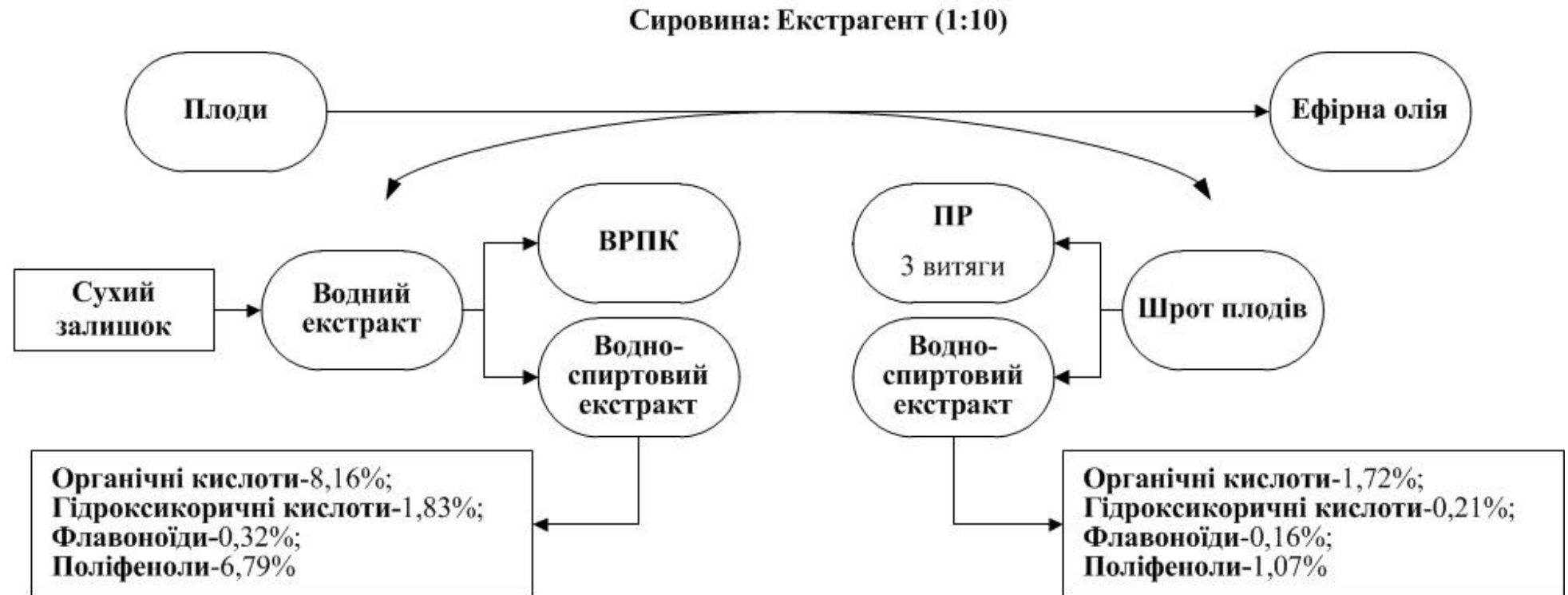


Рис. 3.13 Фітохімічне вивчення продуктів комплексної переробки плодів анісу звичайного

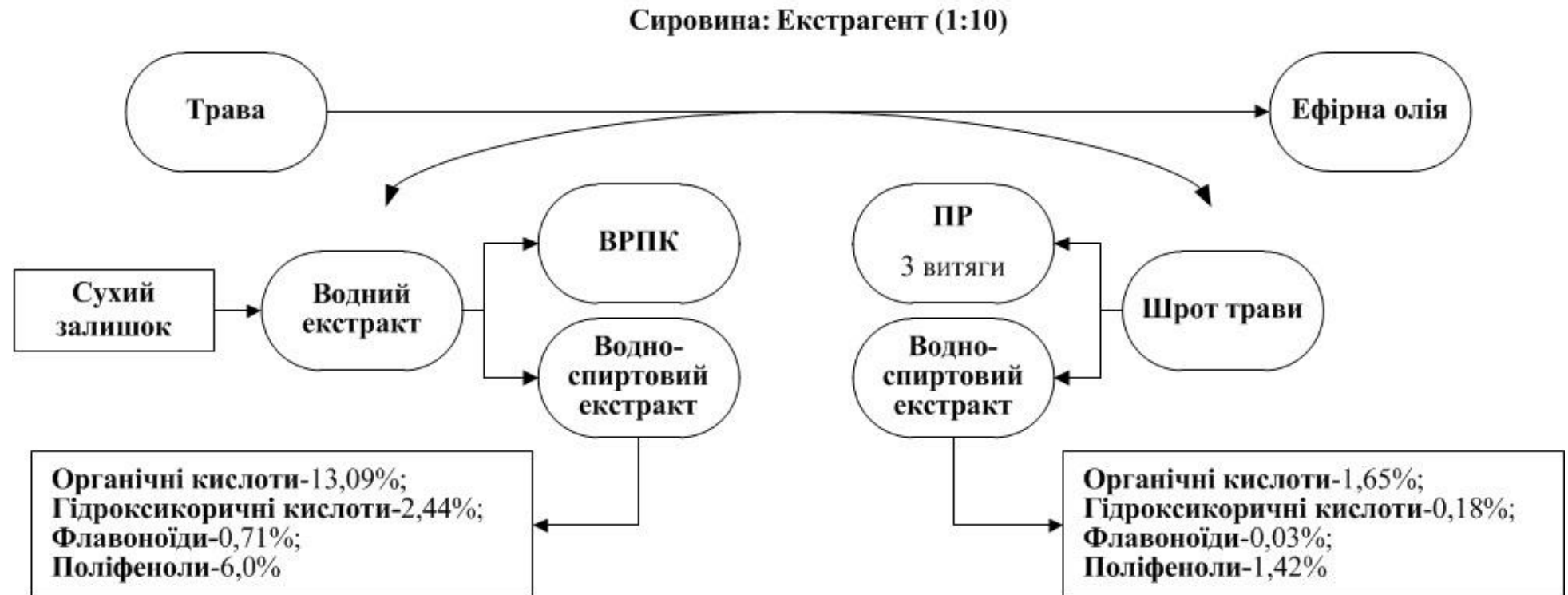


Рис. 3.14 Фітохімічне вивчення продуктів комплексної переробки трави анісу звичайного

### Висновки до розділу 3

1. Вперше проведено комплексне порівняльне фармакогностичне вивчення сировини плодів, шроту плодів і трави анісу звичайного. Досліджено якісний склад і кількісний вміст біологічно активних речовин сировини, ліпофільних фракцій, водних і спиртових екстрактів і ефірних олій.

2. Вперше отримані водорозчинний полісахаридний комплекс (вихід 4,73-7,20 %), пектинові речовини (вихід 7,11-15,25 %) і геміцелюлози (вихід 16,94-41,57 %) з трави анісу звичайного, вивчено оптимальний час гідролізу, ідентифіковані моносахариди (ВРПК - глюкоза, рамноза; ПР - глюкоза, галактоза, арабіноза). Виявлено наявність 10 амінокислот в траві; 8 – в плодах і 5 – в шроті плодів анісу звичайного. Спектрофотометричним методом встановлено вміст суми амінокислот в сировині.

3. Методами ПХ і ТШХ в сировині визначено органічні кислоти - яблучну, лимонну, бурштинову. 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.

4. Методами ГХ і ВЕРХ ідентифіковані фенольні сполуки, а саме гідроксикоричні кислоти, зокрема хлорогенова (1,3389 мг/г), *n*-кумарова (1,0612 мг/г); загальна кількість поліфенолів як суми вмісту флавоноїдів, неідентифікованих поліфенолів і фенольних кислот склала 17,576 мг/г. Також в траві виявлено значну кількість катехінів (3,104 мг/г), похідних апігеніну (3,077 мг/г) і лютеоліну (1,864 мг/г).

5. Методом газової хроматографії мас-спектрометрії визначено якісний склад і кількісний вміст жирних кислот в траві анісу звичайного, встановлено наявність 11 жирних кислот з сумарним вмістом 26,29 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).

6. Спектрофотометричним методом встановлено, що в траві анісу звичайного сумарний вміст хлорофілів становить  $1,344 \pm 0,01$  мг/л, 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.

7. Вперше методом атомно-емісійної спектроскопії ідентифіковані і встановлені в сировині 19 елементів. Вміст важких металів встановлено в межах, нормованих ДФУ.

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

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.
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.
3. Дослідження елементного складу анісу звичайного / С. В. Колісник та ін. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 2 (63). С. 71–74.
4. 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). P. 33–38. (**Scopus**).
5. 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.
6. Дослідження легкої фракції анісу звичайного / С. В. Колісник та ін. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 3 (64). С. 46–50.

7. Вивчення жирних кислот трави анісу звичайного / У. А. Умаров та ін. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2020. Т. 18, вип. 4 (72). С. 56–58.
8. 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. (**Scopus**).
9. Вивчення поліфенольних сполук трави анісу звичайного та визначення їхньої антиоксидантної активності / У. А. Умаров та ін. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2021. Т. 19, вип. 1 (73). С. 42–47.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Умаров У., Колесник С. В., Гриценко И. 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.
14. 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.

15. 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.
16. 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.
17. Количественное определение содержания свободных органических кислот в траве аниса обыкновенного / У. Умаров и др. *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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. Умаров У. А., Колісник С. В., Коретнік О. І. Дослідження моносахаридного складу полісахаридних комплексів, виділених з трави анісу звичайного. *Застосування методів лікування і апіпрепаратів 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.
23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. Умаров У. А., Колесник С. В., Фатхуллаєва 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.
27. Умаров У. А., Колесник С. В., Фатхуллаєва 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.

**РОЗДІЛ 4**

**СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТРАВИ АНІСУ ЗВИЧАЙНОГО. ОДЕРЖАННЯ,  
СТАНДАРТИЗАЦІЯ І ПІДТВЕРДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ  
АКТИВНОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ З ТРАВИ АНІСУ ЗВИЧАЙНОГО.  
РОЗРОБКА ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ ТА ЇЇ СТАНДАРТИЗАЦІЯ**

Результати якісного і кількісного аналізу плодів, шроту плодів і трави анісу звичайного показали, що максимальна кількість БАР в основному накопичується в траві. Виходячи з цього, в якості сировини для одержання лікарського засобу шляхом комплексної переробки була обрана трава анісу звичайного. Розробка лікарських рослинних засобів вимагає використання стандартизованої за ДФУ сировини. Згідно ДФУ встановлені морфолого-анатомічні діагностичні ознаки, основні числові показники трави анісу звичайного, а також проведено визначення кількісного вмісту БАР [65, 111].

#### 4.1 Вивчення числових і технологічних параметрів трави анісу звичайного

Числові та технологічні параметри трави анісу звичайного були визначені відповідно до вимог ДФУ - втрата в масі при висушуванні, загальна зола, вміст сторонніх домішок, насипний об'єм, насипна густина, питома густина, об'ємна густина, пористість, порозність, вільний об'єм шару, коефіцієнт поглинання різними екстрагентами (табл. 4.1, табл. 4.2). Методики визначення наведені в Розділі 2 [65].

*Таблиця 4.1*

#### Показники якості трави анісу звичайного

Показники якості	Вміст, %
Втрата в масі при висушуванні	$6,85 \pm 0,05$
Загальна зола	$8,58 \pm 0,06$
Сторонні домішки	Не більше 2,0

В результаті дослідження встановлено, що втрата в масі при висушуванні і загальна зола трави анісу звичайного становили  $6,85 \pm 0,05$  % і  $8,58 \pm 0,06$  % відповідно.

Таблиця 4.2

### Технологічні параметри трави анісу звичайного

Технологічні параметри	Трава анісу звичайного
Насипний об'єм до усадки, см <sup>3</sup>	70
Насипний об'єм після усадки, см <sup>3</sup>	58
Насипна щільність до усадки, г/см <sup>3</sup>	0,14
Насипна щільність після усадки, г/см <sup>3</sup>	0,17
Питома вага, г/см <sup>3</sup>	1,31
Об'ємна щільність, г/см <sup>3</sup>	0,40
Пористість	0,69
Порозність	0,65
Вільний об'єм шару	0,89
Коефіцієнт поглинання, вода очищена, мл/г	4,0
Коефіцієнт поглинання, 20 % спирт етиловий, мл/г	3,58
Коефіцієнт поглинання, 40 % спирт етиловий, мл/г	3,76
Коефіцієнт поглинання, 60 % спирт етиловий, мл/г	4,77
Коефіцієнт поглинання, 96 % спирт етиловий, мл/г	2,79
Коефіцієнт поглинання, хлороформ, мл/г	3,16

Насипний об'єм трави анісу звичайного після усадки зменшується з 70 мл до 58 мл, тобто на 17 % (табл. 4.2). Насипна густина після усадки зростає з 0,14 г/см<sup>3</sup> до 0,17 г/см<sup>3</sup>. Пористість і порозність мають близькі значення. Найменше значення коефіцієнта поглинання має 96 % етиловий спирт, тоді як коефіцієнт поглинання 60 етилового спирту найбільший. Врахування отриманих даних дає можливість підвищити ефективність отримання екстракційних продуктів з трави анісу звичайного [98].

## 4.2 Макро- та мікроскопічне дослідження трави анісу звичайного

### Морфологічні ознаки трави анісу звичайного

Куски стебел 3-4 см завдовжки, до 0,3 см у діаметрі тонкі, округлі, слабо ребристі. Листки прості, піхвові, нижні – довгочерешкові, округло-серцеподібні, листкова пластинка до 2,0 см завдовжки і 2,0 см завширшки; середні – короткочерешкові, трійчаторозсічені на ланцетні клиноподібні сегменти, листкова пластинка до 3,0 см завдовжки і 2,5 см завширшки, верхні – короткочерешкові або сидячі, перисторозсічені на вузькі ланцетні сегменти, листкова пластинка до 2,0 см завдовжки і 1,5 см завширшки (рис. 4.1.1).

Квітки дрібні, актиноморфні у складних зонтиках із 10-12 променів без обгортки та обгортчок (рис. 4.1.2). Пелюсток п'ять, білі, чашечка редукована до п'яти зубчиків, тичинок п'ять, положення зав'язі нижнє, маточка ценокарпна, рильце дволопатеве. Зав'язь яйцеподібної форми, з однаково розвиненими ребрами, що слабо виступають.

Недозрілі плоди зеленого кольору, яйцеподібні до 0,2-0,4 см у діаметрі, на верхівці - п'ятизубчата чашечка та надприймочковий диск (рис. 4.1.3). Запах сировини виражений, пряний, «анісовий».

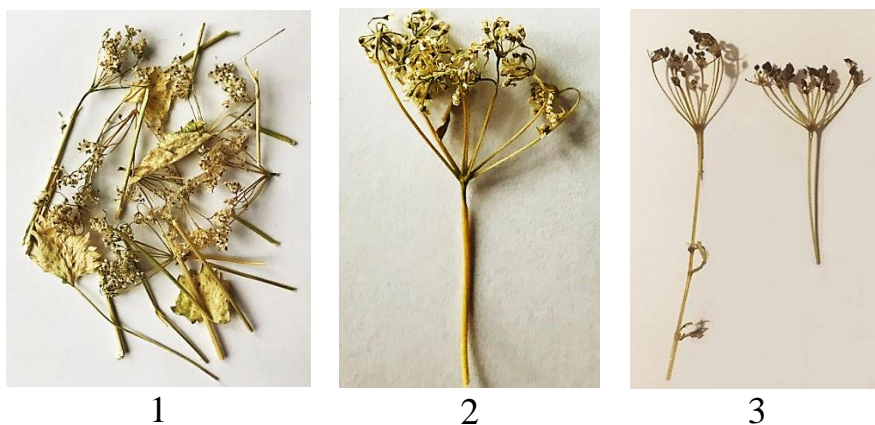


Рис. 4.1 Морфологічні ознаки трави анісу звичайного: 1 – різана сировина, 2 – фрагмент суцвіття з квітками, 3 – фрагмент суцвіття з розрислою зав'яззю.

### Анатомічні ознаки листка (рис. 4.2. 1-8).

Листкова пластинка по краю, по жилках густо вкрита криючими одно- та двоклітинними трихомами. Трихоми вкриті бородавчастою кутикулою. Клітини

верхньої епідерми між жилками паренхімні, тонкостінні, звивистостінні, вкриті складчастою кутикулою (рис. 4.2.1).

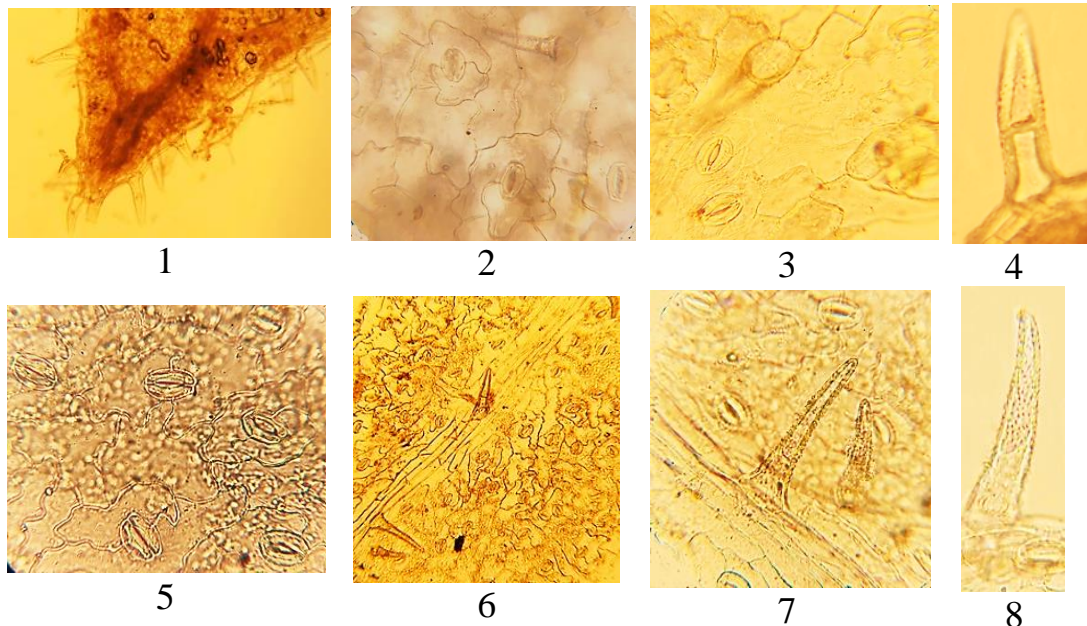


Рис. 4.2. Анатомічні ознаки листка анісу звичайного:

Верхня епідерма: 1 – верхівка пластинки, 2 – діацитний тип продихового апарату, 3 – епідерма зі складчастою кутикулою, 4 – 2-клітинний криючий бородавчастий волосок. Нижня епідерма: 5 – між жилками, 6 – над жилкою, 7 – криючі волоски по жилках, 8 – одноклітинний криючий бородавчастий волосок.

Зрідка на поверхні виявляють поодинокі криючі трихоми (рис. 4.2.4). Нижня епідерма (рис. 4.2.5-4.2.8) між жилками утворена паренхімними, часто витягнутими звивистостінними клітинами. Клітини епідерми над жилками прозенхімні, зі слабо потовщеними оболонками. Продихи верхньої та нижньої епідерми численні, великі, овальні. Тип продихового апарату діацитний (рис. 4.2.2).

#### Анатомічні ознаки стебла

Стебло на поперечному розрізі округло-ребристе, виповнене (рис. 4.3.1). Клітини епідерми паренхімні, з помірно потовщеними оболонками, вкриті шаром кутикули. Трихоми і продихи численні. У ребрах розмішуються ділянки пухкої коленхіми (рис. 4.3.2 б). Первинна кора вузька, між ділянками коленхіми розміщується тонкий шар хлоренхіми (рис. 4.3.2 в). Корова паренхіма широко просвіта, зустрічаються дрібні схизогенні каналці (рис. 4.3.2 з). Внутрішній шар

первинної кори представлений ендодермою (рис. 4.3.2 г). Центральний осьовий циліндр переважає, складається з відкритих колатеральних пучків (рис. 4.3.2 д), різних за розміром (перехідний тип будови), між пучками розташовуються клітини, просочені лігніном (склеренхіма). Флоема дрібноклітинна, судини ксилеми широко просвіті, у дрібних - додаткових пучках розміщені ланцюжками, а у великих - основних – підковоподібно. Серцевина виражена, займає значне місце, представлена паренхімними тонкостінними клітинами.

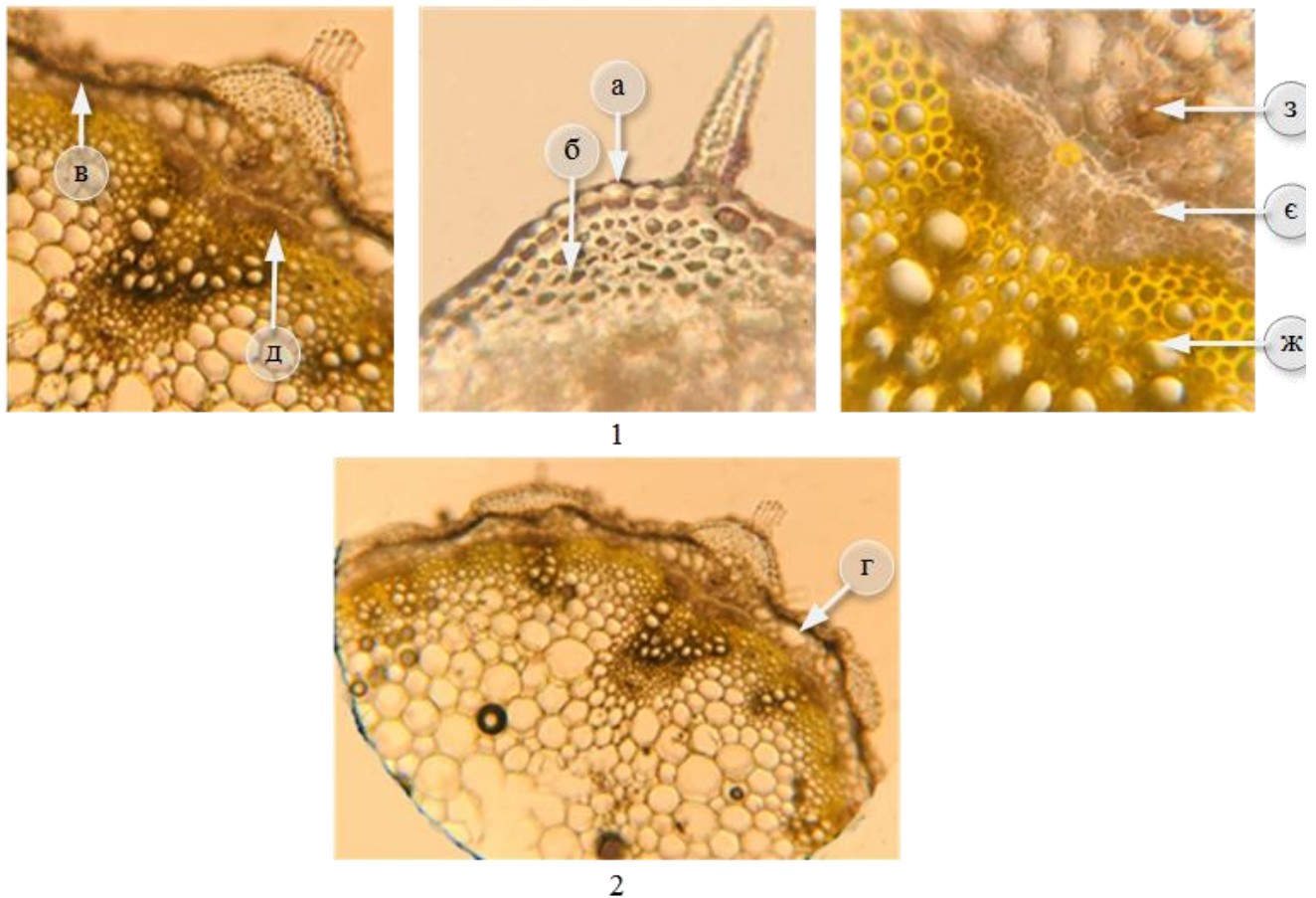


Рис. 4.3. Анатомічні ознаки стебла анісу звичайного: 1 - фрагмент стебла: а – епідерма, б – кутова коленхіма, в – хлоренхіма, г – ендодерма, д – відкритий колатеральний пучок, е – флоема, ж – ксилема, з – схизогене вмістище, 2 – поперечний розріз на м/з.

#### Анатомічні ознаки квітів

Епідерма пелюсток квітки складається з паренхімних, тонкостінних, звивистостінних клітин зі слабо вираженими сосочкоподібними виростами і складчастою кутикулою; по краю розташовуються короткі одноклітинні конічні

волоски та видовжені 1-2 клітинні волоски, вкриті бородавчастою кутикулою (рис. 4.4.1-4.4.3). Волоски по краю пелюсток спрямовані вниз. Їх більша кількість зосереджена у верхній і середній частині пелюсток. По центру пелюстки - добре виражена центральна жилка з короткими відгалуженими бічними жилками, що включають тонкі спіральні судини ксилеми (рис. 4.4.4).

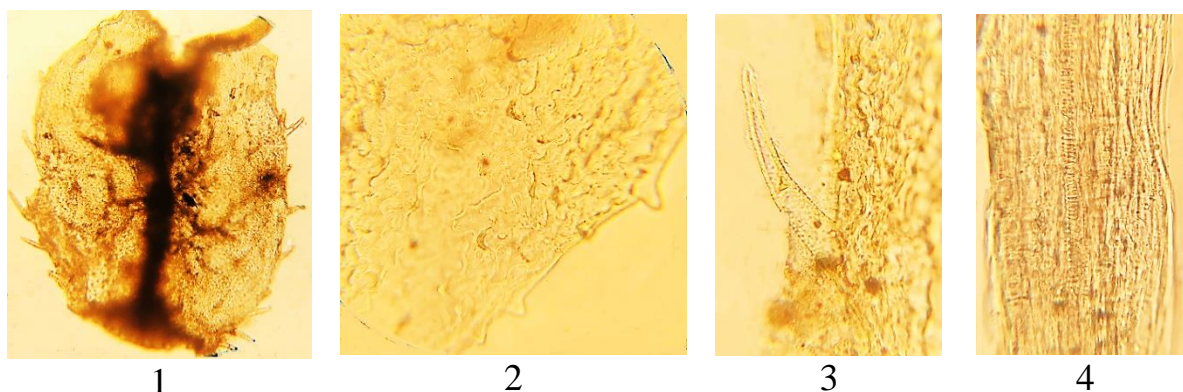


Рис. 4.4. Анатомічні ознаки пелюсток квітки анісу звичайного: 1 – загальний вид пелюстки з центральною жилкою, 2 – епідерма зі складчастою кутикулою, 3 – криючий волосок із бородавчастою кутикулою, 4 – спіральні судини жилки

#### Анатомічні ознаки зав'язі

Зав'язь квітки вкрита епідермою з численними одно-, двоклітинними товстостінними, криючими трихомами з притупленою верхівкою, вкритими бородавчастою кутикулою (рис. 4.5.1-4.5.3). Під епідермою закладається шар щільних клітин, які формують насінневу шкірку, ендокарпій і мезокарпій. Ендосперм (рис. 4.5.4) складається з багатокутних, паренхімних, прямостійних, тонкостінних клітин, заповнених алейроновими зернами (реакція з розчином Люголя – синє забарвлення), краплями жирної олії (реакція з реактивом Судан III – рожево-помаранчеве забарвлення).

В даний час відсутні параметри стандартизації трави анісу звичайного. Виходячи з цього запропоновано проект МКЯ «Анісу звичайного трава». Нами було проведено дослідження 5 серій трави анісу звичайного, заготовленої у 2018-2020 рр на відповідність розробленим параметрам стандартизації.

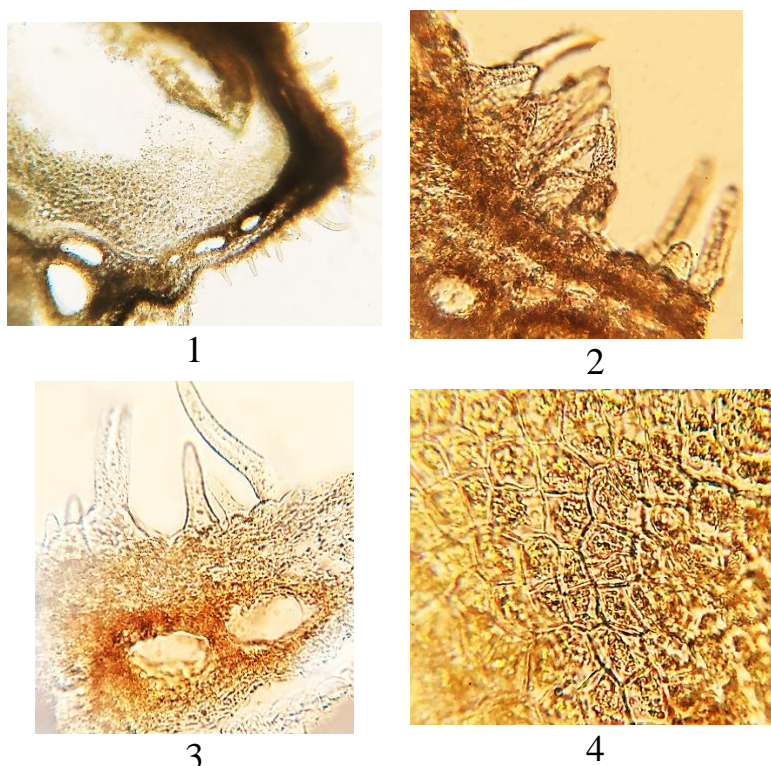


Рис. 4.5. Анатомічні ознаки зав'язі квітки анісу звичайного: 1 – фрагмент поперечного розрізу зав'язі, 2 – епідерма з криючими волосками з бородавчатою кутикулою, 3 – ефіроолійні каналці, 4 – ендосперм [64].

*Анісу звичайного трава (Pimpinellae anisi herba)*

Трава, що складається зі стебел, листків, квіток і недозрілих плодів.

**ІДЕНТИФІКАЦІЯ**

**А.** Стебло слабо ребристе, листки прості, піхвові, нижні – довгочерешкові, округло-серцеподібні, середні – короткочерешкові, трійчаторозсічені на ланцетні клиноподібні сегменти, верхні – короткочерешкові або сидячі, перисторозсічені на вузькі ланцетні сегменти; квітки дрібні, актиноморфні, з п'ятьма білими пелюстками та редукованою до п'яти зубчиків чашечкою, тичинок п'ять, положення зав'язі нижнє, маточка ценокарпна, рильце дволопатеве, зав'язь яйцеподібної форми з надприймочковим диском, з однаково розвиненими ребрами, що слабо виступають; складні зонтики з 10-12 променів без обгортки та обгорточок. Запах трави виражений, пряний, «анісовий».

**В.** Стебла, листки, пелюстки та зав'язь квітки вкриті криючими одно- та двоклітинними трихомами з бородавчастою кутикулою; клітини верхньої та нижньої епідерми паренхімні, тонкостінні, звивистостінні, вкриті складчастою



кутикулою; тип продихового апарату діацитний; стебло на поперечному розрізі округло-ребристе, виповнене, клітини епідерми стебла паренхімні, з помірно потовщеними оболонками, вкриті шаром кутикули, в ребрах наявні ділянки пухкої коленхіми, в коровій паренхімі - дрібні схизогенні каналці, виражена ендодерма; центральний осьовий циліндр перехідного типу, пучки відкриті колатеральні; клітини епідерми пелюсток квітки паренхімні, тонкостінні, звивистостінні клітин зі слабо вираженими сосочкоподібними виростами, вкриті складчастою кутикулою; клітини ендосперми зав'язі багатокутні, паренхімні, прямостійні тонкостінні, заповнені алейроновими зернами і краплями жирної олії.

С. Тонкошарова хроматографія (ДФУ, II вид., 2.2.27).

*Випробовуваний розчин.* 10,0 г (точна наважка) повітряно-сухого порошку сировини (ДФУ, II вид., 2.9.12), поміщують в колбу зі шліфом ємністю 300 мл.

Екстракцію проводять тричі з гарячою водою *P* на киплячій водяній бані з оборотним холодильником, у співвідношенні сировини та екстрагенту 1:20 і 1:10 протягом 1 і 0,5 год відповідно при постійному перемішуванні.

Одержані витяги відфільтровують. Шрот сировини, що залишився заливають 0,5% водними *P* розчинами оксалатної кислоти *P* і амонію оксалату *P* (1:1) у співвідношенні сировина : екстрагент 1:20. Проводять екстракцію тричі впродовж 2 годин на водяній бані при 85 °С.

Об'єднані витяги відфільтровують, упарюють, до 1/5 первинного об'єму і осаджують п'ятиразовою кількістю 96 % етанолу *P*. Одержаний осад відфільтровують, промивають етанолом *P* і сушать при 50 °С.

Біля 1,0 г (точна наважка) пектинових речовин поміщають в колбу зі шліфом ємністю 200 мл. Заливають 50 мл 10 % сульфатної кислоти, гідролізують з оборотним холодильником на водяній бані при температурі 100-105 °С впродовж 3 год. Колбу охолоджують, її вміст нейтралізують барію карбонатом до рН=7. Розчин відфільтровують, промивають фільтр з осадом водою очищеною *P*. У вакуумі фільтрат упарюють до сухого залишку, після чого розчиняють в 0,5 мл етанолу *P*.

*Розчин порівняння.* По 10 мг ФСЗ *D*-глюкози, ФСЗ *D*-галактози і ФСЗ *D*-арабінози розчиняють у воді *P* і доводять об'єм розчину до 10 мл.

*Пластинка:* ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

*Рухома фаза:* *n*-бутанол Р-оцтова кислота Р-вода Р (4:1:2).

*Об'єм проб:* по 5 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами.

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

*Висушування:* сушать у струмені теплого повітря.

*Виявлення:* Обприскують анілінфталатним реактивом. Пластинку нагрівають при температурі 100-105 °С протягом 10 хв.

*Результати:* нижче (рис. 4.6) наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися 3 зони: верхня зона - зона арабінози, середня - зона галактози і нижня зона - зона глюкози.

На хроматограмі випробовуваного розчину повинна виявлятися рожева зона на рівні зони арабінози, коричневі зони на рівні зон галактози і глюкози відповідно.

Верхня частина пластинки	
арабіноза (рожева зона)	рожева зона
галактоза (коричнева зона)	коричнева зона
глюкоза (коричнева зона)	коричнева зона
Розчин порівняння	Випробуваний розчин

Рис. 4.6 Схема хроматограм випробовуваного розчину і розчину порівняння

## ВИПРОБУВАННЯ

### Втрата в масі при висушуванні (ДФУ, II вид., 2.2.32)

Біля 3,0 г (точна наважка) здрібноної на порошок сировини висушують у сушильній шафі при температурі 100-105 °С протягом 2 годин. Охолоджують в

ексикаторі над *фосфору (V) оксидом P* і зважують. Втрата в масі при висушуванні не повинна перевищувати 7,0 %.

**Загальна зола** (ДФУ, II вид., 2.4.16). Не більше 9,0 %.

**Сторонні домішки** (ДФУ, II вид., 2.8.2). Не більше 2,0 % сторонніх часток, в тому числі не більше 1,0 % домішок мінерального походження.

## КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

### *Пектинові речовини.*

10,0 г (точна наважка) повітряно-сухого порошку сировини (ДФУ, II вид., 2.9.12), поміщують в колбу зі шліфом ємністю 300 мл.

Екстракцію проводять тричі з гарячою *водою P* на киплячій водяній бані з оборотним холодильником, у співвідношенні сировини та екстрагента 1:20, 1:10 протягом 1 і 0,5 год відповідно при постійному перемішуванні.

Одержані витяги відфільтровують. Шрот сировини, що залишився заливають 0,5 % *водними P* розчинами *оксалатної кислоти P* і *амонію оксалату P* (1:1) у співвідношенні сировина : екстрагент 1:20. Проводять екстракцію тричі впродовж 2 годин на водяній бані при 85 °С.

Об'єднані витяги відфільтровують, упарюють, до 1/5 первинного об'єму і осаджують п'ятиразовою кількістю 96 % *етанолу P*. Осадок, що утворився відфільтровують, промивають *етанолом P*. Фільтр з осадом сушать в ексикаторі, а потім висушують до постійної маси при температурі 50 °С.

Вміст пектинових речовин (X, %) у перерахунку на суху сировину, розраховують за формулою:

$$X = \frac{(m_2 - m_1)}{m \cdot (100 - W)} * 10000, \quad (4.1)$$

де:

m - маса наважки досліджуваної сировини, г;

m<sub>1</sub> - маса фільтра, г;

$m_2$  - маса фільтра з осадом, г;

$W$  - втрата в масі при висушуванні, %.

Вміст пектинових речовин у перерахунку на абсолютно суху сировину має бути не менше 13,0 %.

При дослідженні 5 серій анісу звичайного трави на відповідність розробленим параметрам стандартизації встановлено, що всі вони відповідають розробленим параметрам. Результати визначення наведені в табл. 4.3.

4.3 Одержання лікарського засобу з трави анісу звичайного і його стандартизація. Встановлення фармакологічної активності

В результаті дослідження продуктів комплексної переробки плодів і трави анісу звичайного нами встановлено, що за вмістом ПР трава (13,20 %) в 2 рази переважає плоди (7,0 %). Крім того, відомо, що рослинні полісахариди мають різні види фармакологічної дії. Враховуючі зазначене, виділення і подальше дослідження ПР з трави анісу є перспективним, тому що ця сировина не використовується після збору плодів.

Для виділення ПР, з трави анісу звичайного відганяли ефірну олію. Одержаний водний витяг відфільтровували. Шрот трави, що залишився висушували і тричі виділяли ПР екстракцією 0,5 % розчинами кислоти оксалатної і амонію оксалату (1:1) у співвідношенні сировина : екстрагент (1:20) 2 год. Одержані витяги об'єднували, упарювали до 1/5 об'єму на роторному випаровувачі і осаджували 96 % етанолом. Осад відфільтровували, промивали етанолом, сушили при 50 °C (рис. 4.7).

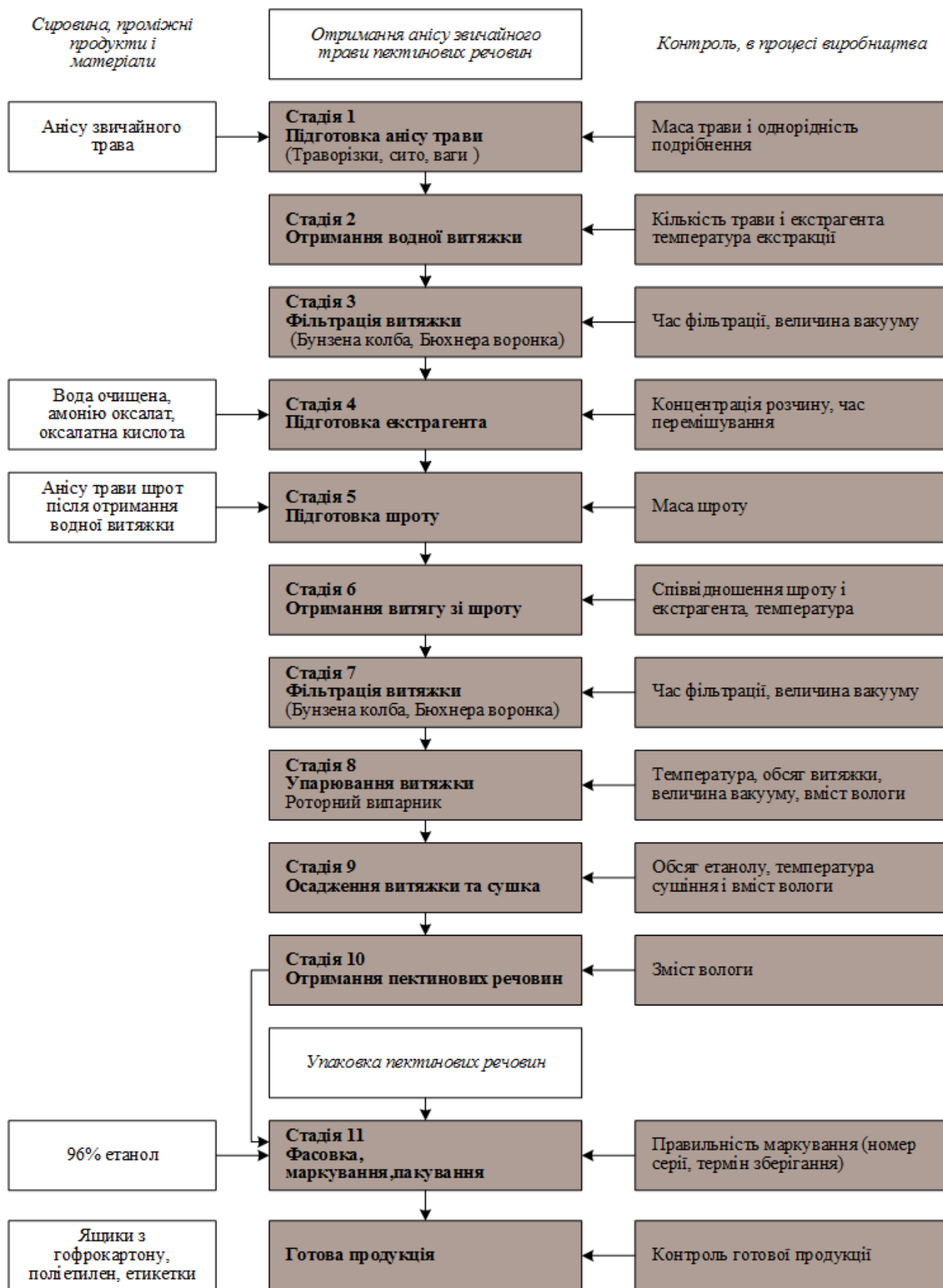


Рис. 4.7 Технологічна схема одержання пектинових речовин з трави анісу звичайного

## Відповідність серій анісу звичайного трави параметрам його стандартизації

Найменування показника	Допустимі норми	Досліджувані серії сировини				
		18/07/2018	11/07/2019	22/07/2019	14/07/2020	23/07/2020
1	2	3	4	5	6	7
Ідентифікація А	Стебло слабо ребристе, листки прості, піхвові, нижні – довгочерешкові, округло-серцеподібні, середні – короткочерешкові, трійчаторозсічені на ланцетні клиноподібні сегменти, верхні – короткочерешкові або сидячі, перисторозсічені на вузькі ланцетні сегменти; квітки дрібні, актиноморфні, з п'ятьма білими пелюстками та редукованою до п'яти зубчиків чашечкою, тичинок п'ять, положення зав'язі нижнє, маточка ценокарпна, рильце дволопатеве, зав'язь яйцеподібної форми з надприймочковим диском, з однаково розвиненими ребрами, що слабо виступають; складні зонтики з 10-12 променів без обгортки та обгортчок. Запах трави виражений, пряний, «анісовий».	+	+	+	+	+
Ідентифікація В	Стебла, листки, пелюстки та зав'язь квітки вкриті криючими одно- та двоклітинними трихомами з бородавчастою кутикулою; клітини верхньої та нижньої епідерми паренхімні, тонкостінні, звивистостінні, вкриті складчастою кутикулою; тип продихового апарату діацитний; стебло на поперечному розрізі округло-ребристе, виповнене, клітини епідерми стебла паренхімні, з помірно потовщеними оболонками, вкриті шаром кутикули, в ребрах наявні ділянки пухкої коленхіми, в коровій паренхімі - дрібні схизогенні каналці, виражена ендодерма; центральний осьовий циліндр перехідного типу, пучки відкриті колатеральні; клітини епідерми пелюсток квітки паренхімні, тонкостінні, звивистостінні клітин зі слабо вираженими сосочкоподібними виростами, вкриті складчастою кутикулою; клітини ендосперма зав'язі багатокутні, паренхімні, прямостійні тонкостінні, заповнені алейроновими зернами і краплями жирної олії.	+	+	+	+	+

## Продовження табл. 4.3

1	2	3	4	6	6	7
Ідентифікація С	<p><i>Тонкошарова хроматографія (ДФУ, II вид., 2.2.27).</i></p> <p><i>Випробовуваний розчин:</i> 10,0 г (точна наважка) повітряно-сухого порошку сировини (ДФУ, II вид., 2.9.12), поміщують в колбу зі шліфом ємністю 300 мл. Екстракцію проводять тричі з гарячою водою Р на киплячій водяній бані з оборотним холодильником, у співвідношенні сировини та екстрагента 1:20, 1:10 протягом 1 і 0,5 год відповідно при постійному перемішуванні. Одержані витяги відфільтровують. Шрот сировини, що залишився заливають 0,5 % водними Р розчинами оксалатної кислоти Р і амонію оксалату Р (1:1) у співвідношенні сировина:екстрагент 1:20. Проводять екстракцію тричі впродовж 2 годин на водяній бані при 85 °С. Об'єднані витяги відфільтровують, упарюють, до 1/5 первинного об'єму і осаджують п'ятиразовою кількістю 96 % етанолу Р. Одержаний осад відфільтровують, промивають етанолом Р і сушать при 50 °С. Біля 1,0 г (точна наважка) пектинових речовин поміщають в колбу зі шліфом ємністю 200 мл. Заливають 50 мл 10 % сульфатної кислоти, гідролізують з оборотним холодильником на водяній бані при температурі 100-105 °С впродовж 3 год. Колбу охолоджують, її вміст нейтралізують барію карбонатом до рН=7. Розчин відфільтровують, промивають фільтр з осадом водою очищеною Р. У вакуумі фільтрат упарюють до сухого залишку, після чого розчиняють в 0,5 мл етанолу Р.</p> <p><i>Розчин порівняння:</i> По 10 мг ФСЗ D-глюкози, ФСЗ D-галактози і ФСЗ D-арабінози розчиняють у воді Р і доводять об'єм розчину до 10 мл.</p> <p><i>Пластинка.</i> ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.</p> <p><i>Рухома фаза:</i> n-бутанол Р-оцтова кислота Р-вода Р (4:1:2).</p> <p><i>Об'єм проби, що наноситься:</i> по 5 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами.</p> <p><i>Відстань, що має пройти рухома фаза:</i> 15 см від лінії старту.</p> <p><i>Висушування:</i> сушать у струмені теплого повітря.</p> <p><i>Виявлення:</i> Обприскують анілінфталатним реактивом. Пластинку нагрівають при температурі 100-105 °С протягом 10 хв.</p> <p><i>Результати:</i> На хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися 3 зони: верхня зона - зона арабінози, середня - зона галактози і нижня зона - зона глюкози.</p> <p>На хроматограмі випробовуваного розчину повинна виявлятися рожева зона на рівні зони арабінози, коричневі зони на рівні зон галактози і глюкози відповідно.</p>	+	+	+	+	+

Продовження табл. 4.3

1	2	3	4	6	6	7
Випробування:						
Втрата в масі при висушуванні	Втрата в масі при висушуванні не повинна перевищувати 7,0 %. ДФУ, II вид., 2.2.32	6,85	5,64	6,97	6,82	5,79
Загальна зола	Не більше 9,0%. ДФУ, II вид., 2.4.16	8,58	8,69	7,62	7,98	8,44
Сторонні домішки	Не більше 2,0 % сторонніх часток, в тому числі не більше 1,0 % домішок мінерального походження. ДФУ, II вид., 2.8.2	+	+	+	+	+
Кількісне визначення:						
Вміст пектинових речовин	Вміст пектинових речовин у перерахунку на абсолютно суху сировину має бути не менше 13,0 %	13,22	14,08	13,55	15,26	13,33

Примітка. «+» – трава анісу звичайного відповідає вимогам МКЯ.



### Стандартизація ПР з трави анісу звичайного

Відповідно до ДЕСТУ ГОСТ 6088:2009 була встановлена масова частка вологи ПР, виділених з трави анісу звичайного. Також визначали ступінь етерифікації і масову частку поліуронідів титриметрично [89]. Як зазначено в Розділі 2, при визначенні кінцевої точки титрування зі змішаним індикатором, виникають певні труднощі внаслідок нерізкого змінення забарвлення індикатора. Крім того, перед титруванням необхідно досліджуваний зразок попередньо очищувати від іонів алюмінію і хлорид-іонів. Для визначення оптимальних умов визначення, проведено титрування ПР з фіксуванням кінцевої точки титрування трьома способами (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

#### Параметри кількісного визначення ПР трави анісу звичайного

Спосіб титрування	Ступінь етерифікації, %	Поліуроніди, %
Титрування ПР з індикатором без очищення від іонів алюмінію і хлорид-іонів	$13,18 \pm 0,03$	$20,14 \pm 0,06$
Титрування ПР з індикатором після очищення від іонів алюмінію і хлорид-іонів	$21,77 \pm 0,08$	$22,28 \pm 0,05$
Титрування ПР потенціометрично після очищення від іонів алюмінію і хлорид-іонів	$36,14 \pm 0,03$	$23,48 \pm 0,04$

Як видно з наведених результатів визначень, при потенціометричному титруванні ПР після очищення від іонів алюмінію і хлорид-іонів, були одержані більш точні результати у порівнянні з іншими способами. Еквівалентний об'єм титранту легко визначався за кривою титрування (рис. 4.8).

Згідно ДЕСТУ ГОСТ 6088:2009 діапазон вимірювань становить для високоетерифікованого пектину від 50 % до 80 %, для низькоетерифікованого - від 20 % до 50 %, для поліуронідів від 20 % до 50 %. Масова частка вологи від 5 % до 10 % [89]. В результаті проведеного нами дослідження встановлено, що ступінь

етерифікації ПР, виділених з трави анісу звичайного складає  $36,14 \pm 0,03$  % (низькоетерифіковані), масова частка поліуронідів  $23,48 \pm 0,04$  %, а вологість  $8,76 \pm 0,06$  % [90].

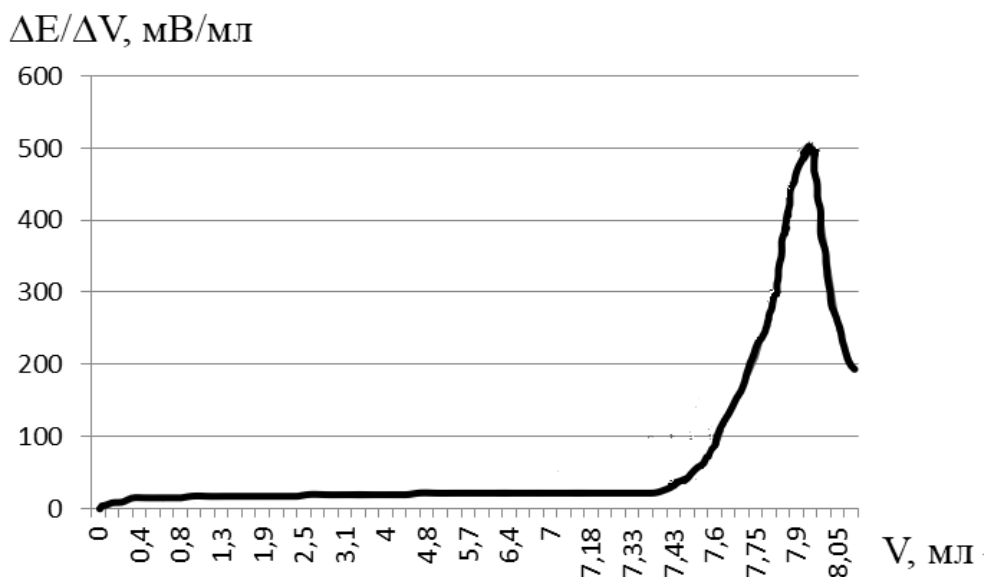


Рис. 4.8 Крива титрування ПР методом потенціометрії

Для отриманих пектинових речовин нами запропонований проект МКЯ «Анісу звичайного трави пектинові речовини».

*Анісу звичайного трави пектинові речовини*

*(Pimpinellae anisi herbae pectinum)*

#### ВЛАСТИВОСТІ

**Опис.** Світло-кремовий кристалічний порошок без запаху, без сторонніх домішок. Сторонній запах не допускається.

**Розчинність.** Розчинний у воді *P*, дуже мало розчинний в етанолі (50% об/об) *P*, практично не розчинний в етанолі *P*, ефірі *P*, хлороформі *P*.

#### ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Тонкошарова хроматографія (ДФУ, II вид., 2.2.27).

*Випробуваний розчин.*

Біля 1,0 г (точна наважка) пектинових речовин поміщають в колбу зі шліфом ємністю 200 мл. Заливають 50 мл 10 % сульфатної кислоти, гідролізують з оборотним

холодильником на водяній бані при температурі 100-105 °С впродовж 3 год. Колбу охолоджують, її вміст нейтралізують барію карбонатом до рН=7. Розчин відфільтровують, промивають фільтр з осадом водою очищеною Р. У вакуумі фільтрат упарюють до сухого залишку, після чого розчиняють в 0,5 мл етанолу Р.

*Розчин порівняння.* По 10 мг ФСЗ D-глюкози, ФСЗ D-галактози і ФСЗ D-арабінози розчиняють у воді Р і доводять об'єм розчину до 10 мл.

*Пластинка:* ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р.

*Рухома фаза:* n-бутанол Р-оцтова кислота Р-вода Р (4:1:2).

*Об'єм проб:* по 5 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами.

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

*Висушування:* сушать у струмені теплого повітря.

*Виявлення:* Обприскують анілінфталатним реактивом. Пластинку нагрівають при температурі 100-105 °С протягом 10 хв.

*Результати:* нижче (рис. 4.9) наведено послідовність зон на хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння. На хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися 3 зони: верхня зона - зона арабінози, середня - зона галактози і нижня зона - зона глюкози.

На хроматограмі випробовуваного розчину повинна виявлятися рожева зона на рівні зони арабінози, коричневі зони на рівні зон галактози і глюкози відповідно.

Верхня частина пластинки	
арабіноза (рожева зона)	рожева зона
галактоза (коричнева зона)	коричнева зона
глюкоза (коричнева зона)	коричнева зона
Розчин порівняння	Випробуваний розчин

Рис. 4.9 Схема хроматограм випробовуваного розчину і розчину порівняння

## ВИПРОБУВАННЯ

**Масова частка вологи** (ДСТУ 6088:2009, 11.13.4). Не більше 10,0 %.

**Загальна зола** (ДФУ, II вид., 2.4.16). Не більше 1,0 %.

**Важкі метали** (ДФУ, II вид., 2.4.8). Вміст важких металів має бути не більше 0,001 % (10 ppm).

**Мікробіологічна чистота** (ДФУ, II вид., 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4). В 1 г препарату допускається наявність не більше 1000 бактерій і 100 дріжджових і пліснявих грибів (у сумі). Не допускається наявність бактерій *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Staphylococcus aureus*, бактерій роду *Salmonella*.

## КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

**Ступінь етерифікації** (ДФУ, II вид., 2.2.20, ДСТУ 6088:2009). Не менше 36,0%.

**Масова частка поліуронідів** (ДФУ, II вид., 2.2.20, ДСТУ 6088:2009). Не менше 23,0 %.

При дослідженні 5 серій пектинів, виділених з трави анісу звичайного на відповідність розробленим параметрам стандартизації встановлено, що всі вони відповідають розробленим параметрам. Результати визначення наведені в табл. 4.5.

Таблиця 4.5

## Відповідність серій пектинових речовин трави анісу звичайного параметрам його стандартизації

Найменування показника	Допустимі норми	Досліджувані серії сировини				
		05/09/2018	26/09/2019	20/11/2019	17/09/2020	30/10/2020
1	2	3	4	5	6	7
Опис	Світло-кремовий кристалічний порошок без запаху, без сторонніх домішок. Сторонній запах не допускається.	+	+	+	+	+
Розчинність	Розчинний у воді <i>P</i> , дуже мало розчинний у етанолі (50% об/об) <i>P</i> , практично не розчинний у етанолі <i>P</i> , ефірі <i>P</i> , хлороформі <i>P</i> .	+	+	+	+	+
Ідентифікація						
Метод ТШХ	<p><i>Тонкошарова хроматографія</i> (ДФУ II вид., 2.2.27).</p> <p><i>Випробовуваний розчин</i>: Біля 1,0 г (точна наважка) пектинових речовин поміщають в колбу зі шліфом ємністю 200 мл. Заливають 50 мл 10 % сульфатної кислоти, гідролізують з оборотним холодильником на водяній бані при температурі 100-105 °С впродовж 3 год. Колбу охолоджують, її вміст нейтралізують барію карбонатом до рН=7. Розчин відфільтровують, промивають фільтр з осадом водою очищеною <i>P</i>. У вакуумі фільтрат упарюють до сухого залишку, після чого розчиняють в 0,5 мл етанолу <i>P</i>.</p> <p><i>Розчин порівняння</i>: По 10 мг ФСЗ <i>D</i>-глюкози, ФСЗ <i>D</i>-галактози і ФСЗ <i>D</i>-арабінози розчиняють у воді <i>P</i> і доводять об'єм розчину до 10 мл.</p> <p><i>Пластинка</i>. ТШХ пластинка із шаром силікагелю <i>P</i>.</p> <p><i>Рухома фаза</i>: <i>n</i>-бутанол <i>P</i>-оцтова кислота <i>P</i>-вода <i>P</i> (4:1:2).</p> <p><i>Об'єм проби, що наноситься</i>: по 5 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння, смугами.</p> <p><i>Відстань, що має пройти рухома фаза</i>: 15 см від лінії старту.</p> <p><i>Висушування</i>: сушать у струмені теплого повітря.</p> <p><i>Виявлення</i>: Обприскують анілінфталатним реактивом. Пластинку нагрівають при температурі 100-105 °С протягом 10 хв.</p> <p><i>Результати</i>: На хроматограмі розчину порівняння мають виявлятися 3 зони: верхня зона - зона арабінози, середня - зона галактози і нижня зона - зона глюкози. На хроматограмі випробовуваного розчину повинна виявлятися рожева зона на рівні зони арабінози, коричневі зони на рівні зон галактози і глюкози відповідно.</p>	+	+	+	+	+

Продовження табл. 4.5

1	2	3	4	6	6	7
Випробування						
Масова частка вологи	Не більше 10,0 %. ДСТУ 6088:2009	8,76	8,41	8,23	8,34	8,98
Загальна зола	Не більше 1,0 % ДФУ, II вид., 2.4.16	0,56	0,62	0,67	0,59	0,60
Важкі метали	Вміст важких металів має бути не більше 0,001 % (10 ppm) ДФУ, II вид., 2.4.8.	+	+	+	+	+
Мікробіологічна чистота	В 1 г препарату допускається наявність не більше 1000 бактерій і 100 дріжджових і пліснявих грибів (у сумі). Не допускається наявність бактерій <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> та <i>Staphylococcus aureus</i> , бактерій роду <i>Salmonella</i> . ДФУ, II вид., 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4	+	+	+	+	+
Кількісне визначення						
Ступінь етерифікації	Не менше 36,0 % ДФУ, II вид., 2.2.20, ДСТУ 6088:2009.	36,14	36,21	36,17	36,10	36,25
Масова частка поліуронідів	Не менше ніж 23,0 % ДФУ, II вид., 2.2.20, ДСТУ 6088:2009.	23,48	23,32	23,55	23,44	23,47

Примітка. «+» - пектинові речовини відповідають вимогам МКЯ.

*Визначення послаблювальної дії ВРПК і ПР, виділених з трави анісу звичайного*

Експериментальні дослідження по вивченню послаблювальної дії показали, що у дослідній групі щурів, які отримували препарат порівняння «Сенадекс» виробництва ТОВ Стиролбіофарм, Україна, в дозі 250 мг / кг збільшується кількість калових мас у тварин на 86% в порівнянні з контролем. Пектинові речовини, виділені з трави анісу звичайного (умовна назва «Пектан») в випробуваній дозі достовірно збільшують кількість калових мас у тварин на 88% у порівнянні з контролем. Таким чином «Пектан», не поступається за послаблювальною активністю препарату порівняння. Результати експерименту наведені в табл. 4.6 [183].

ВРПК в дозі 100 мг/кг не впливає на збільшення кількості калових мас у тварин і результати не відрізняються від результатів у контрольній групі.

*Таблиця 4.6*

**Вивчення послаблювальної активності препарату «Пектан» і ВРПК, виділених з трави анісу звичайного**

Групи	Маса калу, г
Контрольна група	1,25±0,11
«Пектан» в дозі 250 мг/кг	2,35±0,18*
ВРПК в дозі 100 мг/кг	1,22±0,09
«Сенадекс» в дозі 250 мг/кг	2,33±0,26

Примітка: \* - статистично значимо по відношенню до контрольної групи при  $P < 0,05$ .

*Визначення гострої токсичності ПР, виділених з трави анісу звичайного*

Після одноразового внутрішньошлункового введення препарату «Пектан» в дозах 3000 мг/кг і 5000 мг/кг - в поведінці і функціональному стані тварин видимих змін не спостерігалось. Всі миші були активними, реагували на зовнішні подразники; споживання корму і води було в нормі. Шерсть і шкірний покрив без патологічних змін, діурез, консистенція і кількість калових мас без змін. Ознак інтоксикації не спостерігалось. У даній групі до кінця експерименту загибелі серед тварин не відзначалося. Результати дослідження гострої токсичності аналізованого препарату наведені в табл. 4.7 [183].

Таблиця 4.7

Визначення гострої токсичності (LD<sub>50</sub>) препарату «Пектан»

№ тварин	«Пектан»				
	вага, г	Доза		Шлях введення	Летальний результат
		мг/кг	мл		
1	21	3000	0,31	в/ш	Немає
2	20		0,30		Немає
3	21		0,31		Немає
4	20		0,30		Немає
5	21		0,31		Немає
6	19		0,28		Немає
1	21	5000	0,52	в/ш	Немає
2	19		0,47		Немає
3	19		0,47		Немає
4	20		0,50		Немає
5	21		0,52		Немає
6	20		0,50		Немає
<b>LD<sub>50</sub></b>		<b>&gt;5000 мг/кг</b>			

Як видно з наведених даних, пектинові речовини, виділені з трави анісу звичайного є практично нетоксичними.

*Визначення антимікробної активності ПР виділених з трави анісу звичайного*

Після інкубації в термостаті, вимірювали мікробіологічної лінійкою з точністю до 1 мм зони пригнічення росту мікроорганізмів, що утворюються під впливом 1 % і 10 % розчинів зразків «Пектану». За розмірами зон оцінювали їх мікробіологічну активність (табл. 4.8).

Таблиця 4.8

## Зони пригнічення росту мікроорганізмів під впливом ПР («Пектан»), виділених з трави анісу звичайного

Зразок	Зони пригнічення росту мікроорганізмів, мм				
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>
1 % р-н «Пектану»	10,6 ± 0,5	11,3 ± 0,5	9,5 ± 0,5	13,3 ± 0,5	9,5 ± 0,5
10 % р-н «Пектану»	11,3 ± 0,8	13,5 ± 0,5	11,5 ± 0,5	17,6 ± 0,5	11,8 ± 0,4



Таким чином, отримані дані показують, що найбільшу антимікробну активність зразок «Пектану» має по відношенню до *Bacillus subtilis*.

4.4 Одержання шипучих гранул на основі ПР, виділених з трави анісу звичайного

Обґрунтування вибору лікарської форми з пектиновими речовинами, виділеними з трави анісу звичайного і склад пропису наведені в табл. 4.9 і табл. 4.10.

Таблиця 4.9

### Обґрунтування вибору лікарської форми

Лікарська форма	Обґрунтування вибору
Шипучі гранули з ПР	ПР не розчиняються в шлунковому соку після прийому внутрішньо. Для поліпшення їх розчинності, необхідно “розірвати” ПО, тому що чим менше розмір часток, тим більше розчинність. Виходячи з цього нами була обрана лікарська форма "Шипучі гранули", оскільки при попаданні їх у воду, виділяються бульбашки газу, що свою чергу “розривають” і сприяють розчиненню ПР.
Газоутворююча суміш	
Натрію гідрогенкарбонат	Є одним з основних компонентів при виробництві шипучих гранул. Легкодоступний.
Тартратна кислота	Тартратна кислота добре змішується з ПР. Лимонна кислота при змішуванні з ПР утворює гелеподібну масу, що в свою чергу порушує технологію отримання лікарської форми. Використовується в харчовій промисловості, антиоксидант.
Допоміжні речовини	Обґрунтування вибору
1 % спиртовий розчин полівінілпіролідону	Зв'язуюча речовина
Сорбітол	Зв'язуюча речовина, підсолоджувач. Рекомендований для пацієнтів з цукровим діабетом.

Швидкість вивільнення діючої речовини з лікарської форми має велике значення, оскільки від цього залежить терапевтичний ефект. Виходячи з цього, було необхідно дослідити вплив газотворюючої суміші на швидкість вивільнення ПР.

Шипучі гранули отримували з вмістом газотворюючої суміші 57,02 % (F<sub>1</sub>), 62,38 % (F<sub>2</sub>), 66,58 % (F<sub>3</sub>) їх загальної маси (табл. 4.10).

Таблиця 4.10

### Склад пропису лікарської форми

Позначення	Склад
F <sub>1</sub>	Пектинові речовини 1,25 кг Тартратна кислота 3,41 кг Спиртовий розчин полівінілпіролідону 1 % -1 л Натрію гідрогенкарбонат 1,91 кг Сорбітол 2,75 кг
Маса однієї дози	1,87 г
F <sub>2</sub>	Пектинові речовини 1,25 кг Тартратна кислота 4,26 кг Спиртовий розчин полівінілпіролідону 1 % -1 л Натрію гідрогенкарбонат 2,39 кг Сорбітол 2,75 кг
Маса однієї дози	2,13 г
F <sub>3</sub>	Пектинові речовини 1,25 кг Тартратна кислота 5,12 кг Спиртовий розчин полівінілпіролідону 1 % -1 л Натрію гідрогенкарбонат 2,87 кг Сорбітол 2,75 кг
Маса однієї дози	2,40 г

Гранули ПР з тартратною кислотою і гранули натрію гідрогенкарбонату з сорбітолом готували окремо, оскільки натрію гідрогенкарбонат і тартратна кислота здатні взаємодіяти один з одним.

В змішувачі ПР і тартратну кислоту, натрію гідрогенкарбонат і сорбітол змішували з 1 % спиртовим розчином полівінілпіролідону для одержання зволоженої маси.

За допомогою гранулятора із зволжених мас, одержували гранули ПР з тартратною кислотою і гранули натрію гідрогенкарбонату з сорбітолом. Отримані гранули сушили протягом години в термостаті при 50 °С і об'єднували.

Блок-схема одержання шипучих гранул з пектинових речовин, виділених з трави анісу звичайного приведена на рис. 4.10 [184].

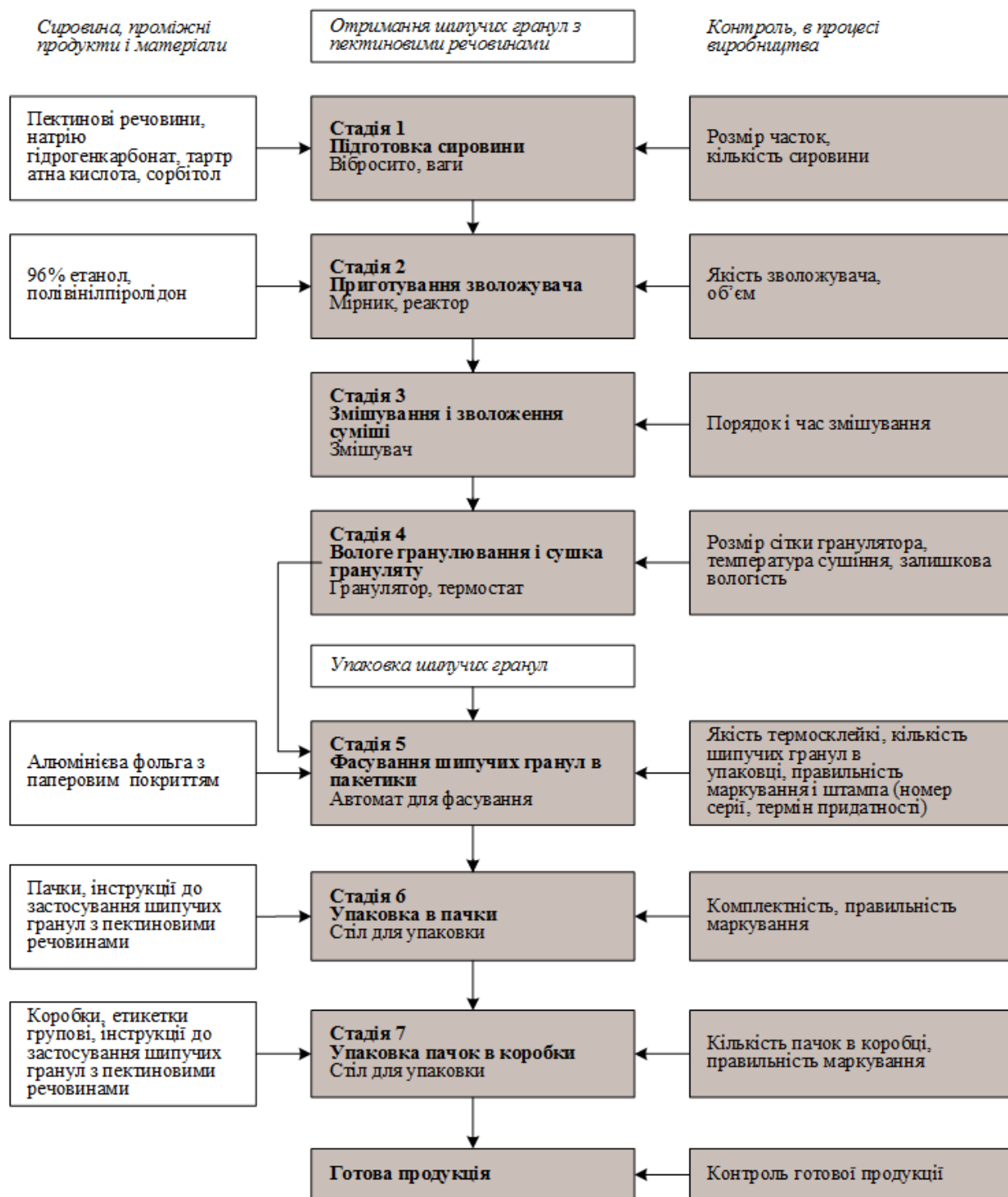


Рис. 4.10 Блок-схема отримання шипучих гранул з ПР, виділених з трави анісу звичайного

#### 4.5 Стандартизація шипучих гранул з ПР, виділеними з трави анісу звичайного

Кожна розроблена лікарська форма підлягає стандартизації і повинна мати параметри стандартизації. Стандартизацію одержаних шипучих гранул рекомендується проводити за показниками «Розпадання» і «Кількісний вміст» відповідно до вимог ДФУ.

*Розпадання* (ДФУ, II вид., с.1075).

Поміщають одну дозу гранул шипучих в склянку з 200 мл *води P* при температурі від 15 °С до 25 °С; виділяються численні бульбашки газу. Гранули вважають такими, що розпалися, якщо після припинення виділення газу вони або розчинилися, або диспергувалися у воді. Повторюють процедуру на п'яти інших дозах. Гранули витримують випробування, якщо кожна з шести доз розпадається протягом не більше 5 хв.

*Кількісний вміст пектинових речовин* (ДФУ, II вид., 2.2.34).

Поміщають одну дозу шипучих гранул у склянку з 200 мл *води P* при температурі від 15 °С до 25 °С. Після розчинення гранул розчин упарюють до 1/5 початкового об'єму і додають п'ятиразову кількість *етанолу P*. Отримані пектинові речовини відфільтровують, промивають *етанолом P*.

Фільтр з пектиновими речовинами сушать в ексикаторі, а потім висушують до постійної маси при температурі 50 °С. Вміст пектинових речовин має бути не менше 10,0 %

Результати перевірки якості отриманих шипучих гранул наведені в табл. 4.11 [65].

Таблиця 4.11

#### Час розпадання шипучих гранул і вміст пектинових речовин в шипучих гранулах

Позначення	Розпадання, хв	Вміст ПР, %
F <sub>1</sub>	1,51 ± 0,06	14,00 ± 0,01
F <sub>2</sub>	1,14 ± 0,02	11,66 ± 0,03
F <sub>3</sub>	1,01 ± 0,03	10,07 ± 0,02

Як видно з таблиці, зі збільшенням кількості газотворюючої суміші в шипучих гранулах, час їх розпадання зменшується. Звідси можна зробити висновок, що шипучі гранули з вмістом газотворюючої суміші 66,58 % від загальної їх маси є оптимальною в складі лікарської форми, так як збільшується швидкість вивільнення діючих речовин при застосуванні даної лікарської форми [184].

#### Висновки до розділу 4

1. Вперше визначено та описано у відповідності до вимог ДФУ діагностичні ознаки трави анісу звичайного, визначені параметри стандартизації сировини трави анісу звичайного.

2. Розроблено технологію одержання ВРПК і ПР з плодів і трави анісу звичайного. Для отриманого лікарського рослинного засобу з трави анісу звичайного запропоновано параметри стандартизації.

3. Вперше встановлено гостру токсичність, антимікробну і послаблювальну активність ВРПК і ПР трави анісу звичайного.

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

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

1. Дослідження гострої токсичності та послаблювальної дії пектинів з трави анісу звичайного / С. В. Колісник та ін. *Клінічна фармація*. 2020. Т. 24, № 2. С. 52–55.
2. 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.

3. 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 України: МПК А61К 36/23, А61Р 1/10. № и 202000420; заявл. 27.01.2020; опубл. 25.05.2020. Бюл. №10/2020.
4. 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.
5. 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 XXXVIII 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.
6. 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.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та практичне вирішення наукового завдання, яке полягає в фармакогностичному вивченні сировини анісу звичайного, а саме плодів, шроту плодів і трави, її стандартизації та розробки нормативної документації на сировину та лікарські засоби з послаблювальним ефектом.

1. Проведено аналіз і узагальнено дані наукових першоджерел відносно морфологічних і анатомічних ознак анісу звичайного, хімічного складу, стандартизації сировини, використанні анісу звичайного в медицині та галузях народного господарства, показані перспективи використання сировини анісу звичайного для одержання лікарських рослинних засобів.
2. Вивчені макро- та мікроскопічні ознаки стебла, листя, квіток анісу звичайного, визначені параметри стандартизації сировини.
3. В плодах, шроті плодів і траві анісу звичайного, ліпофільних, водно-спиртових екстрактах і ефірних оліях методами ПХ, ТШХ, ГХ-МС, АЕС ідентифіковані біологічно активні сполуки, а саме 6 гідроксикоричних кислот (хлорогенова, *n*-кумарова), флавоноїди (рутин, мірицетин), 11 компонентів ефірної олії трави, 11 жирних (9 насичених і 2 ненасичених), 3 органічних кислот і 10 амінокислот, хлорофілів і каротиноїдів, 19 макро- і мікроелементів. Встановлений кількісний вміст основних груп БАР в плодах, шроті плодів і траві анісу звичайного. Одержані і проаналізовані за вмістом і хімічним складом ВРПК, ПР і ГЦ, встановлено вихід пектинових речовин і їх якість за показниками згідно ДЕСТУ ГОСТ 6088:2009.
4. Розробленими і валідованими електрохімічними методиками встановлений вміст органічних кислот в траві (2,30-3,53 %), плодах (2,88 %) і шроті плодів (1,59 %). Методики відповідають таким валідаційним параметрам: специфічність, лінійність, правильність, прецизійність, робастність, і можуть бути використані для кількісного визначення суми вільних органічних кислот в сировині анісу.

5. Розроблена технологія одержання ВРПК і пектинових речовин з плодів і трави анісу звичайного. Для одержаного лікарського рослинного засобу запропоновано параметри стандартизації.
6. Вперше встановлена гостра токсичність, антимікробна і послаблювальна активність ВРПК і ПР трави анісу звичайного. Обґрунтований склад і технологія одержання гранул ПР з трави анісу звичайного, проведена його стандартизація за показниками «Розпадання» і «Кількісний вміст пектинових речовин».



## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses / Sayed-Ahmad Bouchra et al. *Industrial Crops and Products*. 2017. Vol. 109. P. 661–671. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.027> (Date of access: 21.06.2019).
2. Pimenov M. G., Leonov M. V. *The Genera of the Umbelliferae*. London : Royal Botanic Gardens, 1993. 156 p.
3. Ботанико-фармакогностический словарь : справ. пособие / К. Ф. Блинова и др.; под ред. К. Ф. Блиновой, Г. П. Яковлева. Москва : Высш. шк., 1990. 272 с.
4. Unani Pharmacopeia of India. New Delhi : CCRUM, 2007. Vol. II, Pt. I. P. 9–10.
5. Ghani N. K. *Khazain-ul-Advia, Idara-e-Kitabush-shifa*. New Delhi, 2011. P. 293.
6. Khare C. P. *Encyclopedia of Indian Medicinal Plants*. Berlin ; Heidelberg : Springer, 2004. P. 362–363.
7. Nadkarni K. M. *Indian Materia Medica, Popular Prakashan*. Bombay, 2007. Vol. 1. P. 955–956.
8. PDR for Herbal Medicine. Montvale : Medical Economics Company, 2000. P. 35–36.
9. The Wealth of India. New Delhi : NISCAIR, 2005. Vol. I. P. 61–63.
10. Kokate C. K., Purohit A. P., Gokhale S. B. *Textbook of Pharmacognosy*. 39th ed. Pune : Nirali Prakashan, 2007. P. 368–369.
11. El-Gamal S. M. A., Ahmed H. M. I. Influence of Different Maturity Stages on Fruit Yield and Essential Oil Content of Some Apiaceae Family Plants, A: Anise (*Pimpinella anisum*, L.). *J. Plant Production*. 2017. Vol. 8, № 1. P. 119–125. DOI: <https://doi.org/10.21608/jpp.2017.37824> (Date of access: 21.06.2019).
12. Saibi S., Belhadj M., Benyoussef E. Essential Oil Composition of *Pimpinella anisum* from Algeria. *Analytical Chemistry Letters*. 2012. Vol. 2, Iss. 6. P.401–404. DOI: <https://doi.org/10.1080/22297928.2012.10662624> (Date of access: 21.06.2019).
13. Професіонали про цілющі трави: вирощування, зберігання, застосування / упоряд. А. Г. Сербін, В. Д. Чередніченко. Харків : Прапор, 2001. 190 с.

14. Фармакогнозия. Атлас / под ред. Н. И. Гринкевич, Е. Я. Ладыгиной. Москва : Медицина, 1989. 512 с.
15. Odeh A., Allaf A. W. Determination of polyphenol component fractions and integral antioxidant capacity of Syrian aniseed and fennel seed extracts using GC–MS, HPLC analysis, and photochemiluminescence assay. *Chemical Papers*. 2017. Vol. 71, № 9. P. 1731–1737. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11696-017-0169-9> (Date of access: 21.06.2019).
16. Martins N., Barros L., Santos-Buelga C., Ferreira I. C. F. R. Antioxidant potential of two Apiaceae plant extracts: A comparative study focused on the phenolic composition. *Industrial Crops and Products*. 2016. Vol. 79. P. 188–194. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.018> (Date of access: 25.06.2019).
17. Valorizing overlooked local crops in the era of globalization: the case of aniseed ( *Pimpinella anisum* L.) from Castignano (central Italy) / R. Iannarelli et al. *Industrial Crops and Products*. 2017. Vol. 104. P. 99–110. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.028> (Date of access: 25.06.2019).
18. Comparative assessment of phytochemical profiles and antioxidant properties of Tunisian and Egyptian anise (*Pimpinella anisum* L.) seeds / I. Bettaieb Rebey et al. *Plant Biosystems – An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology*. 2017. Vol. 152, № 5. P. 971–978. DOI: <https://doi.org/10.1080/11263504.2017.1403394> (Date of access: 25.06.2019).
19. Fujimatu E., Ishikawa T., Kitajima J. Aromatic compound glucosides, alkyl glucoside and glucide from the fruit of anise. *Phytochemistry*. 2003. Vol. 63, № 5. P. 609–616. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(03\)00179-1](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(03)00179-1) (Date of access: 28.06.2019).
20. Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of essential oils from *Pimpinella* species gathered from Central and Northern Turkey / N. Tabanca et al. *Journal of Chromatography A*. 2006. Vol. 1117, № 2. P. 194–205. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.03.075> (Date of access: 28.06.2019).
21. Effect of *Pimpinella anisoides* Ethanolic Extract and Its Constituents on Oxidative Damage and Its Inhibition of Nitric Oxide in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW

- 264.7 Macrophages / F. Conforti et al. *Journal of Medicinal Food*. 2010. Vol. 13, № 1. P. 137–141. DOI: <https://doi.org/10.1089/jmf.2008.0154> (Date of access: 28.06.2019).
22. Kartnig T., Moeckel H., Maunz B. Über das vorkommen von cumarinen und sterolen in gewebeulturen aus wurzeln von anethum graveolens und Pimpinella anisum. *Planta Medica*. 1975. Vol. 27, № 1. P. 1–4. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0028-1097751> (Date of access: 01.07.2019).
23. Quantification of biologically active O-prenylated and unprenylated phenylpropanoids in dill ( *Anethum graveolens* ), anise ( *Pimpinella anisum* ), and wild celery (*Angelica archangelica*) / V. A. Taddeo et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2017. Vol. 134. P. 319–324. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.11.048> (Date of access: 01.07.2019).
24. Polysaccharide from Pimpinella anisum seeds: Structural characterization, anti-inflammatory and laser burn wound healing in mice / Z. Ghilissi et al. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.201> (Date of access: 01.07.2019).
25. Lee J.-B., Yamagishi C., Hayashi K., Hayashi T. Antiviral and Immunostimulating Effects of Lignin-Carbohydrate-Protein Complexes from Pimpinella anisum. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2011. Vol. 75, № 3. P. 459–465. DOI: <https://doi.org/10.1271/bbb.100645> (Date of access: 02.07.2019).
26. High levels of melatonin in the seeds of edible plants / L. C. Manchester et al. *Life Sciences*. 2000. Vol. 67, № 25. P. 3023–3029. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(00\)00896-1](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(00)00896-1) (Date of access: 02.07.2019).
27. Ibrahim D. A. Medicinal benefits of anise seeds (*Pimpinella anisum*) and *Thymus Vulgaris* in a sample of healthy volunteers. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*. 2017. Vol. 8, № 3. P. 91–95. DOI: <https://doi.org/10.7897/2277-4343.083150> (Date of access: 02.07.2019).
28. Khuder A., Sawan M. K., Karjou J., Razouk A. K. Determination of trace elements in Syrian medicinal plants and their infusions by energy dispersive X-ray fluorescence and total reflection X-ray fluorescence spectrometry. *Spectrochimica*

- Acta. Pt. B: Atomic Spectroscopy*. 2009. Vol. 64, № 7. P. 721–725. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sab.2009.05.020> (Date of access: 02.07.2019).
29. Effect of Salinity Stress on Anise (*Pimpinella anisum* L.) Seedling Characteristics under Hydroponic Conditions / Asma Sardar et al. *Journal of Environmental and Agricultural Sciences*. 2018. Vol. 14. P. 39–45.
  30. Growth, photosynthetic pigments, phenolic content and biological activities of *Foeniculum vulgare* Mill., *Anethum graveolens* L. and *Pimpinella anisum* L. (Apiaceae) in response to zinc / N. Majdoub et al. *Industrial Crops and Products*. 2017. Vol. 109. P. 627–636. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.01> (Date of access: 04.07.2019).
  31. Alonso J. Tratado de fitofármacos y nutracéuticos. Rosario : Corpus Libros, 2004. 1360 p.
  32. Shobha R. I., Rajeshwari C. U., Andallu B. Anti-peroxide and Anti diabetic activities of Aniseeds (*Pimpinella anisum* L.) and identification of bioactive compounds. *AJPCT*. 2013. Vol. 1, № 5. P. 516–527.
  33. Hemphill I. The Spice and Herb Bible. Toronto : Robert Rose Inc., 2002. 800 p.
  34. Jodral M. M. *Illicium, Pimpinella, and Foeniculum*. Boca Raton : CRC Press LLC, 2004. 248 p.
  35. Pliny the Elder. *Naturalis historia* / transl. by J. Bostock. London : Taylor and Francis, 1855. 543 p.
  36. Shojaii A., Fard M. A. Review of pharmacological properties and chemical constituents of *Pimpinella anisum*. *ISRN Pharmaceutics*. 2012. Vol. 2012. DOI: <https://doi.org/10.5402/2012/510795> (Date of access: 04.07.2019).
  37. The influence of essential oil of aniseed (*Pimpinella anisum*, L.) on drug effects on the central nervous system / I. Samojlik et al. *Fitoterapia*. 2012. Vol. 83. P. 1466–1473.
  38. The fruit essential oil of *Pimpinella anisum* L. (Umbelliferae) induces neuronal hyperexcitability in snail partly through attenuation of after-hyperpolarization / M. Janahmadi et al. *J. Ethnopharmacol.* 2008. Vol. 120. P. 360–365.

39. Hajou R. M. K., Afifi F. U., Battah A. H. Analytical, nutritional and clinical methods comparative determination of multi-pesticide residues in *Pimpinella anisum* using two different AOAC methods. *Food Chem.* 2004. Vol. 88. P. 469–478.
40. Romm A. *Botanical Medicine for Women's Health*. St. Louis : Churchill Livingstone, 2010. 720 p.
41. Rosti L., Nardini A., Bettinelli M. E., Rosti D. Toxic effects of a herbal tea mixture in two newborns. *Acta Paediatrica*. 1994. Vol. 83, № 6. P. 683.
42. Recovering effects of aqueous extracts of some selected medical plants on the tetratogenic effects during development of *D. melanogaster* / H. Uysal et al. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2007. Vol. 10, № 10. P. 1708–1712. DOI: <https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.1708.1712> (Date of access: 08.07.2019).
43. *The Complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines* / M. Blumenthal et al. ; ed. by S. Klein, R. S. Rister. Austin : American Botanical Council, 1998. 684 p.
44. Ali Asadollahpoor, Mohammad Abdollahi, Roja Rahimi. *Pimpinella anisum* L. fruit: Chemical composition and effect on rat model of nonalcoholic fatty liver disease. *J. Res. Med. Sci.* 2017. Vol. 22. P. 37. DOI: <https://doi.org/10.4103/1735-1995.202147> (Date of access: 08.07.2019).
45. Effect of *Pimpinella anisum* L (Aniseed) Aqueous Extract against Lead (Pb) Neurotoxicity: Neurobehavioral Study / Amina Bekara et al. *International Journal of Neuroscience and Behavioral Science*. 2015. Vol. 3, № 3. P. 32–40. DOI: <https://doi.org/10.13189/ijnbs.2015.030302> (Date of access: 08.07.2019).
46. Pontes V. C. B., Rodrigues D. P., Caetano A., Gamberini M. T. Preclinical investigation of the cardiovascular actions induced by aqueous extract of *Pimpinella anisum* L. seeds in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.03.050> (Date of access: 09.07.2019).
47. Huda S. A. A. Mohamed, Warda S. Abdelgadir, Aisha Z. I. Almagboul. In vitro antimicrobial activity of Anise seed (*Pimpinella anisum* L.). *International Journal of Advanced Research*. 2015. Vol. 3, Iss. 1. P. 359–367.

48. Zayed M. F., Mahfoze R. A., El-kousy S. M., El-Ashkar E. A. In-vitro antioxidant and antimicrobial activities of metal nanoparticles biosynthesized using optimized *Pimpinella anisum* extract. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.124167> (Date of access: 09.07.2019).
49. Antimicrobial activities of six essential oils commonly used as condiments in Brazil against *Clostridium perfringens* / M. Radaelli et al. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2016. Vol. 47, № 2. P. 424–430. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.10.001> (Date of access: 09.07.2019).
50. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of selected Apiaceous fruits / N. Khalil et al. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2018. Vol. 4, № 1. P. 88–92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fjps.2017.10.004> (Date of access: 10.07.2019).
51. Screening of antibacterial effects of anise essential oil alone and in combination with conventional antibiotics against *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates / A. C. Gradinaru et al. *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi*. 2014. Vol. 118, № 2. P. 537–543.
52. Microemulsions for delivery of Apiaceae essential oils – Towards highly effective and eco-friendly mosquito larvicides? / R. Pavelaa et al. *Industrial Crops & Products*. 2019. Vol. 129. P. 631–640. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.073> (Date of access: 10.07.2019).
53. Microemulsions: An effective encapsulation tool to enhance the antimicrobial activity of selected EOs / L. Pavonia et al. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2019. Vol. 53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.05.050> (Date of access: 10.07.2019).
54. Comparison of antibacterial effects and fumigant toxicity of essential oils extracted from different plants / X.-F. Tu et al. *Industrial Crops and Products*. 2018. Vol. 124. P. 192–200. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.065> (Date of access: 11.07.2019).

55. Antifungal activity of essential oils against selected terverticillate penicillia / S. Felšćiová et al. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2015. Vol. 22, № 1. P. 38–42. DOI: <https://doi.org/10.5604/12321966.1141367>\_(Date of access: 11.07.2019).
56. Nureddin Cengiza Hanefi Özbekb, Aydın Him. Hepatoprotective Effects of Pimpinella anisum Seed Extract in Rats. *Pharmacologyonline.* 2008. Vol. 3. P. 870–874.
57. An in vivo and in vitro investigation on hepatoprotective effects of Pimpinella anisum seed essential oil and extracts against carbon tetrachloride-induced toxicity / Akram Jamshidzadeh et al. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2015. Vol. 18, № 2. P. 205–211.
58. Державний реєстр лікарських засобів України. URL: <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlist?opendocument&sklad=%E0%ED%B3%F1> (дата звернення: 12.07.2019).
59. Barnes J., Anderson L. A., Phillipson J. D. *Herbal Medicines*. 3rd ed. London : Pharmaceutical Press, 2007. 710 p.
60. Salehi Surmaghi M. H. *Medicinal Plants and Phytotherapy*. Tehran : Donyay Taghziah Press, 2010. Vol. 1. P. 45–48.
61. Özcan M. M., Chalchat J. C. Chemical composition and antifungal effect of anise (*Pimpinella anisum* L.) fruit oil at ripening stage. *Annals of Microbiology.* 2006. Vol. 56, № 4. P. 353–358.
62. Acimovic M. G., Kostadinovic L. M., Popovic S. J., Dojcinovic N. S. Apiaceae seeds as functional food. *Journal of Agricultural Sciences.* 2015. Vol. 60, № 3. P. 237–246.
63. Дудченко Л. Г., Козьяков А. С., Кривенко В. В. Пряно-ароматические и пряно-вкусовые растения : справочник. Киев : Наук. думка, 1989. 304 с.
64. 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.

65. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
66. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпта / О. М. Кошовий та ін. *Фармаком.* 2005. № 2/3. С. 151–161.
67. Фармакогностическое изучение сырья фенхеля обыкновенного в сравнительном аспекте. URL: [https://studbooks.net/2483557/meditsina/farmakognosticheskoe\\_izuchenie\\_syrya\\_fenhelya\\_obyknovennogo\\_v\\_sravnitelnom\\_aspekte](https://studbooks.net/2483557/meditsina/farmakognosticheskoe_izuchenie_syrya_fenhelya_obyknovennogo_v_sravnitelnom_aspekte) (дата обращения: 10.09.2019).
68. Combining pressurized liquids with ultrasound to improve the extraction of phenolic compounds from pomegranate peel (*Punica granatum* L.) / B. R. Sumere et al. *Ultrasonics sonochemistry.* 2018. Vol. 48. P. 151–162.
69. Розробка метода стандартизації нового лікарського засобу піфламін / А. М. Ковальова та ін. *Фармаком.* 2002. № 2. С. 92–97.
70. Левицкий А. П., Ходаков И. В., Райцева Е. С. Экстракция полифенолов из листьев винограда. *Харчова наука і технологія.* 2012. Т. 20, № 3. С. 36–37.
71. Вертикова Е. К., Ходаков И. В., Левицкий А. П. Метод определения хлорогеновой кислоты. *Вісник стоматології. Спец. випуск.* 2010. Т. 73, № 5. С. 2–5.
72. Ходаков И. В., Макаренко О. А., Левицкий А. П., Сичкарь В. И. Сортовые особенности сои украинской селекции по содержанию полифенолов в листьях. *Физиология растений и генетика.* 2014. Т. 46, № 1. С. 27–36.
73. Вивчення поліфенольних сполук трави анісу звичайного та визначення їхньої антиоксидантної активності / У. А. Умаров та ін. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії.* 2021. Т. 19, вип. 1 (73). С. 42–47.
74. Кошовий О. М. Дослідження флавоноїдних сполук в листі евкаліпта і його шроті після отримання густого екстракту хлорофіліпту. *Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії :*



- матеріали наук.-практ. семінару, м. Харків, 26 листоп. 2004 р. Харків : Видво НФаУ, 2004. С. 274–277.
75. Никольский Б. П., Матерова Е. А. Ионосективные электроды. Ленинград : Химия, 1980. 240с.
  76. Государственная Фармакопея СССР / МЗ СССР. 11-е изд., доп. Москва : Медицина, 1987. Вып. 2 : Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. 336 с.
  77. Круглов Д. С., Мельник Ю. С. Органические кислоты и витамины в плодах морошки приземистой. *Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции* : сб. науч. тр. Пятигорск, 2010. Вып. 65. С. 73–75.
  78. Латыпова Г. М., Пупыкина К. А., Закиева С. В. Разработка показателей качества листьев хмеля обыкновенного. *Вестник ОГУ*. 2009. № 6. С. 198–200.
  79. Определение органических кислот в плодах рябины обыкновенной / С. Г. Абдулина и др. *Фармация*. 2011. № 2. С. 17–19.
  80. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 2-е вид. Харків : РІРЕГ, 2015. 556 с.
  81. Морф В. Принципы работы ионселективных электродов и мембранный транспорт / пер. с англ. Москва : Мир, 1985. 280 с.
  82. Постоюк Н. А., Маркарян А. А., Даргаева Т. Д., Сокольская Т. А. Методика количественного определения суммы аминокислот в листе каштана конского обыкновенного. *Новые задачи современной медицины* : материалы Междунар. науч. конф., г. Пермь, январь 2012 г. Пермь : Меркурий, 2012. С. 139–141 с.
  83. Шлык А. А. О спектрофотометрическом определении хлорофиллов а и в. *Биохимия*. 1968. Т. 33, вып. 2. С. 275–285.
  84. Починок Х. Н. Методы биохимического анализа растений. Киев : Наук. думка, 1976. С. 213–216.
  85. Кочетков Н. К. Химия биологически активных природных соединений. Москва : Наука, 1970. 631 с.

86. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1110 с
87. Степаненко Б. Н. Химия и биохимия углеводов. Полисахариды. Москва, 1978. 256 с.
88. Соколова О. О. Фармакогностичне вивчення сировини соняшника однорічного (*Helianthus annuus* L.) та розробка лікарських рослинних засобів на її основі : дис. канд. фармац. наук: 15.00.02. Харків : НФаУ, 2019. 257 с.
89. ДСТУ ГОСТ 6088:2009. Пектин. Технічні умови. Офіц. вид. Вперше; чинний від 01.07.2009. Київ : Держспоживстандарт України, 2009. 27 с.
90. 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 XXXVIII 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.
91. Kolisnyk S., Khanin V., Umarov U., Koretnik O. Study of the monosaccharide composition on water-soluble polysaccharide complexes and pectic substances of Piminella anisum herbs. *Scientific Journal "ScienceRise: Pharmaceutical Science"*. 2020. № 3 (25). P. 33–38.
92. Дослідження елементного складу анісу звичайного / С. В. Колісник та ін. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 2 (63). С. 71–74.
93. Вивчення жирних кислот трави анісу звичайного / У. А. Умаров та ін. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2020. Т. 18, вип. 4 (72). С. 56–58.
94. Дослідження легкої фракції анісу звичайного / С. В. Колісникта ін. *Український біофармацевтичний журнал*. 2020. № 3 (64). С. 46–50.
95. Колісник С. В., Умаров У. А. Дослідження легкої 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.

96. Державна Фармакопея України / ДП «Науково–експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Харків : РІРЕГ, 2001. 556 с.
97. Определение технологических параметров травы *Galium verum* и *Galium aparine* / И. Л. Шинковенко и др. *Современные достижения фармацевтической науки и практики* : материалы междунар. конф., посвящ. 60- летию фармацевт. ф–та учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» / под. ред. А. Т. Щастного. Витебск, 31 окт. 2019 г. Витебск : ВГМУ, 2019. С. 135–137.
98. 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.
99. 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.
100. Adesanwo J. K., Makinde O. O., Obafemi C. A. Phytochemical analysis and antioxidant activity of methanol extract and betulinic acid isolated from the roots of *Tetracera potatoria*. *Journal of Pharmacy Research*. 2013. Vol. 6, № 9. P. 903–907. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.09.003> (Date of access: 22.01.2020).
101. Amin G. R. *Poultar Medicinal Plants of Iran*. Tehran : Tehran University of Medical Science Press, 2005. 66 p.
102. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Ленинград : Медгиз, 1963. 146 с.
103. Шмыгарева А. А., Куркин В. А., Саньков А. Н. Сравнительное исследование слабительного действия препаратов, содержащих антрагликозиды. *Медицинский альманах*. 2015. № 3 (38) сентябрь. С. 220–222.

104. Гунар О. В., Каграманова К. А. Методы определения антимикробного действия лекарственных средств. *Химико–фармацевтический журнал*. 2005. Т. 39, № 5. С. 53–56.
105. Physicochemical properties of water–soluble polysaccharides from black cumin seeds / I. Trigui et al. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018. Vol. 117. P. 937–946. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.202> (Date of access: 10.06.2020).
106. Harholt J., Suttangkakul A., Vibe Scheller H. Biosynthesis of Pectin. *Plant Physiology*. 2010. Vol. 153, № 2. P. 384–395. DOI: <http://doi.org/10.1104/pp.110.156588> (Date of access: 10.06.2020).
107. Optimization and characterization of purified polysaccharide from *Musa sapientum* L. as a pharmaceutical excipient / D. Suvakanta et al. *Food Chemistry*. 2014. Vol. 149. P. 76–83. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.068> (Date of access: 10.06.2020).
108. Sun Y. Structure and biological activities of the polysaccharides from the leaves, roots and fruits of *Panax ginseng* C. A. Meyer: An overview. *Carbohydrate Polymers*. 2011. Vol. 85, № 3. P. 490–499. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.03.033> (Date of access: 11.06.2020).
109. Properties of fucoidan from *Cladosiphon okamuranustokida* in gastric mucosal protection / H. Shibata et. al. *BioFactors*. 2000. Vol. 11, № 4. P. 235–245. DOI: <http://doi.org/10.1002/biof.5520110402> (Date of access: 11.06.2020).
110. Sun Y. Biological activities and potential health benefits of polysaccharides from *Poria cocos* and their derivatives. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014. Vol. 68. P. 131–134. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.04.010> (Date of access: 11.06.2020).
111. Державна Фармакопея України / ДП Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. Т. 3. Харків : Держ. п–во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. 732 с.

112. 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.
113. Умаров У., Колесник С. В., Гриценко И. 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.
114. 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.
115. Sergunova E. V., Sorokina A. A., Bokov D. O., Marakhova A. I. Qualitative and Quantitative Determination of Organic Acids in Crude Herbal Drugs and Medicinal Herbal Preparations for Quality Control in Russian Federation by Modern Physicochemical Methods. *Pharmacognosy Journal*. 2019. Vol. 11, № 5. P. 1132–1137. DOI: <http://doi.org/10.5530/pj.2019.11.176> (Date of access: 22.06.2020).
116. Strömberg N., Sahlin E. Determination of the short-chain fatty acid pattern in biodiesel using high throughput syringe solvent extraction and ion exclusion chromatography. *Fuel*. 2012. Vol. 97. P. 531–535. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.01.032> (Date of access: 22.06.2020).
117. Gu Y. D., Li J. W., Song W. L., Zhang X. M. Determination of C<sub>1</sub>–C<sub>6</sub> organic acids in the products from syngas to olefins by ion chromatography. *Chinese Journal of Chromatography*. 2014. Vol. 32, № 2. P. 204–209. DOI: <http://doi.org/10.3724/SP.J.1123.2013.09038> (Date of access: 22.06.2020).

118. Multivariate analysis of organic acids in fermented food from reversed-phase high-performance liquid chromatography data / P. Mortera et al. *Talanta*. 2018. Vol. 178. P. 15–23. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.09.005> (Date of access: 23.06.2020).
119. Nogueira T., Lago C. L. Determination of Ca, K, Mg, Na, sulfate, phosphate, formate, acetate, propionate, and glycerol in biodiesel by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. *Microchemical Journal*. 2011. Vol. 99, № 2. P. 267–272. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.microc.2011.05.014> (Date of access: 24.06.2020).
120. Sochorova L., Torokova L., Baron M., Sochor J. Electrochemical and others techniques for the determination of malic acid and tartaric acid in must and wine. *International Journal of Electrochemical Science*. 2018. Vol. 13. P. 9145–9165. DOI: <http://doi.org/10.20964/2018.09.20> (Date of access: 24.06.2020).
121. 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.
122. 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.
123. 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.
124. Количественное определение содержания свободных органических кислот в траве аниса обыкновенного / У. Умаров и др. *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.
125. Moe L. A. Amino acids in the rhizosphere: from plants to microbes. *Am. J. Bot.* 2013. Vol. 100. P. 1692–1705.
126. Comprehensive dissection of spatiotemporal metabolic shifts in primary, secondary, and lipid metabolism during developmental senescence in *Arabidopsis* / M. Watanabe et al. *Plant Physiol.* 2013. Vol. 162. P. 1290–1310.
127. Zeier J. New insights into the regulation of plant immunity by amino acid metabolic pathways. *Plant Cell Environ.* 2013. Vol. 36. P. 2085–2103.
128. Nitrogen metabolism meets phytopathology / M. Fagard et al. *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65. P. 5643–5656.
129. Galili G., Avin-Wittenberg T., Angelovici R., Fernie A. R. The role of photosynthesis and amino acid metabolism in the energy status during seed development. *Front. Plant Sci.* 2014. Vol. 5. P. 447.
130. Häusler R. E., Ludewig F., Krueger S. Amino acids – a life between metabolism and signaling. *Plant Sci.* 2014. Vol. 229. P. 225–237.
131. Pratelli R., Pilot G. Regulation of amino acid metabolic enzymes and transporters in plants. *J. Exp. Bot.* 2014. Vol. 65. P. 5535–5556.
132. 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. І Міжнар. наук.–практ. інтернет–конф., 6–7 лют. 2020 р. Дніпро, 2020. Т. 3. С. 347–349.*
133. 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.*
134. Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview / J. Teixeira et al. *BioMed Research International.* 2013. P. 1–11. DOI: <http://doi.org/10.1155/2013/251754> (Date of access: 17.05.2019).

135. Magnani C., Isaac V. L. B., Correa M. A., Salgado H. R. N. Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. *Analytical Methods*. 2014. Vol. 6. P. 3203–3210.
136. Jassim S. A., Naji M. A. Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective. *Journal of Applied Microbiology*. 2003. Vol. 95. P. 412–427.
137. Weng C. J., Yen G. C. Chemopreventive effects of dietary phytochemicals against cancer invasion and metastasis: Phenolic acids, monophenol, polyphenol, and their derivatives. *Cancer Treatment Reviews*. 2012. Vol. 38. P. 76–87.
138. Ou S., Kwok K. Ferulic acid: pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2004. Vol. 84. P. 1261–1269.
139. de Paiva L. B., Goldbeck R., dos Santos W. D., Squina F. M. Ferulic acid and derivatives: molecules with potential application in the pharmaceutical field. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013. Vol. 49. P. 395–411.
140. In vitro and in vivo antioxidant properties of ferulic acid: a comparative study with other natural oxidation inhibitors / S. Itagaki et al. *Food Chemistry*. 2009. Vol. 114. P. 466–471.
141. Pragasam S. J., Venkatesan V., Rasool M. Immunomodulatory and anti-inflammatory effect of p-coumaric acid, a common dietary polyphenol on experimental inflammation in rats. *Inflammation*. 2013. Vol. 36. P. 169–176.
142. Bahadoran Z., Mirmiran P., Azizi F. Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2013. Vol. 12. P. 1–9.
143. Silambarasan T., Manivannan J., Raja B., Chatterjee S. Prevention of cardiac dysfunction, kidney fibrosis and lipid metabolic alterations in l-NAME hypertensive rats by sinapic acid – Role of HMG-CoA reductase. *European Journal of Pharmacology*. 2016. Vol. 777. P. 113–123. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.03.004> (Date of access: 17.05.2019).
144. Умаров У. А., Колесник С. В., Гриценко И. С., Колесник Е. В. Арпабодиён ўсимлигидаги гидроксидолчин кислоталарининг миқдорини аниқлаш.



- Farmatsevtika sohasining bugungi holati: muammolar va istiqbollar* : xalqaro olimlar ishtirokidagi respublika ilmiy-amaliy anjumani materiallari. Toshkent, 2019. P. 261–263.
145. Умаров У., Колесник С. В., Гриценко И. С. Изучение количественного содержания суммы гидроксикоричных кислот в траве аниса обыкновенного. *Сучасний рух науки* : тези доп. ІХ міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 2-3 груд. 2019 р. Дніпро, 2019. Т. 3. С. 474–477.
146. Kumar S., Pandey A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *Sci. World J.* 2013. Vol. 2013. DOI: <http://doi.org/10.1155/2013/162750> (Date of access: 25.03.2021).
147. Pharmacologically active flavonoids from the anticancer, antioxidant and antimicrobial extracts of *Cassia angustifolia* Vahl / S. I. Ahmed et al. *BMC Complement. Altern. Med.* 2016. Vol. 16. P. 460. DOI: <http://doi.org/10.1186/s12906-016-1443-z> (Date of access: 25.03.2021).
148. Chen X., Dang T. T. T., Facchini P. J. Noscapine comes of age. *Phytochemistry.* 2015. Vol. 111. P. 7–13. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.09.008> (Date of access: 25.03.2021).
149. The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders / M. Działo et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2016. Vol. 17. P. 160. DOI: <http://doi.org/10.3390/ijms17020160> (Date of access: 26.03.2021).
150. Antioxidant properties and chemical characterization of Spanish *Opuntia ficus-indica* Mill. cladodes and fruits / L. Andreu et al. *J. Sci. Food Agric.* 2018. Vol. 98. P. 1566–1573. DOI: <http://doi.org/10.1002/jsfa.8628> (Date of access: 26.03.2021).
151. Antioxidative flavan-3-ol dimers from the leaves of *Camellia fangchengensis* / X. H. Meng et al. *J. Agric. Food Chem.* 2018. Vol. 66. P. 247–254. DOI: <http://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04572> (Date of access: 26.03.2021).
152. 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.

153. Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases / D. Del Rio et al. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2013. Vol. 18, № 14. P. 1818–1892. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4581> (Date of access: 15.02.2021).
154. Khan H. Y., Hadi S. M., Mohammad R. M., Azmi A. S. Prooxidant anticancer activity of plant-derived polyphenolic compounds: An underappreciated phenomenon. *Functional Foods in Cancer Prevention and Therapy* / ed. by Y. Kabir. London : Academic Press, 2020. Ch. 12. P. 221–236.
155. Particulate Matter 2.5 Mediates Cutaneous Cellular Injury by Inducing Mitochondria–Associated Endoplasmic Reticulum Stress: Protective Effects of Ginsenoside Rb1 / M. J. Piao et al. *Antioxidants*. 2019. Vol. 8, № 9. P. 383.
156. Das L., Vinayak M. Long Term Effect of Curcumin in Restoration of Tumour Suppressor p53 and Phase–II Antioxidant Enzymes via Activation of Nrf2 Signalling and Modulation of Inflammation in Prevention of Cancer. *PLOS ONE*. 2015. Vol. 10, № 4. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124000> (Date of access: 15.02.2021).
157. Progression of the role of CRYAB in signaling pathways and cancers / J. F. Zhang et al. *Onco Targets Ther.* 2019. Vol. 12. P. 4129–4139. DOI: <https://doi.org/10.2147/OTT.S201799> (Date of access: 16.02.2021).
158. Epigallocatechin-3-gallate inhibits migration of human nasopharyngeal carcinoma cells by repressing MMP-2 expression / H.-C. Ho et al. *J. Cell. Physiol.* 2019. Vol. 234, № 11. P. 20915–20924. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.28696> (Date of access: 16.02.2021).
159. 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.

160. Khodakov I. V. The HPLC Method Of Identification Of Polyphenols In Plant Extracts By Example Of Determination Of Isoflavone Composition In Soy Seeds. *Methods and objects of chemical analysis*. 2013. Vol. 8, № 3. P. 132–142.
161. Semenistaya E. N., Larionov O. G. Characterization of the composition and antioxidant activity of plant extracts by HPLC with UV and amperometric detection. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*. 2008. Vol. 42, № 9. P. 43–48.
162. Wang L.-H., Li W.-H. General method for determining of flavonoids in medicinal plants and raw cosmetics using HPLC with a photodiode array detector. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*. 2007. Vol. 41, № 4. P. 46–51.
163. Moiseev D. V., Buzuk G. N., Sheluto V. L. HPLC identification of flavonoids in plants. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*. 2011. Vol. 45, № 1. P. 35–38.
164. Mumtaz F., Zubair M., Khan F., Niaz K. Analysis of plants lipids. *Recent Advances in Natural Products Analysis* / ed. by A. Sanches Silva et al. Amsterdam : Elsevier, 2020. Ch. 22. P. 677–705. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816455-6.00022-6> (Date of access: 07.07.2020).
165. De Carvalho C., Caramujo M. The Various Roles of Fatty Acids. *Molecules*. 2018. Vol. 23, № 10. P. 2583. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23102583> (Date of access: 07.07.2020).
166. Lim G.-H., Singhal R., Kachroo A., Kachroo P. Fatty Acid- and Lipid-Mediated Signaling in Plant Defense. *Annual Review of Phytopathology*. 2017. Vol. 55, № 1. P. 505–536. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080516-035406> (Date of access: 08.07.2020).
167. Executive Summary: Heart Disease and Stroke Statistics – 2016 Update. A Report From the American Heart Association / D. Mozaffarian et al. *Circulation*. 2016. Vol. 133, № 4. P. 447–454. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000366> (Date of access: 09.07.2020).
168. Shahidi F., Ambigaipalan P. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Health Benefits. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2018. Vol. 9, № 1. P. 345–381. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-food-111317-095850> (Date of access: 09.07.2020).

169. Health relevance of the modification of low grade inflammation in ageing (inflammageing) and the role of nutrition / P. C. Calder et al. *Ageing Research Reviews*. 2017. Vol. 40. P. 95–119. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2017.09.001> (Date of access: 09.07.2020).
170. Voon C. H., Bhat R., Rusul G. Flower extracts and their essential oils as potential antimicrobial agents for food uses and pharmaceutical applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2012. Vol. 11, № 1. P. 34–55. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00169.x> (Date of access: 15.07.2020).
171. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review / W. Dhifi et al. *Medecines*. 2016. Vol. 3, № 4. P. 1–16. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicines3040025> (Date of access: 15.07.2020).
172. Essential Oils as Antimicrobials in Food Systems – A Review / J. R. Calo et al. *Food Control*. 2014. Vol. 54. P. 111–119. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.040> (Date of access: 03.08.2020).
173. Тернинко І. І. Порівняльне хромато–мас–спектрометричне вивчення ефірних олій плодів анісу та фенхелю. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2009. Т. 4, № 3. С. 73–76.
174. Мутыгуллина Ю. Р. Динамика содержания и роль пигментов фотосинтеза у видов рода *Dianthus L.* флоры предкавказья. *Вестник*. 2009. № 1. С. 52–55.
175. Сергеев А. В., Вакулова Л. А., Шашкина М. Я., Жидкова Т. А. Медико–биологические аспекты каротиноидов. *Вопросы медицинской химии*. 1992. Т. 38, № 6. С. 8–12.
176. Сергеев А. В., Коростелев С. А., Шашкина М. Я., Болиева Л. З. Проблемы и перспективы создания средств химиопрофилактики рака. *Экспериментальная онкология на рубеже веков* / под ред. М. И. Давыдова, А. Ю. Барышникова. Москва, 2003. С. 377–98.
177. Федосеева Л. М., Малолеткина Т. С. Изучение и сравнительная оценка липофильных веществ зелёных, красных и черных листьев бадана толстолистного, произрастающего на Алтае. *Химия растительного сырья*. 1999. № 2. С. 113–117.

178. 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.
179. Умаров У. А., Колісник С. В., Фатхуллаєва 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.
180. Фронтасьева М. В. Нейтронный активационный анализ в науках о жизни. *Физика элементарных частиц и атомного ядра*. 2011. Т. 42, вып. 2. С. 636–716.
181. Mertz W. The essential trace elements. *Science*. 1981. Vol. 213. P. 1332–1338. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.7022654> (Date of access: 29.04.2020).
182. 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.
183. Дослідження гострої токсичності та послаблювальної дії пектинів з трави анісу звичайного / С. В. Колісник та ін. *Клінічна фармація*. 2020. Т. 24, № 2. С. 52–55.
184. 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.

## ДОДАТКИ

## Додаток А

## 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. Шабілаєв, 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). P. 33–38. (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. (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. Фатхуллаєва, 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. № у 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 І.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 миқдорини аниқлаш. *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 апіпрепаратів 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 легкої 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., Фатхуллаєва 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., Фатхуллаєва 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.

Продовж. Дод. А

### **Апробація результатів дисертації**

Основні положення роботи викладені та обговорені на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. Міжнародна науково-практична конференція «Міждисциплінарний підхід в рішенні естетичних проблем в практиці косметолога» (Харків, 13 березня 2019 р.);

2. VI Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасний рух науки» (Дніпро, 4 – 5 квітня 2019 р.);

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

4. I Науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 15 травня 2019 р.);

5. VIII Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (Харків, 7-8 листопада 2019 р.);

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

7. Xalqaro olimlar ishtirokidagi respublika ilmiy-amaliy anjumani materiallari «Farmatsevtika sohasining bugungi holati: Muammolar va istiqbollari» (Toshkent, 15-16 noyabr 2019 y.);

8. II Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 21 листопада 2019 р.);

9. IX міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасний рух науки» (Дніпро, 2-3 грудня 2019 р.);

10. I Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Інтеграція освіти, науки та бізнесу в сучасному середовищі: зимові диспути» (Дніпро, 6-7 лютого 2020 р.);

11. 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.);

12. IV Міжнародна науково-практична дистанційна конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів» (Харків, 20 березня 2020 р.);

13. Міжнародна науково-практична конференція, присвячена пам'яті академіка УАН О.І. Тихонова «Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці» (Харків, 25 березня 2020 р.);

14. XXVII Міжнародна науково-практична конференція молодих учених та студентів «Topical issues of new medicines development» (Харків, 8-10 квітня 2020 р.);

15. II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Інтеграція освіти, науки та бізнесу в сучасному середовищі: літні диспути» (Дніпро, 17-18 серпня 2020 р.);

16. Международная научно-практическая конференция «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы» (Тошкент, 13 ноября 2020 г.);

17. II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Інтеграція освіти, науки та бізнесу в сучасному середовищі: зимові диспути» (Дніпро, 4-5 лютого 2021 р.);

18. XXVIII Міжнародна науково-практична конференція молодих учених та студентів, присвячена 150-річчю з дня народження М.О. Валяшка «Topical issues of new medicines development» (Харків, 18-19 березня 2021 р.);


19. V Международный научный конгресс, посвященный 90-летию Азербайджанского медицинского университета и 80-летию высшего фармацевтического образования в Азербайджане «Современные проблемы фармации» (Баку, 2021);

20. Міжнародна науково-практична дистанційна конференція, присвячена 100-річчю кафедри аналітичної хімії НФаУ «Сучасні аспекти створення лікарських засобів» (Харків, 16 квітня 2021 р.).

## Додаток Б



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи Запорізького  
 державного медичного університету  
 проф.  В. О. Туманський  
 02.10.2021  2020 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція до впровадження:** Методи стандартизації сировини трави анісу звичайного.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра аналітичної хімії та аналітичної токсикології, Умаров У.А., Колісник С.В.
3. **Джерела інформації:**
  - Колісник, С.В. Встановлення тотожності трави анісу звичайного (*Anisum vulgare Gaertn.*) за морфолого-анатомічними ознаками / С.В. Колісник, Т.М. Гонтова, У.А. Умаров, К.Р. Гордей // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2021. – Т. 14, №1(35). – С. 39-44.
  - Study of the monosaccharide composition on water-soluble polysaccharide complexes and pectic substances of Pimpinella anisum herbs / S. Kolisnyk, V. Khanin, U. Umarov, O. Koretnik // Scientific Journal "ScienceRise: Pharmaceutical Science". – 2020. - №3(25). – P. 33-38.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, лекційний курс.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань стандартизації сировини трави анісу звичайного за макро- та мікроскопічними ознаками.
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармакогнозії,  
 фармакології та ботаніки Запорізького  
 державного медичного університету,  
 д.біол.н., проф.



С. Д. Тржецинський



«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе  
Ташкентского фармацевтического  
института доктор химических наук,  
доцент Н.С. Норматаматов



« 15 » \_\_\_\_\_ 2020 г.

### АКТ ВНЕДРЕНИЯ

1. **Наименование внедрения:** Определение количественного содержания органических и жирных кислот в сырье аниса обыкновенного.
2. **Организация, авторы:** Украина, Национальный фармацевтический университет, кафедра аналитической химии и аналитической токсикологии, Умаров У.А., Колесник С.В.
3. **Источники информации:**
  - Development and validation of the Conductometric titration of quantitative determination of free organic acids in the Anise fruits / U.A. Umarov, O.Yu. Maslov, S.V. Kolisnyk M. Fathullaeva // European Journal of Molecular & Clinical Medicine. – 2020. – Vol. 7, Issue 3. – P. 3874-3883.
  - Потенциометрический анализ свободных органических кислот в траве аниса обыкновенного / С.В. Колесник, Е.Г. Кизим, И.Ю. Петухова, У.А. Умаров // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2019. - №24. – С. 124-127.
  - Вивчення жирних кислот трави анісу звичайного / У.А. Умаров, С.В. Колісник, О.О. Алтухов та ін // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2020. – Т. 18, вип. 4(72). – С. 56-58.
4. **Где внедряется:** кафедра аналитической химии Ташкентского фармацевтического института.
5. **Форма внедрения:** учебный процесс, научно-исследовательская работа.
6. **Эффект от внедрения:** углубление знаний студентов по использованию электрохимических и хроматографических методов при определении БАВ в растительных объектах.
7. **Сроки внедрения:** 2020-2021 учебный год.

Заведующая кафедры  
аналитической химии  
Ташкентского фармацевтического  
института, к.хим.н., доц.

М. Фатхуллаева

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи Івано-Франківського національного медичного університету  
професор Вакалюк І.П.

« 04 » березня 2020р.




### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції до впровадження:** Вивчення кількісного вмісту органічних кислот в сировині анісу звичайного з використанням сучасних електрохімічних методів аналізу.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра аналітичної хімії та аналітичної токсикології, Умаров У.А., Колісник С.В.
3. **Джерела інформації:**
  - Development and validation of the Conductometric titration of quantitative determination of free organic acids in the Anise fruits / U.A. Umarov, O.Yu. Maslov, S.V. Kolisnyk, M. Fathullaeva // European Journal of Molecular & Clinical Medicine. – 2020. – Vol. 7, Issue 3. – P. 3874-3883.
  - Потенциометрический анализ свободных органических кислот в траве аниса обыкновенного / С.В. Колесник, Е.Г. Кизим, И.Ю. Петухова, У.А. Умаров // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2019. – № 24. – С. 124-127.
4. **Де впроваджено:** кафедра фармації Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** науко-дослідна робота, навчальний процес, лекційний курс.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин сировини анісу звичайного.
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.
8. **Зауваження та пропозиції:** немає.

Завідувач кафедри фармації  
Івано-Франківського національного  
медичного університету, д.фарм.н., проф.

А. Р. Грицик

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної  
роботи Національного  
фармацевтичного університету  
проф.  М.В. Валімірова  
« 10 » \_\_\_\_\_ 2021 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція до впровадження:** Результати дослідження якісного складу та кількісного вмісту біологічно-активних речовин сировини трави анісу звичайного.
2. **Установа, автор:** Національний фармацевтичний університет, кафедра аналітичної хімії та аналітичної токсикології, Умаров У.А., Колісник С.В.
3. **Джерела інформації:**
  - 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.
  - Umarov, U. Determination of the qualitative composition and quantitative content of hydroxycinnamic acids in the herb of anise (*Pimpinella anisum* L.) / U. Umarov, S. Kolisnyk, M. Fathullaeva // Norwegian Journal of Development of the International science. – 2020. – Vol. 2, №44. – P. 43-48.
  - Вивчення жирних кислот трави анісу звичайного / У.А. Умаров, С.В. Колісник, О.О. Алтухов та ін // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2020. – Т. 18, вип. 4(72). – С. 56-58.
  - Вивчення поліфенольних сполук трави анісу звичайного та визначення їхньої антиоксидантної активності / У.А. Умаров, С.В. Колісник, О.В. Колісник, М. Фатхуллаєва, Н.К. Чінібекова, М.М. Хамдамов // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2021. – Т. 19, вип. 1(73). – С. 42-47.
4. **Де впроваджено:** кафедра якості, стандартизації та сертифікації ліків ІПКСФ Національного фармацевтичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, лекційний курс, науко-дослідна робота.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань слухачів з питань хімічного складу біологічно активних речовин трави анісу звичайного.
7. **Строки впровадження:** 2021-2022 навчальний рік.

Завідувач кафедри якості, стандартизації  
та сертифікації ліків ІПКСФ  
Національного фармацевтичного  
університету, д.фарм.н., проф.



Л. В. Ленчик

ПРОЕКТ

Проректор з науково-педагогічної  
роботи Національного фармацевтичного  
університету, д. фарм. н., професор

  
ВЛАДИМИРОВА  
«07» 2021



Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

## МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

*Pimpinellae anisi herba*

Анісу звичайного трава

Лікарська сировина в тканинних або паперових багатошарових мішках

### УПАКОВКА

Упаковують подрібнену сировину в тканинні мішки згідно з ГОСТ 30090-93 з масою сировини не більше 50 кг або паперові багатошарові мішки за ГОСТ 2226-88 з масою сировини не більше 15 кг.

### МАРКУВАННЯ

На етикетці мішка вказують «Україна», «Розробка НФаУ, м. Харків» українською мовою, його товарний знак і адресу, латинськими і українськими мовами назва сировини, маса сировини, умови зберігання, номер партії, термін зберігання.

Згідно ДСТУ 14192-96 здійснюють транспортне маркування.

### ТРАНСПОРТУВАННЯ

Відповідно до вимог ДСТУ 17768-90.

### ЗБЕРІГАННЯ

Зберігають згідно з вимогами ДСТУ 6077-80 і ДСТУ 17768-90, в сухому, захищеному від світла місці.

### ТЕРМІН ЗБЕРІГАННЯ

2 роки.

Завідувач кафедри аналітичної хімії  
та аналітичної токсикології  
Національного фармацевтичного  
університету, професор



С. В. Колісник

« 7 » Квітень 2021р.

Аспірант кафедри аналітичної хімії  
та аналітичної токсикології



У.А. Умаров

« 7 » Квітень 2021р.

ПРОЕКТ

Проректор з науково-педагогічної  
роботи Національного фармацевтичного  
університету, д. Фарм. Н., професор

  
І.М. В. ДИМИРОВА  
«04» квітня 2021 р.



Заявник, країна: Національний фармацевтичний університет, Україна

Виробник, країна: Україна

## МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

*Pimpinellae anisi herbae pectinum*

Анісу звичайного трави пектинові речовини

Лікарський засіб в ящиках з гофрокартону

### УПАКОВКА

Упаковують за ГОСТ 13799 з використанням вкладок поліетилену згідно з вимогами ГОСТ 10354 марки А в ящики з гофрокартону згідно з ГОСТ 13511 №11 масою нетто до 10,0 кг.

### МАРКУВАННЯ

На етикетках ящиків з гофрокартону вказують українською і латинською мовами назву лікарського засобу, адресу, масу лікарського засобу, термін придатності, товарний знак, умови зберігання, номер партії, українською мовою «Україна», «Розробка НФаУ, м. Харків».

Транспортне маркування здійснюють відповідно до вимог ГОСТ 14192.

### ТРАНСПОРТУВАННЯ

Транспортування здійснюють за вимогами ГОСТ 12003.

### ЗБЕРІГАННЯ

Зберігають у відповідності до вимог ГОСТ 12003.

Зберігають при температурі не вище 25 °С і відносній вологості повітря не більше 75% в добре вентиляційованих приміщеннях.

### ТЕРМІН ЗБЕРІГАННЯ

Три роки.

Проносний засіб

**Завідувач кафедри аналітичної хімії**

**та аналітичної токсикології**

**Національного фармацевтичного  
університету, професор**



**С.В. Колієнник**

« 7 » квітня 2021р.

**Аспірант кафедри аналітичної хімії**

**та аналітичної токсикології**



**У.А. Умаров**

« 7 » квітня 2021р.