

Міністерство охорони здоров'я України  
ПВНЗ «Київський медичний університет»  
Міністерство охорони здоров'я України  
Запорізький державний медичний університет

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

ГУРТОВЕНКО ІРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК: 582.734.4:582.949.2:615.07:615.322:54.061/.062:547.9:577.15/.17

## ДИСЕРТАЦІЯ

ПОРІВНЯЛЬНЕ ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕЯКИХ ВИДІВ  
РОДУ АГАСТАХЕ (*AGASTACHE J. CLAYTON EX GRONOV*)

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

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

\_\_\_\_\_ І. О. Гуртовенко

Науковий керівник Коновалова Олена Юріївна, доктор фармацевтичних наук,  
професор

Київ – 2020

## АНОТАЦІЯ

*Гуртовенко І. О.* Порівняльне фармакогностичне дослідження деяких видів роду Агастахе (*Agastache* J. Clayton ex Gronov). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія» (226 – Фармація). – ПВНЗ «Київський медичний університет», Київ, Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, 2020.

Дисертаційна робота присвячена фармакогностичному дослідженню агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого, одержанню екстрактів на їх основі, розробці методів контролю якості на лікарську рослинну сировину та екстракти для створення нових лікарських засобів з гепатопротекторною, протизапальною та антимікробною активністю.

За допомогою ПХ, ТШХ, ВЕРХ, ГХ-МС у сировині а. фенхельного ідентифіковано 112 сполук: 5 ГКК, 7 флавоноїдів, 1 кумарин, 2 фенольні кислоти, 4 катехіни, 40 компонентів легкої фракції, 3 багатоатомних спирта, 2 дисахариди, 5 моносахаридів, 4 органічні кислоти, 8 жирних кислот, 16 амінокислот, 15 мінеральних елементів, в тому числі – багатоатомні спирти, моно- та дисахариди – вперше; в сировині а. кропиволистого ідентифіковано 112 сполук: 3 ГКК, 4 флавоноїди, 49 компонентів легкої фракції, 2 багатоатомних спирта, 4 дисахариди, 5 моносахаридів, 4 органічні кислоти, 8 жирних кислот, 16 амінокислот, 17 мінеральних елементів, в тому числі – ГКК, флавоноїди, багатоатомні спирти, моно- та дисахариди, органічні та жирні кислоти, амінокислоти, мінеральні елементи – вперше.

Вперше методом РФА досліджено якісний склад та кількісний вміст макро- та мікроелементів трави а. фенхельного та а. кропиволистого в порівнянні з макро- та мікроелементним складом ґрунту. Встановлено, що в об'єктах дослідження серед макроелементів домінують кальцій (а. фенхельний – 1047,2 мг/100 г, а. кропиволистий – 810,2 мг/100 г), калій (а. фенхельний –

677,7 мг/100 г, а. кропиволистий – 724,2 мг/100 г) та сірка (а. фенхельний – 567,8 мг/100 г, а. кропиволистий – 107,9 мг/100 г), а серед мікроелементів – залізо (а. фенхельний – 12,9 мг/100 г, а. кропиволистий – 14,5 мг/100 г). Обидва види агастахе схожі за мінеральним складом, але а. фенхельний містить значно більше сірки, достовірно більше кальцію і менше кобальту (0,16 мг/100 г) порівняно з а. кропиволистим (0,49 мг/100 г). Окрім того, а. кропиволистий містить значну кількість нікелю (0,16 мг/100 г) та барію (1,6 мг/100 г), які не представлені в мінеральному складі а. фенхельного. Варто зазначити, що склад ґрунту впливає на мінеральний склад трави агастахе, зокрема збільшення в ґрунті кальцію та заліза сприяє посиленому накопиченню цих елементів у сировині, тому, за рахунок відповідного коригування складу ґрунту можна досягти бажаного збагачення сировини.

Методом ВЕРХ досліджено якісний склад і кількісний вміст зв'язаних у складі білка та вільних амінокислот у траві а. фенхельного та а. кропиволистого. У траві обох досліджених видів агастахе ідентифіковано 15 вільних та 16 зв'язаних амінокислот, 7 з яких є незамінними. Встановлено, що амінокислотний склад обох видів агастахе у фазі масового цвітіння є подібним, проте кількісний вміст вільних та зв'язаних амінокислот в сировині а. фенхельного вищий (46,7 мг/100 г; 9216,7 мг/100 г), ніж в сировині а. кропиволистого (24,8 мг/100 г та 5630,7 мг/100 г відповідно). Домінуючими серед зв'язаних амінокислот є пролін (а. фенхельний – 1448 мг/100 г; а. кропиволистий – 1409,9 мг/100 г), лейцин (а. фенхельний – 950,1 мг/100 г; а. кропиволистий – 1075,2 мг/100 г), лізин (а. фенхельний – 884,5 мг/100 г; а. кропиволистий – 1010,7 мг/100 г), аргінін (а. фенхельний – 769,8 мг/100 г; а. кропиволистий – 748 мг/100 г) та аланін (а. фенхельний – 727,9 мг/100 г; а. кропиволистий – 782,4 мг/100 г). Серед вільних амінокислот переважають: пролін (а. фенхельний – 14,7 мг/100 г; а. кропиволистий – 13,9 мг/100 г), аргінін (а. фенхельний – 6,4 мг/100 г; а. кропиволистий – 1,5 мг/100 г), глютамінова

кислота (а. фенхельний – 5,4 мг/100 г; а. кропиволистий – 1,6 мг/100 г) та аланін (а. фенхельний – 2,8 мг/100 г; а. кропиволистий – 1,5 мг/100 г).

Досліджено жирнокислотний склад трави а. фенхельного та а. кропиволистого методом ГХ-МС. В результаті проведеного дослідження в траві а. фенхельного ідентифіковано 8 жирних кислот: міристинову, пальмітинову, маргарінову, лінолеву,  $\alpha$ -ліноленову, стеаринову, бегенову; і в траві а. кропиволистого 8 жирних кислот, проте іншого складу: пальмітолеїнову, пальмітинову, валеріанову, лінолеву,  $\alpha$ -ліноленову, стеаринову, арахісову та бегенову. За кількісним вмістом у сировині а. кропиволистого домінують  $\alpha$ -ліноленова (49,5 мг/100 г) та лінолева кислоти (16,8 мг/100 г). В той же час в сировині а. фенхельного  $\alpha$ -ліноленова кислота відсутня, а кислота лінолева представлена в меншій кількості (22,9 мг/100 г). Серед насичених жирних кислот у траві а. фенхельного домінує пальмітинова (42,1 мг/100 г), в траві а. кропиволистого – пальмітинова (26,9 мг/100 г) та стеаринова (8,9 мг/100 г).

Вперше визначено вміст полісахаридів та їх окремих фракцій у траві а. фенхельного та а. кропиволистого. Гравіметрично встановлено, що переважаючими фракціями полісахаридного комплексу є ВРПС, що становить 15,08% та 14,89%, дещо меншим є вміст ПР – 8,89% та 9,1%, і ГЦ Б – 5,29% і 4,68%, а найменшим – ГЦ А – 1,35% та 1,31% відповідно, від маси повітряно-сухої сировини.

Вперше методом ГХ-МС було визначено вміст моно- та дисахаридів в траві а. фенхельного та а. кропиволистого. В результаті дослідження у траві а. фенхельного ідентифіковано 5 вільних моносахаридів – глюкоза, галактоза, сорбоза, фруктоза, рибоза, 2 дисахариди – сахароза, мелібіоза і 1 багатоатомний спирт – інозитол, а в траві а. кропиволистого ідентифіковано 5 вільних моносахаридів – маноза, глюкоза, галактоза, сорбоза, фруктоза, 4 дисахариди – софороза, сахароза, мелібіоза, целобіоза і 1 багатоатомний спирт – інозитол. Серед загальних цукрів у траві а. фенхельного ідентифіковано 5 моносахаридів – рамноза, арабіноза, маноза, глюкоза, галактоза, 3 багатоатомні спирти – інозитол, манітол, дульцитол. В траві а. кропиволистого ідентифіковано 5

моносахаридів – рамноза, арабіноза, маноза, глюкоза, галактоза, 2 багатоатомні спирти – інозитол та манітол, 2 дисахариди – целобіоза, ламінарибіоза.

Встановлено, що в траві а. фенхельного за кількісним вмістом переважають сахароза (4822 мг/100 г), глюкоза (1005 мг/100 г), інозитол (528 мг/100 г) та фруктоза (136 мг/100 г), а в траві а. кропиволистого – сахароза (6287 мг/100 г), глюкоза (521 мг/100 г), інозитол (369 мг/100 г).

Методом ГХ-МС визначено склад летких сполук трави а. фенхельного та а. кропиволистого в процесі онтогенезу при інтродукції в Україні (м. Київ). У траві а. фенхельного та а. кропиволистого, заготовлених у фазу РВО, ідентифіковано 42 та 36 летких сполук, у фазу МЦ – 30 та 50 відповідно, та визначено їх відсотковий вміст. Виявлено, що домінуючими компонентами трави досліджуваних видів, незалежно від фази онтогенезу, є ментон, ізоментон, пулегон, D-лімонен. У менших кількостях представлені кубенен,  $\gamma$ -елемен,  $\beta$ -каріофілен,  $\beta$ -бурбонен. В процесі онтогенетичного розвитку вміст летких сполук змінюється, а саме: вміст пулегону істотно збільшується у фазу МЦ (у 2,8 раз у а. фенхельного та у 2,64 рази у а. кропиволистого) в порівнянні з фазою РВО.

Досліджено поліфенольний склад трави а. фенхельного методом ВЕРХ. В результаті проведеного дослідження в траві а. фенхельного було ідентифіковано 7 флавонів та флавонолів (апигенін, рутин, лютеолін, кверцетин, кверцетин-3-D-глікозид, кемпферол, гіперозид), 1 кумарин (скополетин), 4 катехіни (катехін, епікатехін, епігалокатехін, епікатехінгалат), 2 фенольні кислоти (галова та елагова), 5 гідроксикоричних кислот (розмаринова, хлорогенова, кофейна, *n*-кумарова, ферулова). Встановлено, що серед ідентифікованих сполук за кількісним вмістом переважають: епігалокатехін (1411,7 мг/100 г), апигенін (1185 мг/100 г) та розмаринова кислота (1179,1 мг/100 г), дещо менший вміст рутину (633,1 мг/100 г), катехіну (243,6 мг/100 г), хлорогенової кислоти (239,5 мг/100 г).

Вперше спектрофотометрично досліджено динаміку накопичення сполук поліфенольної природи у сировині досліджуваних видів. Аналіз отриманих

даних показав, що в процесі онтогенезу вміст основних груп БАР поліфенольної природи у сировині а. фенхельного та а. кропиволистого змінюється незначно. Сумарний кількісний вміст поліфенольних сполук для обох видів агастахе є більшим у фазу МЦ (9,48% у траві а. фенхельного та 9,41% у траві а. кропиволистого) у порівнянні з фазою РВО (5,99% у траві а. фенхельного та 5,83% у траві а. кропиволистого). Тоді як вміст флавоноїдів та проціанідинів майже не змінюється: вміст флавоноїдів у фазу МЦ 2,31% у траві а. фенхельного та 2,25% у траві а. кропиволистого, у фазу РВО – 2,22% у траві а. фенхельного та 2,14% у траві а. кропиволистого, вміст проціанідинів – у фазу МЦ 5,29% та 5%, у фазу РВО – 4,82% та 4,53%, відповідно. А вміст ГКК у фазу МЦ, навпаки, дещо знижується (27,76% у траві а. фенхельного та 26,29% у траві а. кропиволистого), проте різниця становить 0,56% для а. фенхельного та 2,07% для а. кропиволистого у порівнянні з фазою РВО (28,32% та 28,36%, відповідно).

На основі порівняльного аналізу для отримання субстанцій з високим вмістом суми поліфенольних сполук оптимальним терміном заготівлі сировини а. фенхельного та а. кропиволистого є фаза МЦ, тоді як для одержання субстанцій з високим вмістом ГКК, флавоноїдів та проціанідинів сировина може бути зібрана протягом усього вегетаційного періоду.

Проведено макро- та мікроскопічне дослідження сировини а. фенхельного та а. кропиволистого, встановлено основні морфологічні та анатомічні ознаки та відмінності, які можуть використовуватись як ключові показники якості при стандартизації досліджуваних видів та ідентифікації сировинного матеріалу.

Вперше отримано культуру рослин а. фенхельного та а. кропиволистого, вирощених *in vitro* (з насіння) з метою оцінки впливу застосування біотехнологічних методів отримання сировини на біохімічні властивості рослин досліджуваних видів. Проведено порівняльне дослідження вмісту основних БАР у траві а. фенхельного та а. кропиволистого, що культивувались *in vitro* та у відкритому ґрунті та встановлено, що рослини обох досліджених видів успішно піддаються вирощуванню в асептичній культурі тканин (*in vitro*),

накопичують значну біомасу та відрізняються досить високим вмістом поліфенольних сполук (як сумарним, так і окремих груп БАР поліфенольної природи – ГКК, флавоноїдів, проціанідинів), що є близьким до такого у відповідних рослин при вирощуванні у відкритому ґрунті (вміст суми поліфенолів переважає у сировині, вирощеній в природних умовах, в середньому на 2–3%; вміст суми ГКК у сировині а. кропиволистого та вміст флавоноїдів і проціанідинів майже однаковий у сировині, отриманої *in vitro* та з природи; лише вміст ГКК в сировині а. фенхельного в умовах *in vitro* нижчий на 8,28% у порівнянні з природною сировиною).

Вперше встановлено, що при вирощуванні рослин Агастахе *in vitro* загальний вміст поліфенольних сполук та вміст досліджених нами окремих груп поліфенолів є майже незмінним протягом всієї вегетації, прогнозованим, що свідчить про можливість отримання в умовах *in vitro* стандартизованої за вмістом основних груп БАР сировини а. фенхельного та а. кропиволистого, що є досить складним завданням при вирощуванні рослин у відкритому ґрунті.

Згідно результатів вивчення БАР у сировині досліджуваних видів розроблено схему комплексної переробки сировини а. фенхельного, що передбачає послідовне екстрагування сировини хлороформом та отримання ліпофільного екстракту, подальше екстрагування знежиреної сировини (шроту) водно-спиртовою сумішшю та отримання поліфенольного екстракту.

Досліджено якісний склад та кількісний вміст основних груп БАР у ліпофільному екстракті з трави а.фенхельного. Методом ТШХ у ліпофільному екстракті з трави а.фенхельного були ідентифіковані ментол, ліналоол та пулегон. Спектрофотометричним методом встановлено, що вміст суми каротиноїдів у перерахунку на  $\beta$ -каротин становить 8,68%, вміст хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А становить 49,8%.

Досліджено склад БАР рідкого екстракту з трави агастахе фенхельного. Методом ТШХ було ідентифіковано рутин, апігенін, лютеолін кверцетин, хлорогенову, розмаринову та кофейну кислоти. Методом спектрофотометрії визначено, що сума поліфенолів у перерахунку на пірогалол становить 37,91%,

вміст суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту – 46,26%, вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін – 3,97% від маси повітряно-сухої сировини.

На основі результатів фітохімічних та морфолого-анатомічних досліджень розроблено проект МКЯ «Агастахе фенхельного трава».

Досліджено гепатопротекторну активність рідкого екстракту агастахе фенхельного. На підставі проведених фармакологічних досліджень доведений більш значущий коригувальний вплив рідкого екстракту агастахе фенхельного, в порівнянні з референтним препаратом Силібор, на функціонування печінки на моделі тіопенталового сну за умов гострого гепатиту.

Встановлено, що досліджуваний екстракт агастахе фенхельного проявляє антиоксидантну активність за здатністю пригнічувати аутоокиснення адреналіну *in vitro*.

Досліджено спектр антимікробної активності ліпофільного екстракту агастахе фенхельного та встановлено, що даний екстракт проявляє високу антимікробну активність щодо грампозитивних мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, помірну – щодо грамнегативних мікроорганізмів: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* та дріжджоподібних грибів *Candida albicans*.

За результатами дослідження гострої токсичності рідкого екстракту агастахе фенхельного, його віднесено до малонебезпечних препаратів (IV клас за класифікацією хімічних речовин за ступенем небезпечності (за ГОСТ 12.1.007.76 «Шкідливі речовини. Класифікація та загальні вимоги нешкідливості»).

Розроблено проект МКЯ «Ліпофільний екстракт агастахе фенхельного» за такими показниками: опис, розчинність, ідентифікація (метод ТШХ), втрата в масі при висушуванні (не більше 10%), залишкові кількості органічних розчинників (хлороформ – не більше 0,005%), вміст каротиноїдів (не менше 8,5% у перерахунку на  $\beta$ -каротин), вміст хлорофілів (не менше 49% у перерахунку на хлорофіл А).



Розроблено проект МКЯ «Поліфенольний екстракт агастахе фенхельного» за такими показниками: опис, ідентифікація (метод ТШХ), важкі метали (не більше 100 ppm), мікробіологічна чистота (загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів – не більше  $10^5$  бактерій, грибів – не більше  $10^4$  в 1 мл, ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій – не більше  $10^3$  в 1 мл, не допускається наявність *Escherichia coli* в 1 мл, не допускається наявність *Salmonella* у 10 мл). вміст гідроксикоричних кислот (не менше 45% у перерахунку на кислоту хлорогенову), вміст флавоноїдів (не менше 3,5% у перерахунку на лютеолін).

*Ключові слова:* агастахе фенхельний, агастахе кропиволистий, трава, біологічно активні речовини, фармакогностичне дослідження, ліпофільний екстракт, поліфенольний екстракт, гепатопротекторна дія, антиоксидантна дія, антимікробна дія.

## ANNOTATION

*Hurtovenko I. O.* Comparative pharmacognostic study of some species of the genus *Agastache* (*Agastache* J.Clayton ex Gronov). – Qualifying scientific work with the manuscript copyright.

The thesis for a degree of PhD in Pharmacy, specialty 15.00.02 «Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy» (226 – Pharmacy). – PHEE «Kyiv medical university», Kyiv, Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, 2020.

The thesis is devoted to pharmacognostic study of *Agastache foeniculum* (Pursch) Kuntze and *Agastache urticifolia* (Benth.) Kuntze, to the obtainment of the extracts from these species, development of quality control methods for herbal raw materials and extracts for the creation of new drugs with hepatoprotective, anti-inflammatory and antimicrobial activity.

By means of PC, TLC, HPLC, GC-MS in the raw materials of *A. foeniculum* have been identified 112 compounds: 5 hydroxycinnamic acids, 7 flavonoids, 1

coumarin, 2 phenolic acids, 4 catechins, 40 components of a volatile fraction, 3 polyatomic alcohols, 2 disaccharides, 5 monosaccharides, 4 organic acids, 8 fatty acids, 16 amino acids, 15 mineral elements, including – polyatomic alcohols, mono- and disaccharides were identified for the first time; in the raw materials of *A. urticifolia* have been identified 112 compounds: 3 hydroxycinnamic acids, 4 flavonoids, 49 components of the volatile fraction, 2 polyatomic alcohols, 4 disaccharides, 5 monosaccharides, 4 organic acids, 8 fatty acids, 16 amino acids, 17 mineral elements, including – hydroxycinnamic acids, flavonoids, polyatomic alcohols, mono- and disaccharides, organic and fatty acids, amino acids, and mineral elements were identified for the first time.

For the first time, the qualitative composition and quantitative content of macro- and microelements of *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs compared to the macro- and microelemental soil composition were investigated using X-ray fluorescence analysis. It was found that in the research objects among the macroelements dominate calcium (*A. foeniculum* – 1047,2 mg/100 g, *A. urticifolia* – 810,2 mg/100 g), potassium (*A. foeniculum* – 677,7 mg/100 g, *A. urticifolia* – 724,2 mg/100 g) and sulfur (*A. foeniculum* – 567,8 mg/100 g, *A. urticifolia* – 107,9 mg/100 g), among the microelements dominate iron (*A. foeniculum* – 12,9 mg/100 g, *A. urticifolia* – 14,5 mg/100 g). Both species of *Agastache* are similar in mineral composition, but *A. foeniculum* contains significantly more sulfur, significantly more calcium and less cobalt (0,26 mg/100 g) compared to *A. urticifolia* (0,49 mg/100 g). In addition, *A. urticifolia* contains nickel (0,16 mg/100 g) and barium (1,6 mg/100 g), which is not represented in the mineral composition of *A. foeniculum*. It is worth noting that the composition of the soil affects the mineral composition of *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs. In particular, the increase calcium and iron in the soil contributes to the increased accumulation of these elements in the raw material, therefore, due to the correct adjustment of the soil composition can achieve the desired enrichment of raw materials.

By means of HPLC have been investigated the qualitative composition and quantitative content of bound protein and free amino acids in *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs. In the both studied species 15 free and 16 linked amino acids have been identified, 7 of which are irreplaceable. It has been established that the amino acid composition of both species in the bulking phase are similar, but the quantitative content of free and bound amino acids in the raw material of *A. foeniculum* higher (46.7 mg/100 g; 9216.7 mg/100 g) than in raw material of *A. urticifolia* (24.8 mg/100 g and 5630.7 mg/100 g, respectively). The dominant content among the bound amino acids has proline (*A. foeniculum* – 1448 mg/100 g, *A. urticifolia* – 1409.9 mg/100 g), leucine (*A. foeniculum* – 950.1 mg/100 g, *A. urticifolia* – 1075.2 mg/100 g), lysine (*A. foeniculum* – 884.5 mg/100 g, *A. urticifolia* – 1010.7 mg/100 g), arginine (*A. foeniculum* – 769.8 mg/100 g, *A. urticifolia* – 748 mg/100 g) and alanine (*A. foeniculum* – 727.9 mg/100 g, *A. urticifolia* – 782.4 mg/100 g). Among the free amino acids the predominance are proline (*A. foeniculum* – 14,7 mg/100 g, *A. urticifolia* – 13,9 mg/100 g), arginine (*A. foeniculum* – 6,4 mg/100 g, *A. urticifolia* – 1.5 mg/100 g), glutamic acid (*A. foeniculum* – 5.4 mg/100 g, *A. urticifolia* – 1.6 mg/100 g) and alanine (*A. foeniculum* – 2.8 mg/100 g, *A. urticifolia* – 1,5 mg/100 g).

The fatty acids composition of *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs was studied using GC-MS. As a result of the research in *A. foeniculum* herb was identified 8 fatty acids: myristic, palmitic, margaric, linoleic,  $\alpha$ -linolenic, stearic, and behenic; and in *A. urticifolia* herb was identified 8 fatty acids, but other composition: palmitoleic, palmitic, valeric, linoleic,  $\alpha$ -linolenic, stearic, peanut and behenic. It is established that in the raw materials of *A. urticifolia* is dominated by  $\alpha$ -linolenic (49,5 mg/100 g) and linoleic acid (16,8 mg/100 g). At the same time, in the raw materials of *A. foeniculum*  $\alpha$ -linolenic acid is absent, and the linoleic acid is present in a smaller amount (22,9 mg/100 g). Among the saturated fatty acids in *A. foeniculum* herb dominated palmitic (42,1 mg/100 g), in *A. foeniculum* herb dominated palmitic (0,269 mg/g) and stearic (8,9 mg/100 g).

The content of polysaccharides and their individual fractions in *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs was determined first. It has been gravimetrically determined that the predominant fractions of the polysaccharide complex are water soluble polysaccharides which is 15.08% and 14.89% respectively, somewhat lower the content of pectin substances – 8.89% and 9.1%, and hemicellulose B – 5,29% and 4,68%, and the smallest content is hemicellulose A – 1,35% and 1,31% respectively, from the mass of air-dry raw materials.

For the first time, the content of mono- and disaccharides in *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs was determined by gas-liquid chromatography mass spectrometry. As a result of research in *A. foeniculum* herb was identified 5 free monosaccharides – glucose, galactose, sorbose, fructose, ribose, 2 disaccharides – sucrose, melibiose and 1 polyhydric alcohol – inositol, and in *A. urticifolia* herb was identified 5 free monosaccharides – mannose, glucose, galactose, sorbose, fructose, 4 disaccharides – soporose, sucrose, melibiose, cellobiose and 1 polyhydric alcohol – inositol. Among the common sugars in *A. foeniculum* herb was identified 5 monosaccharides – rhamnose, arabinose, mannose, glucose, galactose, 3 polyhydric alcohols – inositol, mannitol, dulcitol. In *A. urticifolia* herb was identified 5 monosaccharides – rhamnose, arabinose, mannose, glucose, galactose, 2 polyhydric alcohols – inositol and mannitol, 2 disaccharides – cellobiose, laminaribiose.

It was established that in *A. foeniculum* herb dominated by sucrose (4822 mg/100 g), glucose (1005 mg/100 g), inositol (528 mg/100 g) and fructose (136 mg/100 g), and in *A. urticifolia* herb dominated by sucrose (6287 mg/100 g), glucose (521 mg/100 g), inositol (369 mg/100 g). The content of salirepin in *A. foeniculum* herb in the free state is 51 mg/100 g, in the bound state – 74 mg/100 g of the mass of air dry raw material.

By means GC-MS defined the composition of volatile compounds in *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs in ontogeny which introduced in Ukraine (Kyiv). In *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs, harvested in the phase of development of vegetative organs (DVO), 42 and 36 volatile compounds were identified, in the phase

of mass flowering (MF) – 30 and 50 respectively, and their content (%) was determined. It was revealed that the dominant components of the both studied species, regardless of the phase of ontogeny, are menthone, isomenthone, pullegon, D-limonene. In smaller quantities there are cubenene,  $\gamma$ -elemene,  $\beta$ -caryophyllene,  $\beta$ -bourbonene. In the process of ontogeny development the content of volatile compounds is changing, namely: the content of the pullegon is significantly increased in the MF phase (2.8 times in *A. foeniculum* and in 2.64 times in *A. urticifolia*) as compared with the DVO phase.

By HPLC method in *A. foeniculum* herb was identified a number of compounds of polyphenolic nature, in particular flavonoids: flavonoids and flavonols – hyperoside, rutin, quercetin-3-D-glycoside, luteolin, apigenin, quercetin, campherol, catechins – epigallocatechin, catechin, epicatechin, epicatechingallate; hydroxycinnamic acids – chlorogenic, caffeic, ferulic, *p*-coumaric, rosmarinic; phenolic acids – ellagic and gallic, coumarin – scopoletin. It has been established that dominated by epigallocatechin (1411.7 mg/100 g), apigenin (1185 mg/100 g) and rosmarinic acid (1179.1 mg/100 g), somewhat less is content of rutin (633.1 mg/100 g), catechin (243.6 mg/100 g), chlorogenic acid (239.5 mg/100 g).

For the first time, by spectrophotometry method the dynamics of accumulation of polyphenolic compounds in the raw materials of investigated species was studied. The analysis of the received data showed that in the ontogeny the content of the main groups of biologically active substances of polyphenolic nature in the raw materials of *A. foeniculum* and *A. urticifolia* changes slightly. The total quantitative content of polyphenolic compounds for both species is higher in MF phase (9.48% in *A. foeniculum* herb and 9.41% in *A. urticifolia* herb) in comparison with the DVO phase (5.99% *A. foeniculum* herb and 5.83% in *A. urticifolia* herb). While the content of flavonoids and procianidines is almost unchanged: the content of flavonoids in MF phase are 2.31% in *A. foeniculum* herb and 2.25% in *A. urticifolia* herb, in the DVO phase – 2.22% in the *A. foeniculum* herb and 2.14% in *A. urticifolia* herb; the content of procianidines are in the MF phase 5.29% and 5%, in the DVO phase – 4.82% and

4.53%, respectively. On the contrary, the content of hydroxycinnamic acids in the MF phase is somewhat reduced (27.76% in *A. foeniculum* herb and 26.29% in *A. urticifolia* herb), but the difference is 0.56% for *A. foeniculum* and 2.07% for *A. urticifolia* compared to DVO phase (28.32% and 28.36%, respectively).

On the basis of the comparative analysis for the production of substances with a high content of polyphenolic compounds, the optimal term for the procurement of raw materials *A. foeniculum* and *A. urticifolia* is MF phase, whereas for the production of substances with high content of hydroxycinnamic acids, flavonoids and procyanidines, the raw material can be collected throughout the growing season.

A macro- and microscopic study of raw materials *A. foeniculum* and *A. urticifolia*, basic morphological and anatomical signs and differences that can be used as key quality indicators in the standardization of the studied species and identification of the raw material are established.

For the first time, the culture of plants *A. foeniculum* and *A. urticifolia*, grown *in vitro* (from seed) to assess the impact of the application of biotechnological methods for obtaining raw materials on the biochemical properties of plants of the studied species. A comparative study of the content of the main BAS in *A. foeniculum* and *A. urticifolia* herbs, which were cultivated *in vitro* and in open soil, and it was found that plants of both studied species successfully cultivated in aseptic culture of tissues (*in vitro*), accumulate significant biomass and differ in sufficiently high content of polyphenolic compounds (both in the aggregate and in separate groups of BAS of polyphenol nature – hydroxycinnamic acids, flavonoids, and procyanidines), which is close to that of the corresponding plants when grown in open soil (the content of the polyphenols predominates in raw materials grown in natural conditions, an average of 2–3%, the content of the hydroxycinnamic acids, flavonoids and procyanidines in *A. urticifolia* herb almost identical in raw obtained *in vitro* and in open soil, only content of hydroxycinnamic acids in *A. foeniculum* herb under conditions *in vitro* to 8,28% lower compared with grown in open soil raw materials).

For the first time, it was found that in the cultivation *in vitro* *Agastache* raw material the total content of polyphenolic compounds and the content of the individual polyphenols, studied by us, are almost unchanged during the whole vegetation, which is predicted and indicating that it is possible to obtain in the cultivation *in vitro* the standardized content of the main groups of BAR in raw materials of *A. foeniculum* and *A. urticifolia*, which is a rather difficult task when growing plants in the open soil.

According to the results of the study of BAS in the raw materials of investigated species, a scheme for the integrated processing of *A. foeniculum* raw material, which involves the sequential extraction of raw material with chloroform and obtaining a lipophilic extract, further extraction of the non-fatty raw material (shrot) with aqueous-alcoholic mixture and obtaining a polyphenolic extract.

The qualitative composition and quantitative content of the main BAS groups in the lipophilic extract of *A. foeniculum* herb was studied. By TLC method in the lipophilic extract of *A. foeniculum* herb has identified menthol, linalool and pullegon. By spectrophotometric method has found that the content of carotenoids in recalculation on  $\beta$ -carotene is 8,68%, the chlorophyll content in recalculation on is 49,8%.

The composition of the BAS of the liquid extract of *A. foeniculum* herb was investigated. By TLC method was identified by rutin, apigenin, luteolin, quercetin, chlorogenic, rosmarinic and caffeic acids. By spectrophotometric method determined that the content of liquid in recalculation on pirogallol is 37.91%, the content of the hydroxycinnamic acids in recalculation on chlorogenic acid is 46.26%, the content of the flavonoids in recalculation on luteolin – 3.97%.

On the basis of the results of phytochemical, morphological and anatomical studies, the drafts of quality-control technology of raw material «*Agastache foeniculum* herb» was developed.

Hepatoprotective activity of the *A. foeniculum* liquid extract has been studied. Based on the performed pharmacological studies, a more significant corrective effect of the *A. foeniculum* polyphenolic extract, as compared with the reference drug

Silibor, has been shown on the liver function on the model of thiopental sleep in acute hepatitis.

It has been established that the *A. foeniculum* extract exhibits antioxidant activity by its ability to suppress the auto-oxidation of adrenaline *in vitro*.

The spectrum of antimicrobial activity of the *A. foeniculum* lipophilic extract was determined and this extract exhibited high antimicrobial activity against gram-positive microorganisms: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, moderate activity against gram-negative microorganisms: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* and fungi *Candida albicans*.

According to the results of the study of acute toxicity of the liquid *A. foeniculum* extract, it is classified as low risk (grade IV on the classification of chemicals by degree of hazard).

The drafts of quality-control technology of «Lipophilic Agastache foeniculum extract» was developed on the following indicators: description, solubility, identification (TLC method), mass loss at drying (not more than 10%), residual organic solvents (chloroform – no more than 0.005%), carotenoid content (not less than 8,5% in recalculation on  $\beta$ -carotene), the content of chlorophylls (not less than 49% in recalculation on chlorophyll A).

The drafts of quality-control technology of «Polifenol Agastache foeniculum extract» has been developed according to the following indicators: description, identification (TLC method), heavy metals (not more than 100 ppm), microbiological purity (concurrent number of viable aerobic microorganisms – not more than  $10^5$  bacteria, fungi – not more than  $10^4$  in 1 ml, enterobacteria and some other gram-negative bacteria – no more than  $10^3$  in 1 ml, *Escherichia coli* in 1 ml is not allowed, *Salmonella* in 10 ml is not allowed), the content of hydroxycinnamic acids (not less than 45% in recalculation on chlorogenic acid), the content of flavonoids (not less than 3.5% in recalculation on luteolin).

*Key words:* *Agastache foeniculum*, *Agastache urticifolia*, herb, biologically active substances, pharmacognostic research, lipophilic extract, polyphenolic extract, hepatoprotective effect, antioxidant activity, antimicrobial activity.



*Список публікацій здобувача*

1. Вміст вільних та зв'язаних амінокислот у деяких видах роду Агастахе при інтродукції / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, В. О. Меньшова, Т. К. Шураєва, Є. М. Гергель, О. В. Гергель. *Фітотерапія. Часопис*. 2016. № 4. С. 24-26. (Особистий внесок – проведення частини експериментальних досліджень, участь у обговоренні результатів та підготовка тексту статті).
2. Дослідження анатомічних діагностичних ознак сировини деяких видів роду Agastache як показників якості при стандартизації / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, О. Ф. Щербакова, В. О. Меньшова, О. І. Гудзенко. *Запорізький медичний журнал*. 2018. № 2. С. 230-237. (Особистий внесок – підготовка зразків для аналізу, участь у проведенні мікроскопічного аналізу досліджуваних зразків, обробка та аналіз результатів, підготовка тексту статті).
3. Дослідження вмісту поліфенольних сполук трави агастахе фенхельного Agastache foeniculum (Pursch)O.Kuntze / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко, Т. К. Шураєва, В. О. Меньшова. *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 3. С. 46-49. (Особистий внесок – підготовка зразків для аналізу, проведення експериментальних досліджень, участь у обробці результатів та підготовка тексту статті).
4. Качественный состав летучих соединений agastache foeniculum в онтогенезе / Е. Ю. Коновалова, И. А. Гуртовенко, Т. К. Шураева, В. А. Меньшова, Т. С. Омельковец. *Рецепт*. 2017. том 20, № 6. С. 544-550. (Особистий внесок – підготовка зразків для аналізу, проведення експериментальних досліджень, участь у обробці результатів та підготовка тексту статті).
5. Determination of carbohydrate content in raw material of Agastache foeniculum and Agastache urticifolia / I. Gurtovenko, E. Konovalova, T. Shuraeva, M. Kalista. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. Vol.6, N 9 (Part G). P. 454-457. (Особистий внесок – проведення літературного пошуку за темою публікації, проведення частини експериментальних досліджень, участь у обговоренні результатів та підготовка тексту статті).

6. Пат. на корисну модель 130906 Україна, МПК А61К 35/00, А61К 35/66. Фітозасіб із гепатопротекторною активністю / Коновалова О. Ю., Гуртовенко І. О., Серединська Н. М., Серeda П. І., Меньшова В. О. № у 2018 07949; заявл. 17.07.2018; опубл. 26.12.18, Бюл. № 24. 5 с. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, оформлення патенту).

7. Дослідження мінерального складу трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого / О. Ю. Коновалова, І. О. Гуртовенко, Є. М. Гергель, О. В. Гергель, Т. К. Шураєва, К. О. Кузь. *Фармація XXI століття: Тенденції та перспективи* : мат. VIII Національного з'їзду фарм. України, 13-16 верес. 2016 р. Х. : НФаУ, 2016. Т.1. С. 96. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

8. Дослідження жирнокислотного складу трави деяких видів роду агастахе (*Agastache J. Clayton ex Gronov.*) / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Є. М. Гергель, О. В. Гергель, Т. К. Шураєва, К. А. Градзійон, В. О. Меньшова. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти щодо стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини* : мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 28-29 жовт. 2016 р. К., 2016. С. 48. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

9. Дослідження амінокислотного складу трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, В. О. Меньшова, Є. М. Гергель, О. В. Гергель, Т. К. Шураєва. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : мат. VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10–11 листоп. 2016 р. Т., 2016. С. 40-41. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

10. Михайловська О. А., Гуртовенко І. О. Визначення вмісту жирних кислот в сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого. «Хист»,

*Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених*. 2017. № 19. С. 499. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

11. Ящук Б. О., Гуртовенко І. О. Порівняльний аналіз елементного складу трави деяких видів роду агастахе *Agastache J. Clayton ex Gronov.* «Хист», *Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених*. 2017. № 19. С. 503. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

12. Атякшева Н., Гуртовенко І. Визначення вмісту вільних моно- та дисахаридів в сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого. *XXI Міжнародний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України* : мат. конф., 24-26 квіт. 2017 р. Т., 2017. С. 223. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

13. Романюк А., Гуртовенко І. Дослідження летких сполук деяких видів роду агастахе *Agastache J. Clayton ex Gronov.* *XXI Міжнародний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України* : мат. конф., 24-26 квіт. 2017 р. Т., 2017. С. 236. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

14. Гуртовенко І. О., Коновалова О. Ю., Омельковець Т. С. Динаміка накопичення летких сполук в траві агастахе кропиволистого в онтогенезі. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : мат. І Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 5 квіт. 2018 р. Х., 2018. С. 42. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

15. Ящук Б., Гуртовенко І. Дослідження вмісту фенольних сполук в траві агастахе фенхельного. *XXII Міжнародний конгрес студентів та молодих вчених Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України* : мат. конф., 23-25 квіт. 2018 р. Т., 2018. С. 195-196. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

16. Дослідження спиртового екстракту *Agastache foeniculum* методом ІЧ-спектроскопії / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, І. І. Геращенко, Н. В. Гудзенко. *Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи* : мат. II Всеукраїнської наук. конф, 16 трав. 2018 р. Житомир, 2018. С. 225-226. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз матеріалу, оформлення тез до друку).

17. Визначення антиоксидантної активності екстракту агастахе фенхельного / О. Ю. Коновалова, І. О. Гуртовенко, Т. К. Шураєва, Т. С. Омельковець, О. І. Гудзенко. *Сучасні теоретико-практичні аспекти у розв'язанні послідовності реалізації впровадження «Стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» у первинну ланку охорони здоров'я* : мат. наук. форуму з міжнар.участю. 26 жовт. 2018 р. К., 2018. С. 92-93. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

18. Ідентифікація терпеноїдів у сировині *Agastache foeniculum* та *Agastache urticifolia* методом «холодової» ТШХ / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : мат. III Міжнар. наук.-практ. internet-конф., 26-28 листоп. 2018 р., Х., 2018. С. 61. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз матеріалу, оформлення тез до друку).

19. Дослідження хімічного складу сировини Агастахе в культурі *in vitro* / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Н. О. Пушкарьова, М. С. Каліста. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : мат. III Міжнар. наук.-практ. internet-конф., 26-28 листоп. 2018 р., Х., 2018. С. 62-63.

(Особистий внесок – збір та аналіз матеріалу, виконання експериментальної частини, аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

20. Вивчення складу БАР ліпофільного екстракту з трави Агастахе фенхельного / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Т. К. Шураєва, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко. *Хімія природних сполук* : мат. V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 30-31 трав. 2019 р. Т., 2019. С. 25. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

21. Динаміка накопичення сполук поліфенольної природи у траві *Agastache foeniculum* та *Agastache urticifolia* / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Т. К. Шураєва, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко. *Хімія природних сполук* : мат. V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 30-31 трав. 2019 р., Т., 2019. С. 26-27. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз матеріалу, оформлення тез до друку).

22. Коновалова О. Ю., Гуртовенко І. О., Ящук Б. О. Визначення вмісту фенольних сполук у траві агастахе фенхельного. *Людина та ліки* : мат. XII Національного мед. конгресу з міжнар. участю, 27-28 берез. 2019 р. К., 2019. С. 28. (Особистий внесок – підготовка матеріалу для дослідження, виконання експериментальної частини, аналіз отриманих результатів, оформлення тез до друку).

23. Коновалова О. Ю., Гуртовенко І. О., Шураєва Т. К. Дослідження антимікробної активності ліпофільного екстракту трави агастахе фенхельного. *Людина та ліки* : мат. XII Національного мед. конгресу з міжнар. участю, 27-28 берез. 2019 р. К., 2019. С. 29. (Особистий внесок – підготовка матеріалу для дослідження, аналіз отриманих результатів, оформлення тез до друку).

24. Дослідження гепатопротекторної дії рідкого екстракту *Agastache foeniculum* / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Т. К. Шураєва, Н. М. Серединська. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, 19-20 верес. 2019 р. Х., 2019. Т.1. С.

290-291. (Особистий внесок – підготовка матеріалу для дослідження, аналіз отриманих результатів, оформлення тез до друку).

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	26
ВСТУП.....	28
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ СТАН ДОСЛІДЖЕНЬ ВИДІВ РОДУ <i>AGASTACHE</i> (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	35
1.1 Систематичне положення, морфологічна характеристика видів роду <i>Agastache</i> .....	35
1.2 Поширення та вирощування видів роду <i>Agastache</i> .....	39
1.3 Сучасний стан дослідження біологічно активних речовин видів роду <i>Agastache</i> .....	40
1.4 Застосування в медицині представників роду <i>Agastache</i> .	53
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	59
2.1 Об'єкти дослідження, прилади, методи і реактиви.....	59
2.2 Методи вивчення якісного складу та кількісного вмісту БАР.....	62
2.3 Методи визначення фармакологічної активності та показників якості.....	66
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БАР У СИРОВИНІ ВИДІВ РОДУ <i>AGASTACHE</i> .....	75
3.1 Ідентифікація біологічно активних речовин .....	75
3.2 Дослідження мінерального складу.....	77
3.3 Вивчення амінокислотного складу методом ВЕРХ.....	80
3.4 Аналіз жирнокислотного складу методом ГХ-МС.....	83
3.5 Визначення вмісту вуглеводів.....	86
3.6 Вивчення складу летких сполук на різних стадіях онтогенезу.....	91
3.7 Встановлення якісного складу та кількісного вмісту поліфенольних сполук методом ВЕРХ.....	96

3.8 Вивчення динаміки накопичення сполук поліфенольної природи у сировині досліджуваних видів.....	100
ВИСНОВКИ.....	104
РОЗДІЛ 4 СТАНДАРТИЗАЦІЯ СИРОВИНИ ТА РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ОДЕРЖАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ НА ЇЇ ОСНОВІ.	108
4.1 Порівняльний макроскопічний аналіз трави деяких видів роду <i>Agastache</i> .....	108
4.2 Порівняльний мікроскопічний аналіз трави деяких видів роду <i>Agastache</i> .....	111
4.3 Отримання стандартизованої сировини <i>Agastache</i> методом <i>in vitro</i> та дослідження її хімічного складу.....	119
4.3.1 Отримання сировини <i>Agastache</i> методом <i>in vitro</i> .....	119
4.3.2 Дослідження БАР сировини <i>Agastache</i> , отриманої <i>in vitro</i> .....	123
4.4 Стандартизація трави агастахе фенхельного.....	128
4.5 Розробка технології одержання ліпофільного екстракту з трави агастахе фенхельного.....	140
4.6 Вивчення складу БАР ліпофільного екстракту з трави агастахе фенхельного.....	142
4.7 Розробка технології одержання рідкого екстракту з трави агастахе фенхельного.....	144
4.8 Вивчення складу БАР рідкого екстракту з трави агастахе фенхельного.....	150
4.9 Розробка проектів методик контролю якості на сировину.....	152
ВИСНОВКИ .....	156
РОЗДІЛ 5 СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ТА ВИВЧЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ.....	159
5.1 Стандартизація екстрактів, отриманих з трави агастахе фенхельного.....	159



5.1.1 Стандартизація ліпофільного екстракту агастахе фенхельного.....	159
5.1.2 Стандартизація рідкого екстракту агастахе фенхельного.....	166
5.2 Встановлення гострої токсичності виділених субстанцій.....	173
5.3 Дослідження фармакологічної дії виділених субстанцій.....	179
5.3.1 Дослідження гепатопротекторної дії рідкого екстракту агастахе фенхельного.....	179
5.3.2 Дослідження антиоксидантної активності рідкого екстракту агастахе фенхельного.....	186
5.3.3 Дослідження антимікробної активності ліпофільного екстракту агастахе фенхельного.....	189
5.4 Розробка проектів методик контролю якості на отримані субстанції.....	191
ВИСНОВКИ .....	196
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	198
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	201
ДОДАТКИ.....	230

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АлАТ	–	аланінамінотрансфераза;
АОА	–	антиоксидантна активність;
АсАТ	–	аспартатамінотрансфераза;
БАР	–	біологічно активні речовини;
ВЕРХ	–	високоєфективна рідинна хроматографія;
ВРПС	–	водорозчинні полісахариди;
ГКК	–	гідроксикоричні кислоти;
ГХ	–	газова хроматографія;
ГХ-МС	–	газова хроматографія – мас-спектрометрія;
ГЦ А	–	геміцелюлоза А;
ГЦ Б	–	геміцелюлоза Б;
ДФУ	–	Державна фармакопея України;
ГЧ	–	інфрачервоний;
КМП	–	коефіцієнт маси печінки;
ЛД <sub>50</sub>	–	середня летальна доза;
ЛРС	–	лікарська рослинна сировина;
ЛФ	–	лужна фосфатаза;
М.м.	–	молекулярна маса;
МКЯ	–	методи контролю якості;
МЦ	–	масового цвітіння;
ПВНЗ	–	Приватний вищий навчальний заклад;
ПР	–	пектинові речовини;
ПХ	–	паперова хроматографія;
РВО	–	розвитку вегетативних органів;
РФА	–	рентгенфлуоресцентний аналіз;
ТШХ	–	тонкошарова хроматографія;

УФ – ультрафіолетовий.

## ВСТУП

### **Обґрунтування вибору теми дослідження**

Застосування лікарської рослинної сировини при виробництві та створенні нових лікарських засобів є актуальним завданням фармації. Клінічна практика засвідчує, що фітопрепарати мають широкий спектр дії, низьку токсичність і не спричиняють побічної дії на організм. На особливу увагу при створенні нових лікарських засобів рослинного походження заслуговують рослини, які здавна використовуються в народній медицині. В числі таких цінних та ще мало вивчених рослин є представники роду *Агастахе* *Agastache* J. Clayton ex Gronov. (синонімічна назва – Лофант або Багатоколосник), які широко застосовують в східній медицині при застудних захворюваннях і запальних процесах шлунково-кишкового тракту і сечовивідної системи; зовнішньо – при дерматитах грибкового походження, себореї, для зміцнення росту волосся. В той же час в науковій медицині рослини роду *Agastache* не використовуються, хімічний склад видів роду вивчений недостатньо. Саме тому фармакогностичне дослідження рослин даного роду з метою виявлення нових джерел біологічно активних речовин серед культивованих рослин з метою створення нових фітопрепаратів та подальшої стандартизації перспективних видів сировини є актуальним.

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

Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи ПВНЗ «Київський медичний університет» «Експериментальне і клінічне обґрунтування механізмів дії біологічно-активних речовин, фізичних та інформаційних факторів» (№ державної реєстрації 0113U007296). Особиста участь полягає у комплексному системному фармакогностичному дослідженні рослин роду *Agastache* як перспективного джерела для отримання лікарських засобів, що впливають на різні функції і системи організму людини.

### **Мета і завдання дослідження**

Метою даної роботи було порівняльне фармакогностичне вивчення деяких видів роду *Agastache*.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

– проаналізувати та узагальнити сучасні дані літературних джерел щодо систематичного положення, морфологічних особливостей, географічного поширення, хімічного складу і застосування у медицині видів роду *Agastache*;

– ідентифікувати БАР та визначити їхній кількісний вміст у сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого та виявити найбільш перспективні види сировини для подальших досліджень;

– розробити оптимальну технологію одержання екстрактів з перспективних видів сировини та визначити основні БАР в отриманих екстрактах;

– встановити основні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки сировини досліджуваних видів;

– провести стандартизацію сировини і екстрактів та розробити проекти МКЯ;

– дослідити можливість отримання стандартизованої біомаси сировини агастахе в культурі *in vitro*;

– встановити гостру токсичність і визначити фармакологічну активність отриманих субстанцій.

*Об'єкт дослідження.* Комплексне фармакогностичне дослідження трави *Agastache foeniculum* (Pursch) Kuntze, *A. urticifolia* (Benth.) Kuntze та екстрактів з трави досліджуваних видів, параметри їхньої стандартизації.

*Предмет дослідження.* Виявлення, ідентифікація БАР у траві деяких видів *Agastache* на різних стадіях онтогенезу та встановлення їх кількісного вмісту, визначення діагностичних ознак анатомічної будови, отримання лікарських субстанцій та встановлення їх фармакологічної активності.

### **Методи дослідження**

Для ідентифікації і визначення кількісного вмісту БАР були застосовані такі методи: хроматографічні – ТШХ, ПХ, ВЕРХ, ГХ, ГХ-МС; УФ-спектрофотометрія і спектрофотометрія у видимій частині спектра, ІЧ-спектроскопія; хімічні – хімічні реакції кольорові, осадові, комплексоутворення, титрування. Елементний склад було досліджено методом РФА. Анатомічна будова була встановлена на препаратах з поверхні та поперечних зрізах листка, черешків, стебел. Визначення фармакологічної активності було проведене за методиками *in vivo* та *in vitro* за стандартними методиками. Статистичну обробку результатів експериментів проводили згідно з вимогами ДФУ.

### **Наукова новизна отриманих результатів**

Вперше проведено порівняльне комплексне фармакогностичне вивчення трави *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, що вирощуються в Україні.

Загалом в результаті роботи в сировині *A. foeniculum* ідентифіковано 112 сполук, які включають 15 класів сполук, з яких вперше – багатоатомні спирти, моно- та дисахариди. В сировині *A. urticifolia* ідентифіковано 112 сполук, які включають 15 класів сполук, серед яких вперше – ГКК, флавоноїди, багатоатомні спирти, моно- та дисахариди, органічні та жирні кислоти, амінокислоти, хімічні елементи.

Встановлено кількісний вміст флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, катехінів, фенольних кислот, компонентного складу ефірних олій, вільних та зв'язаних цукрів та багатоатомних спиртів, жирних кислот, вільних та зв'язаних амінокислот, хімічних елементів; в тому числі – багатоатомні спирти, моно- та дисахариди – вперше.

Вперше методами спектрофотометрії визначено кількісний вміст суми поліфенолів, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, проціанідинів у траві агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого в залежності від фаз вегетації, що дозволило встановити оптимальні умови заготівлі сировини.

Вперше отримано культуру рослин видів *Agastache*, вирощених *in vitro* (з насіння) та проведено порівняльне дослідження вмісту основних БАР у траві агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого, що культивувались *in vitro* та в умовах відкритого ґрунту.

Вперше розроблено схему комплексної переробки сировини агастахе фенхельного, а саме, отримання ліпофільного екстракту з антибактеріальною та протигрибковою дією та отримання зі шроту рідкого екстракту з гепатопротекторною та антиоксидантною дією, що забезпечується подальшим екстрагуванням знежиреної сировини водно-спиртовою сумішшю.

Вперше досліджено антибактеріальну активність ліпофільного екстракту з трави агастахе фенхельного та гепатопротекторну дію рідкого екстракту з трави агастахе фенхельного.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Розроблено технологічну схему одержання ліпофільного екстракту з трави агастахе фенхельного з антимікробною активністю. Розроблено технологічну схему одержання рідкого екстракту з трави агастахе фенхельного з гепатопротекторною та антиоксидантною активністю.

На основі отриманих результатів досліджень отримано патент України на корисну модель № 130906 від 26.12.2018 (Фітозасіб із гепатопротекторною активністю).

Розроблено проекти МКЯ «Агастахе фенхельного трава», «Ліпофільний екстракт агастахе фенхельного» та «Поліфенольний екстракт агастахе фенхельного». Розроблені методики контролю якості сировини та отриманих субстанцій апробовані в промислових умовах лабораторії фізико-хімічного контролю СУП ТОВ «Сперко», м. Вінниця та лабораторії фізико-хімічного контролю ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», м. Київ.

Результати досліджень впроваджено в навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри фармацевтичної хімії та кафедри фармакогнозії, фармацевтичної хімії і технології ліків Запорізького державного медичного університету, кафедри хімії природних сполук та кафедри фармакогнозії

Національного фармацевтичного університету, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Д. Галицького, кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця.

### **Особистий внесок здобувача**

Здобувачем особисто проведено інформаційно-патентний пошук та аналіз наукових першоджерел щодо хімічного складу, особливостей використання рослин роду *Agastache* в народній і науковій медицині; проведено вивчення якісного складу і кількісного вмісту БАР рослин роду *Agastache*; досліджено морфолого-анатомічну будову трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого та встановлено її основні діагностичні ознаки; розроблено технологічні схеми одержання ліпофільного екстракту та рідкого екстракту з трави агастахе фенхельного; проведено стандартизацію сировини агастахе фенхельного і отриманих екстрактів та розроблено проекти МКЯ «Агастахе фенхельного трава», «Ліпофільний екстракт агастахе фенхельного» та «Поліфенольний екстракт агастахе фенхельного»; проведено статистичну обробку отриманих експериментальних даних, оформлено всі розділи дисертаційної роботи. Дисертантом взято безпосередню участь в оформленні статей, тез доповідей та патенту України на корисну модель.

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з науковим керівником Коноваловою О. Ю. та науковцями, спільно з якими проведені дослідження – Геращенком І. І., Серединською Н. М., Середою П. І., Шураєвою Т. К., Меньшовою В. О., Калістою М. С., Щербаковою О. Ф., Гудзенко Н. В., Пушкарьовою Н. О., Гергель Є. М., Гергелем О. В., Гудзенком О. І., Омельковець Т. С., Ящук Б. О., Романюк А. О., Атякшевою Н. В., Михайловською О. А. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.



### **Апробація результатів дисертації**

Основні положення дисертаційної роботи були представлені та обговорені на VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: Тенденції та перспективи» (13-16 вересня 2016, Харків), на Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні теоретичні та практичні аспекти щодо стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» (28-29 жовтня 2016, Київ), на VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (10–11 листопада 2016, Тернопіль), на IV Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів і молодих учених «Інновації та перспективи сучасної медицини» ВІМСО 2017 (5-7 квітня 2017, Чернівці), на XXI Міжнародному конгресі студентів та молодих вчених присвяченому 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України (24-26 квітня 2017, Тернопіль), на I Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (5 квітня 2018, Харків), на XXII Міжнародному конгресі студентів та молодих вчених Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України (23-25 квітня 2018, Тернопіль), на II Всеукраїнській науковій конференції «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи» (16 травня 2018, Житомир), на Науковому форумі з міжнародною участю. Сучасні теоретико-практичні аспекти у розв'язанні послідовності реалізації впровадження «Стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» у первинну ланку охорони здоров'я (26 жовтня 2018, Київ), на III Міжнародній науково-практичній internet-конференції «Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин» (26-28 листопада 2018, Харків), на V Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (30-31 травня 2019 року, м. Тернопіль), на XII Національному медичному конгресі з міжнародною участю «Людина та ліки»

(27-28 березня 2019, Київ), на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку», присвяченій 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (19-20 вересня 2019, Харків).

### **Публікації**

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 24 наукові праці, з них 5 статей у наукових фахових виданнях, з яких 2 статті у закордонних виданнях, 1 патент України на корисну модель, 18 тез доповідей на науково-практичних конференціях та конгресах.

### **Обсяг та структура дисертації**

Дисертаційна робота викладена на 267 сторінках машинописного тексту, складається з переліку умовних позначень, вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 6 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 148 сторінок друкованого тексту. Роботу ілюстровано 45 таблицями, 27 рисунками. Список використаних джерел містить 255 найменувань, із них 144 кирилицею та 111 латиною.

РОЗДІЛ 1  
СУЧАСНИЙ СТАН ДОСЛІДЖЕНЬ ВИДІВ РОДУ *AGASTACHE*  
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Систематичне положення, морфологічна характеристика видів роду *Agastache*

Рід *Agastache* J.Clayton ex Gronov. належить до родини *Lamiaceae*, підродини *Nepetoideae* [1]. *Lamiaceae* – родина, що налічує понад 7200 видів та включає 7 підродин. Підродина *Nepetoideae* є однією з найбільш чітко визначених і характеризується високим вмістом ефірних олій, рослини є важливими джерелами сировини для харчової, ароматичної та фармацевтичної промисловості [2, 3].

За останніми систематичними даними до складу роду *Agastache* включають дві секції: *Agastache* (8 видів) та *Brittonastrum* (Briq.) Lint et Epling (14 видів) [4, 5], які чітко відрізняються між собою за особливістю розташування тичинок, а також розмірами листків та будовою суцвіть [6, 7]. Американські види секції *Agastache* відносять до помірно зволжених місцезростань і поширені вони на північному заході, у Центральних та Східних частинах Північної Америки; види секції *Brittonastrum* – тяжіють до посушливих місцезростань і розповсюджені у південно-західній частині Північної Америки, включаючи Мексику [6]. Однак один вид (*A. rugosa*) росте в Середній Азії, на Дальньому Сході.


Відповідно до таксономічної бази даних, яку веде Королівський ботанічний сад в Кью та штат Міссурі ([www.theplantlist.org](http://www.theplantlist.org), доступний 31 грудня 2013 р.), рід *Agastache* налічує 22 самостійних види [8, 9].




Рослини роду *Agastache* – багаторічні трав'янисті рослини, що досягають одного метра і більше заввишки. Стебла можуть бути простими або розгалуженими, прямими або злегка повзучими, а іноді і здерев'янілими. Листки супротивні, черешкові, стебло чотиригранне з численними трихомами,



квітки з рожевими, фіолетовими, білими, жовтуватими або помаранчевими віночками. Віночок трубчастий, двогубий, верхня губа двічі роздільна, нижня – тричі роздільна. Тичинки чотири, нерівні. Плід – ценобій: дробовий плід, що складається з чотирьох горішкоподібних кулястих плодиків, з одного кінця зазвичай волосистих [10]. Характеристика найбільш досліджених видів роду *Agastache* наведена в табл. 1.1.

Таблиця 1.1

Характеристика найбільш досліджених видів роду *Agastache*

Вид	Синоніми	Природний ареал	Морфологічні особливості		Посилання
			Колір віночка	Висота рослин, см	
1	2	3	4	5	6
• sect. <i>Agastache</i>					
<i>A. foeniculum</i> (Pursh) Kuntze 	<i>Lophanthus anisatus</i> (Nutt.) Benth., <i>Lophanthus foeniculum</i> (Pursh) E.Mey., <i>Vleckia anisata</i> (Nutt.) Raf. <i>Hyssopus anisatus</i> Nutt., <i>Hyssopus foeniculum</i> (Pursh) Spreng., <i>Stachys foeniculum</i> Pursh, Blue (giant) hyssop	Північні Великі рівнини, Західні Великі озера Північної Америки	Блакитний	50-70	[6, 9]

1	2	3	4	5	6
<p><i>A. nepetoides</i> (L.) Kuntze</p> 	<p>Yellow (giant) hyssop</p>	<p>Південна Нова Англія, Південні Великі озера, Басейн річки Огайо, Озарк</p>	<p>Зелену- вато- жовтий</p>	<p>100- 150</p>	<p>[6, 9]</p>
<p><i>A. rugosa</i> (Fisch. &amp; C.A. Mey.) Kuntze</p> 	<p><i>Lophanthus rugosus</i> Fisch. &amp; C.A.Mey.), <i>Cedronella japonica</i> Hassk., Korean mint, Wrinkled (giant) hyssop</p>	<p>Корея, Східний Китай, Японія, Маньчжурія та Далекий Схід</p>	<p>Пурпу- рово- блакит- ний</p>	<p>60- 110</p>	<p>[6, 9]</p>
<p><i>A. scrophularifolia</i> (Wilde) Kuntze</p> 	<p><i>Lophanthus scrophulariifolius</i> (Willd.) Benth., <i>Hyssopus scrophulariifolius</i> Willd., <i>Vleckia scrophularifolia</i> (Willd.) Raf.) Purple (giant) hyssop</p>	<p>Південна Нова Англія, Південь до Західної Південної Кароліни, Захід Північної Міссурі, Південна Міннесота</p>	<p>Блідо- рожево- фіоле- товий</p>	<p>150- 210</p>	<p>[6, 9]</p>

1	2	3	4	5	6
<i>A. urticifolia</i> (Benth.) Kuntze 	<i>Lophanthus urticifolius</i> Benth., <i>Vleckia urticifolia</i> (Benth.) Raf.), Nettle-leaf (giant) hyssop, horse nettle	Сьєрра-Невада, Східні каскади, Великий басейн, Північні скельні гори Північної Америки	Яскраво-фіолетовий і рожевий	120–200	[6, 9]
• sect. <i>Brittonastrum</i>					
<i>A. mexicana</i> (Kunth) Lint & Epling 	<i>Cedronella mexicana</i> (Kunth) Benth., <i>Brittonastrum mexicanum</i> (Kunth) Briq., <i>Dracocephalum mexicanum</i> Kunth, <i>Dekinia coccinea</i> Martens & Galeotti, Mexican (giant) hyssop	Куйцзино і Озумба, Мексика	Пурпурово-червоний	50–150	[3, 6, 9]

Серед основних діагностичних ознак для видів *A. foeniculum* та *A. urticifolia* вказуються: довжина зубців чашечки (1–2 мм у *A. foeniculum* та 1,7–5 мм у *A. urticifolia*); характер опушення нижньої поверхні листкових пластинок (густе, притиснуте біло-повстисте у *A. foeniculum* та відсутність або слабке опушення у *A. urticifolia*); кількість жилок чашечки (15 у *A. foeniculum* та 3 у *A. urticifolia*); колір віночка та розмір його трубки (блакитний, трубка 6,5–7,5 мм у *A. foeniculum* та від розувато-фіолетового до білуватого з трубкою 3–12 мм у *A. urticifolia*) [6, 11]. Ознака опушення листків з абаксiального боку є однією з ключових при діагностиці видів *A. foeniculum* та *A. urticifolia* [11]. Що є характерним і для досліджуваних нами видів в умовах України [12], тому варто

вказати, що основні діагностичні ознаки для видів *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, вирощених в Україні не відрізняються від таких в природному ареалі.

## 1.2 Поширення та вирощування видів роду *Agastache*

Переважає більшість видів роду *Agastache* у природному середовищі зустрічаються як багаторічні напівтрав'янисті чагарники висотою 1–2 м, що ростуть окремими групами в великому ареалі у Північній Америці, північній Мексиці і лише один вид *Agastache rugosa* росте в Середній Азії, Тибеті, Гімалаях, на Далекому Сході [10].

Батьківщиною *Agastache foeniculum* є Північна Америка. Природний ареал охоплює території Заходу США (від штату Вісконсин до штату Колорадо) та Канади (від Онтаріо до Британської Колумбії). Природні популяції *Agastache foeniculum* нечисленні, проте існують численні штучні насадження [10, 11].

Ареал розповсюдження *Agastache urticifolia* охоплює територію від сходу Вашингтона до Монтани, від півдня Колорадо і до заходу Каліфорнії [13], *A. urticifolia* зростає невеликими групами на трав'янистих, зрідка скелястих схилах, не вище 1500 метрів над рівнем моря, в низинах серед дерев, чагарників, переважно на відкритих незатінених ділянках з добре дренованими піщаними і супіщаними нейтральними ґрунтами [9].

За межами природного ареалу види роду *Agastache* вирощують у Середній Азії і на Далекому Сході, на Гавайських островах [9]. У Китаї і Японії, Мексиці, в Європі вид *A. foeniculum* введений в культуру. В Україні та Республіці Білорусь культивується недавно, добре росте на родючих і чистих від бур'янів ґрунтах [14].

Дослідження можливості вирощування видів *Agastache* в Україні є актуальним впродовж останніх десятиріч. Зокрема досліджено особливості онтоморфогенезу *A. rugosa* в умовах Ботанічного саду ім. акад. Фоміна [15, 16],

оцінено успішність впровадження видів *Agastache* в культуру [17], вивчено біологічні особливості інтродуцента *A. foeniculum* в умовах ботанічного саду ЖНАЕУ [18, 19], вивчено біоморфологічні признаки зразків *A. foeniculum* та *A. rugosa* та виявлено їх адаптаційну мінливість та здатність видів швидко пристосовуватись до змін екологічних факторів [20], досліджено особливості росту і розвитку *A. foeniculum* при інтродукції в Кременецькому ботанічному саду [21], досліджено урожайність та вихід ефірної *A. foeniculum* під впливом мінеральних та органічних добрив [14, 22, 23].

Досліджено умови впровадження в культуру *A. rugosa* та *A. urticifolia* в Польщі, зокрема як медоносні рослини [24, 25, 26], досліджено умови культивування *A. foeniculum* в Трансильванській рівнині в Румунії [27, 28], досліджено показники, що є визначальними при інтродукції видів *Agastache* в Республіку Білорусь [29, 30], вивчено біологічні особливості видів роду *Agastache* в умовах вирощування на території середнього Уралу [31, 32] та Ставропольського краю [33].

Особлива увага приділяється способам розмноження видів *Agastache*. Основними з яких є: поділ дорослих рослин на частини з власними коренями і пагонами, вкорінення стеблових живців, розсадою, насіннєве розмноження та висаджування на нові місця [20, 31]. Вирощування видів *Agastache* в умовах України не потребує особливих умов. При вирощуванні в умовах нашого клімату рослини досягають 1-1,5 м заввишки, утворюють 4-5 пагонів, на кожному з яких утворюються 8-10 колосоподібних суцвіть [15, 22, 23].

### 1.3 Сучасний стан дослідження біологічно активних речовин рослин роду *Agastache*

З-поміж видів роду *Agastache* найбільш фітохімічно дослідженими є лише *A. foeniculum* та *A. rugosa* [9, 34]. Комплексні фармакогностичні дослідження інших видів залишаються актуальними.



Згідно сучасних фітохімічних досліджень, сировина видів *Agastache* багата на БАР, такі як дубильні речовини; органічні кислоти, фенольні сполуки, амінокислоти, мінеральні елементи [35].

Фітохімічний профіль усіх досліджених на сьогодні видів *Agastache*, в більшості досліджень, подібний. Більшість опублікованих досліджень висвітлюють дані щодо аналізу фенольних сполук, а також дослідження ефірної олії [9, 36].

В залежності від домінуючого компонента ефірної олії виділяють п'ять хемотипів *Agastache*, які базуються на аналізі зразків різного географічного походження, культивованих в подібних умовах: 1-й тип естраголовий (найпоширеніший), 2-й – ментоновий, 3-й – ментоно-пулегоновий, 4-й – метилевгенольний, 5-й – метилевгенольно-лімоненовий [9].

Дослідженнями Дмитрієва Л. Б. зі співавторами виявлено, що у рослин з анісовим ароматом основним компонентом ефірної олії є фенол метілхавікол, а рослини з м'ятним ароматом відносяться до ізоментон-пулегонового хемотипу [35]. Біохімічна специфіка компонентів ефірної олії агастахе пов'язана з біосинтезом терпеноїдів групи ментону. Вихідним сполуками групи ментону є піперитенон, з якого на першій стадії відновлення утворюються пулегон і піперитон. Подальше відновлення призводить до утворення ментону та ізоментону, причому з піперітону формується ментон, а пулегону – ізоментон. Можна припустити, що в умовах сушіння в ефірній олії мають місце взаємоперетворення компонентів [35].

Леткі сполуки синтезуються і накопичуються в залозистих трихомах, локалізованих у криптах на поверхні листків рослин роду *Agastache*, що є характерною ознакою для *Nepetoideae*. Залежно від виду *Agastache* та частини рослини, кількісний вміст ефірної олії варіює в межах 0,5–2%; так, для *A. foeniculum* він становить до 3%, для *A. mexicana* – до 1,45%, для *A. rugosa* – до 2,73%, для *A. scrophulariifolia* – до 0,99%, для *A. urticifolia* – до 0,89% [9].

Вміст ефірної олії в траві різних видів *Agastache* залежить від часу збору сировини, а також від умов середовища або методів вирощування [37 - 41]. Встановлено, що найвищий вихід ефірної олії з *A. mexicana* та *A. rugosa* був на початку цвітіння, тоді як з *A. foeniculum* – під час масового цвітіння [43].

Час посіву також є важливим чинником, що впливає на кількість та якість ефірної олії, отриманої з *A. foeniculum*. Ранній посів (березень) призводив до збільшення врожайності порівняно з пізнім посівом рослин (травень-липень) [39].

Згідно даних [41, 43] *A. rugosa* і *A. scrophulariifolia* дають високий вихід ефірної олії за умов прохолодної чи помірної температури повітря влітку. Тоді як, *A. foeniculum* та *A. urticifolia* краще розвиваються та максимально продукують ефірну олію в умовах підвищеної температури повітря. Також зазначено, що *A. foeniculum*, *A. mexicana*, *A. rugosa*, *A. scrophulariifolia* і *A. urticifolia* містять значно більше ефірної олії протягом фази цвітіння, ніж під час фази вегетації та знижується до кінця вегетації [41], що підтверджене [44].

Згідно досліджень Чумакової В.В. встановлено, що компонентний склад ефірної олії трави лофанта анісового змінюється при переході від свіжозібраної до висушеної сировини. Домінуючими компонентами ефірної олії є пулегон і ментон [35].

Естрагол (син: метилхавікол, п-аліланізол, 4-метоксиаллібензол), як правило, є найбільш поширеною складовою частиною (від 18,6% до 98%) ефірної олії *A. rugosa*, *A. mexicana*, *A. foeniculum*, *A. scrophulariifolia* та саме він надає рослинам характерний анісовий аромат [13, 39, 41, 45, 46]. Проте у рослин, що вирощували в Японії [45], Китаї [47] та Кореї [48] мажоритарним компонентом був метилевгенол. У зразках *A. rugosa* із Західного Китаю [49, 50] переважаючим компонентом ефірної олії є ізоментон. Естрагол не виявлено в ефірній олії *A. mexicana* та *A. scrophulariifolia*, проте відмічено високий вміст пулегону [41, 51].

У порівняльному аналізі 15-ти популяцій *A. foeniculum* відмічено взаємозв'язок між вмістом естраголу та виходом ефірної олії з надземної

частини рослин. Зокрема рослини з низьким вмістом естраголу мали високий вміст сесквітерпеноїду спатуленолу [46] та мали помітно менший вміст ефірної олії (0,07-0,36%), ніж ті, в яких кількість естраголу була значно більшою (0,80 – 2,45%).

Одним з монотерпеноїдів, який міститься у різних видах *Agastache*, є пулегон. Є дані що, його вміст в ефірній олії *A. rugosa* від 13,4 до 50,8% [41, 52, 53], у *A. foeniculum* – 22,6%, у *A. scrophulariifolia* – 45,2% [41], у *A. mexicana* subsp. *xolocotziana* – 80%, проте не виявлено у *A. mexicana* subsp. *mexicana* [51].

Також у складі ефірної олії *Agastache* присутні монотерпени (d-лімонен,  $\alpha$ -пінен,  $\beta$ -пінен,  $\gamma$ -терпінен,  $\alpha$ -терпінеол, ліналоол, тимол, ментофуран) та сесквітерпени ( $\beta$ -каріофілен, карвакрол, гермакрен В, гермакрен D) [9, 40, 45, 46, 47, 52, 54, 55, 56, 57, 58]. В ефірній олії *A. rugosa*, отриманій методом гідродистиляції, було ідентифіковано кілька сесквітерпеноїдів, раніше неідентифікованих в цьому роді, – еліксен,  $\gamma$ -мууролен, вірідіфлор,  $\tau$ -мууролол [47].

Цінністю сировини *A. foeniculum* є наявність у складі цієї рослини флавоноїдів – до 6,9% на суху вагу листя [59]. Крім того, листя *A. foeniculum* містять кофеїн до 0,06%, фенольні сполуки до 11,6% на суху вагу листя, аскорбінову кислоту 4,67 % [60, 61]. За даними [9] похідні кофейної кислоти, особливо розмаринова кислота, а також декілька флавононів та їх глікозидів, таких як акацетин, тиліанін, агастахозид та рідкісний димерний малонілфлавонон (агастацин), є найбільш поширеними сполуками поліфенольної природи у різних видах *Agastache*. Інші флавоноїди, виявлені в сировині *Agastache*, належали, в основному, до різних підкласів аглікононів, таких як апігенін, сальвігенін, кемферол та кверцетин. Також були виділені два унікальні лігнани – агастенол і агастінол [62, 63].

З літературних джерел відомо, що в листі, стеблах та суцвіттях *Agastache* містяться лютеолін-7-О-глюкозид, апігенін-7-О-глюкозид, акацетин, акцетин-7-О-глюкозид, диосметин-7-О-глюкозид [64]. Акацетин, тиліанін, агастахозид були виділені з сировини *A. rugosa* [65, 66].

Крім того, в надземній частині *A. rugosa* були ідентифіковані: лінарин (7-О-рутинозид акацетину) та агастахозид [66] та було виділено акацетин (285 мг з 1 кг трави), тиліанін (46 мг), ізоагастахозид (210 мг) та агастацин (19 мг) [65].

Досліджено вміст флавоноїдів в сировині *A. rugosa*, *A. mexicana* та *A. foeniculum* в процесі онтогенезу. Високий вміст флавоноїдів (апігенін, кверцетин) спостерігався на початку періоду цвітіння та під час масового цвітіння, тоді як їх концентрація знижувалась з моменту початку відмирання. Найбільша кількість апігеніну (1,62 мг/г) була встановлена в сировині *A. foeniculum* і найменша (0,17 мг/г) – у *A. rugosa* на початку цвітіння. Під час масового цвітіння також відмічено значний вміст кверцетину (1,97 мг/г) у *A. foeniculum*. Проте зазначено, що вміст сумарних гідроксикоричних кислот не залежить від стадії розвитку рослин [9, 42].

Досліджено вміст фенольних кислот у сировині *A. rugosa*, зокрема розмаринової кислоти, найбільший її вміст було виявлено в квітках – 48,43 мкг/г повітряно-сухої сировини, у коренях – 30,97 мкг/г, у листі – 22,14 мкг/г, а найменший вміст було зареєстровано у стеблах – 9,14 мкг/г [67].

Методом ТШХ з денситометрією було досліджено вміст розмаринової та кофейної кислот у 96 таксонах *Lamiaceae*, включаючи три види *Agastache*. Рівень розмаринової кислоти був у чотири рази вище, ніж кофейної кислоти у всіх трьох видах, і становив: *A. mexicana* – 0.64 та 0.15 мг/г, *A. urticifolia* – 0.30 та 0,05 мг/г і у *A. foeniculum* – 0,27 та 0,06 мг/г розмаринової та кофейної кислот, відповідно [68].

В роботі [62] є дані про вміст у надземній частині *A. rugosa* лігнанів агастінолу та агастенолу. Агастенон являє собою 4-(гідрокси-3-метоксибензиліден)-2-(4-гідрокси-3-метоксифеніл) тетрагідрофуран-3-іл-метиловий естер (7'R, 8S)-4-гідроксибензойної кислоти, тоді як агастінол є похідним з насиченим зв'язком між атомами вуглецю 7 та 8-(8S, 7'R, 8S)-4-гідроксибензойної кислоти 4-(4-гідрокси-3-метоксибензил)-2-(4-гідрокси-3-метоксифеніл) тетрагідрофуран-3-іл-метиловий ефір.

З коренів *A. rugosa* виділено та ідентифіковано кілька нових дитерпеноїдів, таких як агастахінон [62] та агастол, дегідроагастол, ізоагастол, агастанон і метилагастанол [69]. В коренях *A. rugosa* також містяться декілька пентациклічних карбоксильованих та гідроксильованих тритерпеноїдів олеананового типу – олеанолова кислота, маслинова кислота, 3-О-ацетилолеаноловий альдегід, урсанового типу – корозольна кислота та стерини –  $\beta$ -ситостерол і даукостерол. В надземній частині *A. foeniculum* містяться  $\beta$ -амірин,  $\alpha$ -амірин та деякі стерини та станоли – ситостерол, кампестерон, кампестанол, стигмастерол, стигмастанол [69, 70].

За даними [71] урсолева кислота також міститься в сировині *A. mexicana* в кількості 0,33%.

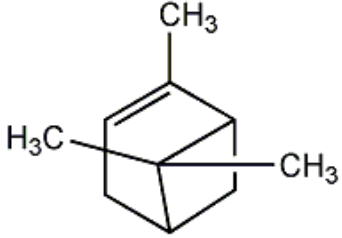
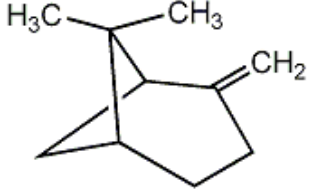
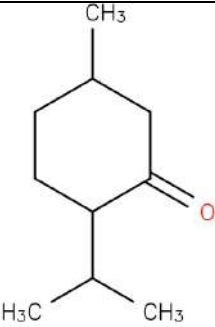
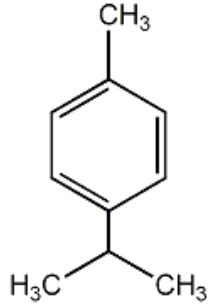
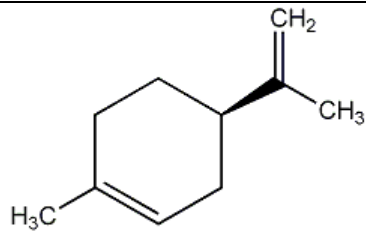
Досліджувалась олія з насіння *A. rugosa* на вміст жирних кислот, встановлено, що вміст ненасичених жирних кислот становить 91% від загальної кількості жирних кислот, з яких 52% припадає на ліноленову кислоту (C18:3), 27,5% – на лінолеву кислоту (C18:2) та 11,5% – на олеїнову кислоту (C18:1) [72].

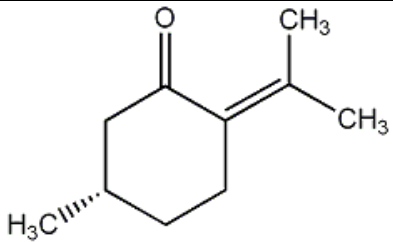
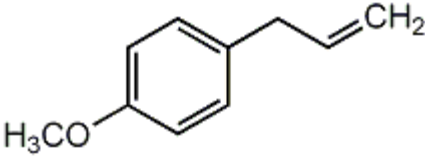
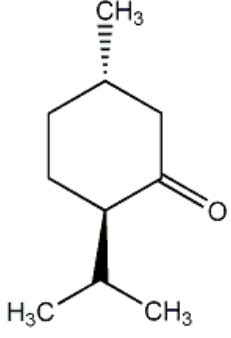
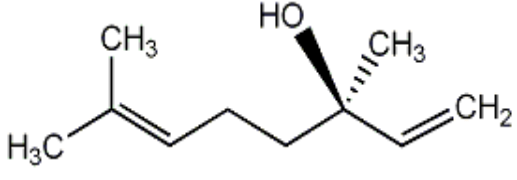
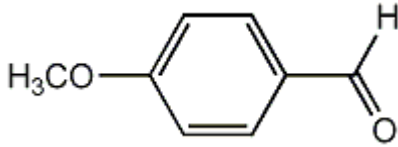
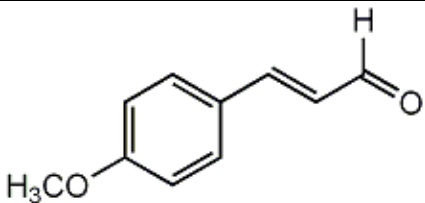
В сировині *A. rugosa* та *A. foeniculum* також присутні каротиноїди, кількісний аналіз яких проводили за допомогою ВЕРХ. Найбільший вміст становить  $\beta$ -каротин 499,2 мкг/г та 260,9 мкг/г, дещо менший вміст лютеїну – 277,1 мкг/г та 189,7 мкг/г відповідно та залишкові кількості зеаксантину, віолаксантину та антраксантину [73].

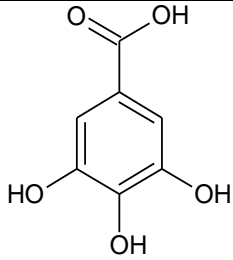
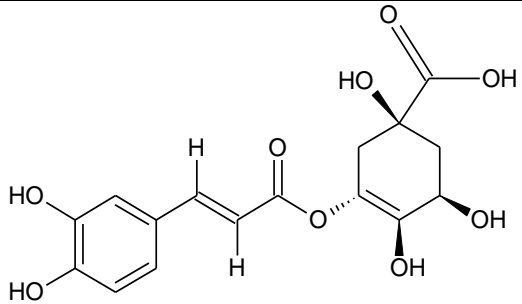
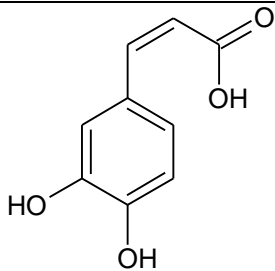
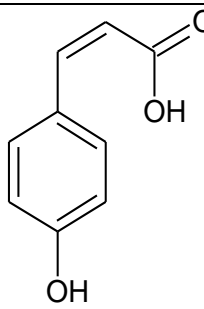
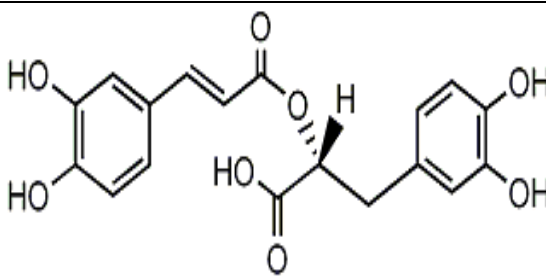
Встановлено наявність у листі агастахе анісового мінеральних речовин: 2,75% К, 0,46% Са, 0,463 % Mg, 250,62 мг/кг Fe, 66,55 мг/кг Zn, 38,1 мг/кг Mn, 16,1 мг/кг Cu, а також амінокислот.

Основні біологічно активні речовини видів *Agastache* представлені у табл. 1.2.

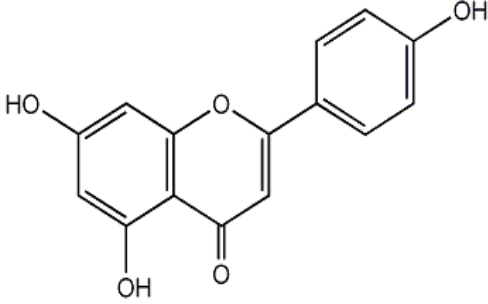
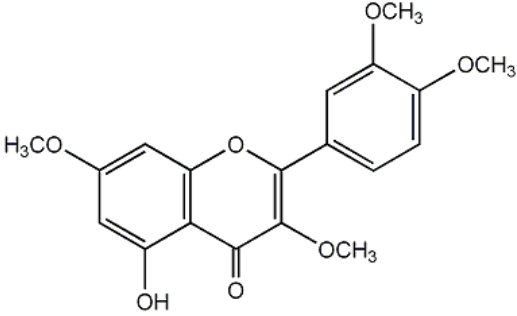
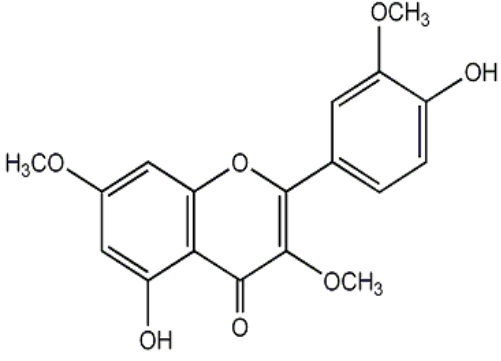
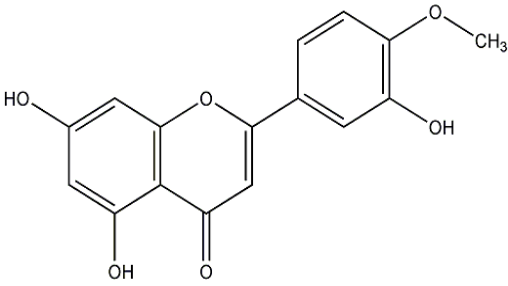
Хімічний склад БАР представників роду *Agastache*

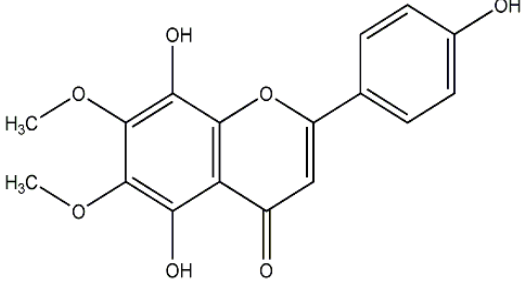
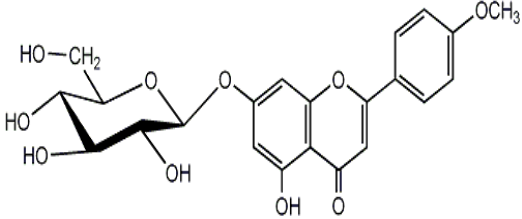
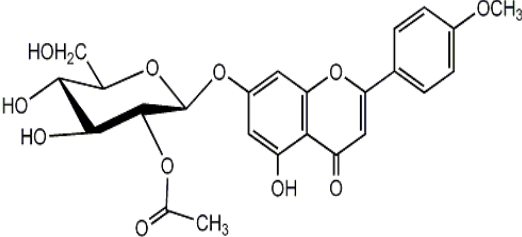
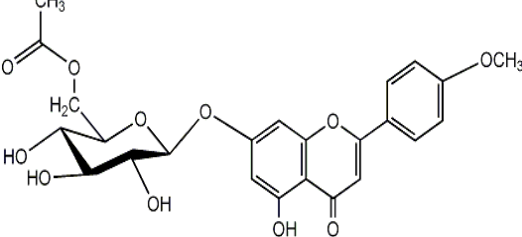
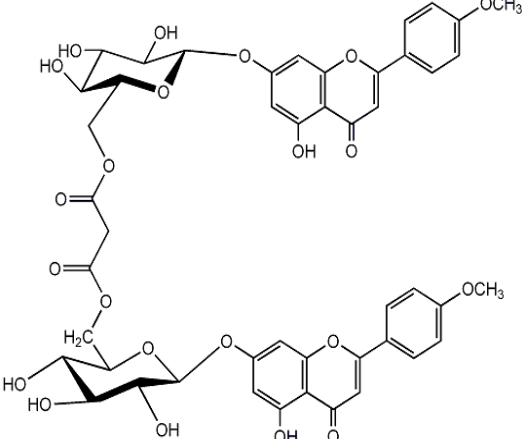
Назва речовини	Хімічна формула	Вид агастахе	Джерело літератури
1	2	3	4
<i>Ефірна олія</i>			
$\alpha$ -пінен		<i>Agastache rugosa</i>	9, 40, 45 - 47
$\beta$ -пінен		<i>Agastache rugosa</i>	9, 40, 45 - 47
<i>n</i> -Ментан-3-он, Ізоментон		<i>Agastache rugosa</i>	9, 35, 36, 49, 50
<i>n</i> -цимен		<i>Agastache rugosa</i>	36
(+)-S-Карвон D-Лімонен		<i>Agastache rugosa</i>	9, 36

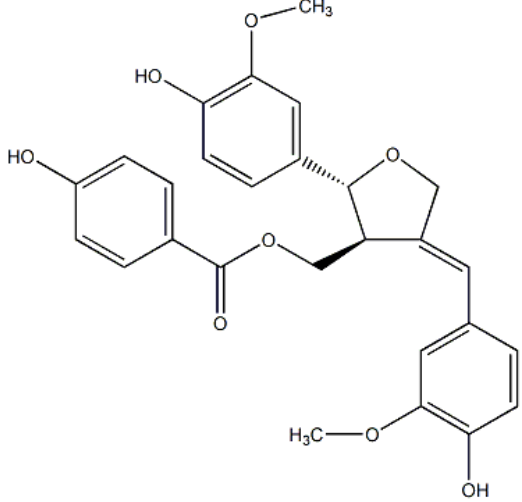
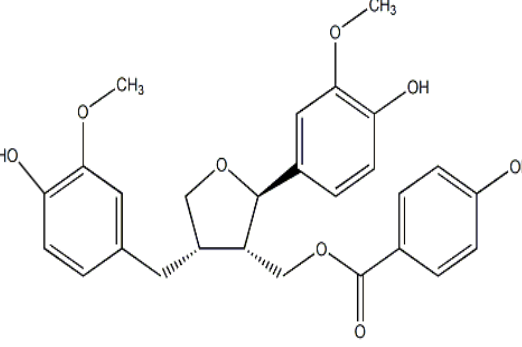
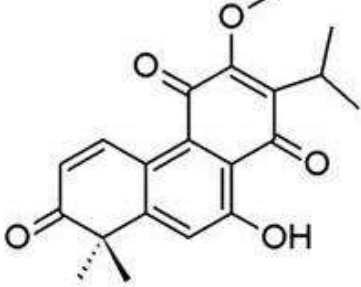
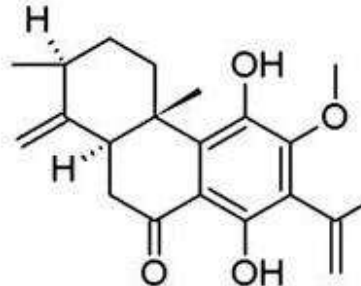
1	2	3	4
S-(-)- Пулегон		<i>Agastache formosanum</i>	9, 35, 36, 41, 51
Естрагол		<i>Agastache foeniculum</i> , <i>Agastaches rugosa</i>	9, 13, 35, 36
Ментон		<i>Agastache foeniculum</i>	9, 35, 36
Ліналоол		<i>Agastache rugosa</i>	36
<i>Фенілпропаноїди</i>			
Анісовий альдегід, 4-метокси- бензальдегід		<i>Agastache rugosa</i>	7, 9
4-метокси- коричний альдегід		<i>Agastache rugosa</i>	7, 9

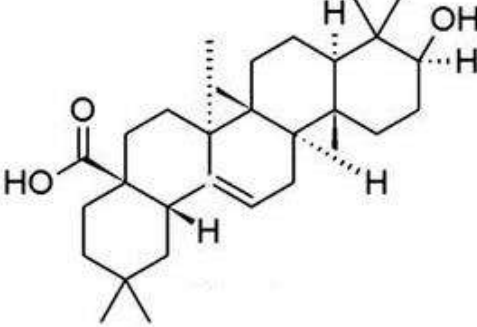
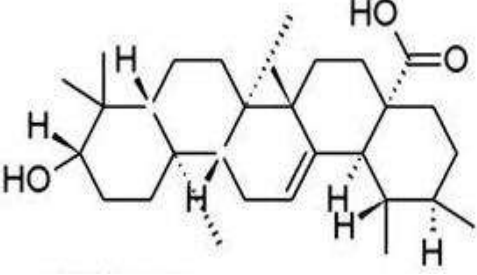
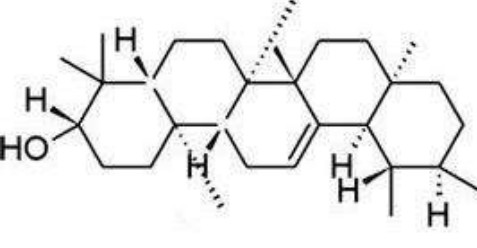
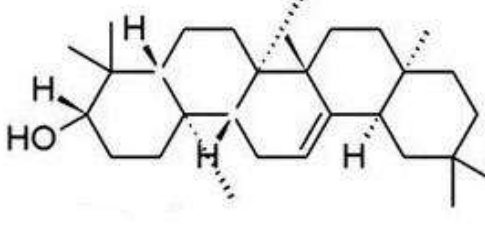
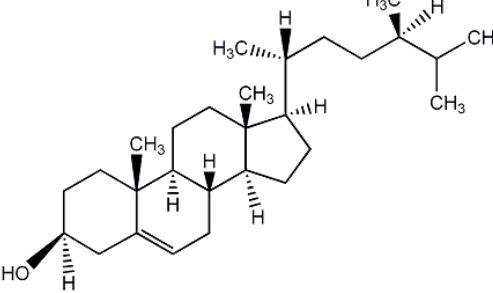
1	2	3	4
Галова кислота		<i>Agastache foeniculum</i>	35
<i>Гідроксикоричні кислоти</i>			
Хлорогенова кислота		<i>Agastache foeniculum</i>	35
Кофейна кислота		<i>Agastache foeniculum</i>	9, 35, 68
<i>n</i> -кумарова кислота		<i>Agastache foeniculum</i>	35
Розмаринова кислота		<i>Agastache foeniculum, Agastache rugosa</i>	9, 35, 67, 68

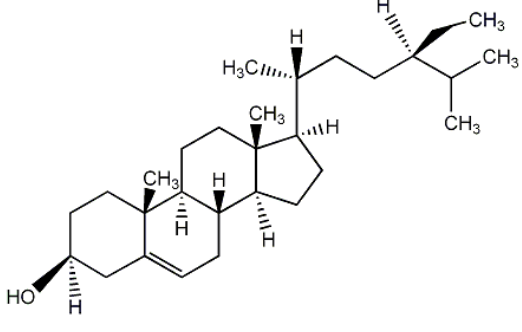
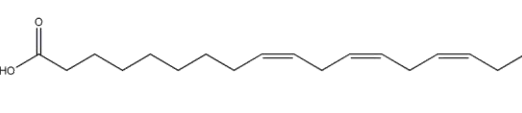


1	2	3	4
<i>Флавоноїди</i>			
Апігенін		<i>Agastache foeniculum</i> , <i>Agastache rugosa</i>	9, 35, 42
Кверцетин 3,7,3',4'- тетраметил етер Ретузин 5-гідрокси- 3,7,3',4'- тетраметок- сифлаво- н		<i>Agastache rugosa</i>	9, 35, 42
Пахідол, 5,4'- дигідрокси- 3,7,3'- триметокси- флаво- н		<i>Agastache rugosa</i>	66
Діосметин, 5,7,3'- тригідрокси- 4'-метокси- флаво- н		<i>Agastache aurantiaca</i>	66

1	2	3	4
Ізотимузин		<i>Agastache barberi</i>	66
Тіліанін, Акацетин-7- О-глюкозид		<i>Agastache rugosa</i> , <i>Agastache mexicana</i>	9, 65 - 67
Ізоагаста- хозид, Акацетин-7- (2''-ацетил- глюкозид)		<i>Agastache rugosa</i>	9, 64 - 66
Акацетин-7- (6''-ацетил- глюкозид)		<i>Agastache rugosa</i>	9, 64 - 66
Ди-6''- (акацетин-7- глюкозил)- малонат		<i>Agastache rugosa</i>	9, 64 - 66

1	2	3	4
<i>Лігнани</i>			
Агастенол		<i>Agastache rugosa</i>	62, 63
Агастінол		<i>Agastache rugosa</i>	62, 63
<i>Нелеткі терпеноїди та стерини</i>			
Агастахінон		<i>Agastache rugosa</i>	62
Дегідро-агастол		<i>Agastache rugosa</i>	69

1	2	3	4
Олеанолова кислота		<i>Agastache rugosa</i>	71
Урсолева кислота		<i>Agastache rugosa</i>	71
α-Амірин		<i>Agastache rugosa</i>	69, 70
β-Амірин		<i>Agastache rugosa</i>	69, 70
Кампестерол		<i>Agastache rugosa</i>	69, 70

1	2	3	4
Ситостерол		<i>Agastache rugosa</i>	69, 70
<i>Жирні кислоти</i>			
α-Ліноленова кислота		<i>Agastache rugosa</i>	72

Таким чином, аналіз літературних джерел показав, що види роду Агастахе містять різні групи біологічно активних речовин, зокрема флавоноїди, органічні, фенолкарбонів та жирні кислоти, каротиноїди, вітаміни. Серед рослин роду Агастахе найбільш широко дослідженим видом є *A. rugosa*, інші об'єкти вивчені значно менше, однак не поступаються йому за різноманітністю хімічного складу і є перспективними для подальших фітохімічних досліджень.

#### 1.4 Застосування в медицині представників роду *Agastache*

*A. rugosa* є найбільш вивченим об'єктом щодо фармакологічної дії як у моделях *in vitro*, так і на тваринах, цей вид використовується у китайській, корейській та японській медицині. Зокрема існує низка препаратів, до складу яких входить *A. rugosa*. Наприклад, Гань-лу-сяо-ду-дан, що використовується при хронічному гепатиті [78], корейський Сопонгсан «Sopoongsan», що проявляє протизапальну, антимікробну, протиалергічну та протипухлинну дію [79] та складається з екстрактів із різних видів рослин (містить інших 9 цінних рослин, крім *A. rugosa*, а також один вид грибів та один вид комах).

Ще один приклад китайського лікарського засобу, що містить екстракт *A. rugosa*, – це Qiwei Baizhu Powder (QWBZP) [80]. Цей рослинний препарат ефективний проти інфекції ротавірусу людини (HRV) та вивчався в досліджах на мишах у порівнянні зі стандартним противірусним препаратом Рибавірин. У Таїланді одним з лікарських препаратів нетрадиційної медицини, що містить *A. rugosa*, є Я-гом «Ya-hom». Здатність цього засобу пригнічувати секрецію соляної кислоти та пепсину та підвищувати секрецію слизової шлунку була підтверджена на щурах [81].

*A. rugosa* є одним із 50 рослинних компонентів препарату huò xiāng, що володіє протигрибковою, антибактеріальною та жарознижуючою дією [82].

*A. mexicana* використовується в мексиканській народній медицині для лікування гіпертонії, стресу та тривожності [83, 84]. Інші північноамериканські види також використовуються як фітопрепарати та продукти харчування. Їх використання корінними американцями було узагальнено та описано в огляді [64], а саме: використання надземної частини та коренів *A. foeniculum* в якості засобів проти кашлю, лихоманки та серцевих захворювань, а також зовні – при лікуванні опіків. Крім того, листя *A. nepetoides* використовуються індіанцями зовні для лікування опіків від отруйного плюща і свербіжу. В штаті Невада *A. urticifolia* застосовують проти набряків, розладів шлунка та простудних захворювань, у Навахо *A. pallidiflora* застосовується для лікування кашлю та лихоманки, корені *A. scrophulariifolia* використовуються в регіоні Месквакі як сечогінний відвар [13].

За даними літератури, антимікробна активність притаманна ефірній олії різних видів *Agastache* [85, 86, 87]. Естрагол, виділений з *A. rugosa* у вигляді індивідуальної сполуки, був більш ефективним проти патогенних грибів, ніж ефірна олія отримана з рослини. Протигрибкова активність естраголу була доведена проти пліснявих грибів роду Аспергіл, Триходерма та Кандида [88, 89]. В роботі [86] зазначено, що естрагол, який є домінуючим компонентом ефірної олії видів *Agastache* в комбінації з кетоконазолом показав достовірний значний синергізм проти *C. albicans* та *C. utilis*. На відміну від цього,

амфотерицин В показав антагонізм у комбінації з естраголом у більшості досліджень.

Ефірна олія *A. foeniculum*, випробувана на *Aspergillus sp.* і *Fusarium solani*, проявила значно слабшу антимікробну дію, ніж *Thymus kotschyanus* та *Satureja hortensis* [90].

Противірусну активність проти респіраторно-синцитиального вірусу людини проявляє 4-метоксикоричний альдегід, що є складовою ефірної олії *A. rugosa* [91].

За даними [92, 93] з листя *A. rugosa* японською дочірньою компанією Roche була виділена сполука під кодовою назвою Ro-09-0179, що має ефективну антипідкорнавірусну активність. З хімічної точки зору, це 4'-5-дигідрокси-3,3',7-триметоксифлавонол, відомий як пахіподол – 3-О-метиловий ефір кверцетину. Цей високоліпофільний флавонол селективно інгібує декілька патогенних РНК-вірусів людини, таких як риновірус, віруси Коксакі та вірус поліомієліту, діючи на реплікацію РНК вірусної (при середній MIC<sub>90</sub> = 0,3 мкг/мл), він спеціально орієнтований на комплекс Гольджі та гальмує процеси, пов'язані з ретроградним транспортом.

Повідомляється, що ефірна олія з квіток *A. rugosa* проявляє антимуутагенну активність, залежно від дози, що було протестовано в клітинах яєчника китайського хом'ячка AS52. Чиста ефірна олія була більш активною (14, 68 та 75% інгібування мутагенності при концентраціях 0,2, 0,6 та 1,0 г/л відповідно), порівняно з трьома окремими компонентами (естрагол – 11, 16 і 38%, лімонен – 21, 30 і 43%; анісовий альдегід – 8, 49 і 63%) [94]. У цьому ж дослідженні спостерігалось значне гальмування зростання клітинної лінії раку, а також швидке збільшення проліферації клітин Т і В лімфоцитів ефірною олією, що не спостерігалось в жодному зі зразків окремих компонентів. За результатами цих досліджень можна зробити висновок, що існує синергія між трьома компонентами ефірної олії *A. rugosa*, а також іншими більш активними сполуками.

Цитотоксичний ефект був зареєстрований у агастахінону – нелеткого дитерпеноїду, отриманого з коренів *A. rugosa*, щодо кількох ракових ліній (легенів, яєчників, меланоми, ЦНС та раку товстої кишки) [95].

В іншому дослідженні *in vitro* *A. rugosa* покращує антиоксидантний маркер, де стандартною лінією моноцитів/макрофагів є RAW264.7 [96].

Деякі дослідження проводились з використанням тиліаніну, який часто розглядається як основна біологічно активна сполука, особливо у двох з найпопулярніших видів – *A. rugosa* та *A. mexicana* [96, 97, 98], згідно яких він проявляє антиоксидантну та антигіпертензивну дію. І тиланін, і екстракт *A. rugosa* позитивно вплинули на ранні стадії патофізіології атеросклерозу [99]. У досліджах на мишах з високим вмістом холестерину додавання 1% метанольного екстракту *A. rugosa* зменшило загальний рівень холестерину в плазмі крові (від 1065 мг/дл до 986 мг/дл).

Антигіпертензивні властивості *A. mexicana*, що використовуються в народній фітотерапії в Мексиці, також приписуються вмісту тиліаніну [97]. Проте загальну ефективність використання *A. mexicana* як антигіпертензивного засобу можна оскаржити, як це показало в дослідженні [83]. З семи рослин, що викликали релаксацію, екстракт *A. mexicana* показав майже найнижчий результат. Цей результат підтверджує попередні дані, які опубліковані раніше, де водні екстракти містили дуже мало тиліаніну. Таким чином, найпопулярніший спосіб приготування трав'яного чаю з сировини агастахе навряд чи буде ефективним проти серцево-судинних захворювань [13].

Екстракти *A. mexicana* subsp. *xolocotziana* показали антиноцицептивну активність в дослідженні на щурах та мишах [84, 100]. Пулегон, що є компонентом ефірної олії *A. rugosa*, також демонструє антиноцицептивну активність проти теплових та хімічно індукованих болях у мишей, а також пригнічує протисудомні ефекти [101]. Проте невідомо, якими є клітинні механізми такої активності, можливо, схожість хімічної структури з ментолом, який широко використовується при запальних процесах та больових симптомах



в якості подразнювача больових рецепторів, свідчить про перспективність подальших досліджень ефірної олії агастахе [102].

Водний екстракт листя *A. mexicana* демонструє антидепресантоподібну активність [103]. Результати трьох різних тестів виявили анксиогенний ефект екстракту *A. mexicana*, а не анксиолітичну активність.

В народній медицині настої з агастахе застосовують для лікування гострих вірусних респіраторних захворювань, захворювань ВДШ у дітей та осіб похилого віку. Також настоями лікують порушення роботи підшлункової залози, печінки, передміхурової залози. Настій стимулює травлення, посилює апетит, застосовується при застійних явищах в жовчного міхура та жовчовивідних шляхів. Всю наземну частину агастахе використовують у тибетській медицині при лікуванні розладів шлунку, гепатитах [104].

В монгольській медицині спиртові настої *A. rugosa* використовують для нормалізації обміну речовин, а також при тремтінні кінцівок, паралічі лицьового нерва [105, 106].

Крім того, препарати з рослин роду агастахе ефективні при гінекологічних захворюваннях, вони відновлюють сили після пологів і стимулюють молокоутворення у годуючих жінок. Споживання в їжу молодих листків *A. rugosa* сприяє ефективному лікуванню простатиту [107, 108].

Свіже або сушене листя використовують для лікувально-оздоровчих ванн, які призначають при ревматизмі, невралгії та шкірних захворюваннях, наприклад, себореї. Настій агастахе корисно додавати під час купання немовлят. Препарати з агастахе зміцнюють коріння волосся і стимулюють його ріст, зберігають молодість шкіри, розгладжуючи зморшки, забезпечуючи шкірі гладкість і пружність [109, 110].

Використовуються свіжі молоді листки рослин агастахе і в кулінарії, додаючи їх у салати, а насіння а. фенхельного застосовують при консервуванні овочів та як приправу до м'ясних і рибних страв, листям і суцвіттями ароматизують чай.

Ефірна олія агастахе використовується для санації повітря, а гілки додають до віників, що застосовують у лазнях [108, 111].

Ефірна олія, яку добувають з рослин видів агастахе, застосовується в харчовій, консервній, парфюмерно-косметичній промисловостях і миловарінні.

Рослини роду *Agastache* використовуються як декоративні рослини – існують різноманітні сорти агастахе, які отримали популярність завдяки здатності цвісти з середини літа і до глибокої осені та приємному аромату. Крім того, ці рослини – чудові медоноси, за продуктивністю меду не поступається білій акації та липі, маючи навіть деяку перевагу в тому, що агастахе квітнуть з травня по вересень [61, 112, 113].

Отже, на основі критичного аналізу наукових першоджерел встановлено, що у таких видах роду *Agastache*, як *A. rugosa*, *A. foeniculum*, *A. mexicana*, найбільш дослідженими є флавоноїди, фенолкарбонові та жирні кислоти, каротиноїди, ефірна олія. Проте комплексні дослідження БАР рослин роду *Agastache*, які зростають в Україні, не здійснювались.

Аналіз досліджень анатомо-морфологічних ознак видів роду *Agastache* свідчить про їх варіабельність в межах природнього та культигенного ареалів. Тому важливим для визначення систематичної приналежності є встановлення видоспецифічних ознак будови сировинних органів роду *Agastache*, які вирощуються в Україні.

Дані, отримані в результаті проведеного аналізу літературних першоджерел стали теоретичним підґрунтям для вибору найбільш перспективних видів роду *Agastache* - агастахе фенхельного (*A. foeniculum*) та агастахе кропиволистого (*A. urticifolia*), для комплексного фармакогностичного вивчення з метою створення нових лікарських засобів на їх основі. Адже широкий спектр фармакологічної активності БАР видів роду *Agastache* дозволяє вважати їх цінними сировинними видами в Україні, а розмноження та вирощування не потребує значних затрат.

## РОЗДІЛ 2

### ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Об'єкти дослідження, прилади, методи і реактиви

Об'єктами досліджень була трава агастахе фенхельного (*Agastache foeniculum* (Pursch) Kuntze) та агастахе кропиволистого (*Agastache urticifolia* (Benth.) Kuntze), інтродукованих на дослідних ділянках Ботанічного саду ім. акад. О. В. Фоміна в м. Київ.

В якості сировини для досліджень заготовляли надземну частину рослин у фазу РВО (травень), у фазу повного цвітіння (з червня до середини липня) у 2016 – 2018 роках на дослідних ділянках Ботанічного саду ім. акад. О. В. Фоміна в м. Київ.

Ідентифікацію та макроскопічне дослідження сировини проводили за допомогою лупи, бінокюляру та неозброєним оком за консультативною допомогою к.б.н., с.н.с. Ботанічного саду ім. акад. О. В. Фоміна ННЦ «Інститут біології» Національного університету ім. Тараса Шевченка (м. Київ) Меньшової В. О. Звертали увагу на ступінь та характер опушення рослини; форму стебла та листя; тип суцвіття; колір та будову квітки; визначали смак і запах сировини.

Мікроскопічне дослідження листків, черешків, стебел різновікових особин *A. foeniculum* та *A. urticifolia* ювенільної та генеративної стадій онтогенетичного розвитку проводили за допомогою мікроскопа XSP-146TR та програми Image J (Wayne Rasband (NIH) [114]. Фотографії зроблені за допомогою цифрової камери Canon Power Shot A630. Матеріал фіксували в FAA (формалін: льодяна оцтова кислота: 70% етиловий спирт (5:5:90) та заливали в желатин [115]. За допомогою заморожуючого мікротома виготовляли поперечні зрізи товщиною 10 мкм, які забарвлювали сафраніном. Додатково листки мацерували для детального вивчення адаксіальної та абаксіальної епідерми листка (40 мл H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 40 мл льодяна оцтова кислота + 20 мл H<sub>2</sub>O). Для опису епідерми листкової пластинки використовували методики

[116, 117]. Продиховий індекс (ПІ) визначали за формулою  $ПІ = КП / (КП + КЕ)$ , де КП – кількість продихів на  $1 \text{ мм}^2$  поверхні епідерми, КЕ – кількість епідермальних клітин на  $1 \text{ мм}^2$  поверхні епідерми [114].

Введення в культуру *in vitro* досліджуваних видів та визначення умов їх подальшого мікроклонального розмноження проводили на базі Інституту харчової біотехнології та геноміки НАНУ України у відділі клітинної біології та біотехнології рослин за консультативної допомоги к.б.н., н.с. Пушкарьової Н. О.

Підготовка вихідних експлантів та введення їх у культуру *in vitro* проводилась в асептичних умовах згідно загальноприйнятих рекомендацій [118]. Спершу насіння промивали під стічною водою для усунення залишків ґрунту, а потім занурювали у 70% етанол на 60 сек. Після чого експланти поміщали у діюцид для подальшого знезараження. Час експозиції насіння у стерилізуючому розчині становив 4 хв. Наступним етапом було промивання насіння стерильною дистильованою водою тричі по 5 хв, висушування експлантів на стерильному фільтрувальному папері та перенесення на живильне середовище у чашки Петрі.

Після процедури поверхневої стерилізації насіння пророщували на середовищі MS [119] за температури  $23-25^\circ\text{C}$  і 16-годинного фотоперіоду.

Для подальшого розмноження рослин використовували агаризоване середовище MS з екзогенними регуляторами росту у відповідності до пропису MS [119]. Джерелом вуглеводів слугувала сахароза (концентрація  $30,0 \text{ г/л}$ ), твердого середовища - агар «Vactoagar» (Panreac, Іспанія) в концентрації  $8 \text{ г/л}$  [120].

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту груп БАР проводили за допомогою якісних хімічних реакцій, хроматографічних методів аналізу – ПХ, ТШХ, ГХ, ГХ-МС, ВЕРХ; інструментальних методів аналізу – абсорбційної спектрофотометрії, рентген-флуоресцентного аналізу; та хімічних методів – титриметричного та гравіметричного.

Для хроматографування використовували наступні системи розчинників (кваліфікації ч.д.а і х.ч.):

I - бутанол – оцтова кислота льодяна – вода (4:1:2);

II - етанол – хлороформ – аміак – вода (70:40:20:2)

III - етилацетат – мурашина кислота безводна – вода (10:2:3);

IV - 15% оцтова кислота;

V - мурашина кислота безводна – оцтова кислота льодяна – вода – етилацетат (11:11:25:100);

VI - хлороформ – оцтова кислота – вода (13:6:2);

VII - хлороформ – метанол (9:1);

VIII - толуол – етилацетат (19:1)

Для хроматографування використовували різні сорти паперу "Filtrak" (FN № 1-3), пластинки "Silufol UV-366", "Silufol UV-254. Результати значення Rf на хроматограмах є середніми величинами 5 визначень. При дослідженнях методом ТШХ та ПХ дотримувались загальноприйнятих методичних рекомендацій виявлення речовин різних класів, а також правил проведення та норм до хроматографічного розділення, що регламентовані ДФУ [121, 122, 130, 144 - 147].

В якості проявників використовували наступні реактиви (кваліфікації ч.д.а і х.ч.):

1. розчин анілінфталату;
2. розчин 20 г/л нінгідрину в 96% спирті;
3. 0,5% розчин бромтимолового синього в метанолі;
4. 3% розчин заліза (III) хлориду;
5. пари аміаку концентрованого;
6. розчин 10% натрію гідроксиду у 96% спирті;
7. розчин діазобензолсульфонової кислоти;
8. розчин 2% алюмінію хлориду у 96% спирті;
9. розчин анісового альдегіду;

## 2.2 Методи вивчення якісного складу та кількісного вмісту БАР

1. *Виявлення вуглеводів.* Ідентифікацію проводили у водних витяжках із трави досліджуваних видів, використовуючи реактив Фелінга та розчин  $\alpha$ -нафтолу [121, 122].

Ідентифікацію моноцукрів проводили у водних витяжках після гідролізу методом висхідної ПХ в системі розчинників I у порівнянні із вірогідними розчинами 10 г/л моноцукрів у воді Р: арабінози, галактози, глюкози, ксилози, мальтози, манози, фруктози, як хромогенний проявник використовували реагент № 1 [123, 124].

2. *Виявлення амінокислот.* Ідентифікацію амінокислот проводили у водних витяжках із трави досліджуваних видів методом висхідної ПХ в системі розчинників I у порівнянні із вірогідними розчинами 1 г/л амінокислот у 96% спирті Р: аргініну,  $\beta$ -аланіну, глутамінової кислоти, лізину, метіоніну, серину, та цистеїну. Як хромогенний проявник використовували реагент № 2 [121, 125].

3. *Виявлення органічних кислот.* Ідентифікацію органічних кислот проводили у водних та спиртових витяжках із трави досліджуваних видів методом ПХ в системі розчинників II у порівнянні із вірогідними зразками органічних кислот (аскорбінової, бурштинової, винної, лимонної, оксалатної та яблучної). Як хромогенний проявник використовували реагент № 3 [126].

4. *Виявлення дубильних речовин.* Ідентифікацію дубильних речовин проводили у водних витяжках реакціями з желатиною, солями алкалоїдів, розчином залізоамонієвих галунів, а також специфічними реакціями визначення наявності тих, що гідролізують, та конденсованих дубильних речовин: до досліджуваного екстракту, попередньо підкисленого оцтовою кислотою, додавали свинцю ацетат, утворений осад відфільтровували, а до фільтрату додавали 1% розчин залізоамонієвих галунів та кристалічний натрію ацетат [121, 122].

5. *Виявлення гідроксикоричних кислот.* Ідентифікацію ГКК у водно-спиртових витягах проводили методом одномірної та двомірної ПХ та ТШХ у

системах розчинників I, III, IV, V з вірогідними зразками ГКК: *n*-кумарової, хлорогенової, неохлорогенової, кофейної та розмаринової (Sigma Chemical Company, США). Сполуки ідентифікували за забарвленням плям у денному та УФ-світлі до і після обробки хроматограм реактивами № 3, 4, 5 [127, 128].

6. *Виявлення флавоноїдів.* Ідентифікацію флавоноїдів проводили у водно-спиртових витягах за допомогою загальноприйнятих хімічних реакцій (ціанідинова проба за Бріантом, реакції із заліза (III) хлоридом, 10% спиртовим розчином гідроксиду натрію, 2% спиртовим розчином алюмінію хлориду, розчином свинцю ацетату основного та хроматографічними методами аналізу [121, 127].

Хроматографічне дослідження флавоноїдів проводили методом висхідної одномірної ПХ та ТШХ у системах розчинників I, IV, V, VI, VII з вірогідними зразками флавоноїдів: рутин, кверцетин, лютеолін, апігенін (Sigma Chemical Company, США). Сполуки ідентифікували за забарвленням плям у денному та УФ-світлі до і після обробки хроматограм реактивами № 5, 6, 7, 8 [127 - 129].

7. *Виявлення кумаринів.* Ідентифікацію кумаринів у водно-спиртових витягах проводили загальновідомими якісними реакціями – реакцією з лугом та діазореактивом, лактонною пробєю [130].

8. *Виявлення терпеноїдів.* Ідентифікацію терпеноїдів проводили методом ТШХ у системі розчинників VIII. На лінію старту хроматографічної пластинки 10×15 окремо смугами наносили по 5 мкл досліджуваного розчину та стандартних зразків терпеноїдів, попередньо розчинених у гексані. Хроматограму елюювали в ненасиченій камері розчинників при 15°C на висоту 12 см від лінії старту. Після чого пластинку виймали із камери, сушили в потоці прохолодного повітря, обприскували розчином № 9 та витримували при температурі 100-105°C в печі протягом 5-10 хв [131, 132].

9. *Мінеральні елементи.* Дослідження елементного складу проводили методом РФА на енергодисперсійному спектрометрі «ElvaX» вітчизняного виробництва (ТОВ «Елватех») в науково-технічному центрі «Вірія» в м. Київ [133, 134]. До 50 мг подрібненої до порошкоподібного стану сировини,

додавали сполучний органічний компаунд без домішки металів. Суміш висушували і з цієї маси виготовляли таблетку діаметром 10 мм, товщиною не більше 2 мм і вагою 50 мг. Отриману таблетку аналізували на приладі протягом 10 хв. Спектр флуоресценції складається з ряду аналітичних ліній. Кожній лінії відповідає енергія флуоресцентного випромінювання, характерна для атомів даного елемента.

*10. Амінокислоти.* Визначення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот проводили методом ВЕРХ на рідинному хроматографі Agilent 1200 (Agilent technologies, USA) [135 - 137].

*11. Жирні кислоти.* Визначення жирних кислот проводили методом ГХ-МС на газовому хроматографі обладнаному мас-детектором Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA) після попереднього метилування зразків [138, 139].

*12. Вуглеводи.* Визначення моносахаридів в досліджуваній рослинній сировині проводили методом ГХ-МС на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA), що полягає в ацетилюванні альдонітрильних похідних вільних та загальних моносахаридів, отриманих в результаті екстракції та повного кислотного гідролізу сировини [140 - 142].

Виділення полісахаридних фракцій з сировини проводили за методикою Н. К. Кочеткова, яка ґрунтується на послідовному виділенні полісахаридних фракцій з досліджуваної сировини різними розчинниками та подальшому осадженні отриманих фракцій спиртом етиловим [123, 147]. Для визначення вмісту полісахаридних фракцій застосовували гравіметричний метод згідно з ДФУ 1.3 [147].

*13. Леткі сполуки* досліджували методом ГХ-МС на хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973 inert (Agilent Technologies, USA) [148 - 150].



#### 14. Поліфенольні сполуки.

14.1. Дослідження якісного складу та кількісного вмісту сполук поліфенольної природи проводили методом ВЕРХ на рідинному хроматографі Agilent 1200 (Agilent Technologies, USA) з фотометричним діодно-матричним детектором UV-VIS G1315C. Ідентифікацію проводили за часом утримування та за характером спектра аналізованого компонента, визначення кількісного вмісту - за площею піків на хроматограмах [151 - 153].

14.2. Визначення кількісного вмісту суми поліфенольних сполук у перерахунку на пірогалол проводили за методикою ДФУ, методом адсорбційної спектрофотометрії при 760 нм [146, 154] на спектрофотометрі ULAB 108UV (ULAB, Китай).

14.3. Визначення суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту проводили за методикою ДФУ [147] при 327 нм.

14.4. Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у сировині досліджуваних видів проводили спектрофотометричним методом за реакцією з алюмінію хлоридом [155].

Вимірювання проводили на спектрофотометрі ULAB 108UV. УФ-спектр поглинання досліджуваних витягів виявився близький до УФ-спектру поглинання комплексної сполуки лютеоліну з алюмінію хлоридом і має максимум поглинання при  $400 \pm 4$  нм. Тому розрахунок загального вмісту флавоноїдів проводили у перерахунку на лютеолін.

Вміст суми флавоноїдів у відсотках в перерахунку на лютеолін і повітряно-суху сировину в екстрактах обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A \cdot W \cdot V}{549,41 \cdot m \cdot a \cdot l}$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

W – загальний об'єм після розведення, мл;

V – об'єм спиртового екстракту, мл;

m – наважка сировини;

$a$  – об'єм, взятий для розведення, мл;

$l$  – товщина кювети, см;

549,41 – питомий показник поглинання комплексу лютеліну з алюмінію хлоридом при 400 нм.

15. *Вміст проціанідинів.* Визначення кількісного вмісту суми проціанідинів у перерахунку на ціанідину хлорид проводили спектрофотометрично на спектрофотометрі ULAB 108UV за модифікованою методикою Портера [146, 156]. Оптичну густину одержаного розчину вимірюють за довжини хвилі 550 нм, використовуючи питомий показник поглинання ціанідину хлориду, що дорівнює 136.

16. *Вміст каротиноїдів.* Визначення кількісного вмісту каротиноїдів у перерахунку на  $\beta$ -каротин проводили спектрофотометричним методом при довжині хвилі 450 нм на спектрофотометрі ULAB 108UV [157].

17. *Вміст хлорофілів.* Визначення кількісного вмісту хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А проводили методом адсорбційної спектрофотометрії при довжині хвилі 670 нм на спектрофотометрі ULAB 108UV [157].

### 2.3 Методи визначення фармакологічної активності та показників якості

*Дослідження гострої токсичності* водно-спиртового екстракту агастахе фенхельного (далі – тест-зразок), розчин 100 мг/мл, було проведене відповідно до вимог, що пред'являються до потенційних лікарських засобів (Порядок проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів (затверджений наказом МОЗ України №944 від 14.12.2009) [158 - 164]. Всі експериментальні процедури проводились відповідно до міжнародних вимог про гуманне ставлення до тварин, відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Директива 86/609/ЄЕС, Страсбург, 1986), що використовуються в експериментальних та

інших наукових цілях. Правила евтаназії та утилізації загиблих тварин також відповідали вимогам умов проведення доклінічної практики [158 - 164].

Дослідження проводили на білих нелінійних статевозрілих щурах обох статей (віком 9-11 тижнів), масою (180-210) г. В експериментах використані здорові білі щури. Тварини були отримані з віварію «Біомодельсервіс» (експериментально-біологічна клініка ДУ «ІТФ НАМН України» (віварій), що є допоміжним підрозділом Інституту фармакології і токсикології АМН України, який забезпечує проведення наукових досліджень на біологічних тест-системах). Кожну тварину, після отримання з віварію, було оглянуто кваліфікованим ветеринаром з метою визначення стану здоров'я. Утримання тварин та догляд за ними до і під час проведення експерименту, проводилось у відповідності до Положення Першого національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (2001); Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях (від 18.03.1986); Директиви ЄЕС №609 (від 24.11.1986); Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006); Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 № 249 «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах», а також наказів № 690 від 23.09.2009 та №944 від 14.12.2009 [158 - 164].

Тварини були розміщені в полікарбонатних клітках (660x370x140 мм) з кришками із оцинкованої сталі (550x320x180 мм), обладнаними скляними пляшками для води. Під час акліматизації щури були поміщені до кліток по 5-6 особин однієї статі у кожному. Умови для утримання тварин були наступними: температура – 20-24° С, вологість повітря – 30-70 %, цикл освітлення – 12 год світло/ 12 год темрява. Тирса вільхи (*Alnus glutinosa*), попередньо оброблена автоклавуванням, використовувалась у якості підстилки. Усі тварини отримували *ad libitum* стандартний раціон для лабораторних тварин та воду із міської водопровідної мережі (після оберненого осмосу і стерилізації УФ-випромінюванням). Усех щурів було зважено, пронумеровано та помічено з

використанням 1% спиртового розчину діамантового зеленого, поміщено в клітки для акліматизації на 7 діб у лабораторному приміщенні. За 24 год до ведення тест-зразка щурів було оглянуто ветеринарним лікарем з метою визначення стану здоров'я, зважено, рандомізовано.

За дослідження гострої токсичності у дослідах на щурах було використано шлях введення препарату у шлунок, як адекватний потенційній лікарській формі та такий, що буде використаний при очікуваному клінічному застосуванні.

Гостра токсичність тест-зразка вивчалась за одноразового перорального його введення у різних дозах в діапазоні від 1,5-5,0 мл/кг маси тіла тварини за методом найменших квадратів. Даний метод дозволяє вирахувати не тільки середню летальну дозу речовини, а й параметри її вірогідності, використовуючи найменшу кількість лабораторних тварин [158, 165, 166]. Ступінь гострої токсичності тест-зразка характеризувалася величиною дози (ЛД<sub>50</sub>), одноразове (або багаторазове впродовж 1 доби) введення якої спричиняло загибель 50% тварин.

Тривалість спостереження за станом тварин після одноразового введення тест-зразка становила 14 діб. Введений тваринам об'єм рідини, не перевищував допустимі норми, регламентовані правилами доклінічного дослідження лікарських засобів [158]. Контрольній групі тварин вводили розчинник (носій) препарату – спирт етиловий 50%, у відповідному об'ємі.

Загибель тварин слугувала основним критерієм токсичної дії препарату. Вплив препарату на різні функції організму, такі як: стан, індивідуальна маса тіла, температура (ректальна) тіла, загальний стан шкіри, колір слизових оболонок, міоз/мідріаз, салівація, ринорея, лакримація, зміна кольору сечі та фекалій, частота сечовиділення та випорожнення, наявність тремору, судом, пілоерекція, сонливість, зміна положення тіла, ознаки, що характеризують діяльність центральної нервової, серцево-судинної та дихальної систем, відмічалися у тварин протягом 14 діб як дані про можливий дозозалежний вплив.

Спостереження за проявами клінічних ознак токсичності і загибелі тварин проводили протягом першої години безперервно, а потім через 2, 3, 5 год після введення у перший день після введення тест-зразка. Протягом наступних 14 днів кожна тварина обстежувалась щоденно, двічі на день об 11<sup>00</sup> та о 16<sup>00</sup>. Випадки виникнення та/або зникнення клінічних ознак токсичності, реєструвались, в тому числі – загибелі тварин.

Досліди проведені на семи групах тварин, серед яких шість дослідних та одна контрольна. Тваринам кожної з дослідних груп вводили тест-зразок або розчинник (контрольна група) у шлунок через атравматичний металевий зонд у різних дозах (по дві тварини кожної статі з кожної групи на кожен досліджувану дозу).

*Індивідуальна маса тіла* тварин реєструвалась до 11<sup>00</sup>, а потім через 3, 7 і 14 діб після введення тест-зразка. Зміни маси тіла були розраховані порівняно до маси тіла тварин на день уведення та маси тіла тварин контрольних груп.

*Макроскопія.* Усі тварини, які вижили, були знеживлені шляхом цервікальної дислокації під легким ефірним наркозом через 14 днів після введення тест-зразка. Знеживлені тварини підлягали повному зовнішньому огляду та розтину з урахуванням зареєстрованих клінічних порушень. В кінці експерименту, перед знеживленням, усі тварини голодували протягом 3-х год. Планувалося проведення макроскопічного дослідження тварин, які могли загинути, відразу після встановлення факту загибелі або вранці наступної доби (об 11<sup>00</sup>), якщо б тварина гинула вночі.

*Маса органів.* Після евтаназії були зважені внутрішні органи (серце, легені, нирки, печінка, селезінка). Розраховувалась відносна маса органів в г на 100 г маси тіла.

*Статистична обробка даних.* Нормальність розподілу оцінювали за критерієм Shapiro-Wilk (W). Дані були наведені як середнє значення  $\pm$  похибка середнього ( $x \pm \Delta x$ ). Статистична обробка даних була виконана з використанням t-критерію Стюдента. Зміни вважались статистично значимими при  $p \leq 0,05$ . Для статистичної обробки даних було використано програму MS Excel.

### *Гепатопротекторна активність*

Дослідження гепатопротекторної дії рідкого екстракту агастахе фенхельного проводилося у дослідах на статевозрілих білих нелінійних щурах обох статей на моделі токсичного ураження печінки, викликаного шляхом внутрішньошлункового введення чотирихлористого вуглецю ( $CCl_4$ ), одноразово, у різних дозах – 3,0 та 5,0 мл/кг маси тіла у вигляді 50%-ного олійного розчину.

Спосіб отримання рідкого екстракту агастахе фенхельного включає екстрагування 50% спиртом етиловим лікарської рослинної сировини. Процес екстрагування здійснюють методом мацерації при співвідношенні сировина-екстрагент 1:10 при температурі 80-90°C, послідовно проводячи екстракцію три рази по тридцять хв. Отримані витяги відстоюють, фільтрують, змішують і фасують готовий продукт.

Гепатопротекторну активність досліджували, зокрема, за показниками виживання, маси тіла тварин, коефіцієнта маси печінки (КМП) за уведення різних доз  $CCl_4$  у шлунок тварин. Антитоксичну функцію печінки досліджували на моделі тіопенталового сну (тіопентал, внутрішньоочеревинно, 30 мг/кг) на тлі інтоксикації  $CCl_4$  та лікування рідким екстрактом агастахе фенхельного і референтним засобом Силібором.

З метою оцінки функціонального стану мембран гепатоцитів та ступеня запальної реакції визначали в сироватці крові тварин активність ферментів аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ) на основі загальноприйнятих методик з використанням стандартних наборів реактивів для біохімічного дослідження спектрофотометричним методом [167, 168].

Введення у шлунок через спеціальний зонд екстракту агастахе фенхельного, як і препарату порівняння, відбувалося в лікувально-профілактичному режимі: 7 діб до ураження  $CCl_4$  та 6 діб на тлі токсичного процесу. На 7-му добу після введення у шлунок  $CCl_4$  здійснювали евтаназію частини тварин шляхом декапітації під легким ефірним наркозом для

визначення маси печінки, активності ферментів в сироватці крові, а в інших тварин, яких не піддавали евтаназії, визначали стан антитоксичної функції печінки на моделі тіопенталового сну. Термін, обраний для дослідження зазначених показників, відповідає періоду початку ремісії власне гострого гепатиту, викликаного  $\text{CCl}_4$  [169], що обґрунтовує доцільність дослідження власне терапевтичної активності екстракту агастахе фенхельного та Силібору. Вживання та масу тіла тварин оцінювали через 1 та 7 діб після застосування  $\text{CCl}_4$ .

Через 7 діб після введення токсичного агенту (загалом – 13 діб лікування Силібором або рідким екстрактом агастахе фенхельного, за винятком щурів контрольної групи) тваринам вводили тіопентал для індукції сну і реєстрації латентного періоду та його тривалості. Саме зазначені показники можуть характеризувати антитоксичну функцію печінки на тлі патологічного процесу (гострий тетрахлорметановий гепатит) [170].

#### *Антиоксидантна активність*

Антиоксидантну активність рідкого екстракту агастахе фенхельного визначали спектрофотометрично за методикою [171, 172]. Метод заснований на вивченні кінетики реакції інгібування аутоокислення адреналіну і здатності запобігати утворенню активних форм кисню.

*Розчин порівняння.* До 4 мл 0,2 М натрій-карбонатного буферного розчину ( $\text{pH} = 10,65$ ), додавали 0,2 мл 0,1% розчину адреналіну гідрохлориду, ретельно і швидко перемішували, поміщали в спектрофотометр ULAB 108UV і визначали оптичну густину ( $A_1$ ) через 30 сек, через 3, 7 та 10 хв при довжині хвилі 347 нм в кюветі товщиною 10 мм.

*Випробовуваний розчин.* До 4 мл буферного розчину ( $\text{pH} = 10,65$ ) додавали 0,06 мл досліджуваного екстракту і 0,2 мл 0,1% адреналіну гідрохлориду, перемішували і вимірювали оптичну густину, як описано вище ( $A_2$ ).

Для врахування впливу власного забарвлення екстрактів, які поглинають певну довжину хвилі у видимій частині спектру, в якості компенсаційного

розчину використовували буферований розчин екстракту без адреналіну ( $A_0$ ). Антиоксидантну активність (АОА) досліджуваного екстракту у відсотках розраховували за формулою:

$$AOA = \frac{A_1 - (A_2 - A_0) * 100}{A_1}$$

де  $A_1$  – оптична густина контрольного порівняння (чистого адреналіну);

$A_2$  – оптична густина досліджуваного розчину;

$A_0$  – оптична густина холостої проби (екстракт без внесення адреналіну).

#### *Антимікробна активність*

Дослідження проводили на базі ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» у лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ за консультативної допомоги зав. лабораторії, к.біол.н. Осолодченко Т. П.

Для дослідження спиртового екстракту ліпофільної фракції трави а. фенхельного використані еталонні тест-культури грампозитивних і грамнегативних бактерій, які належать до різних таксономічних груп: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636. Протигрибкову дію зразка досліджено на референтному штамі *Candida albicans* ATCC 885-653.

Зазначений набір тест-штамів є загальноприйнятим при первинному визначенні протимікробної дії. Усі тест-культури було одержано з лабораторії медичної мікробіології з Музеєм мікроорганізмів ДУ «ІМІ ім. І. І. Мечникова НАМН України». Середовища для культивування застосовували відповідно до виду мікроорганізмів згідно з існуючими методичними розробками і рекомендаціями.



Суспензії мікроорганізмів готували із визначеною концентрацією мікробних клітин за допомогою стандарту каламутності (0,5 од. за шкалою McFarland) відповідно до інструкції до приладу (Densi-La-Meter виробництва PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі - 540 нм) та інформаційного листа про нововведення в системі охорони здоров'я № 163-2006 «Стандартизація приготування мікробних суспензій», м. Київ. Синхронізацію культур проводили за допомогою низької температури (4°C) [173].

Визначення протимікробної та антикандидозної дії проводили стандартним методом двократних серійних розведень у поживному бульйоні (макрометод). Тестування проводилось в об'ємі 1 мл кожного розведення речовин з кінцевою концентрацією досліджуваного мікроорганізму приблизно  $5 \times 10^5$  КУО/мл. Після інкубації протягом доби або 48-72 год для культур *Candida spp.*, пробірки з посівами переглядали у промінному світлі для визначення наявності росту мікроорганізму. Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) встановлювалась за найменшою концентрацією досліджуваної речовини, яка пригнічувала видимий ріст культури. Для визначення мінімальної бактерицидної концентрації (МБ<sub>ц</sub>К) виконували дозовані висіви на тверде поживне середовище (агар Мюллер-Хінтона) культуральної рідини з усіх пробірок, у яких не спостерігали росту мікроорганізму. За МБ<sub>ц</sub>К вважали найнижчу концентрацію, яка викликала загибель не менше 99,9% бактерій. При постановці дослідів додатково проводили контролю росту культури в середовищі без досліджуваних речовин, у розчиннику; контролю чистоти суспензії мікроорганізму (шляхом висіву на неселективні середовища) та стерильності середовища [174, 175].

Чутливість штамів мікроорганізмів до антибактеріальних лікарських засобів визначали у відповідності до методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» (Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 05.04.2007 р. № 167) методом колодязів на середовищі Мюллера-Хінтона (HiMediaLaboratorlesPvt. LtdIndia), яке готували відповідно до інструкції виробника [173]. Чутливість грибів

визначали на середовищі Сабуро. Визначення чутливості дослідних речовин проводили на двох шарах поживного середовища, які розливали у чашки Петрі. Нижчий шар складався з агар-агару (10 мл). На нього встановлювали 3-6 металеві стерильні циліндри діаметром 8 мм та висотою 10 мм. Навколо циліндрів заливали верхній шар (14 мл поживного середовища + 1 мл мікробного розчину 0,5 од. за шкалою McFarland), який складався з поживної агарізованого середовища з відповідним стандартом добової культури мікроорганізма. Після застигання стерильним пінцетом виймають колодязі і в лунки вносять дослідну речовину (0,3 мл).

Оцінку антибактеріальної активності дослідних речовин проводили за діаметром зон затримки росту:

10 мм – мікроорганізм не чутливий до дослідної речовини;

10-15 мм – мікроорганізм слабочутливий до дослідної речовини;

15-25 мм – мікроорганізм чутливий до дослідної речовини;

25 мм та вище – мікроорганізм високочутливий до дослідної речовини.

Речовини, як є ліпофільними, нерозчинні у воді та гліцерині, при нагріванні розчиняються в спиртах, диметилформаміді (ДМФА) та диметилсульфоксиді (ДМСО). Основні розчини речовин готували в концентрації 1000,0 мкг/см<sup>3</sup>, як розчинник використаний ДМСО та ДМФА.

*Визначення показників якості* досліджуваної сировини проводили за методиками ДФУ. Втрату в масі при висушуванні встановлювали за ДФУ (2.2.32), вміст загальної золи та золи, нерозчинної в кислоті хлористоводневій, у сировині визначали за ДФУ (2.4.16 та 2.8.1 відповідно). Визначення сторонніх домішок в ЛРС здійснювали згідно загальної статті 2.8.2 [144 - 147].

#### *Статистична обробка результатів*

Статистичну обробку отриманих результатів проводили відповідно до вимог монографії ДФУ (5.3) «Статистичний аналіз результатів біологічних випробувань та тестів» та методами з використанням програми Microsoft Excel 2013 та пакета прикладних програм «Statistika». При порівнянні статистичних показників був прийнятий рівень значущості  $p \leq 0,05$  [145].

## РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ БАР У  
СИРОВИНІ ВИДІВ РОДУ *AGASTACHE*

## 3.1 Ідентифікація БАР

*Виявлення вуглеводів.* Наявність вуглеводів у водних витяжках з трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого визначали за допомогою якісних реакцій, наведених у розділі 2.2, п. 1. Утворення цегляно-червоного осаду купрум (II) оксиду свідчило про наявність вільних цукрів у досліджуваних зразках. Позитивна реакція з  $\alpha$ -нафтолом свідчила про наявність речовин глікозидного характеру [130, 176].

За результатами ПХ у траві а. фенхельного та були ідентифіковані: фруктоза, арабіноза, галактоза, глюкоза та галактуронова кислота. У траві а. кропиволистого були ідентифіковані: фруктоза, маноза, арабіноза, глюкоза, галактоза.

*Виявлення амінокислот.* Для якісного дослідження наявності вільних амінокислот використовували нінгідринову реакцію для водних екстрактів трави а. фенхельного та а. кропиволистого. В результаті реакції спостерігали появу червоно-синього забарвлення, що свідчить про наявність у екстрактах амінокислот.

Методом ПХ (розділ 2.2, п. 2) у траві а. фенхельного виявлено 4 амінокислоти: глютамінова к-та, аргінін, серин та  $\beta$ -аланін, у траві а. кропиволистого – 3 амінокислоти: глютамінова к-та, аргінін та  $\beta$ -аланін.

*Виявлення органічних кислот.* Ідентифікацію органічних кислот проводили методом ПХ, органічні кислоти проявлялись на хроматограмах у вигляді жовтих плям на синьому фоні після обробки відповідним реактивом (розділ 2.2, п. 3). За результатами аналізу визначено, що в обох досліджуваних видах сировини містяться яблучна, винна, лимонна та аскорбінова кислоти.

*Виявлення дубильних речовин.* В результаті проведених якісних реакцій

(розділ 2.2, п.4) у водних витяжках а. фенхельного та а. кропиволистого ідентифіковано дубильні речовини обох груп з деяким переважанням дубильних речовин конденсованої групи, про що свідчить забарвлення фільтрату в темно-зелений колір після додавання залізоамонієвих галунів.

*Виявлення ГКК.* Про наявність ГКК у досліджуваній сировині свідчить позитивна реакція з реактивом 4, сіро-зелений колір, що утворюється з даним реактивом, вказує на присутність в молекулах фенольних сполук ортодіоксигрупи.

При хроматографуванні методами ПХ та ТШХ у траві а. фенхельного та а. кропиволистого було ідентифіковано хлорогенову, розмаринову та кофейну кислоти.

*Виявлення флавоноїдів.* Позитивний аналітичний ефект у загальновідомих хімічних реакціях (розділ 2.2, п. 6) свідчить про наявність у траві а. фенхельного та а. кропиволистого речовин флавоноїдної природи.

Якісний склад даної групи сполук виявляли хроматографічно за флуоресценцією в УФ-світлі до і після обробки хроматограм парами аміаку концентрованого, розчином 10% натрію гідроксиду у 96% спирті, розчином діазобензолсульфонової кислоти, розчином 2% алюмінію хлориду у 96% спирті. Таким чином у водно-спиртових екстрактах досліджуваних об'єктів були ідентифіковані рутин, апігенін, лютеолін та кверцетин.

*Виявлення кумаринів.* В результаті проведеної лактонної проби у траві досліджуваних видів агастахе кумарини не ідентифіковано. Слабопозитивна реакція з лугом та діазореактивом свідчить про незначний вміст кумаринів [121, 176].

*Виявлення терпеноїдів.* Аналіз якісного складу терпеноїдів проводили методом ТШХ (розділ 2.2, п. 8). Ідентифікацію проводили за допомогою розчину анісового альдегіду, пластинки переглядали при денному та в УФ-світлі. В результаті проведених досліджень в метанольних екстрактах а. фенхельного та а. кропиволистого ідентифіковано ментол, ліналоол, пулегон [131, 132].

### 3.2 Дослідження мінерального складу

Наявність макро- та мікроелементів для нормального функціонування організму людини вкрай необхідна. За їх нестачі неможливим є кровотворення, дихання та інші внутрішньоклітинні процеси. Мінеральні елементи беруть участь в процесах м'язового скорочення, нервової провідності, є каталізаторами біохімічних реакцій, ферментативних перетворень. Рослинний світ є природним джерелом мінеральних елементів, причому знаходяться вони в найбільш доступній для засвоєння формі. На сьогодні в рослинах знайдено 81 хімічний елемент, 15 з них є есенціальними, тобто життєво необхідними. Саме тому визначення якісного складу та кількісного вмісту мінералів у лікарській рослинній сировині є важливою складовою фармакогностичного вивчення рослин. Доцільно проводити вивчення елементного складу лікарських рослин саме в сукупності з дослідженням ґрунту [177].

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту макро- та мікроелементів проводили рентген-флуоресцентним методом на енергодисперсійному спектрометрі «ElvaX» (розділ 2.2, п.9) [134].

Результати елементного аналізу сировини а. фенхельного та а. кропиволистого в порівнянні з макро- та мікроелементним складом ґрунту наведені в табл. 3.1, спектри досліджуваних проб – у додатках А.1 – А.4.

В результаті дослідження було визначено 21 сполуку мінеральної природи: 4 макро- та 17 мікроелементів, та встановлено їх кількісний вміст (мкг/г) від маси абсолютно-сухої сировини.

**Вміст мінеральних речовин в сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого в порівнянні з мінеральним складом ґрунту, мг/100 г від маси абсолютно-сухої сировини**

Елемент	Агастахе фенхельний	% від денної норми для людини	Ґрунт	Агастахе кропиволистий	% від денної норми для людини	Ґрунт
1	2	3	4	5	6	7
<b>Макроелементи</b>						
K	677,7	27	332,2	724,2	28,9	613,4
Ca	1047,2	95,2	1048,7	810,2	73,6	1016,4
S	567,8	56,8	-	107,9	10,8	-
Cl	43,4	1,9	-	16,5	0,7	-
<b>Мікроелементи</b>						
Ba	-	-	20,5	1,6	164	49,5
Br	0,44	22	1,14	0,36	18	1,4
Co	0,26	2600	19,4	0,49	4900	30,5
Cr	0,24	480	6,2	0,27	540	5,3
Mn	0,42	21	81,4	0,54	27	105,2
Fe	12,9	86,5	4641,2	14,5	96,9	5355,2
Cu	0,45	45	1,9	0,33	33	2,7
Zn	3,3	27,3	9,5	3,9	32,4	10,3
Rb	0,84	838	7,5	0,79	790	7,9
Sr	4,7	587,5	4,8	3,1	391,2	5,8
Zr	0,24	480	41,4	0,23	460	48,2
Pb	0,12	1200	3,5	0,12	1200	3,5
Ni	-	-	5,2	0,16	106,7	9,7
Ti	-	-	417,9	-	-	458,8

1	2	3	4	5	6	7
Se	-	-	0,31	-	-	-
Y	-	-	2,3	-	-	3,8
Nb	-	-	2,1	-	-	2,8

Примітка. «-» - елемент відсутній у зразку

Ряд зменшення вмісту хімічних елементів у траві а. фенхельного  
 Ca>K>S>Cl>Fe>Sr>Zn>Rb>Cu>Br>Mn>Co>Cr>Zr>Pb; у траві а.  
 кропиволистого – Ca>K>S>Cl>Fe>Zn>Sr>Ba>Rb>Mn>Co>Br>Cu>Cr>  
 Zr>Ni>Pb.

Як видно з отриманих даних, в об'єктах дослідження серед макроелементів домінують кальцій (а. фенхельний – 1047,2 мг/100 г, а. кропиволистий – 810,2 мг/100 г), калій (а. фенхельний – 677,7 мг/100 г, а. кропиволистий – 724,2 мг/100 г) та сірка (а. фенхельний – 567,8 мг/100 г, а. кропиволистий – 107,9 мг/100 г), а серед мікроелементів – залізо (а. фенхельний – 12,9 мг/100г, а. кропиволистий – 14,5 мг/100 г).

При порівнянні добових доз елементів, необхідних для життєдіяльності дорослої людини, можна зробити наступні висновки – за кількісним вмістом кальцію та заліза обидва види агастах майже повністю забезпечують добову потребу в цих елементах. Споживання сировини, багатой на кальцій, сприяє нормалізації роботи серцевої діяльності, процесу згортання крові, кальцій є ключовим елементом в утворенні кісткової тканини та зубів. Залізо бере участь в імунобіологічних та окисно-відновних реакціях, забезпечує продукцію гемоглобіну.

Досить багато в обох видах агастах (особливо – в а. фехельному) калію, причому це не концентрація калію з ґрунту, де його порівняно мало. Калій сприяє полегшенню алергічних симптомів, закріпів кишечника та ригідності м'язів, нормалізації артеріального тиску. Варто відмітити високий вміст сірки в

а. фенхельному, адже відомо, що сірка міститься у всіх тканинах організму, сприяє здійсненню окисно-відновних реакцій, входить до складу гемоглобіну та є структурним компонентом білка колагену.

Обидва види агастахе є концентраторами кобальту, хрому, заліза, рубідію та цирконію. Кобальт є складовою частиною вітаміну В<sub>12</sub>, бере участь в низці ферментативних перетворень. Хром регулює рівень цукру в крові, підвищує активність інсуліну. Рубідій є стимулятором нервової та серцево-судинної систем, підвищує артеріальний тиск. Цирконій бере участь в регуляції роботи підшлункової залози [178].

Окрім того, а. кропиволистий містить значну кількість нікелю та барію, які не представлені в мінеральному складі а. фенхельного. Нікель разом з кобальтом, залізом та міддю бере участь в процесах кровотворення, а самостійно – в обміні жирів, проявляє заспокійливу дію на ЦНС та сприяє зниженню тиску. Барій не являється есенціальним мікроелементом, він виявляє виражений вплив на гладенькі м'язи, в великих концентраціях підвищує м'язові скорочення.

Слід відмітити, що досліджувані нами види сировини здатні накопичувати важкі метали – стронцій та свинець, які знаходяться в ґрунті [179]. Тому можна зробити висновок, що склад ґрунту може впливати на мінеральний склад трави агастахе, тому за рахунок відповідного коригування складу ґрунту досягти бажаного збагачення сировини.

### 3.3 Вивчення амінокислотного складу методом ВЕРХ

Вивчення складу вільних та зв'язаних амінокислот у траві а. фенхельного та а. кропиволистого проводили методом ВЕРХ. Метод заснований на екстракції вільних амінокислот із рослинної сировини та кислотному гідролізі рослинних препаратів з наступним аналізом гідролізатів методом ВЕРХ з передколонковою дериватизацією 9-флуоренілметоксикарбоніл хлоридом та



о-фталевим альдегідом з наступною детекцією флуоресцентним детектором [136, 180].

Хроматограми амінокислотного складу вільних та зв'язаних амінокислот трави а. фенхельного та а. кропиволистого наведені в додатках Б.1 – Б.4.

Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у розрахунку на абсолютно суху сировину методом ВЕРХ представлені у табл. 3.2.

Таблиця 3.2

**Вміст вільних та зв'язаних амінокислот у траві агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого**

Назва амінокислоти	Вміст амінокислот, мг/100 г у перерахунку на абсолютно суху сировину			
	а. кропиволистий		а. фенхельний	
	Вільні, мг/100 г	Зв'язані, мг/100 г	Вільні, мг/100 г	Зв'язані, мг/100 г
1	2	3	4	5
<i>Замінні амінокислоти</i>				
Аспарагінова кислота	1	0,4	3,5	0,9
Глутамінова кислота	1,6	0,3	5,4	0,5
Серин	0,5	0,9	1,1	505,6
Гістидин	0,5	0,4	1,7	388,5
Гліцин	0,4	397,1	0,7	732,4
Аланін	1,5	782,4	2,8	727,9
Аргінін	1,5	748	6,4	769,8
Тирозин	0,8	0,6	1,9	400,5
Цистеїн	-	-	-	-
Пролін	13,9	1409,9	14,7	1448
<i>Незамінні амінокислоти</i>				
Треонін	0,6	0,4	2,1	575

1	2	3	4	5
Валін	0,9	94,1	2,4	544,3
Метіонін	-	159,9	-	86,8
Фенілаланін	0,8	737,6	2,3	628,5
Ізолейцин	0,3	622,7	0,4	573,4
Лейцин	0,2	1075,2	0,4	950,1
Лізін	0,3	1010,7	0,9	884,5
Триптофан	-	-		
Всього	24,8	5630,7	46,7	9216,7
<i>Вміст незамінних амінокислот від суми амінокислот у%</i>	<i>12,5</i>	<i>65,7</i>	<i>18,2</i>	<i>46</i>

Примітка. «-» - речовина відсутня у зразку

В результаті дослідження встановлено, що амінокислотний склад обох видів агастахе, що вивчались, у фазі масового цвітіння є подібним, проте слід зазначити, що у траві а. фенхельного міститься більше вільних та зв'язаних амінокислот (46,7 мг/100 г; 9216,7 мг/100 г), ніж у траві а. кропиволистого (24,8 мг/100 г та 5630,7 мг/100 г відповідно).

Домінуючими серед зв'язаних амінокислот є пролін (а. фенхельний – 1448 мг/100 г; а. кропиволистий – 1409,9 мг/100 г), лейцин (а. фенхельний – 950,1 мг/100 г; а. кропиволистий – 1075,2 мг/100 г), лізін (а. фенхельний – 884,5 мг/100 г; а. кропиволистий – 1010,7 мг/100 г), аргінін (а. фенхельний – 769,8 мг/100 г; а. кропиволистий – 748 мг/100 г) та аланін (а. фенхельний – 727,9 мг/100 г; а. кропиволистий – 782,4 мг/100 г).

Серед вільних амінокислот переважають: пролін (а. фенхельний – 14,7 мг/100 г; а. кропиволистий – 13,9 мг/100 г), аргінін (а. фенхельний – 6,4 мг/100 г; а. кропиволистий – 1,5 мг/100 г), глютамінова кислота (а. фенхельний – 5,4 мг/100 г; а. кропиволистий – 1,6 мг/100 г), аспарагінова кислота (а. фенхельний

– 3,5 мг/100 г; а. кропиволистий – 1 мг/100 г) та аланін (а. фенхельний – 2,8 мг/100 г; а. кропиволистий – 1,5 мг/100 г).

Встановлено, що кількісний вміст вільних незамінних амінокислот від суми амінокислот у % у траві а. кропиволистого становить 12,5%, а в траві а. фенхельного – 18,2%.

З даних літератури [181] відомо, що пролін важливий для правильного функціонування зв'язок і суглобів, також бере участь у підтриманні працездатності і зміцнення серцевого м'яза. Аргінін сприяє уповільненню розвитку пухлин і ракових утворень, зміцнює імунну систему, наявність аргініну в організмі сприяє приросту м'язової маси і зниженню жирових запасів організму, а також бере участь в дезінтоксикаційній функції печінки. Глутамінова кислота вважається природним «паливом» головного мозку, покращує розумові здібності, сприяє прискоренню лікування виразок, підвищує опірність організму проти втоми. Аланін бере участь у процесах, що забезпечують енергією м'язові тканини, збільшуючи їх витривалість, в утворенні сполучної тканини, у метаболізмі цукру і органічних кислот [182 - 184].

#### 3.4 Аналіз жирнокислотного складу методом ГХ-МС

Вивчення якісного складу та кількісного вмісту вільних жирних кислот у траві а. фенхельного та а. кропиволистого проводили методом ГХ-МС на приладі Agilent 6890N/5973inert після попереднього метилування зразків [138].

В результаті проведеного дослідження в траві а. фенхельного ідентифіковано 8 жирних кислот: міристинову, пальмітинову, маргарінову, лінолеву,  $\alpha$ -ліноленову, стеаринову, арахінову, бегенову; і в траві а. кропиволистого 8 жирних кислот, проте іншого складу: пальмітолеїнову, пальмітинову, валеріанову, лінолеву,  $\alpha$ -ліноленову, стеаринову, арахінову та бегенову. Хроматограми жирнокислотного складу трави а. фенхельного та а. кропиволистого наведені на рис. 3.1 та 3.2, відповідно, та в табл. 3.3.

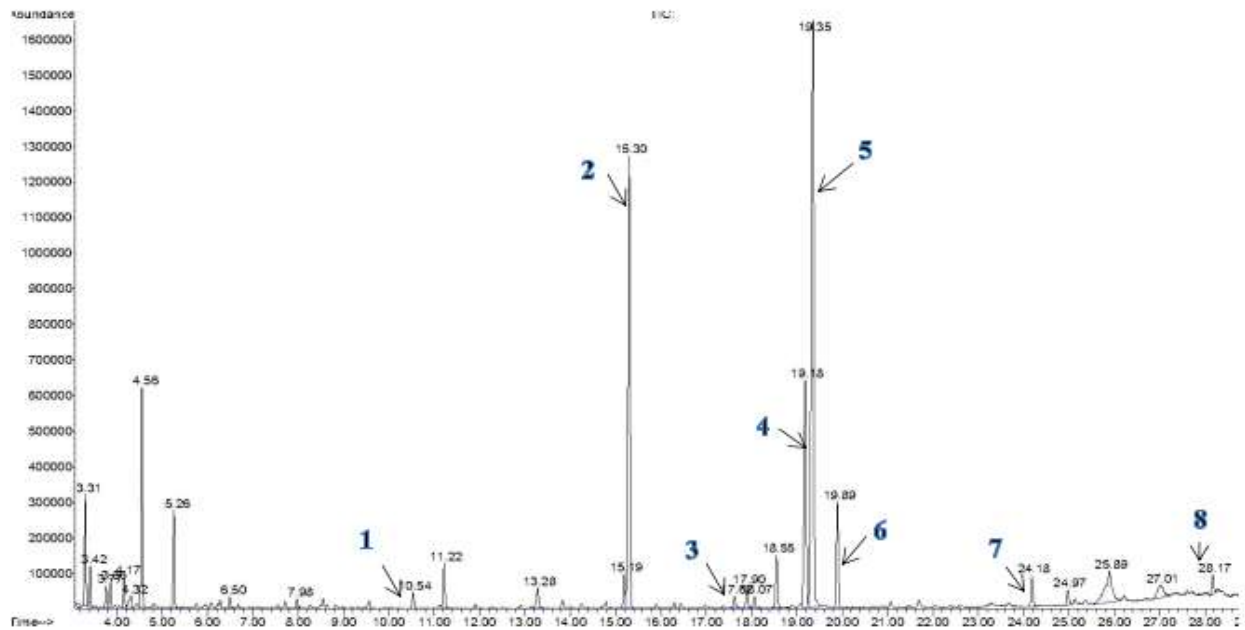


Рис. 3.1. Хроматограма жирних кислот трави а. фенхельного. 1 – Міристинова к-та, 2 – Пальмітинова к-та, 3 – Маргарінова к-та, 4 – Лінолева к-та, 5 –  $\alpha$ -Ліноленова к-та, 6 – Стеаринова к-та, 7 – Арахінова к-та, 8 – Бегенова к-та

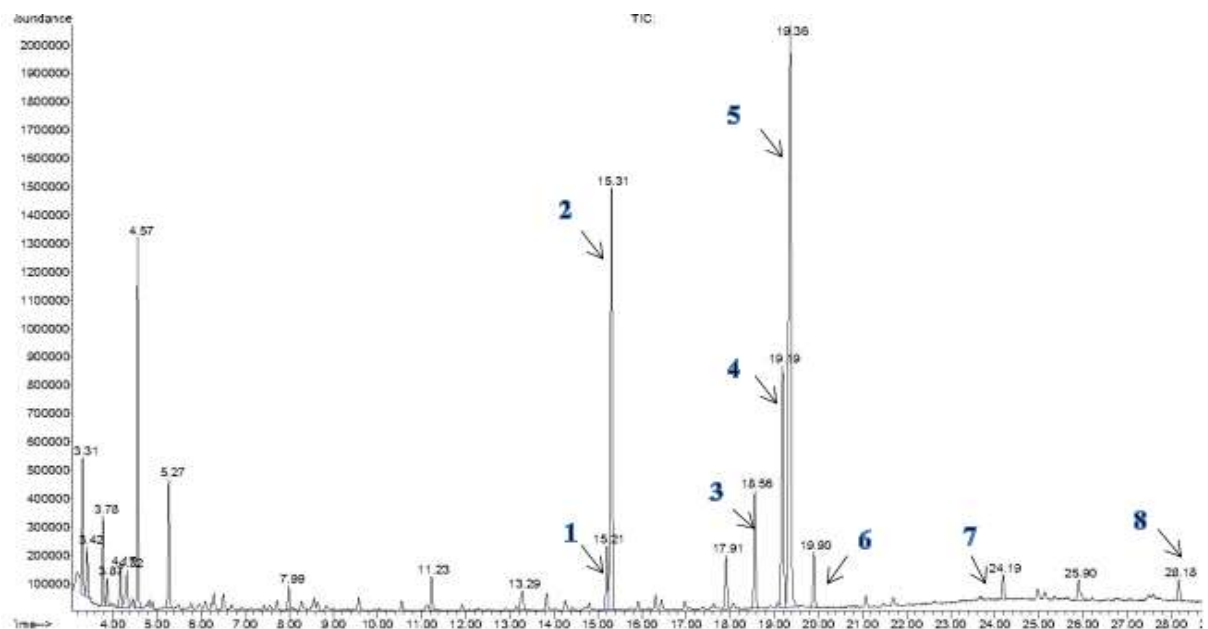


Рис. 3.2. Хроматограма жирних кислот трави а. кропиволистого. 1 – Пальмітолеїнова к-та, 2 – Пальмітинова к-та, 3 – Валеріанова к-та, 4 – Лінолева к-та, 5 –  $\alpha$ -Ліноленова к-та, 6 – Стеаринова к-та, 7 – Арахінова к-та, 8 – Бегенова к-та

**Результати дослідження жирнокислотного складу ліпофільної фракції  
сировини видів роду агастахе**

Жирна кислота	Агастахе кропиволистий		Агастахе фенхельний	
	Кількісний вміст, мг/100г у пер. на абсолютно суху сировину	Кількісний вміст у% від суми жирних кислот	Кількісний вміст, мг/100г у пер. на абсолютно суху сировину	Кількісний вміст у% від суми жирних кислот
Валеріанова (С 5:0)	7,3	6,59	-	-
Міристинова (С 14:0)	-	-	1,2	0,8
Пальмітинова (С16:0)	26,9	24,3	42,1	28,1
Маргарінова (С 17:0)	-	-	1,2	0,8
Стеаринова (С18:0)	3,4	3,07	8,9	5,9
Арахінова (Ейкозанова) (С20:0)	1,5	1,35	2,7	1,8
Бегенова (С22:0)	1,4	1,26	1,7	1,1
Пальмітолеїнова (С16:1)	3,9	3,52	-	-
Лінолева (С18:2 ω-6)	16,8	15,2	22,9	15,3
α-Ліноленова (С18:3 ω-3)	49,5	44,7	69,2	46,2
<i>Сумарний вміст ненасичених жирних кислот від суми жирних кислот у%</i>		59,9		61,4

Примітка. «-» - речовина відсутня у зразку

В результаті проведеного дослідження встановлено, що в сировині а. кропиволистого домінують α-ліноленова (49,5 мг/100г, що становить 44,7% від загального вмісту жирних кислот) та лінолева кислоти (16,8 мг/100г або 15,2%,

відповідно), які відіграють важливу роль в організмі людини, особливо  $\alpha$ -ліноленова кислота, яка є досить сильним антиоксидантом. В сировині а. фенхельного вміст цінних ненасичених жирних кислот дещо вищий – вміст  $\alpha$ -ліноленової кислоти становить 69,2 мг/100г, що становить 46,2% від загального вмісту жирних кислот, а лінолевої кислоти – 22,9 мг/100г або 15,3%. Встановлено, що сумарний вміст ненасичених жирних кислот у траві а. кропиволистого та а. фенхельного від суми усіх жирних кислот складає 59,9% та 61,4% відповідно.

Відомо, що поліненасичені жирні кислоти знижують рівень ліпопротеїдів низької густини та холестерину в крові, тим самим знижуючи ризик виникнення атеросклеротичних бляшок, деякою мірою гальмуючи розвиток атеросклерозу, та мають досить велику фармакологічну цінність [176, 181].

Серед насичених жирних кислот для обох видів найвищий вміст характерний для пальмітинової кислоти: у траві а. кропиволистого – 26,9 мг/100г або 24,3% від загального вмісту жирних кислот, в траві а. фенхельного – 42,1 мг/100г або 52,2%, відповідно.

### 3.5 Визначення вмісту вуглеводів

Вуглеводи складають основну масу рослинного організму та є важливим класом природних сполук з різноманітним спектром біологічної дії на організм людини. Вуглеводи – біологічно активні речовини первинного синтезу, впродовж останнього десятиліття значно зріз науковий інтерес до цього класу сполук. Встановлено, що полісахариди проявляють широкий спектр фармакологічної дії, проявляють протизапальну, обволікаючу, відхаркувальну, противиразкову, ранозагоювальну, протипухлинну активність, беруть участь у створенні імунітету, підвищують стійкість організму, знижують побічні ефекти антибіотиків, цитостатиків, глюкокортикоїдів [181, 185, 186].

В цьому аспекті має науковий інтерес дослідження якісного складу та кількісного вмісту полісахаридів у сировині видів роду *Агастахе*.

Виділення полісахаридних фракцій з сировини проводили за методикою Н.К. Кочеткова, що наведена на рис. 3.3 [187, 188].

Для визначення вмісту полісахаридних фракцій застосовували гравіметричний метод згідно з ДФУ 1.3 [147].

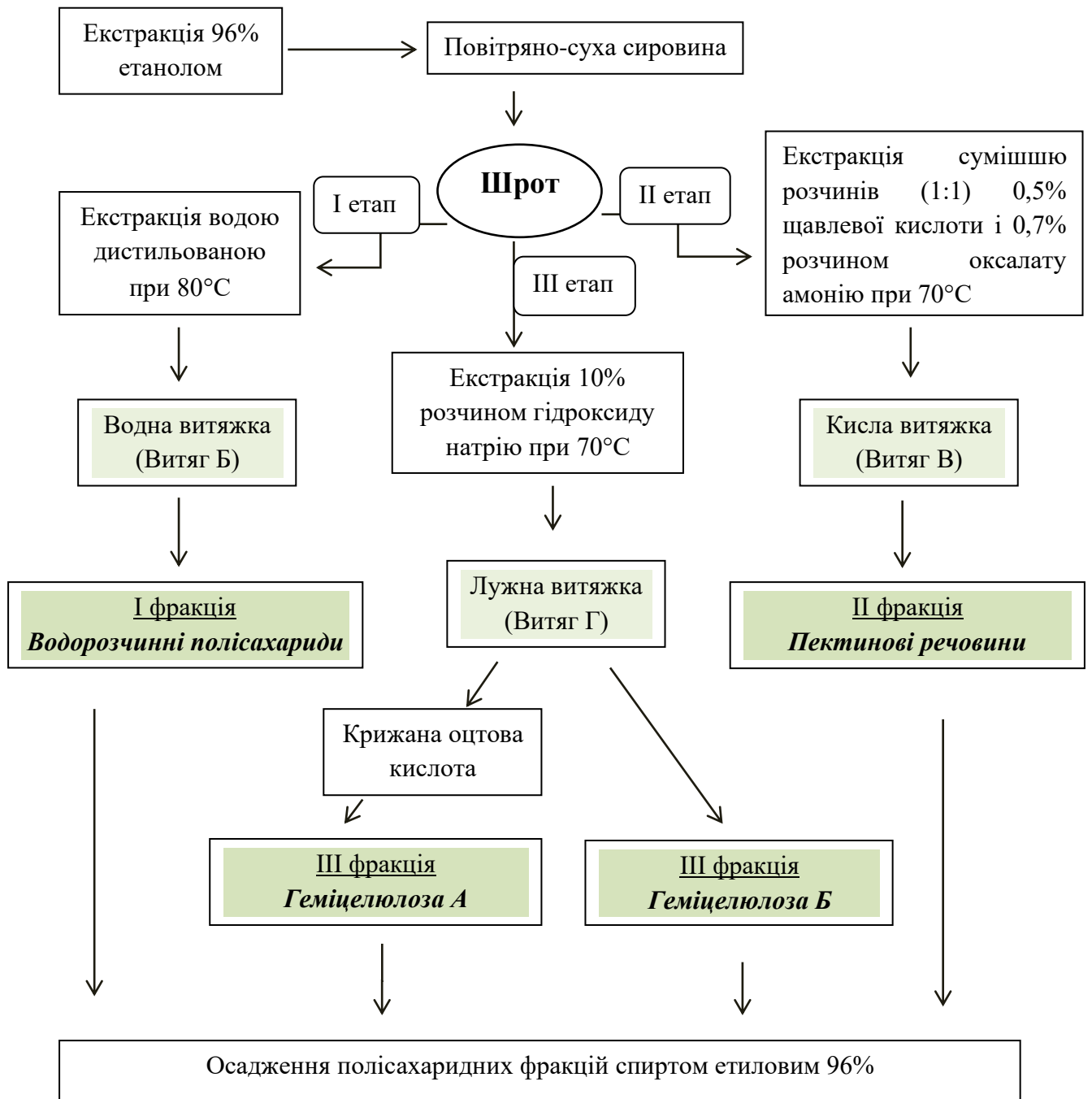


Рис. 3.3. Схема фракційного виділення полісахаридних комплексів з досліджуваної сировини

В результаті проведених досліджень було визначено вміст полісахаридних фракцій у траві а. фенхельного та а. кропиволистого, результати яких відображені в табл. 3.4.

Таблиця 3.4

**Кількісний вміст окремих фракцій полісахаридів у траві агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого, %**

Фракція полісахаридів	Вміст полісахаридних фракцій, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ від маси повітряно-сухої сировини	
	трава а. фенхельного	трава а. кропиволистого
ВРПС	15,08±0,014	14,89 ± 0,009*
ПР	8,89±0,009	9,10 ± 0,009*
ГЦ А	1,35±0,011	1,31 ± 0,009*
ГЦ Б	5,29±0,011	4,68±0,017*

Примітка. n = 5, P = 0,95, \* - (p≤0,05) вірогідність відмінностей порівняно з даними сировини а. фенхельного

За результатами фракціонування було визначено, що вміст полісахаридів у траві обох видів агастахе є досить подібним. Найвищий вміст полісахаридних фракцій трави а. фенхельного та а. кропиволистого припадає на водорозчинні полісахариди і становить 15,08% та 14,89%, відповідно, від маси повітряно-сухої сировини. Дещо менший вміст пектинових речовин, що становить 8,89% та 9,1%, відповідно, та геміцелюлоз Б – 5,29% і 4,68% відповідно, а найменший вміст геміцелюлоз А – 1,35% та 1,31% відповідно.

*Дослідження якісного складу та кількісного вмісту вільних цукрів*

Подальше дослідження вуглеводів у сировині а. фенхельного та а. кропиволистого здійснювали методом ГХ-МС на газовій хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973inert (Agilent technologies, USA) за методикою, що наведена в розділі 2.2, п.12.1.

У додатках В.1 – В.4 наведено хроматографічні профілі вільних та



загальних цукрів трави а. фенхельного та а. кропиволистого.

В результаті дослідження методом ГХ-МС у траві а. фенхельного ідентифіковано 5 вільних моносахаридів – глюкоза, галактоза, сорбоза, фруктоза, рибоза, 2 дисахариди – сахароза, мелібіоза та 1 багатоатомний спирт – інозитол, а в траві а. кропиволистого ідентифіковано 5 вільних моносахаридів – маноза, глюкоза, галактоза, сорбоза, фруктоза, 4 дисахариди – софороза, сахароза, мелібіоза, целобіоза та 1 багатоатомний спирт – інозитол.

Серед загальних цукрів у траві а. фенхельного ідентифіковано 5 моносахаридів – рамноза, арабіноза, маноза, глюкоза, галактоза, 3 багатоатомні спирти – інозитол, манітол, дульцитол. В траві а. кропиволистого ідентифіковано 5 моносахаридів – рамноза, арабіноза, маноза, глюкоза, галактоза, 2 багатоатомні спирти – інозитол та манітол, 2 дисахариди – целобіоза, ламінарибіоза.

Результати кількісного вмісту ідентифікованих сполук наведені в табл. 3.5.

Серед вільних цукрів у траві а. фенхельного та а. кропиволистого за кількісним вмістом значно переважає дисахарид сахароза 4822 мг/100 г і 6287 мг/100 г від маси повітряно сухої сировини, відповідно. Щодо інших сполук, то варто відмітити високий вміст глюкози та інозитолу в сировині а. фенхельного, що складає 1005 мг/100 г і 528 мг/100 г відповідно та а. кропиволистого – 521 мг/100 г та 369 мг/100г відповідно.

Інозитол (вітамін В8) активізує ліпідний обмін, стимулює діяльність головного мозку, покращує концентрацію уваги, стимулює розумову діяльність, знижує стомлюваність мозку, підвищує його здатність до запам'ятовування інформації [189, 190].

Варто відмітити також вміст таких дисахаридів, як софороза, мелібіоза, целобіоза в траві а. кропиволистого, а в траві а. фенхельного – мелібіоза. Вищезазначені сполуки досить рідко представлені у складі БАР лікарської рослинної сировини, що дозволить використовувати їх при стандартизації сировини досліджуваних видів агастахе.

**Кількісний вміст вільних та загальних цукрів і багатоатомних спиртів у траві агастахе фенхельного та кропиволистого**

Назва сполуки	Час утримання, хв	Вміст, мг/100 г від маси повітряно-сухої сировини			
		Агастахе фенхельний		Агастахе кропиволистий	
		вільні цукри	загальні цукри	вільні цукри	загальні цукри
Рамноза	8,76-8,77	-	37	-	41
Арабіноза	9,26	-	34	-	48
Маноза	15,25-15,37	-	60	66	89
Глюкоза	15,67-15,69	1005	1725	521	2012
Галактоза	16,18	45	242	38	296
Рибоза	17,98	22	-	-	-
Сорбоза	17,99	26	-	34	-
Інозитол	18,53-18,55	528	521	369	446
Манітол	18,80	-	27	-	32
Дульцитол	19,16	-	9	-	-
Фруктоза	21,62	136	-	67	-
Мелібіоза	22,83-22,84	31	-	13	-
Целобіоза	22,84	-	-	44	57
Ламінарибіоза	23,51	-	-	-	34
Софороза	23,89	-	-	21	-
Сахароза	34,17-34,18	4822	-	6287	-

Примітка. «-» - речовина відсутня у зразку

### 3.6 Вивчення складу летких сполук на різних стадіях онтогенезу

Дослідження летких сполук проводили методом ГХ-МС на хроматографі Agilent Technologies 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973 inert (Agilent Technologies, США) за методикою, що наведена в розділі 2.2, п.13. Як об'єкти дослідження використовували зразки трави а. фенхельного та а. кропиволистого, заготовлені у фазу РВО і у фазу МЦ.

Отримані хроматограми летких сполук представлені у додатках Д.1 – Д.4.

В результаті хроматографічного розділення у фазу РВО у траві а. фенхельного вивлено 42 сполуки (2 з яких не ідентифіковано), у фазу МЦ – 30 (з яких 1 сполука не ідентифікована), у траві а. кропиволистого – 36 (з яких 3 сполуки не ідентифіковано) та 50 сполук (з яких 1 не ідентифікована) відповідно.

Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту летких сполук у сировині досліджуваних видів агастахе наведено в табл. 3.6.

Таблиця 3.6

#### Якісний склад та кількісний вміст летких сполук у траві агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого в онтогенезі

Назва сполуки	Час утримання, хв	Агастахе фенхельний		Агастахе кропиволистий	
		Фаза РВО	Фаза МЦ	Фаза РВО	Фаза МЦ
		Вміст, % від загальної суми летких сполук		Вміст, % від загальної суми летких сполук	
1	2	3	4	5	6
2-Гептанон	7,15	0,06	-	-	-
Транс- β-оцимен	8,65	-	-	-	0,04
β-Феландрен	10,15	0,1	0,14	0,15	0,19
1-Октен-3-ол	10,41	0,33	-	-	0,98
2-Метил-2-пропенол-1	10,42	-	0,44	0,12	-

1	2	3	4	5	6
3-Октанон	10,70	-	-	-	0,08
$\beta$ -Мірцен	10,86	0,71	0,91	0,75	1,07
1,3,5-триметилен-циклогептан	11,34	-	-	-	0,06
D-Лімонен	12,27	7,96	7,88	18,68	12,21
Бензенацетонітрил	14,61	-	-	0,05	0,17
Ліналоол	15,04-15,06	0,09	0,16	-	0,13
Октен-1-ол ацетат	15,54	0,42	0,26	0,09	0,21
Вербенол	15,77-15,8	0,3	0,40	0,13	0,43
Неідентифікована сполука	16,33	-	0,38	0,11	-
Транс- $\rho$ -2,8-ментадієнол	16,33-16,39	0,28	-	0,11	0,39
Ізоментон	17,03-17,07	10,53	6,10	7,31	6,23
Ментон	17,45-17,6	37,83	26,79	33,85	22,88
Ізопулегон	17,84-17,87	0,59	1,13	0,24	1,03
$\alpha$ -Терпінеол	18,39-18,45	0,08	0,11	-	0,13
Бутилциклопентан-2-он	18,75-18,79	0,14	0,17	-	0,16
Пропілгідрозон-бутаналь	19,24	0,16	-	0,09	0,11
3-метил-2-бутенал	19,4	0,11	-	-	0,05
Пулегон	20,13-20,24	13,11	36,88	9,52	25,19
Піперитон	20,64-20,67	0,3	0,16	0,1	0,24

1	2	3	4	5	6
1,1- Діетилпропаргіламін	21,29	-	-	-	0,04
2-нітро-4-метилфенол	21,87	-	-	-	0,05
Толуєн	22- 22.02	0,29	0,28	0,13	0,26
Бергамотен	22,67- 22.68	0,12	0,12	0,05	0,13
Тріофен	23.30	0,11	0,19	0,12	0,34
2,5,6-триметил-1,3,6- Гептатрієн	23,50- 23.51	0,21	0,13	0,18	0,25
Хроманол-3	23.60- 23,61	0,11	0,34	-	0,33
$\alpha$ -Кубебен	24,78	0,07	-	-	0,03
$\beta$ -Бурбонен	25,08	0,16	-	0,09	0,2
$\beta$ -Елемен	25,31- 25.32	0,29	0,17	0,14	0,24
Жасмон	25.53	-	-	-	0,08
$\beta$ -Каріофілен	26.19- 26,23	4,54	2,97	6,23	5,88
Гермакрен D	26,50	-	-	-	0,03
$\alpha$ - Каріофілен	27,26	0,23	0,14	0,22	0,37
Кубенен	28.12- 28,15	6,89	4,71	5,62	4,56
$\gamma$ -Елемен	28.60- 28,64	6,4	4,37	8,29	6,13
Неідентифікована сполука	28,69	0,11	-	0,12	-
$\alpha$ -Фарнезен	28,91- 28.92	0,47	0,32	0,29	0,8
Каларен	29,11- 29,12	0,12	-	0,1	0,16
$\delta$ -Кадинен	29.39	0,81	0,62	0,84	0,94
Неролідол	30,56	-	-	0,05	0,21

1	2	3	4	5	6
β-Бурбонен	30.93- 30.96	3,87	2,32	4,7	3,7
Каріофілен оксид	31.16- 31.18	0,18	-	0,14	0,38
α-Бісаболен	31,32	-	-	-	0,04
Z- α- цис-бісаболен епоксид	32.71	0,08	-	-	0,1
τ-Мууролол	32.82	0,46	0,41	0,37	0,62
Неідентифікована сполука	32,94	0,09	-	0,06	0,14
α-Кадинол	33.17- 33.18	1,00	0,99	0,93	1,17
Біцикло[6.1.0]нонен-1	34,05	-	-	-	0,05
Фітол	44.55	0,08	-	0,14	0,68
Нонадекан	50.87	0,06	-	-	-
Октакозан	52.81	0,18	0,14	-	-

Примітка. «-» - речовина відсутня у зразку

Як видно з представлених результатів, серед ідентифікованих сполук у обох досліджуваних видів найбільшу частку складають: монотерпеноїди ментон (а. фенхельний у фазу РВО – 37,83% , у фазу МЦ – 26,79%; а. кропиволистий у фазу РВО – 33,85%, у фазу МЦ – 22,88%), пулегон (а. фенхельний у фазу РВО – 13,11%, у фазу МЦ – 36,88%; а. кропиволистий у фазу РВО – 9,52%, у фазу МЦ – 25,19%), ізоментон (а. фенхельний у фазу РВО – 10,53%, у фазу МЦ – 6,1%; а. кропиволистий у фазу РВО – 7,31%, у фазу МЦ – 6,23%), монотерпен лімонен (а. фенхельний у фазу РВО – 7,96%, у фазу МЦ – 7,88%; а. кропиволистий у фазу РВО – 18,68%, у фазу МЦ – 12,21%), сесквітерпенові сполуки – кубенен (а. фенхельний у фазу РВО – 6,89%, у фазу МЦ – 4,71%; а. кропиволистий у фазу РВО – 5,62%, у фазу МЦ – 4,56%), γ-елемен (а. фенхельний у фазу РВО – 6,4%, у фазу МЦ – 4,37%; а.

кропиволистий у фазу РВО – 8,29%, у фазу МЦ – 6,13%),  $\beta$ -каріофілен (а. фенхельний у фазу РВО – 5,54%, у фазу МЦ – 2,97%; а. кропиволистий у фазу РВО – 6,23%, у фазу МЦ – 5,88%),  $\beta$ -бурбонен (а. фенхельний у фазу РВО – 3,87%, у фазу МЦ – 2,32%; а. кропиволистий у фазу РВО – 4,7%, у фазу МЦ – 3,7%). Всі інші сполуки мають значно менший та подекуди незначний вміст.

Високий вміст ментону, ізоментону, пулегону, а також лімонену дозволяє віднести досліджувані нами види агастахе, що були інтродуковані в Україні, до ментон-пулегонового хемотипу [191, 192].

В результаті дослідження виявлено залежність накопичення мажоритарних компонентів леткої фракції, що містяться в траві а. фенхельного та а. кропиволистого, від фази розвитку рослин, яка відображена на рис. 3.4, 3.5. Зокрема, відзначається зменшення кількості ментону, ізоментону, лімонену в зразках трави обох видів агастахе, зібраних у фазу МЦ, і значне збільшення кількості пулегону в порівнянні з фазою РВО.

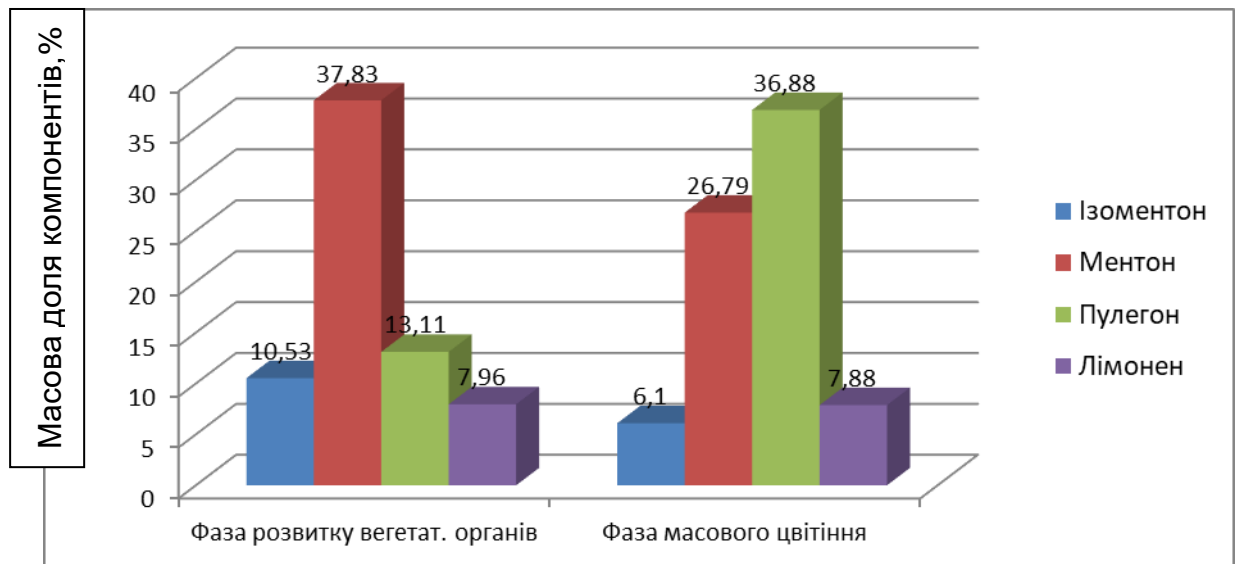


Рис. 3.4. Вміст мажоритарних терпеноїдів у траві агастахе фенхельного в залежності від фази онтогенезу

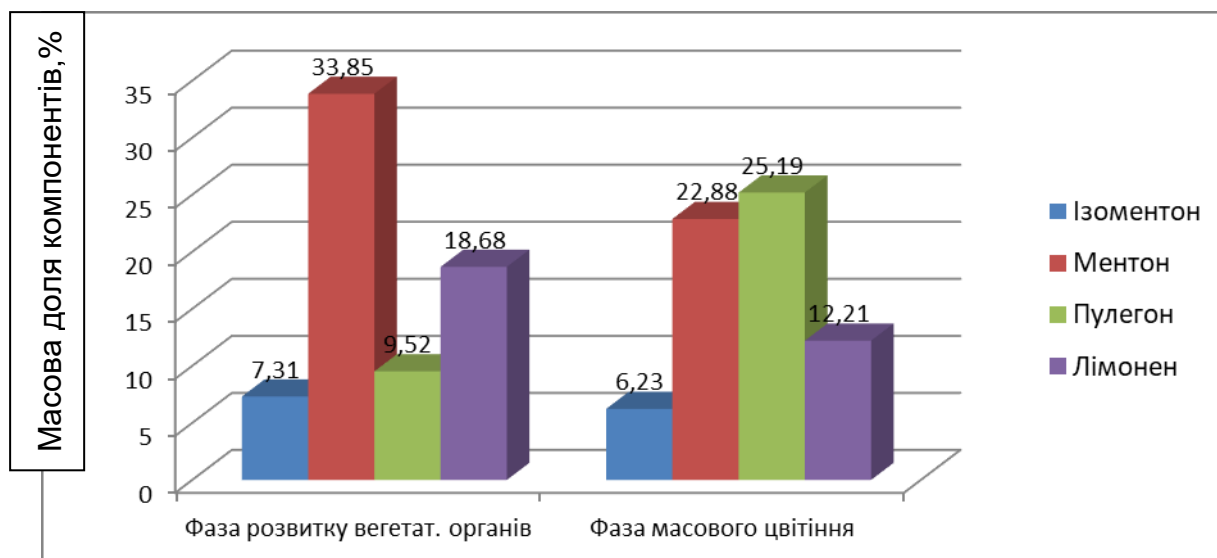


Рис. 3.5. Вміст мажоритарних терпеноїдів у траві агастахе кропиволистого в залежності від фази онтогенезу

Таким чином, використання сировини, заготовленої в певну фазу, дає можливість отримати ЛРС необхідної фармакотерапевтичної дії.

Згідно сучасних фармакологічних досліджень, пулегон проявляє антибактеріальну, протигрибкову та інсектицидну дію. Проте, на думку індійських та американських вчених [101, 193], при внутрішньому застосуванні в великих дозах та при частому застосуванні, він виявляє гепатотоксичну, нейротоксичну та абортивну дію, тому сировину та субстанції, що містять пулегон, можливо рекомендувати тільки для зовнішнього застосування.

Ментон – це спазмолітик, має подразнюючу, знеболюючу дію. Ментон використовують в ароматерапії, парфумерії, пулегон – для отримання ментолу [192, 194].

### 3.7 Встановлення якісного складу та кількісного вмісту поліфенольних сполук методом ВЕРХ

Поліфенольні сполуки – речовини вторинного синтезу, є однією з найцінніших груп БАР, які містяться у рослинах, адже вони проявляють



протизапальну, антиоксидантну, репаративну, протівірусну, антисклеротичну, гіпоглікемічну, гепатопротекторну, спазмолітину активність [195, 196].

Дослідження поліфенольного складу проводили методом ВЕРХ за методикою, яка наведена в розділі 2.2, п. 14.1.

В результаті проведеного дослідження в траві а. фенхельного було ідентифіковано 7 флавонів та флавонолів (апігенін, рутин, лютеолін, кверцетин, кверцетин-3-D-глікозид, кемпферол, гіперозид), 1 кумарин (скополетин), 4 катехіни (катехін, епікатехін, епігалокатехін, епікатехінгалат), 2 фенольні кислоти (галова та елагова), 5 гідроксикоричних кислот (розмаринова, хлорогенова, кофейна, *n*-кумарова, ферулова).

Хроматографічні профілі флавоноїдів та кумаринів, катехінів та фенольних кислот, гідроксикоричних кислот наведено на рис. 3.6-3.8, відповідно, кількісний вміст ідентифікованих сполук - в табл. 3.7.

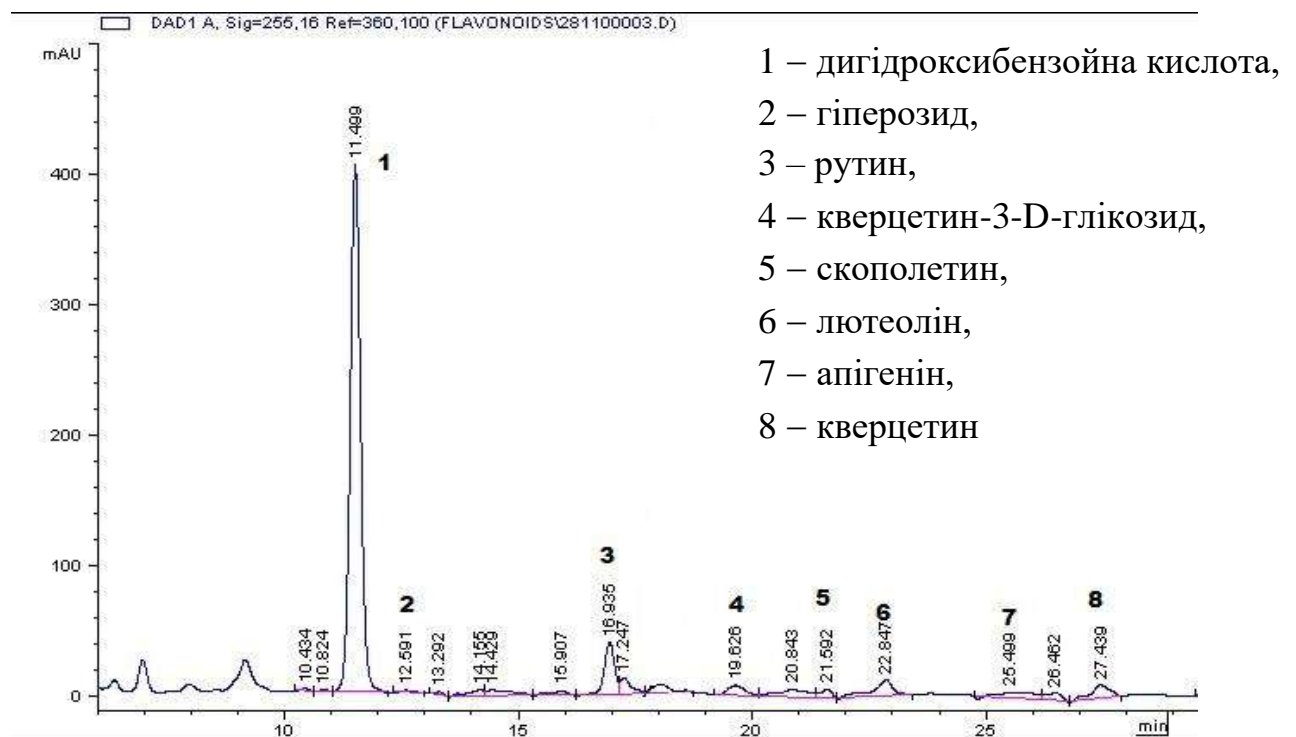


Рис. 3.6. Хроматограма флавоноїдів і кумаринів трави агастахе фенхельного

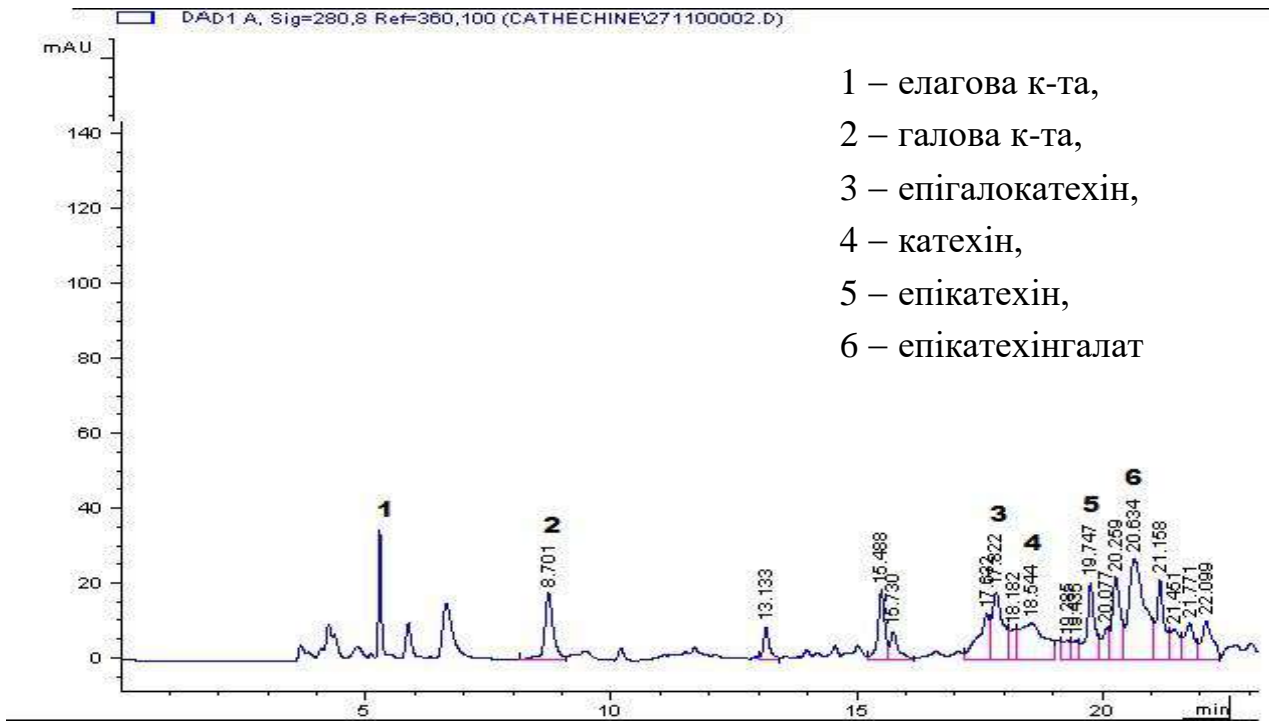


Рис 3.7. Хроматограма фенольних кислот та катехінів трави агастахе фенхельного

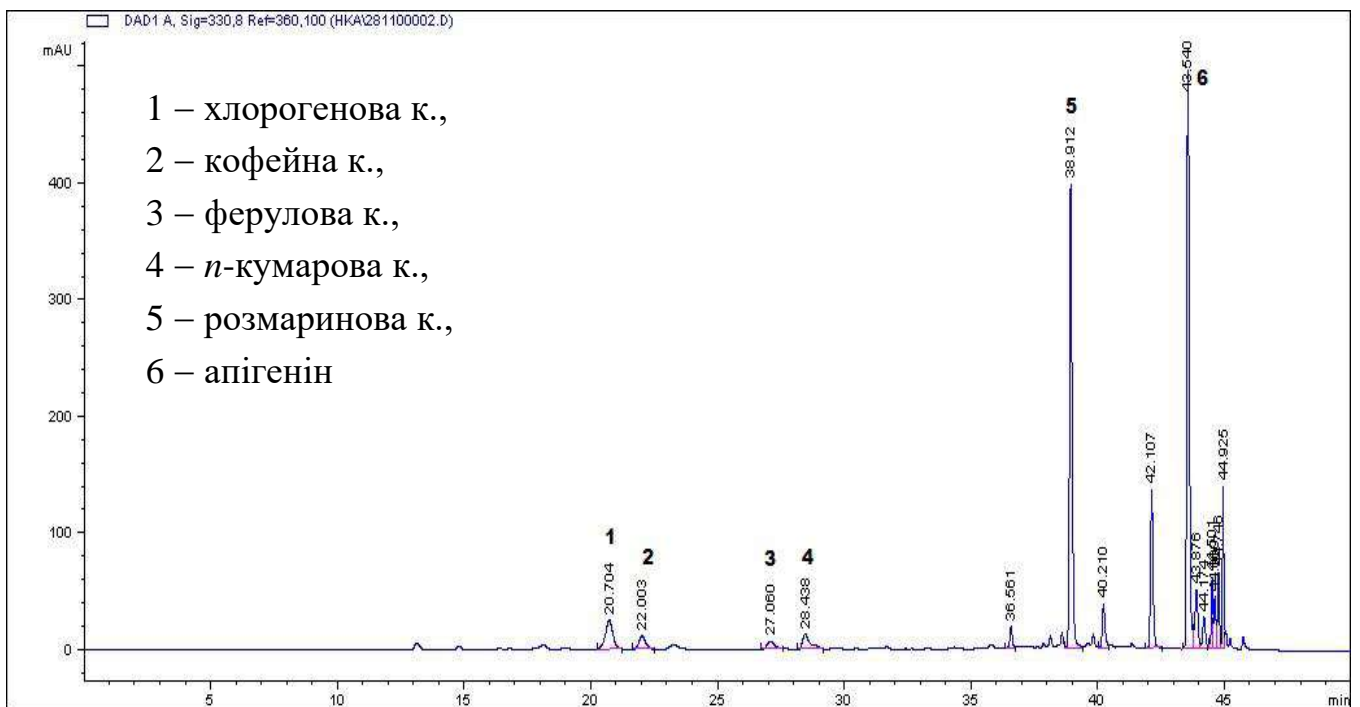


Рис 3.8. Хроматограма гідроксикоричних кислот та апігеніну трави агастахе фенхельного

## Вміст поліфенольних сполук у траві агастахе фенхельного

Час утримання, хв	Назва сполуки	Кількісний вміст, мг/100 г від маси абсолютно-сухої сировини
Флавоноїди і кумарини		
12,591	Гіперозид	7,7
16,935	Рутин	633,1
19,626	Кверцетин-3-D-глікозид	97,3
21,777	Скополетин	82,1
22,847	Лютеолін	133,8
27,439	Кверцетин	180,1
42,963	Кемпферол	30,8
43,54	Апігенін	1185,0
Катехіни		
17,632	Епігалокатехін	1411,7
18,544	Катехін	243,6
19,747	Епікатехін	165,4
20,634	Епікатехінгалат	149,5
Фенолкарбонові кислоти		
5,261	Елагова кислота	29,4
8,701	Галова кислота	30,7
11,499	Дигідроксибензойна кислота *	2728,0
20,704	Хлорогенова кислота	239,5
22,003	Кофейна кислота	60,8
27,07	Ферулова кислота	33,4
28,438	<i>n</i> -кумарова кислота	51,3

Примітка. \* за результатами дослідження, за хроматографічною характеристикою (часом утримання), з великою долею вірогідності можна

припустити, що, дана сполука належить до класу дигідроксибензойних кислот, зокрема являється кислотою пірокатеховою чи ваніліною

Як видно з представлених даних, серед сполук поліфенольної природи у траві а. фенхельного за кількісним вмістом переважає епігалокатехін (1411,7 мг/100 г), апігенін (1185 мг/100 г) та розмаринова кислота (1179,1 мг/100 г), дещо менший вміст рутину (633,1 мг/100 г), катехіну (243,6 мг/100 г), хлорогенової кислоти (239,5 мг/100 г).

На основі отриманих результатів поліфенольного складу трави а. фенхельного, ми можемо припустити, що дана сировина володіє широким спектром потенційної біологічної активності. Зокрема, високий вміст розмаринової кислоти може зумовлювати прояв протизапальної, антиоксидантної, гепато-протекторної, антипроліферативної, протівірусної, протипухлинної дії; епігалокатехіну – вираженої в'язучої, антиоксидантної, протизапальної, протівірусної та протипухлинної дії, апігеніну – протівірусної, протизапальної, спазмолітичної дії [196, 198, 199].

### 3.8 Вивчення динаміки накопичення сполук поліфенольної природи у сировині досліджуваних видів

Кількісне визначення суми поліфенольних сполук у перерахунку на пірогалол та повітряно-суху сировину у відсотках проводили за методикою ДФУ (розділ 2.2, п. 14.2) методом спектрофотометрії при 760 нм на спектрофотометрі ULAB 108UV [146, 154].

Кількісний вміст суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту в сировині досліджуваних рослин визначали спектрофотометрично за методикою, наведеною в підрозд. 2.2, п.14.4.

Кількісний вміст суми флавоноїдів проводили спектрофотометричним методом за методикою, наведеною в підрозд. 2.2, п. 14.5.

Отриманий в ході дослідження УФ-спектр поглинання досліджуваних екстрактів з алюмінію хлоридом має максимум поглинання при  $400 \pm 2$  нм, що відповідає УФ-спектру поглинання комплексної сполуки лютеоліну з даним реактивом. Тому розрахунок загального вмісту флавоноїдів ми проводили у перерахунку на лютеолін.

Дослідження вмісту проціанідинів проводили модифікованим методом Портера [156], в основі якого лежить кислотне розщеплення проціанідинів до антоціанідинів у присутності каталізатора (іонів  $Fe^{3+}$ ).

Отримані результати наведені в табл. 3.8.

Таблиця 3.8

**Кількісний вміст сполук поліфенольної природи у сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого в онтогенезі**

Об'єкт дослідження Клас сполук	Вміст, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ від маси повітряно-сухої сировини			
	Агастахе фенхельний		Агастахе кропиволистий	
	Фаза РВО	Фаза МЦ	Фаза РВО	Фаза МЦ
Поліфеноли	$5,99 \pm 0,05$	$9,48 \pm 0,07$	$5,83 \pm 0,05^*$	$9,41 \pm 0,05^{\delta}$
ГКК	$28,32 \pm 0,13$	$27,76 \pm 0,13$	$28,36 \pm 0,13^{\#}$	$26,29 \pm 0,21^{\wedge}$
Флавоноїди	$2,22 \pm 0,025$	$2,31 \pm 0,002$	$2,14 \pm 0,04^{\#}$	$2,25 \pm 0,002^{\wedge}$
Проціанідини	$4,82 \pm 0,001$	$5,29 \pm 0,001$	$4,53 \pm 0,001^*$	$5,00 \pm 0,001^{\wedge}$

Примітка.  $n = 5$ ,  $P=0,95$ , \* - ( $p \leq 0,05$ ) вірогідність відмінностей порівняно з а. фенхельним у стадії РВО, # - ( $p \geq 0,05$ ) вірогідність відмінностей порівняно з а. фенхельним у стадії РВО,  $\wedge$  - ( $p \leq 0,05$ ) вірогідність відмінностей порівняно з а. фенхельним у стадії МЦ,  $\delta$  - ( $p \geq 0,05$ ) вірогідність відмінностей порівняно з а. а. фенхельним у стадії МЦ

Як видно з отриманих даних, найвищий вміст суми фенольних сполук у перерахунку на пірогалол спостерігається у траві а. фенхельного та а.

кропиволистого у фазу МЦ – 9,48% та 9,41% від маси повітряно-сухої сировини, відповідно. У фазу РВО він майже вдвічі менший – 5,99% та 5,83%.

Вміст суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту у траві а. фенхельного та а. кропиволистого є досить високим і протягом вегетаційного періоду змінюється незначно (дещо вищий у фазу МЦ – у траві а. фенхельного на 0,56% більший, а у траві а. кропиволистого – на 2,07%).

Вміст флавоноїдів у перерахунку на лютеолін у траві досліджених видів роду *Agastache* протягом вегетаційного періоду змінюється незначно, і незначно зростає у фазу МЦ.

Також відмічено дещо вищий вміст проціанідинів у траві а. фенхельного та а. кропиволистого у фазу МЦ порівняно з фазою РВО (в траві а. фенхельного – на 0,47% більше, в траві а. кропиволистого – на 0,47%).

Таким чином, враховуючи отримані дані кількісного вмісту сполук поліфенольної природи у сировині досліджуваних видів, можна рекомендувати збір сировини для отримання субстанцій, що містять дані поліфенольні сполуки (ГКК і флавоноїди), протягом усього періоду вегетації.

Вивчення динаміки накопичення основних груп БАР має важливе значення для визначення оптимальних термінів заготівлі сировини, адже при цьому враховуються біологічні особливості розвитку лікарської рослини.

Результати дослідження динаміки накопичення суми поліфенольних сполук, ГКК, флавоноїдів та проціанідинів у траві а. фенхельного та а. кропиволистого наведені на рис. 3.9-3.10.

Аналіз отриманих даних показав, що в онтогенезі вміст основних груп БАР поліфенольної природи у сировині досліджуваних нами видів роду *Agastache* змінюється незначно. Сумарний кількісний вміст поліфенольних сполук для обох видів агастахе є більшим у фенофазу МЦ, тоді як вміст флавоноїдів та проціанідинів майже не змінюється, а вміст ГКК у фенофазу МЦ, навпаки, дещо знижується (у траві а. фенхельного на 0,56%, у траві а. кропиволистого – на 2,07%).

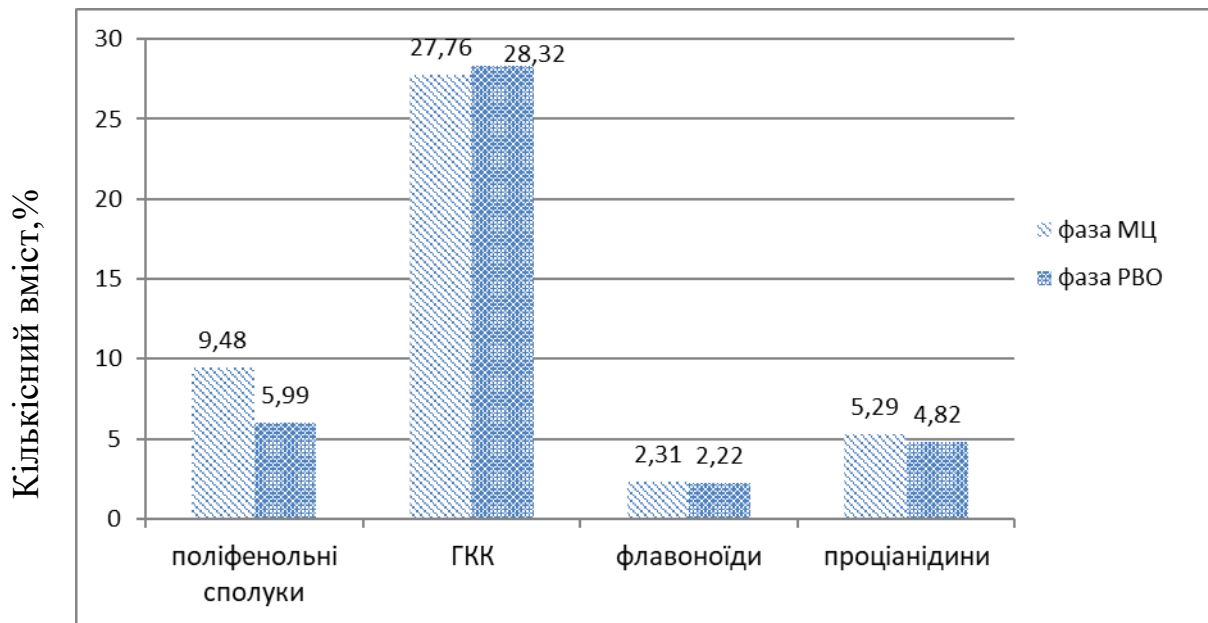


Рис. 3.9. Залежність вмісту біологічно активних речовин у сировині агастахе фенхельного від фази вегетації

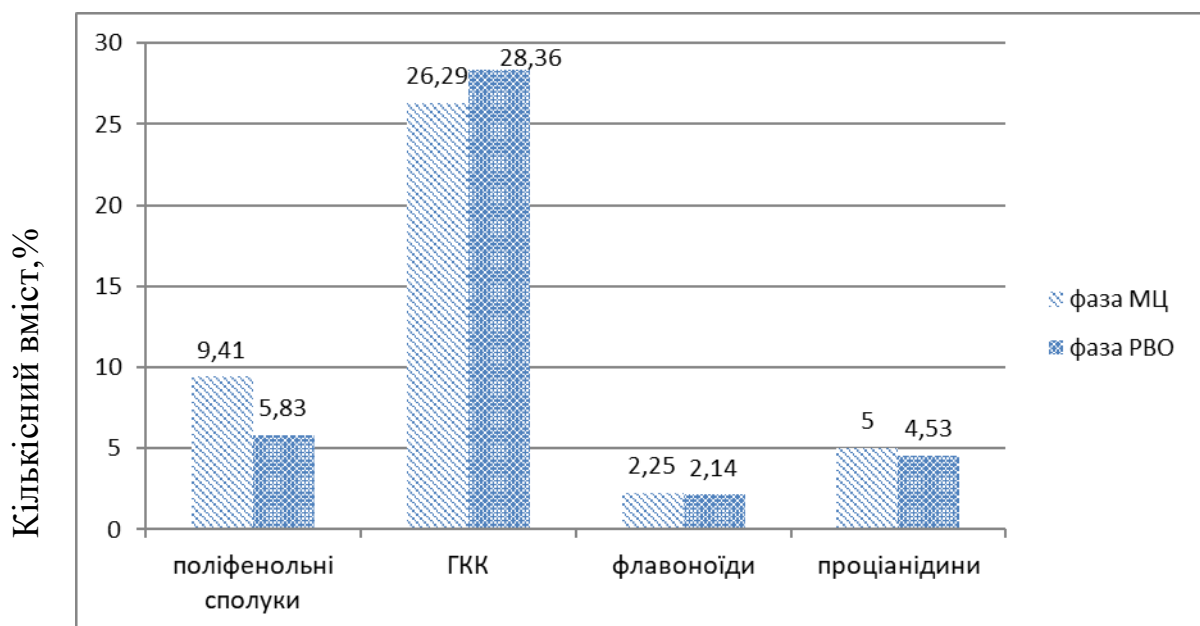


Рис. 3.10. Залежність вмісту біологічно активних речовин у сировині агастахе кропиволистого від фази вегетації

Вочевидь, в фазу МЦ в сировині зростає вміст дубильних речовин і простих фенолів, що і дає в результаті підвищення сумарного кількісного вмісту поліфенольних сполук).

Тому для отримання субстанцій з високим вмістом суми поліфенольних сполук оптимальним терміном заготівлі сировини а. фенхельного та а. кропиволистого є фенофаза масового цвітіння, тоді як для одержання субстанцій з високим вмістом ГКК, флавоноїдів та проціанідинів сировина може бути зібрана протягом усього вегетаційного періоду.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в публікаціях [44, 137, 142, 200 - 211].

## ВИСНОВКИ

1. Методом РФА досліджено якісний склад та кількісний вміст макро- та мікроелементів трави а. фенхельного та а. кропиволистого в порівнянні з макро- та мікроелементним складом ґрунту. Встановлено, що обидва види схожі за мінеральним складом, але а. фенхельний містить значно більше сірки, достовірно більше кальцію і менше кобальту порівняно з а. кропиволистим. Окрім того, а. кропиволистий містить значну кількість нікелю та барію, які не представлені в мінеральному складі а. фенхельного.

Варто зазначити, що склад ґрунту істотно впливає на мінеральний склад трави агастахе, тому, враховуючи, що рослини цих видів здатні накопичувати цінні для людини мінеральні елементи, можна за рахунок відповідного коригування складу ґрунту досягти бажаного збагачення сировини.

2. Досліджено якісний склад і кількісний вміст зв'язаних у складі білка та вільних амінокислот у траві а. фенхельного та а. кропиволистого методом ВЕРХ. У траві обох досліджених видів агастахе ідентифіковано 15 вільних та 16 зв'язаних амінокислот, 7 з яких є незамінними. Встановлено, що амінокислотний склад обох видів агастахе у фазі масового цвітіння є подібним, проте кількісний вміст вільних та зв'язаних амінокислот в сировині а. фенхельного вищий, ніж в сировині а. кропиволистого. Домінуючими амінокислотами сировини обох досліджених видів агастахе є пролін (а.



фенхельний – 14,7 мг/100 г; а. кропиволистий – 13,9 мг/100 г), аргінін (а. фенхельний – 6,4 мг/100 г; а. кропиволистий – 1,5 мг/100 г), глютамінова кислота (а. фенхельний – 5,4 мг/100 г; а. кропиволистий – 1,6 мг/100 г), аспарагінова кислота (а. фенхельний – 3,5 мг/100 г; а. кропиволистий – 1 мг/100 г) та аланін (а. фенхельний – 2,8 мг/100 г; а. кропиволистий – 1,5 мг/100 г).

3. Вперше було досліджено жирнокислотний склад трави а. фенхельного та а. кропиволистого методом ГХ-МС. Встановлено, що обидва види агастахе подібні за жирнокислотним складом. В ліпофільному комплексі трави а. фенхельного та а. кропиволистого домінують поліненасичені  $\alpha$ -ліноленова (69,2 мг/100г та 49,5 мг/100г, відповідно) та ліолева кислоти (22,9 мг/100г та 16,8 мг/100г, відповідно). Серед насичених жирних кислот для обох видів найвищий вміст характерний для пальмітинової кислоти (42,1 мг/100г та 26,9 мг/100г, відповідно).

4. Вперше визначено вміст полісахаридів та їх окремих фракцій у траві а. фенхельного та а. кропиволистого. Встановлено, що цей вміст у траві обох видів є досить подібним. Переважаючими фракціями полісахаридного комплексу є ВРПС, дещо меншим є вміст ПР і ГЦ Б, а найменшим – ГЦ А.

5. Вперше методом ГХ-МС було визначено вміст моно- та дисахаридів в траві а. фенхельного та а. кропиволистого. В результаті проведених досліджень встановлено, що в а. фенхельного за кількісним вмістом переважають сахароза (4822 мг/100г від маси повітряно сухої сировини, відповідно), глюкоза (1005 мг/100г), інозитол (528 мг/100г) та фруктоза (136 мг/100г), а в траві а. кропиволистого – сахароза (6287 мг/100г), глюкоза (521 мг/100г), інозитол (369 мг/100г).

6. Методом ГХ-МС визначено склад летких сполук трави а. фенхельного та а. кропиволистого в процесі онтогенезу при інтродукції в Україні (м. Київ). У траві а. фенхельного та а. кропиволистого, заготовлених у фазу РВО, ідентифіковано 42 та 36 летких сполук, у фазу МЦ – 30 та 50 відповідно, визначено їх відсотковий вміст.

Встановлено, що домінуючими компонентами трави досліджуваних видів, незалежно від фази онтогенезу, є ментон, ізоментон, пулегон, D-лімонен. У менших кількостях представлені кубенен,  $\gamma$ -елемен,  $\beta$ -каріофілен,  $\beta$ -бурбонен. В процесі онтогенезу вміст летких сполук змінюється, а саме: вміст пулегону істотно збільшується у фазу МЦ (у 2,8 раз у а. фенхельного та у 2,64 рази у а. кропиволистого) в порівнянні з фазою РВО.

7. Досліджено поліфенольний склад трави а. фенхельного методом ВЕРХ. В результаті проведеного дослідження в траві а. фенхельного було ідентифіковано 7 флавонів та флавонолів (апигенін, рутин, лютеолін, кверцетин, кверцетин-3-D-глікозид, кемпферол, гіперозид), 1 кумарин (скополетин), 4 катехіни (катехін, епікатехін, епігалокатехін, епікатехінгалат), 2 фенольні кислоти (галова та елагова), 5 гідроксикоричних кислот (розмаринова, хлорогенова, кофейна, *n*-кумарова, ферулова). Встановлено, що серед ідентифікованих сполук за кількісним вмістом переважають: епігалокатехін (1411,7 мг/100 г), апигенін (1185 мг/100 г) та розмаринова кислота (1179,1 мг/100 г), дещо менший вміст рутину (633,1 мг/100 г), катехіну (243,6 мг/100 г), хлорогенової кислоти (239,5 мг/100 г).

8. Спектрофотометрично досліджено динаміку накопичення сполук поліфенольної природи у сировині досліджуваних видів.

Аналіз отриманих даних показав, що в онтогенезі вміст основних груп БАР поліфенольної природи у сировині а. фенхельного та а. кропиволистого змінюється незначно. Сумарний кількісний вміст поліфенольних сполук для обох видів агастахе є більшим у фазу МЦ, тоді як вміст флавоноїдів та проціанідинів майже не змінюється, а вміст ГКК у фазу МЦ, навпаки, дещо знижується (у траві а. фенхельного на 0,56%, у траві а. кропиволистого – на 2,07%). Вочевидь, у фазу МЦ в сировині зростає вміст дубильних речовин і простих фенолів, що і дає в результаті підвищення сумарного кількісного вмісту поліфенольних сполук.

Тому для отримання субстанцій з високим вмістом суми поліфенольних сполук оптимальним терміном заготівлі сировини а. фенхельного та а.

кропиволистого є фаза МЦ, тоді як для одержання субстанцій з високим вмістом ГКК, флавоноїдів та проціанідинів сировина може бути зібрана протягом усього вегетаційного періоду.

## РОЗДІЛ 4

СТАНДАРТИЗАЦІЯ СИРОВИНИ ТА РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ОДЕРЖАННЯ  
ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ НА ЇЇ ОСНОВІ4.1 Порівняльний макроскопічний аналіз трави деяких видів роду *Agastache*

Агастахе фенхельний – *Agastache foeniculum* (Pursch) Kuntze – багаторічний, короткочореневищний полікарпик, 60-90 см заввишки. Пагони прямостоячі, мало розгалужені біля основи, 4-гранні, розсіяно опушені, 0,1–0,4 см у діаметрі, світло-зелені. Міжвузля – 4–7 см завдовжки [114].

Листки супротивні, з довгим (1–3 см завдовжки) черешком. Листкові пластинки яйцеподібні, довгасто-серцеподібні або серцеподібні, з відтягнутою загостреною верхівкою та зубчастим краєм, 4–6 см завдовжки, 3–5 см завширшки; з адаксіального боку розсіяно-опушені або майже голі, яскраво-зелені; з абаксіального боку більш рясно опушені, іноді досить густо опушені притиснутими білими трихомами, сірувато-зелені (рис. 4.1 А).

Суцвіття – щільний, довгастий, колосоподібний тирс, 3–13 см завдовжки, 2–3 см завширшки. Чашечка трубчасто-дзвоникоподібна, 0,1–0,2 см завширшки, 0,5–0,8 см завдовжки, на верхівці зубчаста, з 15 помітними жилками, бузкового або фіолетового кольору. Зубці чашечки шилоподібні, вузько-ланцетні, 0,15–0,2 см завдовжки. Віночок двогубий, 0,6–0,75 см завдовжки, блакитний, бузково-ліловий, тичинки виступають назовні з трубки віночка. Бічні цимоїдні елементарні суцвіття нараховують від 9 до 23 квіток, складають складну систему численних дихазіїв із вкороченими міжвузлями бічних осей. Запах приємний – м'ятно-анісовий, пряний. Смак в'яжучий, з солодким після смаком.

Плід – ценобій, мерикарпії – горішкоподібні, еліптичні (0,18–0,2 см завдовжки), темно-коричневі, опушені (рис. 4.2).

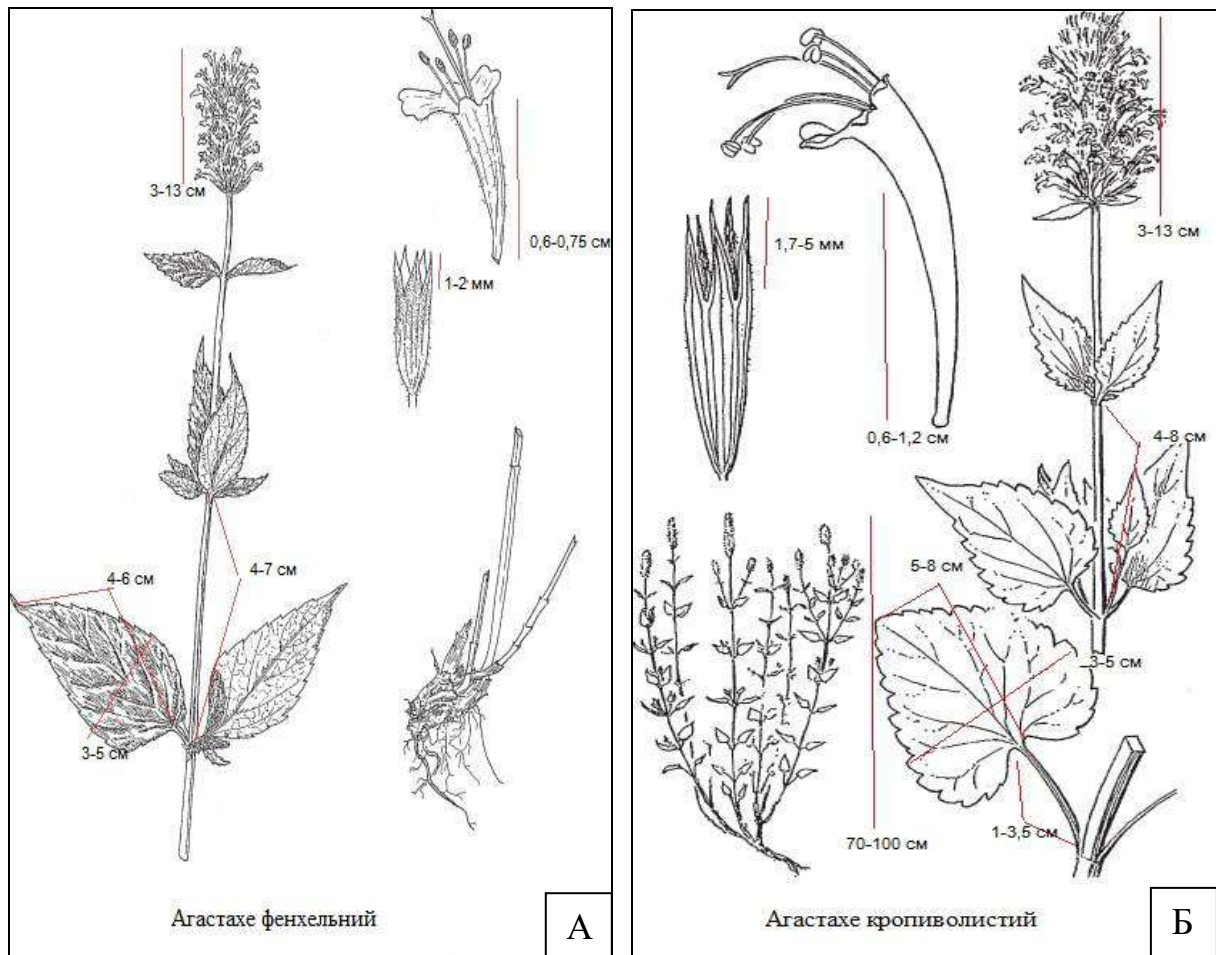


Рис. 4.1. *Agastache foeniculum* (А) та *Agastache urticifolia* (Б) (фото Douglas, G.W., 1999, зі змінами)



Рис. 4.2. Мерикарпій *Agastache foeniculum*

*Агастахе кропиволистий* – *Agastache urticifolia* (Benth.) Kuntze – багаторічний, короткочореневищний полікарпик, 70–100 см заввишки. Пагони прямостоячі, сильно розгалужені від основи, 4-гранні, розсіяно опушені, 0,1–0,4 см у діаметрі, зелені. Міжвузля – 4–8 см завдовжки.

Листки супротивні, з довгим черешком 1–3,5 см завдовжки. Листкові

пластинки яйцеподібні, довгасто-яйцеподібні, довгасто-серцеподібні або серцеподібні, з відтягнутою загостреною верхівкою та зубчастим краєм, 5–8 см завдовжки, 3–5 см завширшки; з адаксіального боку розсіяно-опушені, темно-зелені; з абаксіального боку опушені більш рясно, сірувато-зелені.

Суцвіття – щільний, довгастий, колосоподібний тирс, 3–13 см завдовжки, 2–3 см завширшки. Чашечка трубчасто-дзвоникоподібна, 0,1–0,2 см завширшки, 0,5–0,8 см завдовжки, на верхівці зубчаста, з 3 помітними жилками, світло-зеленого кольору. Зубці чашечки вузько-трикутні, загострені, 0,17–0,5 см завдовжки. Віночок двогубий, 0,6–1,2 см завдовжки, від рожево-фіолетового до білуватого, тичинки виступають назовні з трубки віночка. Бічні цимоїдні елементарні суцвіття нараховують від 9 до 30 квіток (рис. 4.1 Б). Запах приємний – м'ятно-анісовий, пряний. Смак в'яжучий, з солодким після смаком.

Горішкоподібні мерикарпії еліптичні (0,18–0,2 см завдовжки), темно-коричневі, опушені.

При співставленні основних морфологічних ознак досліджених видів *Agastache*, можна виділити наступні діагностичні відмітні ознаки, характерні для кожного виду (табл.4.1).

Таблиця 4.1

### Основні морфологічні відмітні діагностичні ознаки

#### *A. foeniculum* та *A. urticifolia*

Діагностичні ознаки	<i>A. foeniculum</i>	<i>A. urticifolia</i>
Довжина зубців чашечки	1–2 мм	1,7–5 мм
Характер опушення нижньої поверхні листових пластинок	Густе, притиснуте біло-повстисте	Відсутність або слабке опушення
Кількість жилок чашечки	15	3
Колір віночка та розмір його трубки	Блакитний, пурпурово-ліловий, трубка 6,5–7,5 мм	Від рожево-фіолетового до білуватого, трубка 3–12 мм

#### 4.2 Порівняльний мікроскопічний аналіз трави деяких видів роду *Agastache*

Проведено аналіз анатомічних показників листків, черешків та стебел *A. foeniculum* та *A. urticifolia* у ювенільній та генеративній стадіях онтогенетичного розвитку та пелюсток у генеративних особин [114].

*Листки A. foeniculum* та *A. urticifolia* дорсовентральні, гіпостоматичні. З адаксіального боку основні клітини епідерми мають розпластану проекцію та звивисті обриси, розпластану проекцію та крупно-хвилясті обриси - з абаксіального. Площа епідермальних клітин достовірно не змінюється у рослин різного віку, проте з абаксіального боку є тенденція до зменшення їх розмірів та зменшення кількості продихів на одиницю площі, що пов'язано з ростом листової пластинки у обох видів при переході рослини до генеративного стану та збільшенням кількості епідермальних клітин на одиницю площі (табл. 4.2).

Продихи аномоцитного типу, оточені 2-5 клітинами, їхні розміри достовірно не відрізняються у досліджуваних видів. Продиховий індекс більший у *A. foeniculum* порівняно з *A. urticifolia*. На поверхні листової пластинки розміщені прості одноклітинні (переважно з адаксіального боку) та 2-4 клітинні трихоми (з абаксіального боку). У *A. foeniculum* прості трихоми з абаксіального боку є 1-2-клітинними, меншими за довжиною (табл. 4.3), розміщені рівномірно по листовій пластинці (рис. 4.3 А-В 2). У *A. urticifolia* такі трихоми представлені в малій кількості переважно в області жилок, 2-4 клітинні є довшими (рис. 4.3 Г-Е 2).

Епідерма обох видів *Agastache* вкрита залозистими трихомами двох типів. З обох боків листка *A. foeniculum* зустрічаються залозисті трихоми з двоклітинною ніжкою та двоклітинною голівкою (рис. 4.3. А-В 8), з абаксіального боку таких трихом значно більше. У *A. urticifolia* з адаксіального боку залозисті трихоми взагалі відсутні (табл.4.2, рис. 4.3 Г-Е 8). Крім того, у досліджених видів з абаксіального боку наявні 8-клітинні ефіроолійні майже сидячі залозисті трихоми (рис. 4.3 А-Е 7). Кількість залозистих та незалозистих



трихом у *A. foeniculum* втричі більша, а кількість ефіроолійних сидячих залозистих трихом на 60% більша за такі у *A. urticifolia* (табл. 4.2).

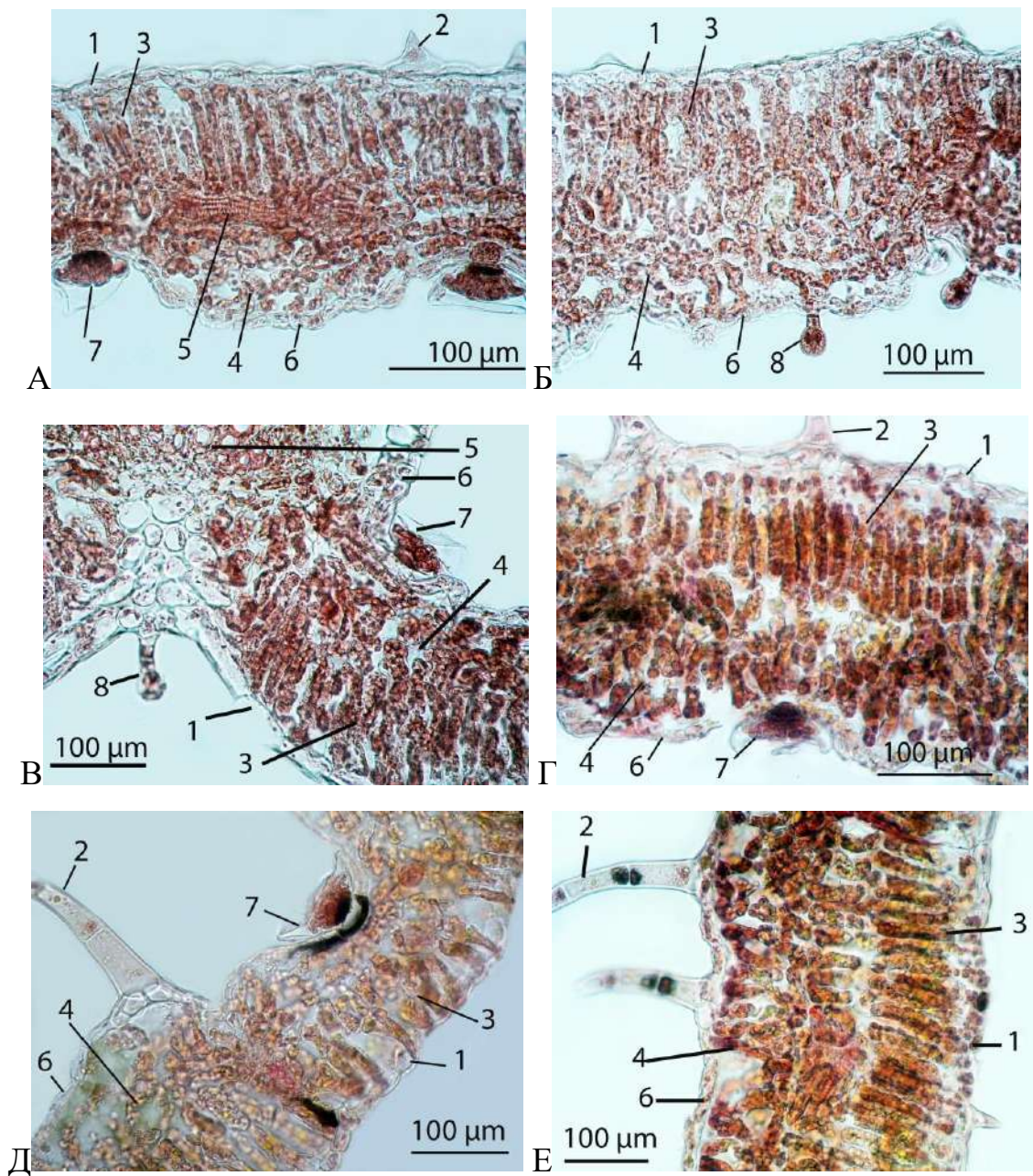


Рис. 4.3. Мікрофотографії поперечного перерізу листків ювенільних особин *A. foeniculum* (А, Б), *A. urticifolia* (Г, Д) та генеративних особин *A. foeniculum* (В), *A. urticifolia* (Е). 1 – адаксіальна епідерма, 2 – незалозиста трихома, 3 – стовпчаста паренхіма, 4 – губчаста паренхіма, 5 – провідний пучок, 6 – абаксіальна епідерма, 7 – ефіроолійні залозисті трихоми, 8 – залозисті трихоми з 2-клітинною голівкою



Встановлено, що листки ювенільних особин обох досліджуваних видів характеризуються більшою кількістю простих та залозистих трихом у порівнянні із генеративними особинами (табл. 4.2).

Листкові пластинки вкриті одношаровою епідермою та кутикулою. Потовщення епідерми листків в ході онтогенезу спостерігається у особин обох видів. У рослин *A. urticifolia* епідерма товща, ніж у *A. foeniculum*.

Стовпчаста паренхіма листкової пластинки складається з двох шарів клітин прямокутної форми. Потовщення листка в ході росту рослини відбувається за рахунок стовпчастої та губчастої паренхіми (рис. 4.3 А - Е 3, 4). У *A. urticifolia* показники товщини листка та шарів паренхіми більші. Губчаста паренхіма містить великі міжклітинники. У криптах розміщені ефіроолійні залозисті трихоми. Заглиблення у листковій пластинці формуються за рахунок ущільнення губчастої паренхіми. Провідні пучки колатерального типу (рис. 4.3 А, В 5).

Таблиця 4.2

**Анатометричні параметри вегетативних та генеративних органів *A. foeniculum* та *A. urticifolia* в онтогенезі**

Анатометричні показники	<i>Agastache foeniculum</i>		<i>Agastache urticifolia</i>	
	<i>j</i>	<i>g</i>	<i>j</i>	<i>g</i>
1	2	3	4	5
Листок				
Товщина адаксіальної епідерми, мкм	11,97±2	14,82±2,3*	15,65±2,6 <sup>^</sup>	14,07±2,7*
Товщина з.кл.ст. ад.еп. <sup>2</sup> , мкм	3,73±0,7	4,24±1,2*	3,7±1,1	3,48±0,9 <sup>^</sup>
Товщина абаксіальної епідерми, мкм	9,13±2,1	11,26±2*	11,43±1,7 <sup>^</sup>	11,2±1,7
Товщина з.кл.ст. аб.еп. <sup>2</sup> , мкм	2,35±0,6	2,59±1	2,22±0,8	2,65±0,9

Продовж. табл. 4.2

1	2	3	4	5
Товщина стовпчастої паренхіми, мкм	86,65±14	86,66±11,7	88,75±12,8	105,49±16,6*^
Товщина губчастої паренхіми, мкм	59,18±13,5	70,13±12,1*	74,22±10,5^	92,58±16,8*^
Товщина листка, мкм	178,68±12,8	194,16±20,4*	192,61±21^	229,3±20,7*^
Довж. простих трихом з ад. боку, мкм	26,11±6,1	22,49±5,2	30,45±1,2	28,01±3,3
Довж. простих з аб. боку, мкм	120,44±33,5	115,73±30,2	186,67±20,7^	176,67±32^
Площа епідермоцитів ад. боку, мкм <sup>2</sup>	406±110	436±94	619±227^	918±198*^
Площа епідермоцитів аб. боку, мкм <sup>2</sup>	366±118	322±66	334±97	319±102
К-сть епідермоцитів аб. еп., шт./мм <sup>2</sup>	1451±178	1708±184*	1819±217^	2020±172^
К-сть продихів, шт./мм <sup>2</sup>	381,2±34	345,5±19,3*	454,8±51,4^	376,9±32,7*^
Довжина продихів, мкм	21,55±3,41	19,9±1,06	18,52±2,29^	19,72±2,14*
Ширина продихів, мкм	15,76±1,73	13,02±1,89*	13,35±1,27^	14,2±1,46*
Продиховий індекс	0,21±0,01	0,17±0,02*	0,2±0,03	0,16±0,02*
К-сть ефіроолійних залоз. трихом з аб. боку, шт./мм <sup>2</sup>	27,07±8,59	19,06±3,87	16,36±5,21^	13,48±4,57
К-сть залоз. трихом з ад. боку, шт./мм <sup>2</sup>	28,88±4,47	20,21±4,47*	-	-
К-сть залоз. трихом з аб. боку, шт./мм <sup>2</sup>	37,9±11,28	34,65±8,66	11,55±4,33^	7,58±3,06*^

1	2	3	4	5
К-сть простих трихом з ад. боку, шт./мм <sup>2</sup>	161,4±27	125,6±4,6*	53,1±8,6 <sup>^</sup>	32,5±6,1* <sup>^</sup>
Черешок				
Товщина адаксіальної епідерми, мкм	18,4±2,2	16,15±2,4	18,25±3,7	19,42±2,4 <sup>^</sup>
Товщина з.кл.ст. ад.еп., мкм	7,1±1,7	5,2±1,7*	4,97±1,4 <sup>^</sup>	5,55±1,5
Товщина абаксіальної епідерми, мкм	17,22±2,8	15,74±2,8	18,31±3,7	20,42±2* <sup>^</sup>
Товщина з.кл.ст. аб.еп., мкм	5,87±1,3	7,52±2,4	7,04±1,1 <sup>^</sup>	9,33±1,8* <sup>^</sup>
Довжина трихом з ад. боку, мкм	48,84±12,6	59,36±14,6*	53,96±7,8	39,16±3,6* <sup>^</sup>
Довжина трихом з аб. боку, мкм	40,6±7,3	43,97±13	45,43±7,5	60,57±17,5* <sup>^</sup>

Примітка. j – ювенільні особини та g – генеративні особини, <sup>1</sup>з.кл.ст. ад.еп. - зовнішня клітинна стінка адаксіальної епідерми, <sup>2</sup>з.кл.ст. аб.еп. - зовнішня клітинна стінка абаксіальної епідерми, \*- (p≤0,05) вірогідність відмінностей порівняно з ювенільною стадією онтогенезу, <sup>^</sup>- (p≤0,05) вірогідність відмінностей порівняно з *A. foeniculum* в тій самій стадії онтогенезу

Черешки досліджуваних видів *Agastache* увігнуті з адаксіального боку. Залозисті трихоми з 2-клітинною голівкою у *A. foeniculum* виявлені з обох боків черешка (рис. 4.4 А 1), в той час як у *A. urticifolia* такі трихоми майже не зустрічаються з абаксіального боку (рис. 4.4 В 1). З абаксіального боку у обох видів виявлені ефіроолійні залозисті трихоми (рис. 4.4 А - В 3), кількість їх переважає у *A. foeniculum* (табл. 4.2).

Черешки ювенільних та генеративних особин *A. foeniculum* та *A. urticifolia* з обох боків вкриті 1-2-клітинними простими трихомами. Епідерма черешків *A. urticifolia* є товстішою, ніж у іншого дослідженого виду. Під епідермою

розміщена кутова коленхіма: 6-шарова з абаксіального боку і у бічних відростках, 1-2-шарова з адаксіального та латерального боків черешка. В латеральній частині черешка під коленхімою (рис. 4.4 А - Г 5) розміщена хлоренхіма (рис. 4.4 А - Г 6), кількість шарів якої зменшується до абаксіального боку. Паренхіма черешка складається з клітин округлої форми з потовщеними клітинними стінками. Провідна система представлена колатеральними пучками, одним великим центральним та двома дрібними в бічних відростках (рис. 4.4).

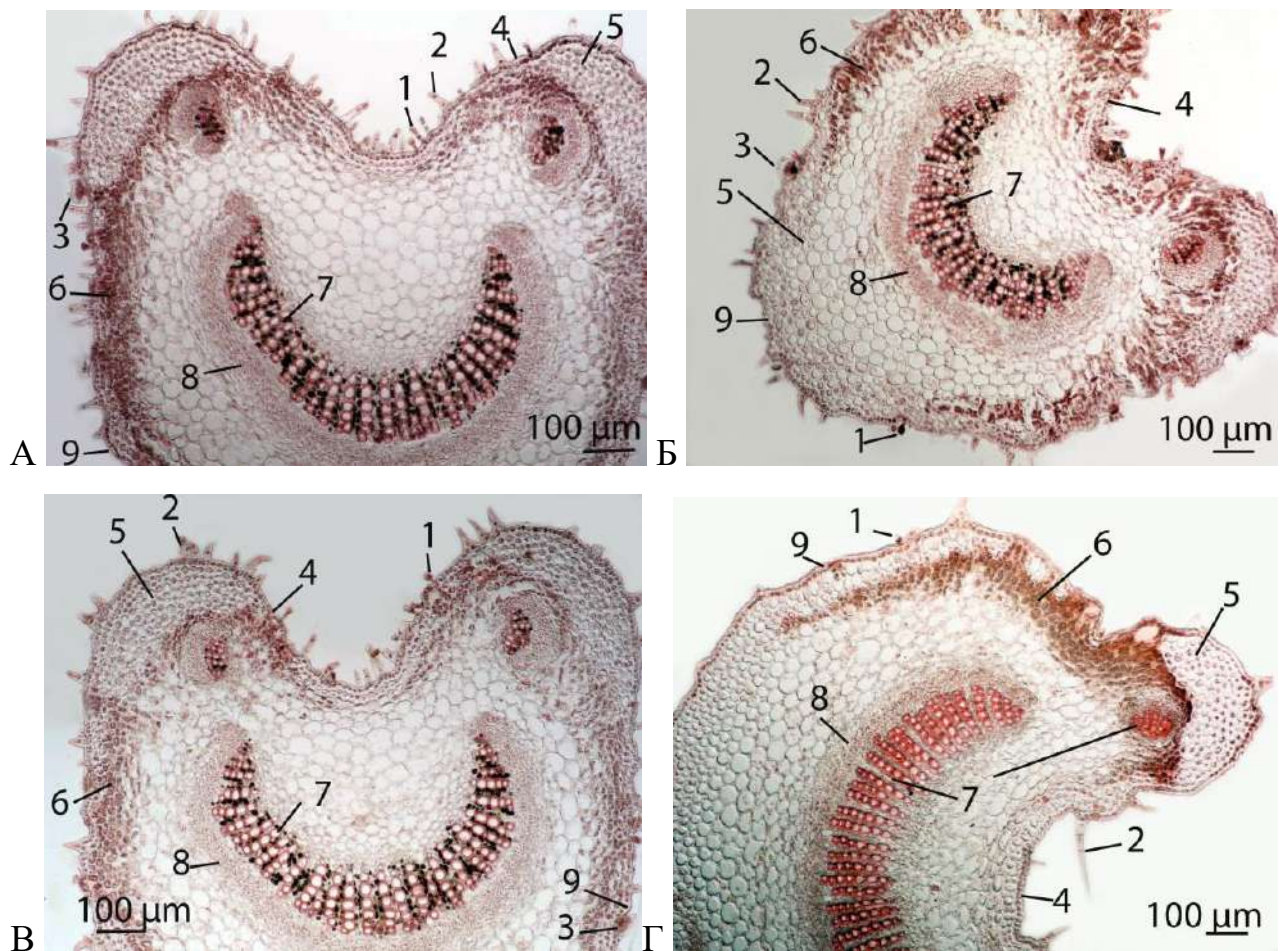
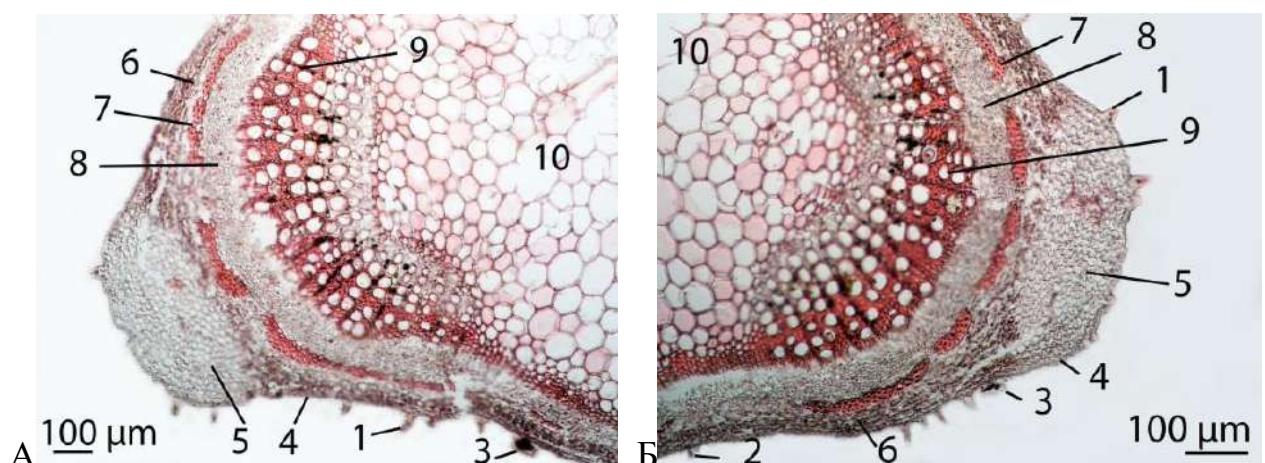


Рис. 4.4. Мікрофотографії поперечного перерізу черешків ювенільних особин *A. foeniculum* (А), *A. urticifolia* (В) та генеративних особин *A. foeniculum* (Б), *A. urticifolia* (Г). 1 – залозисті трихоми з 2-клітинною голівкою, 2 – прості трихоми, 3 – 8-клітинні ефіроолійні залозисті трихоми, 4 – адаксіальна епідерма, 5 – коленхіма, 6 – хлоренхіма, 7 – ксилема, 8 – флоема, 9 – абаксіальна епідерма

Стебла ювенільних та генеративних особин *A. foeniculum* та *A. urticifolia* мають подібну будову. Стебло у розрізі має чотирикутну форму за рахунок скупчення кутової коленхіми у кутах (рис. 4.5 А - Г 5). Одношарова епідерма вкрита кутикулою, наявні 1-2 клітинні прості трихоми, залозисті трихоми з 2-клітинною голівкою та 8-клітинні ефіроолійні залозисті трихоми. Стебло *A. foeniculum* опушене густіше порівняно зі стеблом *A. urticifolia*. У процесі онтогенезу спостерігається тенденція до зменшення кількості трихом.

Під епідермою стебла розміщені 3-5 шарів хлоренхіми, первинна флоема утворює майже суцільний склеренхімний шар, колатеральний провідний пучок замкнутий, потовщення ксилеми відбувається у чотирьох кутах стебла (Рис. 4.5). Значна частина стебла представлена серцевинною паренхімою (рис. 4.5 А - Г 10), клітини якої мають ознаки здерев'яніння.

Пелюстки обох видів також подібні за будовою: епідерма одношарова, наявні залозисті (зрідка ефіроолійні) та прості трихоми. У паренхімі багато включень (рис. 4.6 А, Б 7), які відсутні у вегетативних органах (можливо, дубильні речовини); великі міжклітинники. Пелюстка у *A. urticifolia* є товстішою, ніж у *A. foeniculum* та містить менше залозистих та простих трихом (рис. 4.6 А, Б).





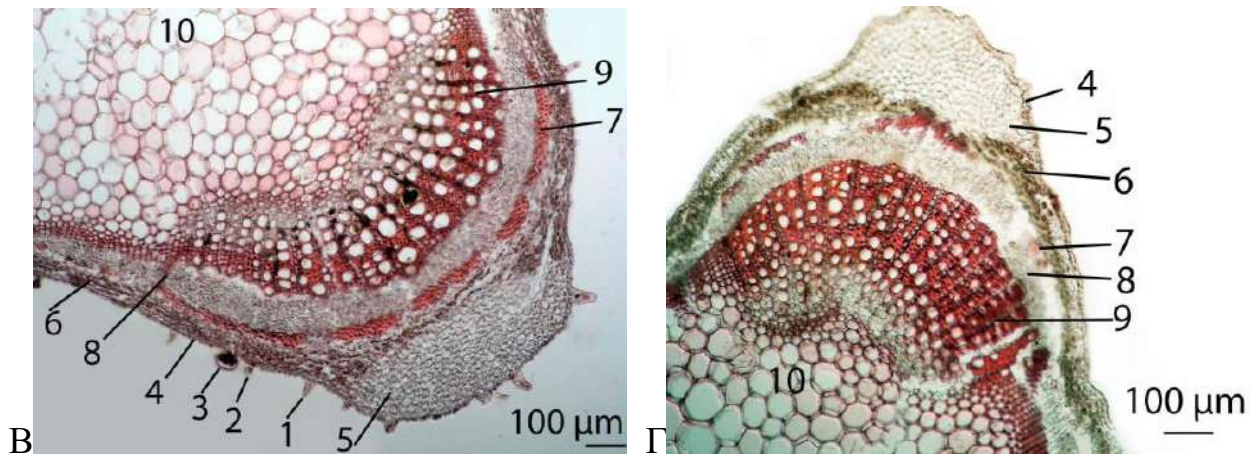


Рис. 4.5. Мікрофотографії поперечного перерізу стебел ювенільних особин *A. foeniculum* (А), *A. urticifolia* (В) та генеративних особин *A. foeniculum* (Б), *A. urticifolia* (Г). 1 – прості трихоми, 2 – залозисті трихоми з 2-клітинною голівкою, 3 – ефіроолійні залозисті трихоми, 4 – епідерма, 5 – коленхіма, 6 – кора паренхіма, 7 – склеренхіма, 8 – флоема, 9 – ксилема, 10 – серцевинна паренхіма

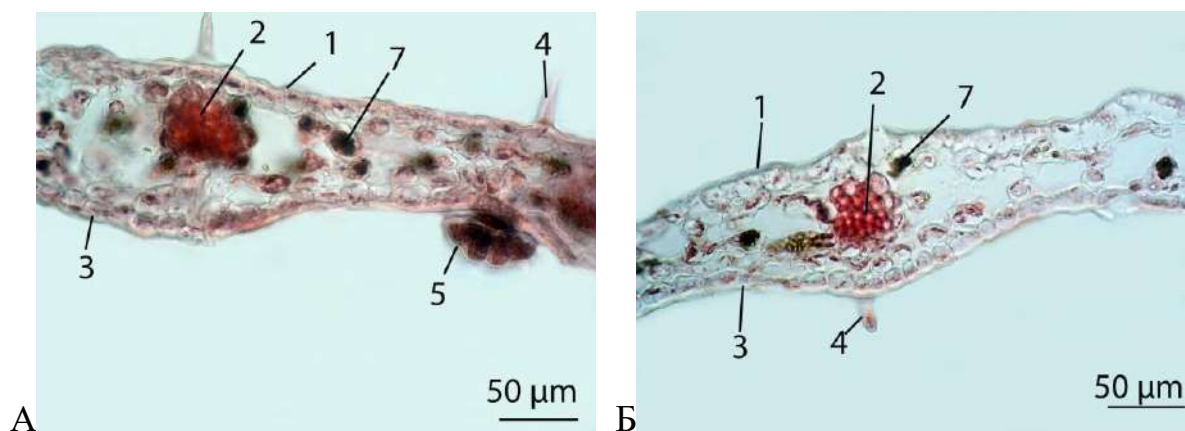


Рис. 4.6. Мікрофотографії поперечного перерізу пелюстки *A. foeniculum* (А) та *A. urticifolia* (Б). 1 – адаксіальна епідерма, 2 – провідний пучок, 3 – абаксіальна епідерма, 4 – прості трихоми, 5 – ефіроолійні залозисті трихоми, 6 – залозисті трихоми з 2-клітинною голівкою, 7 – включення

За результатами проведеного анатомічного дослідження можна стверджувати, що визначення типу опушення, його локалізації та рясності може слугувати надійним критерієм для діагностики досліджуваних видів. Сировина *A. foeniculum*, вірогідно, має більшу цінність з точки зору продуктивності

ефірної олії, оскільки характеризується більшою кількістю ефіроолійних залозистих трихом.

4.3 Отримання стандартизованої сировини *Agastache* методом *in vitro* та дослідження її хімічного складу

4.3.1 Отримання сировини *Agastache* методом *in vitro*. З метою забезпечення належної якості лікарської рослинної сировини в рамках широкого запровадження в Україні належної практики культивування та збирання вихідної сировини рослинного походження (GACP) нами було досліджено можливість введення в культуру *in vitro* видів роду *Agastache* з подальшим мікроклональним розмноженням. Отримання стандартизованої сировини *Agastache* альтернативним (а саме – біотехнологічним) шляхом в перспективі могло би стати гарним додатковим методом одержання сировинної біомаси з високим вмістом БАР для подальшого можливого виробництва фітозасобів на її основі. Науковий інтерес представляло також встановлення впливу біотехнологічних методів на досліджувані нами види при вирощуванні *in vitro* (з насіння).

Біохімічне порівняння рослин у культурі *in vitro* та в природі дає можливість отримати уявлення про вплив асептичних умов на процеси синтезу та накопичення вторинних метаболітів рослин, а також оцінити ефективність застосування методів культури *in vitro* для швидкого отримання сировини з високим вмістом вторинних метаболітів. Тому створення асептичних колекцій є важливим та актуальним завданням сучасної фармації, що дає змогу поповнити сировинну базу рослин, які синтезують важливі біохімічні сполуки або є цінним генетичним матеріалом та, в перспективі, суттєво скоротити час, необхідний для отримання необхідної у промислових масштабах рослинної сировини.

Відомо, що у зв'язку з підвищеною вологістю та культивуванням у закритій системі у асептичних рослин знижується активність прорихів та

тоншає шар кутикули. Крім того, для цих рослин відсутня будь-яка контамінація, а наявність штучного субстрату, що містить як неорганічні, так і органічні сполуки, викликає зниження активності фотосинтетичної системи [212 - 215]. Ці та інші фактори, які відрізняють асептичні рослини від тих, що вирощували традиційними способами, дають привід для дослідження можливих відмінностей у біохімічному складі рослинної сировини [216, 217].

Мета даних досліджень полягала у отриманні рослин, вирощених *in vitro* (з насіння), та оцінці впливу застосування біотехнологічних методів отримання сировини, таких як ініціація асептичної культури, мікроклональне розмноження рослин та їх культивування *in vitro*, на біохімічні властивості рослин досліджуваних видів, порівнявши вміст основних БАР у траві *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, що культивувались *in vitro* та в природі.

Підготовка вихідних експлантів, введення їх у культуру *in vitro* та подальше розмноження рослин *A. foeniculum* та *A. urticifolia* проводились в асептичних умовах на агаризованому середовищі за методикою, що наведена в підрозд. 2.1, п.3.

У культурі *in vitro* насіння *A. foeniculum* та *A. urticifolia* проростало в середньому на 5-8-й день після проведення процедури поверхневої стерилізації. Схожість насіння врожаю минулого року (у нас – 2017 р.) є дуже високою і становить  $82 \pm 3,05\%$  та  $70 \pm 2,51\%$  відповідно (детальніше – див.нижче).

Спочатку спостерігалось проростання корінця, рослина укорінювалась, а потім з'являлись сім'ядольні листочки. Поява першого справжнього листка відзначена в середньому через 12–18 днів після проростання насінини.

Динаміку проростання насіння та вигляд 20-денних рослин *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, при вирощуванні *in vitro*, наведено на рис.4.7; зовнішній вигляд вегетативних органів даних рослин – на рис.4.8.

На 20 добу культивування а. фенхельного та а. кропиволистого рослини заввишки становлять 2–2,5 см, на 27–35 добу рослини заввишки 6–8 см. В процесі росту в культурі *in vitro* обидва види *Agastache* утворюють мікропагони – на 12–20 добу культивування завдовжки 0,7–1,5 см, світло-зелені, листки



супротивні, листкові пластинки довгасто-серцеподібні або серцеподібні, з відтягнутою загостреною верхівкою та зубчастим краєм, 0,5–1,5 см завдовжки, 0,5–1,2 см завширшки; світло-зелені та яскраво-зелені (рис. 4.8 А,Б).

В культурі *in vitro* в заданих нами умовах (підрозд. 2.1, п.3) на середовищі без гормонів рослини роду *Agastache* знаходяться у фазі вегетативного розвитку, до генеративної стадії не переходять, цвітіння та плодоношення також не відбувається. В процесі вирощування *in vitro* для обох видів *Agastache* з часом відмічено такі характерні особливості як потовщення стебла, потемніння та опадання листя. Загалом вегетаційний період триває 30 діб.

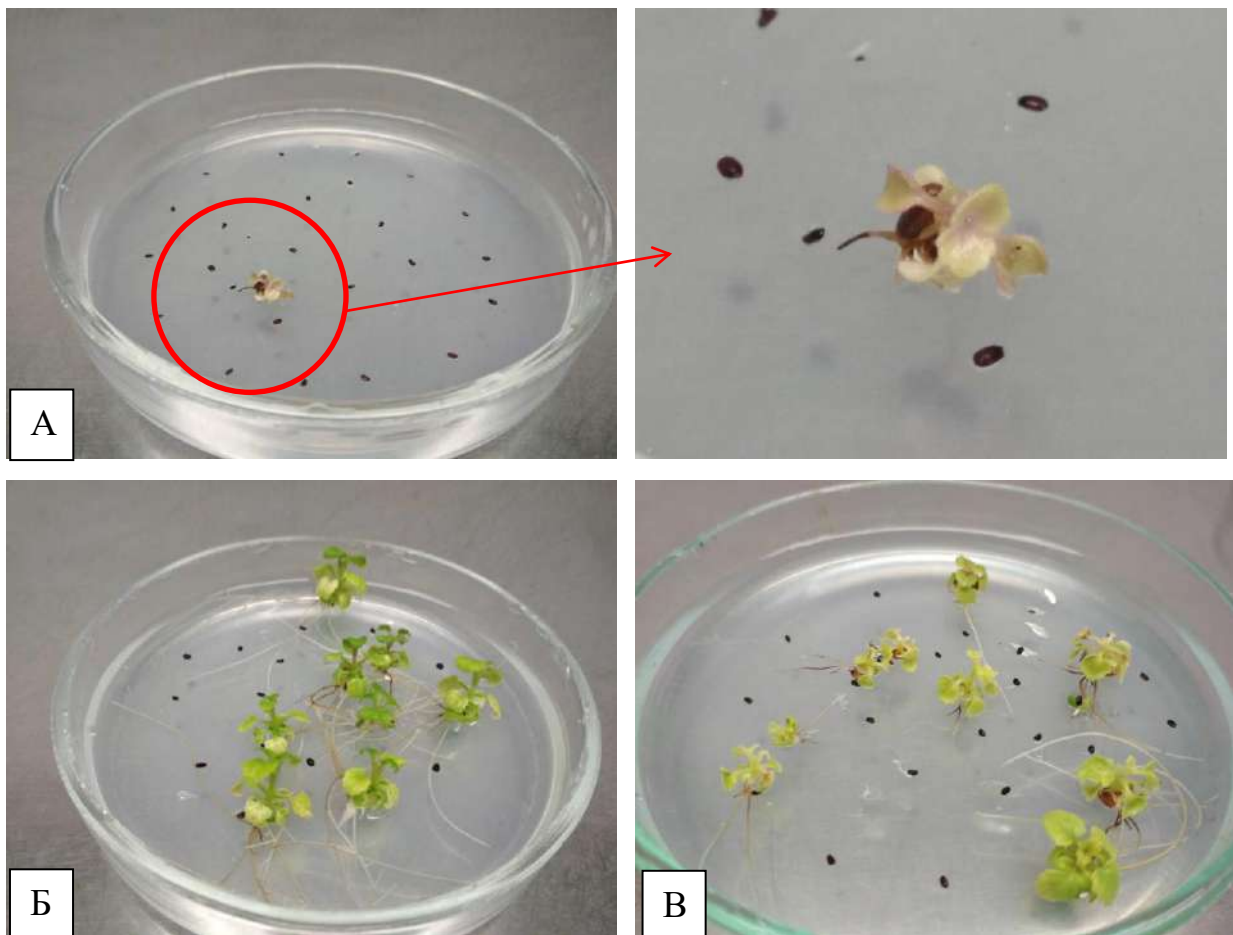


Рис. 4.7. Проростання насіння досліджуваних видів *in vitro*: А, Б – *A. foeniculum*; В – *A. urticifolia*

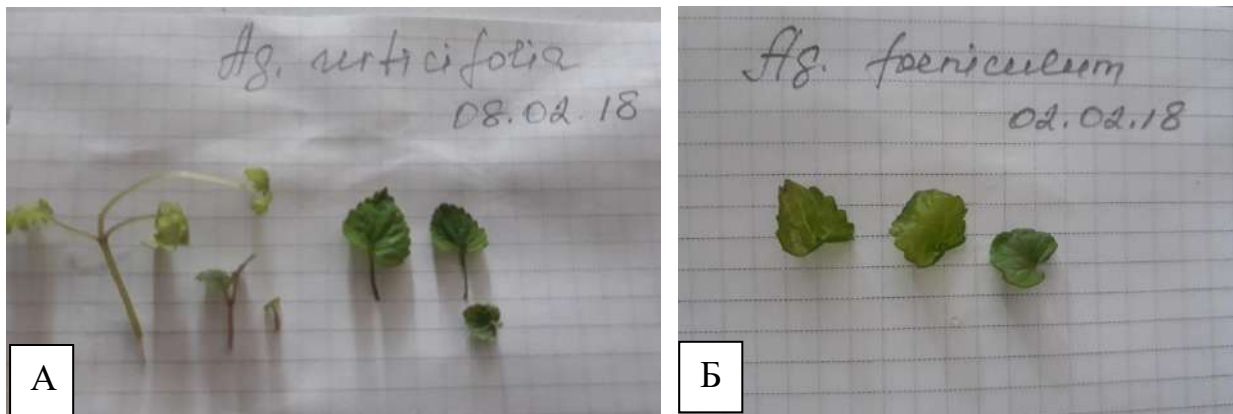


Рис. 4.8. Вегетативні органи досліджуваних видів *in vitro*: А – *A. foeniculum*; Б – *A. urticifolia*

Аналіз літературних джерел показує, що велика увага в питанні культури тканин приділяється дослідженню взаємозв'язку між складом вторинних метаболітів та складом поживного середовища та наявністю і концентрацією фітогормонів [193, 217 - 222]. Для уникнення впливу екзогенних регуляторів росту на біохімічний склад рослин в якості сировини для проведення біохімічних досліджень ми обрали рослини, яку культивували на агаризованому середовищі без додавання регуляторів росту.

Для насіння кожного виду було визначено ефективність стерилізації – відсоток асептичного насіння по відношенню до загального числа вихідних експлантів та ефективність проростання – відсоток насіння, яке утворювало проростки після обробки стерилізуючими сполуками. Результати проведених визначень наведені в табл. 4.3.

Таблиця 4.3

**Ефективність стерилізації та проростання насіння видів роду  
*Agastache* при культивуванні *in vitro***

Вид <i>Agastache</i>	Ефективність стерилізації, %	Ефективність проростання, %
<i>A. foeniculum</i>	100	82±3,05
<i>A. urticifolia</i>	98±1,1	70±2,51

Використання діюциду в якості стерилізуючого засобу дало змогу отримати досить високу якість поверхневої стерилізації насіння видів роду *Agastache* [222 - 224]. Відсоток асептичного насіння в даному випадку для *A. foeniculum* становить 100%, для *A. urticifolia* –  $98 \pm 1,1\%$ . Ефективність проростання у *A. foeniculum* –  $82 \pm 3,05\%$ , у *A. urticifolia* –  $70 \pm 2,51\%$ .

Згідно даних літературних джерел лабораторна схожість репродукованого насіння *A. urticifolia* становила від 46 до 69%, а польова схожість насіння при весняному посіві у відкритий ґрунт – від 50 до 70% [225, 226], а для насіння *A. foeniculum* лабораторна схожість становила до 80%, польова – до 70% [227], в залежності від умов та місцевості культивування.

Враховуючи дані, отримані в результаті проведених нами досліджень, можа зробити висновок, що вирощування рослин *A. foeniculum* та *A. urticifolia* *in vitro* дозволяє повністю реалізувати потенціал врожаю насіння, гарантовано отримати біомасу, хоча і меншу за вагою, але стандартну за вмістом БАР, з високою якістю.

4.3.2 Дослідження БАР сировини агастахе, отриманої *in vitro*. Якісний аналіз основних груп БАР:

Аналіз якісного складу терпеноїдів в сировині *A. foeniculum* та *A. urticifolia* проводили методом ТШХ за методикою, наведеною в підрозд. 2.2, п. 8. Після обробки хроматограм розчином анісового альдегіду пластинки переглядали при денному та УФ-світлі. В результаті проведених досліджень в сировині *A. foeniculum* та *A. urticifolia* ідентифіковано ментол і пулегон.

Виявлення ГКК проводили якісною реакцією з 3% розчином заліза (III) хлориду, утворення сіро-зеленого кольору свідчить про наявність сполук фенольної природи, в молекулах яких присутні ортодіоксигрупи.

Методом ТШХ (підрозд. 2.2, п.5) в сировині *A. foeniculum* та *A. urticifolia* ідентифіковано хлорогенову, розмаринову та кофейну кислоти.

Позитивний аналітичний ефект у загальновідомих хімічних реакціях (підрозд. 2.2, п. 6) свідчить про наявність в сировині *A. foeniculum* та *A. urticifolia* речовин флавоноїдної природи.

Якісний склад флавоноїдів досліджували хроматографічно за флуоресценцією в УФ-світлі до і після обробки хроматограм. Таким чином в сировині *A. foeniculum* та *A. urticifolia* були ідентифіковані рутин, апігенін, лютеолін та кверцетин.

Кількісний аналіз основних груп БАР:

Кількісне визначення суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол та повітряно-суху сировину у відсотках проводили за методикою, що наведена в підрозд. 2.2., п. 14.2. методом спектрофотометрії при 760 нм на спектрофотометрі ULAB 108UV.

Кількісний вміст суми ГКК в перерахунку на кислоту хлорогенову в сировині досліджуваних рослин визначали спектрофотометрично при 327 нм за методикою, що наведена в підрозд. 2.2., п. 14.4.

Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін проводили методом адсорбційної спектрофотометрії за реакцією з алюмінію хлоридом при 400 нм (підрозд. 2.2., п. 14.5).

Визначення кількісного вмісту суми проціанідинів у перерахунку на ціанідину хлорид, проводили спектрофотометрично за модифікованою методикою Портера (підрозд. 2.2., п. 15).

Вміст основних груп БАР у сировині двох видів *Agastache*, отриманій *in vitro*, визначали на різних етапах розвитку рослин. Динаміка накопичення БАР у досліджуваній сировині відображена в табл. 4.4.

В результаті проведених досліджень доведено, що вміст БАР у досліджуваній сировині є майже незмінним протягом розвитку рослин, а, отже – прогнозованим, що свідчить про можливість отримання в умовах *in vitro* стандартизованої за вмістом основних груп БАР сировини *A. foeniculum* та *A. urticifolia*.

**Динаміка накопичення основних груп БАР у сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого, отриманої в умовах *in vitro***

Термін вирощування сировини	Вміст БАР,% у перерахунку на повітряно-суху сировину, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 5					
	ГКК	Флавоноїди	Поліфеноли	ГКК	Флавоноїди	Поліфеноли
	<i>A. foeniculum</i>			<i>A. urticifolia</i>		
10 діб	18,22 ±0,11	2,06 ±0,03	6,14 ±0,21	24,32 ±0,11*	2,02 ±0,05^^	5,8 3±0,23^
20 діб	19,08 ±0,13	2,13 ±0,06	6,77 ±0,21	25,48 ±0,13*	2,09 ±0,05	6,01 ±0,30^
30 діб	19,4 ±0,11	2,23 ±0,05	6,81 ±0,30	25,64 ±0,07*	2,13 ±0,03^	6,03 ±0,30^
40 діб	19,49 ±0,11	2,28 ±0,05	6,80 ±0,30	25,68 ±0,07*	2,11 ±0,07^	6,11 ±0,21^

Примітка. \*- ( $p \leq 0,05$ ) вірогідність відмінностей порівняно з даними у сировині а. фенхельного, ^- ( $p \geq 0,05$ ) вірогідність відмінностей порівняно з даними у сировині а. фенхельного

Наступним етапом нашої роботи було дослідження кількісного вмісту основних груп БАР в сировині, отриманій в умовах *in vitro*, та порівняння цих показників з такими для сировини, вирощеної в природному середовищі.

Результати кількісного визначення основних груп БАР у сировині двох видів *Agastache*, отриманій *in vitro* та в природних умовах, наведено в табл.4.5.

Узагальнивши дані, отримані при порівняльному дослідженні вмісту основних груп БАР у траві *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, отриманих в умовах *in vitro* та в природі (рис. 4.9), ми отримали результати, що представляють науковий інтерес. Зокрема, встановлено, що вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол та повітряно-суху сировину у траві *A. foeniculum* в умовах *in vitro* становить 6,81%, у траві *A. urticifolia* – 6,03% (дані наведені для сировини при 30-денному культивуванні *in vitro*), що на 2,67% та 3,38%,

відповідно, менше, ніж максимальні показники (характерні для фази масового цвітіння) у сировині, вирощеній в природних умовах.

Вміст суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту у сировині *in vitro* для *A. foeniculum* та *A. urticifolia* був на 8,28% та 0,65% менше, ніж у природної сировини. Відповідний вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін у траві *A. foeniculum* і траві *A. urticifolia* майже дорівнює такому у природній сировині. Вміст проціанідинів у перерахунку на ціанідину хлорид у сировині *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, вирощених в умовах *in vitro*, на 0,27% та 0,79%, відповідно, менше, ніж у сировині, вирощеній в природних умовах.

Таблиця 4.5

**Кількісний вміст основних груп БАР у сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого, вирощеній в умовах *in vitro* та в природних умовах**

БАР	Вміст БАР,% у перерахунку на повітряно-суху сировину, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 5			
	Сировина, культивована <i>in vitro</i> (30 діб)		Сировина, культивована в природних умовах (фаза МЦ)	
	<i>A. foeniculum</i>	<i>A. urticifolia</i>	<i>A. foeniculum</i>	<i>A. urticifolia</i>
1	2	3	4	5
Поліфеноли	6,81±0,3	6,03±0,3 <sup>∂∂</sup>	9,48±0,07*	9,41±0,05 <sup>#^^</sup>
ГКК	19,48±0,11	25,64±0,13 <sup>∂</sup>	27,76±0,13*	26,29±0,21 <sup>#^</sup>
Флавоноїди	2,23±0,026	2,13±0,031 <sup>∂</sup>	2,31±0,002*	2,25±0,002 <sup>#^</sup>
Проціанідини	5,02±0,001	4,21±0,001 <sup>∂</sup>	5,29±0,001*	5,00±0,001 <sup>#^</sup>

Примітка. \* - ( $p \leq 0,05$ ) вірогідність відмінностей порівняно з даними у сировині а. фенхельного культивованій *in vitro*,<sup>#</sup> - ( $p \leq 0,05$ ) вірогідність відмінностей порівняно з даними у сировині а. кропиволистого культивованій *in vitro*,<sup>∂</sup> - ( $p \leq 0,05$ ) вірогідність відмінностей порівняно з даними у сировині а. фенхельного культивованій *in vitro*,<sup>∂∂</sup> - ( $p \geq 0,05$ ) вірогідність відмінностей порівняно з даними у сировині а. фенхельного культивованій *in vitro*,<sup>^</sup> - ( $p \leq 0,05$ )

вірогідність відмінностей порівняно з даними у сировині а. фенхельного культивованій в природних умовах, ^^- ( $p \geq 0,05$ ) вірогідність відмінностей порівняно з даними у сировині а. фенхельного культивованій в природних умовах

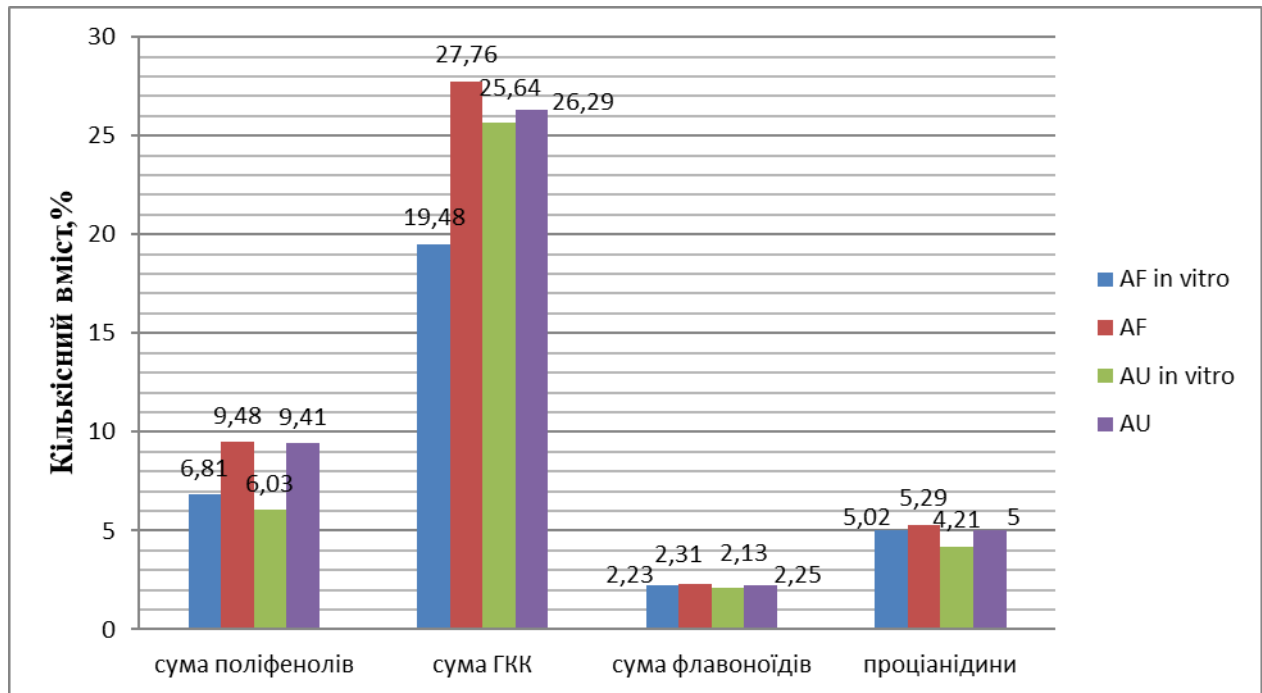


Рис. 4.9. Залежність кількісного вмісту основних груп БАР у сировині *A. foeniculum* та *A. urticifolia* від умов культивування

Виходячи з отриманих результатів, можна зробити висновок, що рослини Агастахе обох досліджених видів успішно піддаються вирощуванню в асептичній культурі тканин (*in vitro*), накопичують значну біомасу та відрізняються досить високим вмістом поліфенольних сполук (як сумарним, так і окремих груп БАР поліфенольної природи – ГКК, флавоноїдів, проціанідинів), близьким до такого у відповідних рослин при культивуванні у відкритому ґрунті (вміст суми поліфенолів переважає у сировині, вирощеній в природних умовах, в середньому на 2-3%; вміст суми ГКК у сировині *A. urticifolia* та вміст флавоноїдів і проціанідинів майже однаковий у сировині, отриманої *in vitro* та з природи; лише вміст ГКК в сировині *A. foeniculum* в умовах *in vitro* нижчий на 8,28% у порівнянні з природною сировиною).

Особливо цінним є той факт, що при вирощуванні рослин Агастахе в заданих методикою [118, 119] умовах середовища загальний вміст поліфенольних сполук та вміст досліджених нами окремих груп поліфенолів є майже незмінним протягом всієї вегетації, прогнозованим, що свідчить про можливість отримання в умовах *in vitro* стандартизованої за вмістом основних груп БАР сировини *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, що є досить складним завданням при вирощуванні рослин в природних умовах.

Крім того, біотехнологічний метод має ряд переваг перед традиційним культивуванням рослинної сировини – він забезпечує можливість отримання біомаси незалежно від сезону, кліматичних і ґрунтових умов, значно зменшує час отримання біомаси. Також варто відмітити, що використання асептичної культури для розмноження рослин є доцільним з точки зору зменшення втрат насіннєвого матеріалу.

Таким чином, біотехнологічний метод є потенційно перспективним для отримання стандартизованої за вмістом основних груп БАР сировини *A. foeniculum* та *A. urticifolia*.

#### 4.4 Стандартизація трави агастахе фенхельного

В результаті комплексу проведених досліджень а. фенхельного та а. кропиволистого нами було встановлено, обидва види схожі за якісним складом БАР, проте кількісний вміст ідентифікованих сполук дещо дещо вищий у траві а. фенхельного. Зокрема, у траві а. фенхельного кількісний вміст вільних та зв'язаних амінокислот майже вдвічі вищий, сумарний вміст ненасичених жирних кислот більше на 1,5%, вміст суми ГКК – на 1,47%, ніж у траві а. кропиволистого, також сировина а. фенхельного, вірогідно, має більшу цінність з точки зору продуктивності ефірної олії, оскільки характеризується більшою кількістю ефіроолійних залозистих трихом.



Тому в якості найбільш перспективного виду сировини з-поміж обох видів агастахе для подальшої розробки лікарських препаратів нами було обрано траву а. фенхельного.

### *ОПИС*

Трава агастахе фенхельного, зібрана у фазу масового цвітіння, висушена до повітряно-сухого стану.

Цільна сировина (рис. 4.10) має такі зовнішні ознаки: стебла 4-гранні, розсіяно-опушені, 0,1–0,4 см у діаметрі, 30–35 см завдовжки, світло-зелені (рис. 4.11 Б); листки супротивні, довгочерешкові (черешок 1–3 см завдовжки); листкові пластинки – довгасто-серцеподібні та серцеподібні, з відтягнутою загостреною верхівкою та зубчастим краєм, до 8 см завдовжки, до 5 см завширшки, з адаксіального боку розсіяно-опушені або майже голі, яскраво-зелені; з абаксіального боку більш рясно опушені, іноді досить густо опушені притиснутими білими трихомами, сірувато-зелені (рис. 4.11 А); суцвіття – тирс, колосоподібне, 3–13 см завдовжки, 2–3 см завширшки (рис. 4.12 А); чашечки трубчасто-дзвоникоподібні, 0,1–0,2 см завширшки, 0,5–0,8 см завдовжки, бузкового кольору. Віночок двогубий, 0,6–1,0 см завдовжки, бузково-ліловий (рис. 4.12 Б). Запах м'ятно-анісовий, пряний. Смак в'язучий, з солодким післясмаком.

Подрібнена сировина (рис. 4.13) складається з фрагментів порожнистих, ребристих стебел, 2,5–3,5 см завдовжки, світло-зеленого кольору, фрагментів листків із відтягнутою загостреною верхівкою та зубчастим краєм, від світло-зеленого до зеленого кольору, фрагментів суцвіття – окремих цимоїдів, трубчасто-дзвоникоподібних чашечок, світло-зеленого кольору, бузково-лілових квіток.



Рис. 4.10. *Agastache foeniculum*

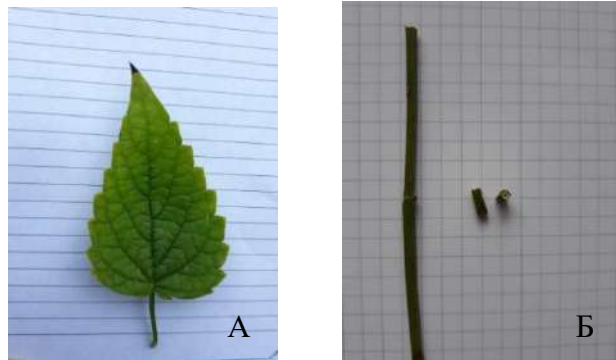


Рис. 4.11. Вегетативні органи *Agastache foeniculum*. А – листок із зубчастим краєм, Б – стебло

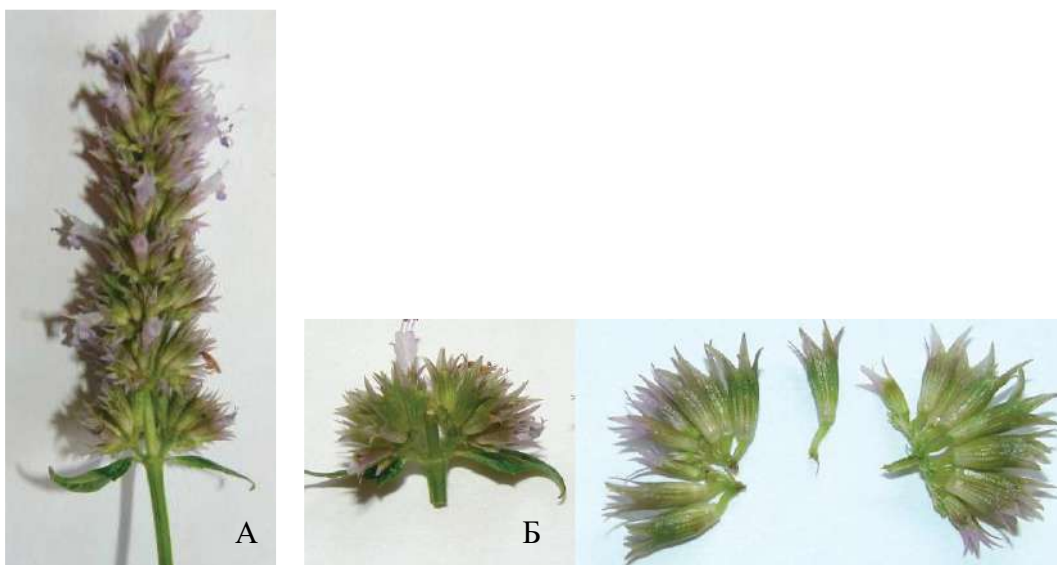


Рис. 4.12. Суцвіття *Agastache foeniculum*. А – тирс, Б – окремі цимоїди.  
(фото – Рудік Г.О. 2016, зі змінами)



Рис. 4.13. Подрібнена сировина *Agastache foeniculum*

Порошкова сировина – подрібнена сировина до порошкоподібного стану, світло-зеленого кольору. При перегляді під мікроскопом у розчині хлоральгідрату Р виявляються такі мікроскопічні ознаки:

- фрагменти клітин епідерми з продихами аномоцитного типу, оточеними 2-5 клітинами;
- прості одноклітинні трихоми та 2-4 клітинні трихоми, залозисті трихоми з двоклітинною ніжкою та двоклітинною голівкою, 8-клітинні ефіроолійні майже сидячі залозисті трихоми;
- фрагменти стовпчастої паренхіми листка, що складається з двох шарів клітин прямокутної форми та губчастої паренхіми листка з великими міжклітинниками;
- фрагменти епідерми черешка, під якою розміщена кутова коленхіма, клітини паренхіми черешка округлої форми з потовщеними клітинними стінками;
- фрагменти епідерми стебла, що вкрита кутикулою, клітини серцевинної паренхіми мають ознаки здерев'яніння;
- фрагменти епідерми пелюсток, паренхіма якої характеризується наявністю великої кількості включень.

## ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Якісна реакція. До 1 г подрібненої до порошкоподібного стану сировини додають 30 мл *води Р* та нагрівають на водяній бані протягом 30 хв, отриманий витяг охолоджують та фільтрують. До 2 мл витягу додають 0,2 мл 1% розчину заліза (III) хлориду. Поява темно-зеленого забарвлення свідчить про присутність фенольних сполук.

Хроматографічний аналіз. Ідентифікацію терпеноїдів проводять методом ТШХ.

*Випробовуваний розчин.* До 0,5 г подрібненої на порошок сировини а. фенхельного додають 5 мл гексану, нагрівають на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 5 хв, охолоджують і фільтрують. Для хроматографування використовують 20 мкл одержаного розчину.

*Розчин порівняння.* 10 мкл ментолу Р і 10 мкл пулегону Р розчиняють у 5 мл гексану.

*Пластинка:* ТШХ пластинка із закріпленим шаром силікагелю, Merck 60 F<sub>254</sub> або аналогічна за властивостями і характеристиками.

*Рухома фаза:* етилацетат Р – толуол Р (1:19).

*Фронт рухомої фази:* не менше 12 см від лінії старту.

*Висушування:* в тоці холодного повітря.

*Виявлення:* пластинку обробляють розчином анісового альдегіду, витримують при температурі 100-105 °С протягом 5-10 хв, переглядають при денному та УФ-світлі.

*Результати:* на хроматограмі випробовуваного розчину в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм мають виявлятися плями, що відповідають за значенням R<sub>f</sub> і флуоресценцією стандартним зразкам ментолу і пулегону. На хроматограмі можуть проявлятися і інші зони.

## ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ

*Домішки.* Почорнілої або тьмяної трави не більше 1,5%, мінеральні домішки – не більше 1%.

*Втрата в масі при висушуванні.* Визначення вмісту вологи проводять за

методикою ДФУ Доповнення 4, розділ 2.2.32. Вміст вологи у 5 серій сировини не має перевищувати 10,0%.

*Визначення вмісту загальної золи* проводять за методикою ДФУ I видання, розділ 2.4.16. Вміст загальної золи у 5 серій сировини не має перевищувати 4%.

*Визначення золи, нерозчинної у 10% розчині кислоти хлористоводневої* проводять за методикою ДФУ Доповнення 2, розділ 2.8.1. Вміст золи, нерозчинної у 10% розчині кислоти хлористоводневої, у 5 серій сировини не має перевищувати 1,7%.

### *КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ*

*Визначення кількісного вмісту суми ГКК* проводять за методикою ДФУ [142]. 1,5 г (точна наважка) подрібненої на порошок сировини поміщають у колбу місткістю 200 мл, додають 90 мл спирту (50% об/об), нагрівають на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 30 хв., охолоджують до кімнатної температури, фільтрують крізь ватний тампон у мірну колбу місткістю 100 мл. Ватний тампон промивають 10 мл спирту (50% об/об), фільтруючи промивну рідину в ту ж мірну колбу. Доводять до позначки об'єм розчину спиртом (50% об/об), перемішують. Отриманий розчин фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка», перші 15 мл фільтрату відкидають.

*Випробовуваний розчин.* 1 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, послідовно додають 2 мл 0.5 М розчину кислоти хлористоводневої, 2 мл свіжоприготовленого розчину 10 % натрію нітриту та натрію молібдату, 2 мл розчину натрію гідроксиду розведеного, водою доводять об'єм розчину до позначки, перемішують.

*Компенсаційний розчин.* 1 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, послідовно додають 2 мл 0.5 М розчину кислоти хлористоводневої та 2 мл розчину натрію гідроксиду розведеного, водою доводять об'єм розчину до позначки, перемішують.

Оптичну густина випробовуваного та компенсаційного розчинів вимірюють при довжині хвилі 327 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм.

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

$$X = \frac{A \cdot W \cdot V}{531 \cdot m \cdot a \cdot l}$$

де  $A$  – оптична густина випробовуваного розчину при довжині хвилі 327 нм;

$W$  – загальний об'єм після розведення, мл;

$V$  – об'єм спиртового екстракту, мл;

$m$  – маса наважки випробовуваної сировини, г;

$a$  – об'єм, взятий для розведення, мл;

$l$  – товщина кювети, см;

531 – питомий показник поглинання кислоти хлорогенової при 327 нм.

Вміст суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту та повітряно-суху сировину має становити не менше 26%.

*Визначення вмісту суми флавоноїдів.* Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін проводять спектрофотометричним методом [155]. По 2,0 мл одержаних водно-спиртових витягів вносять у мірну колбу ємкістю 25 мл, додають 3,0 мл 3% розчину алюмінію хлориду у 96% спирті етиловому, доводять 5% розчином оцтової кислоти у 96% спирті етиловому до мітки і перемішують. Через 30 хв. вимірюють оптичну густина одержаного розчину у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Розчин порівняння: 2,0 мл витягу вносять у мірну колбу ємкістю 25 мл, доводять 5% розчином оцтової кислоти у 96% спирті етиловому до мітки і перемішують.

Вміст суми флавоноїдів в перерахунку на лютеолін і повітряно-суху сировину в екстрактах обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot W \cdot V}{549,41 \cdot m \cdot a \cdot l}$$

де  $A$  – оптична густина досліджуваного розчину;

$W$  – загальний об'єм після розведення, мл;

$V$  – об'єм спиртового екстракту, мл;

$m$  – наважка сировини;

$a$  – об'єм, взятий для розведення, мл;

$l$  – товщина кювети, см;

549,41 – питомий показник поглинання комплексу лютеліну з алюмінію хлоридом при 400 нм.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін та повітряно-суху сировину має становити не менше 2,2%.

Параметри стандартизації та показники якості 5 серій трави а. фенхельного наведені в табл. 4.6.

Таблиця 4.6

## Параметри стандартизації трави а. фенхельного

Параметри стандартизації	Результати дослідження показників якості				
	C1	C2	C3	C4	C5
1	2	3	4	5	6
Опис					
<p>Подрібнена сировина складається з фрагментів порожнистих, ребристих стебел, 2,5-3,5 см завдовжки, світло-зеленого кольору, фрагментів листків із відтягнутою загостреною верхівкою та зубчастим краєм, від світло-зеленого до зеленого кольору, фрагментів суцвіття – окремих цимоїдів, трубчасто-дзвоникоподібних чашечок, світло-зеленого кольору, бузково-лілових квіток.</p> <p>Порошкова сировина світло-зеленого кольору. При перегляді під мікроскопом у розчині хлоральгідрату Р виявляються фрагменти клітин епідерми з продихами аномоцитного типу, оточеними 2-5 клітинами; прості одноклітинні трихоми та 2-4 клітинні трихоми, залозисті трихоми з двоклітинною ніжкою та двоклітинною голівкою, 8-клітинні ефіроолійні майже сидячі залозисті трихоми; фрагменти стовпчастої паренхіми листка, що складається з двох шарів клітин прямокутної форми та губчастої паренхіми листка з великими міжклітинниками; фрагменти епідерми черешка, під якою</p>	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+



Продовж. табл. 4.6

1	2	3	4	5	6
розміщена кутова коленхіма, клітини паренхіми черешка округлої форми з потовщеними клітинними стінками; фрагменти епідерми стебла, що вкрита кутикулою, клітини серцевинної паренхіми мають ознаки здерев'яніння; фрагменти епідерми пелюсток, паренхіма який характеризується наявністю великої кількості включень.					
Ідентифікація					
<p><u>Якісна реакція</u></p> <p>До 1 г подрібненої до порошкоподібного стану сировини додають 30 мл <i>води Р</i> та нагрівають на водяній бані протягом 30 хв, отриманий витяг охолоджують та фільтрують. До 2 мл витягу додають 0,2 мл 1% розчину заліза (III) хлориду. Спостерігається поява темно-зеленого забарвлення.</p>	+	+	+	+	+
<p><u>Хроматографічний аналіз</u></p> <p><i>Випробовуваний розчин.</i> До 0,5 г подрібненої на порошок сировини додають 5 мл гексану, нагрівають на водяній бані зі зворотним холодильником протягом 5 хв, охолоджують і фільтрують. Для хроматографування використовують 20 мкл одержаного розчину.</p> <p><i>Розчин порівняння.</i> 10 мкл ментолу Р і 10 мкл пулегону Р розчиняють у 5 мл гексану.</p> <p><i>Пластинка:</i> ТШХ пластинка із закріпленим шаром силікагелю, Мерск 60 F<sub>254</sub> або аналогічна за властивостями і характеристиками.</p>	+	+	+	+	+

Продовж. табл. 4.6

1	2	3	4	5	6
<p><i>Рухома фаза:</i> етилацетат Р – толуол Р (1:19).</p> <p><i>Фронт рухомої фази:</i> не менше 12 см від лінії старту.</p> <p><i>Висушування:</i> в тоці холодного повітря.</p> <p><i>Виявлення:</i> пластинку обприскують розчином анісового альдегіду, витримують при температурі 100-105 °С протягом 5-10 хв, переглядають при денному та УФ-світлі.</p> <p><i>Результати:</i> на хроматограмі випробовуваного розчину в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм проявляються плями, що відповідають за значенням Rf і флуоресценцією стандартним зразкам ментолу і пулегону.</p>					
<b>Випробування на чистоту</b>					
<p><u>Домішки</u></p> <p>Почорнілої або тьмяної трави не більше 1,5%, мінеральні домішки – не більше 1%</p>	+	+	+	+	+
<p><u>Втрата в масі при висушуванні</u></p> <p>Не більше 10,0%.</p>	+	+	+	+	+
<p><u>Загальна зола</u></p> <p>Вміст загальної золи не більше 4%</p>	+	+	+	+	+
<p><u>Зола, нерозчинна у 10% розчині кислоти хлористоводневої</u></p> <p>Золи, нерозчинна у 10% розчині кислоти хлористоводневої, не більше 1,7%</p>	+	+	+	+	+

Продовж. табл. 4.6

1	2	3	4	5	6
Кількісне визначення					
<u>Вміст суми ГКК</u> Вміст суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту та повітряно-суху сировину - не менше 26%.	27,91 ±0,2	27,38 ±0,21	27,42 ±0,31	27,65 ±0,1	27,08 ±0,26
<u>Вміст суми флавоноїдів</u> Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін та повітряно-суху сировину - не менше 2,2%.	2,32 ±0,04	2,28 ±0,04	2,34 ±0,03	2,3 ±0,05	2,3 ±0,03

Примітка. «+» - сировина відповідає вимогам МКЯ

#### 4.5 Розробка технології одержання ліпофільного екстракту з трави агастахе фенхельного

З метою комплексної переробки сировини а. фенхельного нами запропонована технологія комплексної переробки сировини та одержання фармакологічно активних субстанцій. Так, отримання ліпофільного екстракту прогнозовано [228, 229] забезпечить отримання засобу з антибактеріальною та протигрибковою дією, а подальше екстрагування знежиреної сировини водно-спиртовою сумішшю сприятиме повноцінному переходу інших груп БАР із рослинної сировини та отриманню поліфенольного екстракту з гепатопротекторною, антиоксидантною дією.

В якості розчинника для отримання ліпофільного екстракту нами був обраний хлороформ, який широко застосовують як знежирюючий агент у сучасному фітохімічному виробництві ЛЗ, який забезпечує вичерпну екстракцію сполук ліпофільної природи (жирні кислоти, стероїдні сполуки, хлорофіли, терпеноїди, аглікони флавоноїдів тощо) з ЛРС [230 - 232].

Вивчення процесу екстрагування ліпофільної фракції з трави а. фенхельного полягало у дослідженні співвідношення сировина – екстрагент та часу екстракції для розробки раціональної технології методу екстракції сировини.

Так, було встановлено, що оптимальним співвідношенням сировина – екстрагент за даних умов є співвідношення 1:10. У випадку, якщо співвідношення сировина – екстрагент менше 1:10, вихід ліпофільної фракції зменшується, а отже, достатня екстракція БАР не здійснюється, що впливає на якість вихідного продукту. У випадку, якщо співвідношення більше 1:10, значного збільшення виходу ліпофільної фракції не відмічено, тому недоцільним є збільшення використання розчинника, що веде до збільшення енерговитрат, ускладнення та подовження технологічного процесу. Екстракція сировини хлороформом впродовж 24 год забезпечує максимальне вилучення ліпофільних сполук.

Результати дослідження впливу співвідношення сировина – екстрагент на повноту екстракції суми БАР наведені в табл. 4.7 дослідження впливу часу екстракції на вихід суми БАР наведені в табл. 4.8.

Таблиця 4.7

**Дослідження впливу співвідношення сировина – екстрагент на повноту екстракції ліпофільної фракції суми БАР з трави а. фенхельного**

Технологічні параметри	Вихід, % у перерахунку на повітряно суху сировину, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n=5		
	Ліпофільна фракція	Сума каротиноїдів	Сума хлорофілів
1:5	2,16 ± 0,02	3,91± 0,02	30,39± 0,10
1:8	2,87± 0,02	7,35± 0,02	46,83± 0,12
1:10	3,53 ± 0,02	8,65± 0,02	49,66± 0,12
1:12	3,60± 0,02	8,68± 0,02	49,80± 0,10
1:15	3,61 ± 0,02	8,70± 0,02	49,69± 0,12

Таблиця 4.8

**Дослідження впливу часу екстракції на вихід ліпофільної фракції та суми БАР з трави а. фенхельного**

Технологічні параметри	Вихід, % у перерахунку на повітряно суху сировину, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n=5		
	Ліпофільна фракція	Сума каротиноїдів	Сума хлорофілів
12 год	2,22 ± 0,02	6,85 ± 0,02	40,13 ± 0,12
24 год	3,53 ± 0,02	8,63 ± 0,04	49,13 ± 0,12
36 год	3,56 ± 0,02	8,69± 0,02	49,44 ± 0,18

Технологічний процес одержання модельного ліпофільного екстракту: заготовлену у фазу цвітіння траву а. фенхельного подрібнюють до розміру часточок 3-4 мм, завантажену у циркуляційний екстрактор сировину заливають хлороформом у співвідношенні до сировини 1:10 та екстрагують при

температурі 65°C впродовж 24 год до повного знебарвлення екстрагенту. Отриманий в результаті екстракт упарюють у вакуумі у замкненому циклі (що запобігає викиду хлороформу в навколишнє середовище) до сухого залишку.

Отриманий залишок являє собою темно-зелену масу з приємним м'ятним ароматом, нерозчинну у воді, при нагріванні до 30°C розчиняється у 96% спирті етиловому, розчинну у хлороформі, гексані.

Вихід кінцевого продукту становить  $3,53 \pm 0,02\%$ .

4.6 Вивчення складу БАР ліпофільного екстракту з трави агастахе фенхельного

#### *Якісний аналіз основних груп БАР*

##### *Виявлення терпеноїдів*

Аналіз якісного складу терпеноїдів у ліпофільному екстракті з трави а. фенхельного проводили методом ТШХ за методикою, наведеною в підрозд. 2.2, п. 8. Після обробки хроматограм розчином анісового альдегіду пластинки переглядали при денному та УФ-світлі.

На хроматограмі проявились (рис 4.14) плями стандартних речовин: слабо-рожева  $R_f=0,23$  (ментол) і рожево-оранжева  $R_f=0,41$  (пулегон), на смузї досліджуваного екстракту проявились плями слабо рожевого та рожево-оранжевого кольору на рівні відповідних плям стандартних зразків даних терпеноїдів, а також пляма оранжевого кольору з  $R_f=0,31$ , яка за параметрами утримування [131, 132, 232] була ідентифікована як ліналоол. Таким чином, методом ТШХ у ліпофільному екстракті з трави а. фенхельного були ідентифіковані ментол, ліналоол та пулегон.

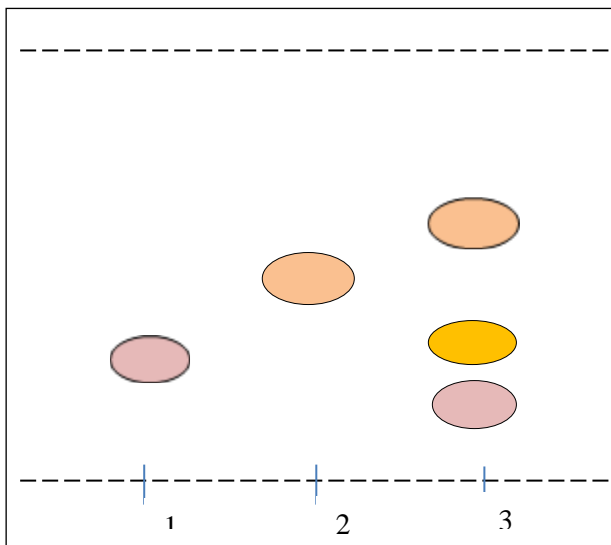


Рис. 4.14. Схема хроматограми терпеноїдів ліпофільного екстракту з трави агастахе фенхельного: 1 – ментол; 2 – пулегон; 3 – ліпофільний екстракт агастахе фенхельного

#### *Вивчення вмісту каротиноїдів у ліпофільному екстракті*

Вивчення вмісту каротиноїдів у ліпофільному екстракті а. фенхельного проводили за методикою, наведеною в розділі 2, п. 16.

Спектрофотометричним методом встановлено, що вміст суми каротиноїдів у ліпофільному екстракті трави а. фенхельного у перерахунку на  $\beta$ -каротин становить  $8,68 \pm 0,02\%$  (табл. 4.9).

#### *Вивчення вмісту хлорофілів у ліпофільному екстракті*

Вивчення вмісту хлорофілів у ліпофільному екстракті а. фенхельного проводили за методикою, наведеною в розділі 2, п. 17.

Кількісний вміст хлорофілів визначали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі СФ-26 у кюветах з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі 670 нм, який у перерахунку на хлорофіл А становить  $49,8 \pm 0,1\%$  (табл. 4.9).

Таблиця 4.9

**Вміст основних груп БАР у ліпофільному екстракті агастахе  
фенхельного**

Об'єкт	Вміст БАР, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 5	
	Сума каротиноїдів	Сума хлорофілів
Ліпофільний екстракт агастахе фенхельного	8,68±0,02	49,8±0,1

#### 4.7 Розробка технології одержання рідкого екстракту з трави агастахе фенхельного

Для розробки оптимальних умов одержання основних БАР із трави а. фенхельного враховували ступінь подрібнення сировини, природу екстрагента, час екстракції, співвідношення сировина-екстрагент та кратність екстракції. При встановленні оптимальних параметрів одержання екстрактів ми визначали вміст суми гідроксикоричних кислот, вміст суми флавоноїдів та вміст суми поліфенолів.

Вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол у досліджуваних екстрактах визначали за методикою, описаною в підрозділі 2.2, п. 14.2. Вміст суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту визначали за методикою, описаною в підрозділі 2.2, п. 14.4. Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін визначали за методикою, описаною в підрозділі 2.2, п. 14.5.

##### *Визначення оптимального ступеня подрібнення*

Висушену траву а.фенхельного подрібнювали та просіювали крізь сита з діаметром отворів 8; 6; 4; 2 мм. З кожної фракції відбирали 0,5 г сировини, поміщали в круглодонну колбу місткістю 100 мл, додавали 30 мл 50% етилового спирту і витримували на водяній бані при 80°C зі зворотнім холодильником протягом 15 хв. Витяжку фільтрували після охолодження,



доводили 50% етиловим спиртом до початкового об'єму та визначали вміст суми ГКК, флавоноїдів та поліфенольних сполук.

Отримані результати наведені в табл. 4.10.

Таблиця 4.10

**Вплив ступеня подрібнення сировини на повноту екстракції БАР із  
трави а. фенхельного**

Ступінь подрібнення сировини	Вміст БАР,% у перерахунку на повітряно-суху сировину, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 5		
	Сума ГКК	Сума флавоноїдів	Сума поліфенолів
7-8 мм	20,98±0,13	1,61±0,03	8,44±0,06
5-6 мм	22,34±0,13	1,77±0,04	8,77±0,06
3-4 мм	26,25±0,13	1,89±0,03	8,89±0,06
1-2 мм	26,33±0,10	1,92±0,05	8,90±0,06

Встановлено, що оптимальним ступенем подрібнення з метою подальшого отримання екстрактів з високим вмістом БАР для трави а. фенхельного є 3-4 мм.

*Визначення оптимальної природи екстрагента*

В якості розчинника для отримання рідкого екстракту а.фенхельного використовували воду очищену, водно-спиртові суміші з різним вмістом етанолу (20, 40, 50, 70, 80), хлороформ. Витяжки одержували за описаною в п. 1 методикою вищезазначеними розчинниками.

Одержані результати наведені в табл. 4.11.

Результати досліджень вказують на те, що найбільший вихід БАР із трави а. фенхельного досягається з використанням 50% етанолу в якості екстрагента.

**Вплив природи екстрагента на повноту екстракції БАР  
із трави а. фенхельного**

Екстрагент	Вміст БАР,% у перерахунку на повітряно-суху сировину, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 5		
	Сума ГКК	Сума флавоноїдів	Сума поліфенолів
Вода очищена	18,42±0,20	0,76±0,03	6,01±0,05
20% етанол	18,91±0,13	1,02±0,03	6,78±0,05
40% етанол	24,52±0,10	1,77±0,05	7,51±0,05
50% етанол	26,37±0,17	1,94±0,03	8,49±0,06
70% етанол	25,73±0,13	1,97±0,07	8,28±0,06
80% етанол	23,09±0,13	1,29±0,03	7,89±0,05
хлороформ	2,34±0,13	–	0,02±0,01

*Вивчення впливу знежирення сировини*

З метою комплексного використання сировини а. фенхельного нами було досліджено вплив процесу знежирення сировини на вихід БАР поліфенольної природи у рідкий екстракт.

Як знежирюючий агент використовували хлороформ, знежирення проводили за описаною в п. 4.5 методикою. Екстракцію БАР проводили 50% спиртом етиловим.

Результати дослідження впливу знежирення сировини на повноту екстракції БАР із трави а. фенхельного наведені в табл. 4.12.

В результаті проведених досліджень встановлено, що використання попереднього знежирення сировини сприяє збільшенню виходу БАР у рідкий екстракт.

**Вплив знежирення сировини на повноту екстракції БАР  
із трави а. фенхельного**

Об'єкт дослідження	Вміст БАР в отриманих екстрактах,% у перерахунку на повітряно-суху сировину, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 5		
	Сума ГКК	Сума флавоноїдів	Сума поліфенолів
Вихідна сировина	25,16±0,13	1,77±0,03	8,27±0,06
Знежирена сировина	27,42±0,21	2,22±0,03	9,38±0,06

*Визначення оптимального співвідношення сировина-екстрагент*

Для встановлення оптимального співвідношення між масою сировини та об'ємами екстрагента нами були використані такі співвідношення: 1:5; 1:10; 1:15; 1:20. Екстракцію проводили 50% спиртом.

Результати вибору оптимального співвідношення між рослинною сировиною і екстрагентами наведені в табл. 4.13.

Згідно отриманим результатам, оптимальним співвідношенням сировина-екстрагент є співвідношення 1:10. Зростання співвідношення сировина-екстрагент до 1:15 та більше не спричиняє суттєвого підвищення виходу БАР з досліджуваної сировини, а лише призводить до витрат розчинника.

Таблиця 4.13

**Вплив співвідношення сировина-екстрагент на повноту екстракції БАР  
із трави а. фенхельного**

Співвідношення сировина: екстрагент	Вміст БАР в отриманих екстрактах,% у перерахунку на повітряно-суху сировину, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 5		
	Сума ГКК	Сума флавоноїдів	Сума поліфенолів
1:5	20,08±0,13	1,29±0,03	7,88±0,06
1:10	26,40±0,10	1,91±0,04	8,49±0,06
1:15	26,48±0,13	1,96±0,04	8,53±0,06
1:20	26,52±0,20	1,97±0,03	8,54±0,06

### *Визначення оптимального часу екстракції*

Для встановлення оптимального часу для максимальної екстракції БАР із сировини а. фенхельного, сировину настоювали у співвідношенні 1:10 спиртом етиловим 50% протягом 15 хв, 30 хв, 45 хв, 60 хв на водяній бані при періодичному перемішуванні. Результати залежності вмісту БАР у одержаних витягах від часу екстракції наведені в табл. 4.14.

*Таблиця 4.14*

### **Вплив часу екстракції на вилучення БАР із трави а. фенхельного**

Час екстракції, хв	Вміст БАР, % у перерахунку на повітряно-суху сировину, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 5		
	Сума ГКК	Сума флавоноїдів	Сума поліфенолів
15	20,11±0,10	1,71±0,03	7,89±0,05
30	24,01±0,20	1,98±0,03	8,36±0,06
45	25,16±0,13	2,05±0,04	8,43±0,06
60	26,52±0,20	2,12±0,03	8,46±0,06

Виходячи з отриманих даних, можна зробити висновок, що найбільша кількість БАР із досліджуваної сировини екстрагується за 60 хв. Проте, за 30 хв екстрагування кількість БАР, що перейшли в розчин, менше всього лише на 0,5 – 2%, тоді як час екстракції зріс вдвічі. Виходячи з вищенаведеного, на нашу думку, оптимальним часом екстракції сировини є 30 хв.

### *Визначення оптимальної кратності екстракції*

Для встановлення оптимальної кратності екстракцій для максимальної екстракції БАР із сировини а. фенхельного, сировину настоювали у співвідношенні 1:10 спиртом етиловим 50% протягом 30 хв на водяній бані при періодичному перемішуванні. Результати вибору оптимальної кількості екстракцій наведені в табл. 4.15.

Таблиця 4.15

**Вплив кратності екстракції на вилучення БАР із трави а. фенхельного**

Кількість екстракцій	Вміст БАР,% у перерахунку на повітряно-суху сировину, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 5		
	Сума ГКК	Сума флавоноїдів	Сума поліфенолів
I	19,47±0,13	1,6±0,03	7,47±0,05
II	3,99±0,20	0,30±0,03	1,16±0,01
III	1,85±0,20	0,11±0,03	0,48±0,01
IV	0,45±0,13	0,04±0,003	0,04±0,01

Отримані результати вказують на те, що найбільший вихід БАР із трави а. фенхельного досягається при трикратній екстракції.

Таким чином, в результаті проведених досліджень встановлені оптимальні технологічні параметри екстракції сировини трави агастахе фенхельного, які наведені в табл.4.16.

Таблиця 4.16

**Оптимальні технологічні параметри одержання рідкого екстракту трави агастахе фенхельного**

Наявність попереднього знежирення сировини	Так. Знежирюючий агент – хлороформ, технологічні параметри – див. п. 4.5
Екстрагент	50% спирт етиловий
Ступінь подрібнення сировини	3-4 мм
Співвідношення сировина-екстрагент	1:10
Час екстракції	30 хв
Кратність екстракції	3

Технологічний процес одержання модельного рідкого екстракту: подрібнену повітряно-суху сировину а. фенхельного, що проходить крізь сито діаметром 3 мм поміщають у циркуляційний екстрактор, заливають

хлороформом у співвідношенні до сировини 1:10 та вичерпно екстрагують при постійно підтримуваній температурі 65°C протягом 24 год з рециркуляцією екстрагента у замкненому циклі до знебарвлення екстрагенту. Отриманий після знежирення шрот екстрагують 50% етанолом у співвідношенні сировина-екстрагент 1:10 при температурі 80°C протягом 30 хв. тричі. Отримані витяжки об'єднують, фільтрують і відстоюють протягом 2 діб при температурі не вище 10°C та фільтрують.

#### 4.8 Вивчення складу БАР рідкого екстракту з трави агастахе фенхельного

##### *Якісний аналіз основних груп БАР*

###### *Виявлення флавоноїдів*

Якісний склад даної групи сполук виявляли хроматографічно за методикою наведеною в підрозд. 2.2, п. 6. На хроматограмі проявились плями стандартних речовин: зони з жовто-зеленою флуоресценцією (рутин та апігенін) та зони з жовто-коричневою флуоресценцією (лютеолін та кверцетин), на смузі досліджуваного екстракту проявились плями на рівні відповідних плям стандартних зразків флавоноїдів, а також інші плями слабо рожевого та коричнево-оранжевого кольору (рис. 4.15).

Таким чином, у рідкому екстракті а. фенхельного були ідентифіковані рутин, апігенін, лютеолін та кверцетин.

###### *Виявлення гідроксикоричних кислот*

Наявність ГКК у рідкому екстракті а. фенхельного досліджували методом ТШХ за методикою наведеною в підрозд. 2.2, п. 5. На хроматограмі проявились плями стандартних речовин: зона із зелено-блакитною флуоресценцією (хлорогенова кислота) та зона з блакитною флуоресценцією (кофейна кислота), на смузі досліджуваного екстракту проявились плями на рівні відповідних плям стандартних зразків ГКК (рис. 4.16).

Таким чином, у рідкому екстракті а. фенхельного були ідентифіковано хлорогенову, розмаринову та кофейну кислоти.

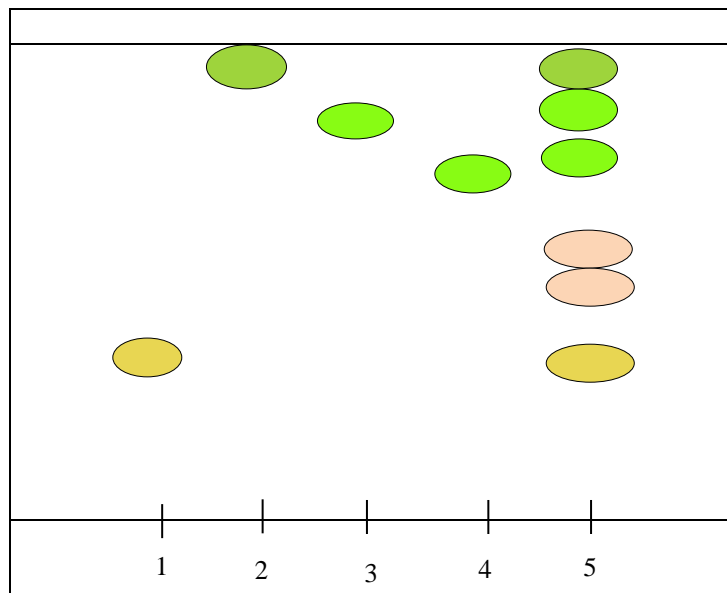


Рис. 4.15. Схема хроматограми флавоноїдів рідкого екстракту трави агастахе фенхельного: 1 – рутин; 2 – кверцетин; 3 – лютеолін, 4 – апігенін, 5 – екстракт агастахе фенхельного

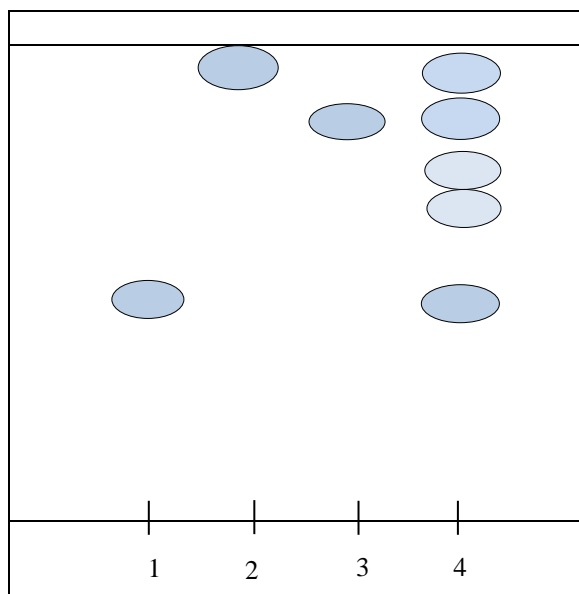


Рис. 4.16. Схема хроматограми гідроксикоричних кислот рідкого екстракту трави агастахе фенхельного: 1 – хлорогенова кислота; 2 – кофеїна кислота; 3 – розмаринова кислота, 4 – екстракт агастахе фенхельного

### *Визначення кількісного вмісту основних груп БАР*

Кількісне визначення суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол у відсотках проводили за методикою, що наведена в підрозд. 2.2., п. 14.2. методом спектрофотометрії при 760 нм на спектрофотометрі ULAB 108UV.

Кількісний вміст суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту визначали спектрофотометрично при 327 нм за методикою, що наведена в підрозд. 2.2., п. 14.4.

Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін проводили методом спектрофотометрії при 400 нм (підрозд. 2.2., п. 14.5).

Дані, отримані в результаті проведених досліджень, наведені табл. 4.17.

*Таблиця 4.17*

#### **Вміст основних груп БАР у рідкому екстракті агастахе фенхельного**

Об'єкт	Вміст БАР, %, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , n = 5		
	ГКК	Флавоноїди	Поліфеноли
Рідкий екстракт агастахе фенхельного	46,26±0,21	3,97±0,05	37,91±0,07

#### 4.9 Розробка проектів МКЯ на сировину

На основі результатів фітохімічних досліджень вмісту БАР: визначення вмісту поліфенольних сполук (п. 3.7.), визначення показників якості сировини (п. 4.4) та морфолого-анатомічних досліджень трави а. фенхельного, нами було розроблено проект МКЯ «Агастахе фенхельного трава», які наведено в табл. 4.18.



## Проект МКЯ Агастахе фенхельного трава

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
1	2	3
Опис	Фрагменти порожнистих, ребристих стебел, 2,5-3,5 см завдовжки, світло-зеленого кольору, фрагменти листків із відтягнутою загостреною верхівкою та зубчастим краєм, від світло-зеленого до зеленого кольору, фрагменти суцвіття – окремі цимоїди, трубчасто-дзвоникоподібні чашечки, світло-зеленого кольору, бузково-лілові квітки.	Візуальний
Ідентифікація:		
Мікроскопія	Порошкова сировина світло-зеленого кольору. При перегляді під мікроскопом у розчині хлоральгідрату Р виявляються фрагменти клітин епідерми з продихами аномоцитного типу, оточеними 2-5 клітинами; прості одноклітинні трихоми та 2-4 клітинні трихоми, залозисті трихоми з двоклітинною ніжкою та двоклітинною голівкою, 8-клітинні ефіроолійні майже сидячі залозисті трихоми; фрагменти стовпчастої паренхіми листка, що складається з двох шарів клітин прямокутної форми та губчастої паренхіми листка з великими міжклітинниками; фрагменти епідерми черешка, під якою розміщена кутова коленхіма, клітини паренхіма черешка – округлої форми з потовщеними клітинними стінками; фрагменти епідерми стебла, що вкрита кутикулою, клітини серцевинної паренхіми мають ознаки здерев'яніння; фрагменти епідерми пелюсток, паренхіма пелюсток з великою кількістю включень.	Візуальний

1	2	3
Якісна реакція	До 1 г подрібненої до порошкоподібного стану сировини додають 30 мл <i>води Р</i> та нагрівають на водяній бані протягом 30 хв, отриманий витяг охолоджують та фільтрують. До 2 мл витягу додають 0,2 мл 1% розчину заліза (III) хлориду. Спостерігається поява темно-зеленого забарвлення.	Візуальний
Метод ТШХ	<i>Терпеноїди.</i> Проводять на пластинках із шаром силікагелю Р, розчин порівняння – розчин ментолу і пулегону, рухома фаза: етилацетат Р – толуол Р (1:19), фронт рухомої фази не менше 12 см від лінії старту, висушування в тоці холодного повітря, для виявлення використовують розчин анісового альдегіду, витримуючи пластинку при температурі 100-105 °С протягом 5-10 хв, переглядають при денному та УФ-світлі. На хроматограмі випробовуваного розчину в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм проявляються плями, що відповідають за значенням R <sub>f</sub> і флуоресценцією стандартним зразкам ментолу і пулегону.	ДФУ, 1 вид., 2.2.27
Випробування:		
Домішки	Почорнілої або тьмяної трави не більше 1,5%, мінеральні домішки – не більше 1%.	ДФУ, 1 вид., 2.8.2
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 10,0%.	ДФУ, Доп. 4., 2.2.32
Загальна зола	Вміст загальної золи не більше 4%.	ДФУ, 1 вид., 2.4.16
Зола, нерозчинна у 10% розчині к-ти хлористоводневої	Вміст золи, нерозчинної у 10% розчині кислоти хлористоводневої, не більше 1,7%.	ДФУ Доп. 2, 2.8.1.

Продовж. табл. 4.18

1	2	3
Кількісне визначення:		
Сума гідроксикоричних кислот	<p><i>Спектрофотометричний метод</i> при аналітичній <math>\lambda = 327</math> нм у перерахунку на хлорогенову кислоту. Питомий показник поглинання хлорогенової кислоти при <math>\lambda = 327 \pm 5</math> нм, рівний 531.</p> <p>Сума гідроксикоричних кислот у перерахунку на кислоту хлорогенову і абсолютно суху сировину не менше 26%.</p>	ДФУ, 1 вид., 2.2.25
Сума флавоноїдів	<p><i>Спектрофотометричний метод</i> при аналітичній <math>\lambda = 400</math> нм у перерахунку на лютеолін. Питомий показник поглинання комплексу лютеоліну з хлоридом алюмінію при <math>\lambda = 400 \pm 5</math> нм, рівний 549,41.</p> <p>Сума флавоноїдів у перерахунку на лютеолін і суху сировину - не менше 2,2%.</p>	ДФУ, 1 вид., 2.2.25

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в публікаціях [12, 153, 207 - 209, 233 - 235].

## ВИСНОВКИ

Проведено макроскопічне дослідження сировини *A. foeniculum* та *A. urticifolia*. Встановлено основні морфологічні діагностичні ознаки видів, а саме:

- довжина зубців чашечки (1–2 мм у *A. foeniculum* та 1,7–5 мм у *A. urticifolia*);

- характер опушення нижньої поверхні листкових пластинок (густе, притиснуте біло-повстисте у *A. foeniculum* та відсутність або слабке опушення у *A. urticifolia*);

- кількість жилок чашечки (15 у *A. foeniculum* та 3 у *A. urticifolia*); колір віночка та розмір його трубки (блакитний, трубка 6,5–7,5 мм у *A. foeniculum* та від рожево-фіолетового до білуватого з трубкою 3–12 мм у *A. urticifolia*).

2. В результаті проведених мікроскопічних досліджень встановлено спільні та відмінні для *A. foeniculum* та *A. urticifolia* анатомічні ознаки будови стебел, листків, черешків та пелюсток, які можуть використовуватись як ключові показники якості при стандартизації досліджуваних видів та ідентифікації сировинного матеріалу. А саме:

- характер та інтенсивність опушення: стебла *A. foeniculum* опушені густіше порівняно з *A. urticifolia*; листки *A. foeniculum* опушені з абаксіального боку рівномірно, *A. urticifolia* – розсіяно, переважно по жилках.

- у *A. foeniculum* на 60% більше ефіроолійних сидячих залозистих трихом порівняно з *A. urticifolia*, також у *A. urticifolia* повністю відсутні залозисті трихоми з 2-клітинною ніжкою і 2-клітинною голівкою з адаксіального боку листка та абаксіального боку черешка, а кількість залозистих та простих трихом набагато менша порівняно з *A. foeniculum*.

3. Встановлені анатомічні відмінності будови вегетативних органів різновікових особин досліджуваних видів:

- листки ювенільних особин обох видів характеризуються більшими розмірами та вищими показниками кількості продихів на одиницю площі, вищим значенням продихового індексу; більшою кількістю простих та залозистих трихом різних типів порівняно з генеративними;

- листки генеративних особин характеризуються більшою кількістю епідермальних клітин на одиницю площі, потовщенням епідермального шару та шарів паренхіми;

- в процесі онтогенетичного розвитку спостерігається зменшення щільності опушення стебел та черешків різними типами трихом, зокрема, у обох видів залозистих трихом менше в генеративній стадії.

4. Отримано культуру рослин, вирощених *in vitro* (з насіння) з метою оцінки впливу застосування біотехнологічних методів отримання сировини на біохімічні властивості рослин досліджуваних видів.

Проведено порівняльне дослідження вмісту основних БАР у траві *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, що культивувались *in vitro* та у відкритому ґрунті.

Встановлено, що рослини *Agastache* обох досліджених видів успішно піддаються вирощуванню в асептичній культурі тканин (*in vitro*), накопичують значну біомасу та відрізняються досить високим вмістом поліфенольних сполук (як сумарним, так і окремих груп БАР поліфенольної природи – ГКК, флавоноїдів, проціанідинів), що є близьким до такого у відповідних рослин при культивуванні у відкритому ґрунті (окрім сумарного вмісту поліфенолів, який переважає у сировині, вирощеній в природних умовах, в середньому на 2-3%).

5. Вперше встановлено, що при вирощуванні рослин *Agastache in vitro* вміст досліджених нами груп поліфенолів є майже незмінним протягом всієї вегетації, прогнозованим, що свідчить про можливість отримання в умовах *in vitro* стандартизованої за вмістом основних груп БАР сировини *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, що є досить складним завданням при вирощуванні рослин в природних умовах.

6. В результаті комплексу проведених досліджень в якості найбільш перспективного виду сировини з-поміж обох видів агастахе для подальшої

розробки лікарських препаратів нами було обрано траву а. фенхельного.

На основі результатів фітохімічних досліджень вмісту БАР, визначення показників якості сировини та морфолого-анатомічних досліджень трави а. фенхельного було проведено стандартизацію сировини а. фенхельного, розроблено проект МКЯ.

7. Вивчено процес екстрагування ліпофільної фракції з трави а. фенхельного для розробки раціональної технології методу екстракції сировини. Встановлено, що оптимальними умовами, які забезпечують максимальне вилучення ліпофільних сполук з сировини, є співвідношення сировина:екстрагент 1:10, час екстракції – 24 год.

8. Досліджено якісний склад та кількісний вміст основних груп БАР у ліпофільному екстракті з трави а.фенхельного. Методом ТШХ були ідентифіковані ментол, ліналоол та пулегон. Спектрофотометричним методом встановлено, що вміст суми каротиноїдів у перерахунку на  $\beta$ -каротин становить  $8,68 \pm 0,02\%$ , вміст хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А становить  $49,8 \pm 0,1\%$ .

9. Досліджено оптимальні технологічні параметри екстракції сировини трави агастахе фенхельного та встановлено, що БАР поліфенольної природи найкраще екстрагуються при подрібненні сировини до 3-4 мм, попередньому знежиренні сировини хлороформом з подальшою екстракцією шроту 50% спиртом етиловим, при співвідношенні сировина-екстрагент 1:10 з 3-кратною екстракцією протягом 30 хв.

10. Досліджено склад БАР рідкого екстракту з трави агастахе фенхельного. Методом ТШХ було ідентифіковано рутин, апігенін, лютеолін кверцетин, хлорогенову, розмаринову та кофейну кислоти. Методом спектрофотометрії визначено, що сума поліфенолів у перерахунку на пірогалол становить  $37,91 \pm 0,07\%$ , вміст суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту –  $46,26 \pm 0,21\%$ , вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін –  $3,97 \pm 0,05\%$ .

## РОЗДІЛ 5

### СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ТА ВИВЧЕННЯ ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ

#### 5.1 Стандартизація екстрактів, отриманих з трави агастахе фенхельного

5.1.1 Стандартизація ліпофільного екстракту агастахе фенхельного. Ліпофільний екстракт а. фенхельного, згідно з вимогами ДФУ, контролюють за такими показниками якості: опис, розчинність, ідентифікація, втрата в масі при висушуванні, граничний вміст залишкових кількостей органічних розчинників, кількісне визначення.

Параметри стандартизації та показники якості 3 серій ліпофільного екстракту а. фенхельного наведені в табл. 5.1.

#### *ОПИС*

Ліпофільний екстракт – маса темно-зеленого кольору з приємним м'ятним ароматом, жирна на дотик.

#### *РОЗЧИННІСТЬ*

Нерозчинний у воді, при нагріванні до 30°C розчиняється у 96% спирті етиловому, розчинний у хлороформі, гексані.

#### *ІДЕНТИФІКАЦІЯ*

Хроматографічний аналіз. Ідентифікацію терпеноїдів проводять методом ТШХ.

*Випробовуваний розчин.* До 0,05 г ліпофільного екстракту агастахе фенхельного додають 5 мл гексану, перемішують і фільтрують. Для хроматографування використовують 20 мкл одержаного розчину.

*Розчин порівняння.* 10 мкл ментолу Р і 10 мкл пулегону Р розчиняють у 5 мл гексану.

*Пластинка:* ТШХ пластинка із закріпленим шаром силікагелю, Merck 60 F<sub>254</sub> або аналогічна за властивостями і характеристиками.

*Рухома фаза:* етилацетат Р – толуол Р (1:19).

*Фронт рухомої фази:* не менше 12 см від лінії старту.

*Висушування:* в тоці холодного повітря.

*Виявлення:* пластинку обприскують розчином анісового альдегіду, витримують при температурі 100-105°C протягом 5-10 хв, переглядають при денному та УФ-світлі.

*Результати:* на хроматограмі випробовуваного розчину в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм мають виявлятися плями, що відповідають за значенням  $R_f$  і флуоресценцією стандартним зразкам ментолу і пулегону. На хроматограмі можуть проявлятися і інші зони.

#### *ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ*

Втрата в масі при висушуванні. Випробування проводили відповідно до вимог ДФУ, 2.8.17. 0,50 г (точна наважка) екстракту помішають у плоскодонну чашку і сушать у сушильній шафі при температурі від 100°C до 105°C протягом 3 год. Охолоджують в ексікаторі над фосфору (V) оксидом Р і зважують. Втрата в масі при висушуванні має бути не більше 10%

Граничний вміст залишкових кількостей органічних розчинників. За ДФУ 5.4 хлороформ належить до розчинників класу 2 «Розчинники, використання яких слід обмежувати». Межа концентрації становить 60 (ppm). Граничний вміст залишкових кількостей хлороформу у субстанціях і готових лікарських засобах становить 0,005%. Випробування проводять методом парофазної газової хроматографії (2.2.28).

*Вихідний розчин* 0.200 г ліпофільного екстракту розчиняють у N, N-диметилформаміді Р (ДМФ) і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 20.0 мл.

*Контрольний розчин.* 5 мл розчину диметилсульфоксиду Р доводять об'єм розчину водою Р до 100 мл (застосовують для перевірки відсутності заважаючих піків).

*Випробовуваний розчин.* 5 мл вихідного розчину і 1 мл контрольного розчину поміщають у флакон.



*Розчин залишкового розчинника.* 0,2 г хлороформу розчиняють у диметилсульфоксиді Р і доводять об'єм розчину водою Р до 100 мл.

*Розчин порівняння.* 1 мл розчину залишкового розчинника і 5.0 мл підхожого розчинника помішають у флакон.

Флакони герметично закривають, поміщають у термостат – пристрій для проведення аналізу рівноважної парової фази, та витримують при температурі 105°C протягом 45 хв.

По 1 мл рівноважної газової фази над досліджуваними зразками хроматографують на газовому хроматографі з полум'яно-іонізаційним детектором за наступних умов:

- колонка кварцова капілярна 30 м×0,32 мм з нанесеним шаром нерухомої фази – 94 % полідиметил-, 6 % поліціанопропілсилоксану, товщина шару – 1,8 мкм або аналогічна, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;
- газ-носії – гелій для хроматографії Р;
- температуру термостата колонки програмують від 49°C (витримують 20 хв), приріст температури – 10°C/хв. до 240°C (затримка 20 хв);
- температура блока випарника – 140°C, розподіл потоку 1 : 5;
- температура детектора – 250°C;
- лінійна швидкість газу-носія (водень, гелій) – 35 см/с.

Вміст хлороформу у відсотках, у наважці ліпофільного екстракту обчислюють за формулою:

$$X = \frac{S_i \cdot m_0 \cdot 20 \times 5}{(S_0 - S_i) \cdot m_i \cdot 100} = \frac{S_i \cdot m_0}{(S_0 - S_i) \cdot m_i}$$

де  $S_i$  – середнє значення площі піка хлороформу із хроматограм випробовуваного розчину;

$S_0$  – середнє значення площі піка хлороформу із хроматограм розчину порівняння;

$m_i$  – маса наважки ліпофільного екстракту, г;

$m_0$  – маса наважки хлороформу, г.

Результати вважаються вірогідними, якщо виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи».

Вміст хлороформу не повинен перевищувати 0,005%.

### *КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ*

#### *Визначення вмісту хлорофілів*

Визначення кількісного вмісту хлорофілів проводять спектрофотометричним методом. 0,05 г (точна наважка) ліпофільного екстракту поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у хлороформі, доводять об'єм розчину до мітки і перемішують.

Вимірюють оптичну густину отриманого розчину при довжині хвилі 670 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 10 \cdot V}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot m}$$

де  $A$  – оптична густина досліджуваного розчину;

10 – вміст хлорофілу в 1 мл 1% розчину, мг;

$V$  – об'єм отриманого розчину, мл;

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$  – питомий показник поглинання хлорофілу А при довжині хвилі 670 нм, який дорівнює 944,5;

$m$  – маса наважки, г.

Вміст хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А має становити не менше 49%.

### Визначення вмісту каротиноїдів

Визначення кількісного вмісту каротиноїдів проводять спектрофотометричним методом. 0,05 г (точна наважка) ліпофільного екстракту розчиняють у 50 мл гексану, перемішують, вимірюють оптичну густину отриманого розчину при довжині хвилі 450 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст каротиноїдів у перерахунку на  $\beta$ -каротин обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot 10 \cdot V}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot m}$$

де  $A$  – оптична густина досліджуваного розчину;

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$  – питомий показник поглинання  $\beta$ -каротину в гексані при довжині хвилі 450 нм, який дорівнює 2500;

$V$  – об'єм розчину, мл;

10 – вміст каротину в 1 мл 1% розчину, мг;

$m$  – маса наважки, г.

Вміст суми каротиноїдів у перерахунку на  $\beta$ -каротин має становити не менше 8,5%.

Таблиця 5.1

**Параметри стандартизації ліпофільного екстракту а. фенхельного**

Параметри стандартизації	Результати дослідження показників якості		
	Лф01	Лф02	Лф03
1	2	3	4
<b>Опис</b>			
Маса темно-зеленого кольору з приємним м'ятним ароматом, жирна на дотик.	+	+	+
<b>Розчинність</b>			
Субстанція нерозчинна у воді, при нагріванні до 30°C розчиняється у 96% спирті етиловому, розчинна у хлороформі, гексані.	+	+	+
<b>Ідентифікація</b>			
<p><u>Хроматографічний аналіз</u>  <i>Випробовуваний розчин.</i> До 0,05 г ліпофільного екстракту додають 5 мл гексану, перемішують і фільтрують. Для хроматографування використовують 20 мкл одержаного розчину.  <i>Розчин порівняння.</i> 10 мкл ментолу Р і 10 мкл пулегону Р розчиняють у 5 мл гексану.  <i>Пластинка:</i> ТШХ пластинка із закріпленим шаром силікагелю, Merck 60 F<sub>254</sub> або аналогічна за властивостями і характеристиками.  <i>Рухома фаза:</i> етилацетат Р – толуол Р (1:19).  <i>Фронт рухомої фази:</i> не менше 12 см від лінії старту.  <i>Висушування:</i> в тоці холодного повітря.  <i>Виявлення:</i> пластинку обприскують розчином анісового альдегіду,</p>	+	+	+

Продовж. табл. 5.1

1	2	3	4
<p>витримують при температурі 100-105 °С протягом 5-10 хв, переглядають при денному та УФ-світлі.  <i>Результати:</i> на хроматограмі випробовуваного розчину в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм проявляються плями, що відповідають за значенням Rf і флуоресценцією стандартним зразкам ментолу і пулегону.</p>			
Випробування на чистоту			
<p><u>Втрата в масі при висушуванні</u>  Не більше 10,0 %.</p>	+	+	+
<p><u>Граничний вміст залишкових кількостей органічних розчинників</u>  Вміст хлороформу не більше 0,005%.</p>	+	+	+
Кількісне визначення			
<p><u>Вміст хлорофілів</u>  Вміст хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А має становити не менше 49%.</p>	49,44±0,10	49,20±0,10	49,30±0,12
<p><u>Вміст каротиноїдів</u>  Вміст суми каротиноїдів у перерахунку на β-каротин має становити не менше 8,5%.</p>	8,59±0,03	8,51±0,02	8,62±0,02

Примітка. «+» - сировина відповідає вимогам МКЯ

5.1.2 Стандартизація рідкого екстракту агастахе фенхельного. Рідкий екстракт а. фенхельного, згідно з вимогами ДФУ, контролюють за такими показниками якості: опис, ідентифікація, вміст важких металів, мікробіологічна чистота, кількісне визначення.

Параметри стандартизації та показники якості 3 серій рідкого екстракту а. фенхельного наведені в табл. 5.2.

#### *ОПИС*

Рідина світло-коричнево-зеленого кольору зі специфічним анісово-м'ятним запахом агастахе. При зберіганні допускається незначне утворення осаду.

#### *ІДЕНТИФІКАЦІЯ*

##### Тонкошарова хроматографія.

*Випробовуваний розчин.* Рідкий екстракт агастахе фенхельного

*Розчини порівняння.* По 0,5 мг рутину, кверцетину, хлорогенової та кофейної розчиняють у 10 мл метилового спирту.

*Пластинка:* ТШХ пластинка «Silufol» розміром 10 x 15 см.

*Рухома фаза:* кислота мурашина безводна Р – вода Р – етилацетат Р (6:9:90).

*Об'єм проби, що наноситься:* 10 мкл, смугами.

*Фронт рухомої фази:* не менше 14 см від лінії старту.

*Висушування:* на повітрі та при температурі від 100°C до 105°C протягом 2 хв.

*Виявлення:* теплу пластинку обприскують розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти Р у метанолі Р, сушать на повітрі. Потім пластинку обприскують розчином 50 г/л макрогону 400 Р у метанолі Р, сушать на повітрі протягом 30 хв і переглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм.

*Результати:* на хроматограмі випробовуваного розчину в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм мають виявлятися плями, що відповідають за значенням  $R_f$  і флуоресценцією стандартним зразкам: оранжева флуоресціююча зона на рівні рутину, блакитна – хлорогенової кислоти, жовто-коричнева – кверцетину,

блакитна – кофейної кислоти. На хроматограмі можуть проявлятися інші зони з жовто-оранжевою та блакитною флуоресценцією.

### *ВИПРОБУВАННЯ НА ЧИСТОТУ*

Вміст важких металів. Визначають за методикою ДФУ 2.4.8 (Метод А).

До 12 мл екстракту додають 2 мл буферного розчину рН 3.5 Р і перемішують. Одержану суміш додають до 1,2 мл тіоацетамідного реактиву Р, перемішують. Паралельно за тих самих умов готують еталон, використовують для цього суміш 10 мл еталонного розчину свинцю (2 ppm Pb) Р, 2 мл випробовуваного розчину та інші реагенти за методикою основного дослідження.

Холостий розчин повинен мати світло-коричневе забарвлення. Через 2 хв випробовуваний розчин повинен за інтенсивністю не перевищувати коричневе забарвлення еталону.

Вміст важких металів не має перевищувати 100 ppm.

Мікробіологічна чистота. Визначення проводять відповідно до вимог ДФУ 2.6.12, 2.6.13.

10 мл екстракту розбавляють буферним розчином із натрію хлоридом і пептоном рН 7.0 у співвідношенні 1:10. У чашки Петрі вносять по 1 мл досліджуваного зразка та 20 мл розплавленого густого живильного середовища В\*<sup>1</sup> для вирощування бактерій та 20 мл розплавленого густого живильного середовища С\*<sup>2</sup> для вирощування грибів. Посіви інкубують при температурі від 30°C до 35°C ( від 20°C до 25°C для грибів) протягом п'яти діб.

Нормування мікробіологічної чистоти екстракту агастахе фенхельного встановлено відповідно до вимог ДФУ, 5.1.4, категорія 4.В – *Рослинні лікарські засоби, до яких перед вживанням не додають киплячу воду*, згідно з якими:

- у препараті допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів не більше  $1^{05}$  бактерій, не більше  $1^{04}$  грибів в 1 мл.
- не більше  $1^{03}$  ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій в 1 мл.
- не допускається наявність *Escherichia coli* в 1 мл.
- не допускається наявність *Salmonella* у 10 мл.

## \*Примітка

<sup>1</sup> Густе живильне середовище В (соєво-казеїновий агар)

Панкреатичний гідролізат казеїну	15.0 г
Папаїновий гідролізат соєвих бобів	5.0 г
Натрію хлорид	5.0 г
Агар	15.0 г
Вода очищена	1000 мл

pH середовища –  $7.3 \pm 0.2$ . Стерилізують у паровому стерилізаторі при температурі  $121^\circ\text{C}$  протягом 15 хв.

<sup>2</sup> Густе живильне середовище С (агар Сабуро з глюкозою й антибіотиками)

Пептони ( м 'ясний або казеїновий)	10.0 г
Глюкози моногідрат	40.0 г
Агар	15.0 г
Вода очищена	1000 мл

pH середовища –  $5.6 \pm 0.2$ . Стерилізують у паровому стерилізаторі при температурі  $121^\circ\text{C}$  протягом 15 хв. Перед стерилізацією додають хлорамфенікол із розрахунку 50 мг на літр живильного середовища.

*КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ*

Визначення кількісного вмісту суми ГКК проводять спектрофотометрично у перерахунку на хлорогенову кислоту.

*Випробовуваний розчин.* 1 мл рідкого екстракту поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додають 2 мл 0.5 М розчину кислоти хлористоводневої, 2 мл свіжоприготовленого розчину 10 % натрію нітриту та натрію молібдату, 2 мл розчину натрію гідроксиду розведеного, водою доводять об'єм розчину до позначки, перемішують.

*Компенсаційний розчин.* 1 мл рідкого екстракту поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додають 2 мл 0.5М розчину кислоти



хлористоводневої і 2 мл розчину натрію гідроксиду розведеного, доводять об'єм розчину до позначки, перемішують.

Оптичну густина випробовуваного та компенсаційного розчинів вимірюють при довжині хвилі 327 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм.

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

$$X = \frac{A \cdot W}{531 \cdot a \cdot l}$$

де А – оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 327 нм;

W – загальний об'єм після розвдення, мл;

a – об'єм, взятий для розведення, мл;

l – товщина кювети, см;

531 – питомий показник поглинання кислоти хлорогенової при 327 нм.

Вміст суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту має становити не менше 45%.

Визначення вмісту суми флавоноїдів. Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін проводять спектрофотометричним методом. 2,0 мл рідкого екстракту вносять у мірну колбу ємкістю 25 мл, додають 3,0 мл 3% розчину алюмінію хлориду у 96% спирті етиловому, доводять 5% розчином оцтової кислоти у 96% спирті етиловому до мітки і перемішують. Через 30 хв. вимірюють оптичну густина одержаного розчину у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Розчин порівняння: 2,0 мл рідкого екстракту вносять у мірну колбу ємкістю 25 мл, доводять 5% розчином оцтової кислоти у 96% спирті етиловому до мітки і перемішують.

Вміст суми флавоноїдів в перерахунку на лютеолін обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A \cdot W}{549,41 \cdot a \cdot l}$$

де А – оптична густина досліджуваного розчину;

W – загальний об'єм після розведення, мл;

a – об'єм, взятий для розведення, мл;

l – товщина кювети, см;

549,41 – питомий показник поглинання комплексу лютеліну з алюмінію хлоридом при 400 нм.

Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін має становити не менше 3,4%.

## Параметри стандартизації рідкого екстракту а. фенхельного

Параметри стандартизації	Результати дослідження показників якості		
	Ер01	Ер02	Ер03
1	2	3	4
Опис			
Рідина світло-коричнево-зеленого кольору зі специфічним анісово-м'ятним запахом агастахе. При зберіганні допускається незначне утворення осаду.	+	+	+
Ідентифікація			
<p><u>Хроматографічний аналіз</u>  <i>Випробовуваний розчин.</i> Рідкий екстракт агастахе фенхельного.  <i>Розчин порівняння.</i> По 0,5 мг рутину, кверцетину, хлорогенової та кофейної розчиняють у 10 мл метилового спирту.  <i>Пластинка:</i> ТШХ пластинка «Silufol» розміром 10 x 15 см або аналогічна за властивостями і характеристиками.  <i>Рухома фаза:</i> кислота мурашина безводна Р – вода Р – етилацетат Р (6:9:90).  <i>Об'єм проби, що наноситься:</i> 10 мкл, смугами.  <i>Фронт рухомої фази:</i> не менше 14 см від лінії старту.  <i>Висушування:</i> на повітрі та при температурі від 100°C до 105°C протягом 2 хв.  <i>Виявлення:</i> пластинку обробляють розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти Р у метанолі Р, сушать на повітрі. Потім пластинку обприскують розчином 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р,</p>	+	+	+

Продовж. табл. 5.2

1	2	3	4
<b>Випробування на чистоту</b>			
висушують на повітрі протягом 30 хв і переглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм. <i>Результати</i> на хроматограмі випробовуваного мають виявлятися плями, що відповідають за значенням Rf і флуоресценцією стандартним зразкам: оранжева флуоресціююча зона на рівні рутину, блакитна – хлорогенової кислоти, жовто-коричнева – кверцетину, блакитна – кофейної кислоти. На хроматограмі можуть проявлятися інші зони з жовто-оранжевою та блакитною флуоресценцією.			
<u>Вміст важких металів</u> Не більше 100 ppm.	+	+	+
<u>Мікробіологічна чистота</u> Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів – не більше $10^5$ бактерій, грибів – не більше $10^4$ в 1 мл. Ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій – не більше $10^3$ в 1 мл. Не допускається наявність <i>Escherichia coli</i> в 1 мл. Не допускається наявність <i>Salmonella</i> у 10 мл.	+	+	+
<b>Кількісне визначення</b>			
<u>Вміст суми ГКК</u> Вміст суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту - не менше 45%.	45,39±0,21	46,39±0,17	46,01±0,21
<u>Вміст суми флавоноїдів</u> Вміст суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін - не менше 3,5%.	3,85±0,04	3,76±0,05	3,70±0,04

Примітка. «+» - сировина відповідає вимогам МКЯ

## 5.2 Встановлення гострої токсичності виділених субстанцій

Вивчення гострої токсичності та гепатопротекторної дії рідкого екстракту агастахе фенхельного були проведені на базі Інституту фармакології і токсикології АМН України у Лабораторії фармакології ефektorних органів і систем під керівництвом завідувача лабораторією, д.мед.н., проф. Серединської Н.М. Дослідження проводились за перорального (внутрішньошлункового) застосування статевозрілим білим щурам за методикою, що наведена в розділі 2.3, п. 1.

*Вживання та клінічні спостереження.* Досліди проведено на білих щурах (n=34) обох статей масою 180-210 г. Загибелі у групі контрольних тварин, до якої входило рівне число самиць та самців (по n=5), не спостерігалось впродовж 14 діб. Вони охоче споживали корм та воду, реакції на зовнішні подразники, рефлекси, вегетативні функції не зазнавали змін. Контрольні тварини були активні, мали гладеньку шерсть та чисту шкіру.

Після однократного перорального введення екстракту агастахе фенхельного не було зареєстровано загибелі жодної з тварин дослідних груп за його введення в дозах 1,5, 2,0, 2,5, 3,2, 3,9 та 5,0 мл/кг маси тіла тварини. (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

### **Вживання статевозрілих білих щурів після одноразового перорального введення рідкого екстракту агастахе фенхельного у різних дозах**

Група	Доза, мл /кг маси тіла					
	1,5	2,0	2,5	3,16	3,98	5,0
Дослід* (самиці)	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
Дослід* (самці)	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2

Примітка. \* – у чисельнику зазначена кількість загиблих тварин, у знаменнику – кількість тварин у групі на дану дозу

Клінічні ознаки токсичної дії рідкого екстракту агастахе фенхельного: у тварин обох статей дослідних груп, яким тест-зразок вводили в дозах 3,16 мл/кг та вище після уведення препарату (через 5-7 хв) спостерігалось утруднене, неритмічне, поверхнєве дихання, уповільнення рухів. Водночас, означені симптоми зникали і не відмічалися вже через 20 хв після внутрішньошлункового введення тест-зразка.

У статевозрілих білих щурів дослідних груп жодних відхилень у зовнішньому вигляді та токсичних проявів дії препарату, окрім короточасних, зазначених вище, впродовж всього терміну спостереження (14 діб після одноразового введення екстракту а. фенхельного) не зареєстровано. Тварини активно рухалися, споживали корм та їжу. Змін дихання, змін на видимих слизових оболонках виявлено не було, реакція на зовнішні подразники та рефлексивні збережені.

Впродовж усього терміну спостереження у тварин реєструвалася маса тіла (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

**Динаміка маси тіла у статевозрілих білих щурів після одноразового введення рідкого екстракту агастахе фенхельного**

Група	Маса тіла тварин ( $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , г) на відповідні доби спостереження			
	Вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
Дослід (n=24)	190,4± 2,31	199,2±6,50	208,1±6,90*	219,2±4,66*
Контроль (n=10)	192,6±4,08	203,3±9,75	212,8±4,95*	223,1±6,30*

Примітка. \* - ( $p \leq 0,05$ ) - вірогідність відмінностей в порівнянні з вихідними даними

Отримані дані свідчать про те, що одноразове пероральне введення досліджуваного препарату статевозрілим щурам обох статей у різних дозах (від

1,5 мг/кг до 5,0 мл/кг маси тіла) негативно не вплинуло на динаміку маси тіла у щурів, порівняно до контролю. Дослідні та контрольні тварини набирали вагу у відповідності до фізіологічної норми.

Не визначалося достовірної зміни температури тіла у тварин дослідної та контрольної груп впродовж 14 діб спостереження (табл. 5.5).

Таблиця 5.5

**Динаміка зміни температури тіла тварин за одноразового застосування рідкого екстракту агастахе фенхельного**

Група	Температура тіла тварин °С; $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ на різні терміни спостереження			
	Вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
Дослід, температура, °С (n=24)	37,8±0,12	38,0±0,10	38,0±0,10	37,9±0,11
Контроль, температура, °С (n=10)	38,0±0,13	37,9±0,11	38,0±0,09	38,0±0,11

*Маса внутрішніх органів.* Визначено абсолютну масу внутрішніх органів статевозрілих щурів, які піддавались евтаназії через 14 діб після одноразового введення досліджуваного препарату, та відносну масу внутрішніх органів щурів (г/100 г маси тіла тварини). В результаті проведеного дослідження встановлено, що абсолютна маса внутрішніх органів не зазнала фактичних закономірних змін у щурів дослідних груп у порівнянні з відповідними показниками у щурів контрольної групи, яких піддавали евтаназії з метою проведення порівняння з показниками у щурів дослідної групи (табл. 5.6).

Відносна маса внутрішніх органів суттєво не відрізнялася у статевозрілих загиблих щурів дослідної групи від відносної маси внутрішніх органів щурів контрольної групи (табл. 5.7).

Таблиця 5.6

**Абсолютна маса ( $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ , г) внутрішніх органів статевозрілих білих щурів, підданих евтаназії (через 14 діб) після одноразового перорального введення рідкого екстракту агастахе фенхельного та щурів контрольної групи**

Органи	Дослід-самиці (n=12)	Контроль-самиці (n=5)	Дослід-самці (n=12)	Контроль-самці (n=5)
Серце	0,90± 0,01	0,92± 0,02	0,89± 0,01	0,90± 0,01
Легені	1,33±0,09	1,30±0,3	1,25±0,2	1,24±0,1
Печінка	10,3± 1,30	10, 4±1,10	10,2± 1,30	9,9±0,90
Селезінка	1,24±0,4	1,22± 0,2	1,19±0,09	1,22± 0,3
Нирки	2,30 ±0,07	2,27± 0,09	2,24 ±0,08	2,20± 0,09

Таблиця 5.7

**Відносна маса внутрішніх органів (г/100 г маси тіла;  $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ ) білих щурів після одноразового перорального введення рідкого екстракту агастахе фенхельного та щурів контрольної групи, підданих евтаназії**

Органи	Дослід-самиці±самці (n=24)	Контроль-самиці (n=5)	Контроль-самці (n=5)
Серце	0,41±0,01	0,42±0,01	0,41± 0,01
Легені	0,61± 0,03	0,59±0,03	0,56±0,02
Печінка	4,7±0,13	4,67±0,18	4,44± 0,24
Селезінка	0,57±0,01	0,55±0,01	0,55±0,02
Нирки	1,05±0,03	1,02±0,01	1,0±0,04



Отримані дані свідчать про відсутність негативного впливу рідкого екстракту агастахе фенхельного на приріст маси тіла тварин обох статей, масу внутрішніх органів щурів; даному тест-зразку не притаманна пірогенна дія.

*Макроскопічні дослідження.* Білим статевозрілим щурам обох статей, яким одноразово перорально вводили тест-зразок у різних дозах, проведено патоморфологічне дослідження органів і тканин, за здійснення патоморфологічного макроскопічного дослідження для тварин, що вижили і були піддані евтаназії через 14 діб спостереження після одноразового введення препарату та для групи контрольних тварин.

При зовнішньому огляді тварин ознак не виявлено патологічних змін їх стану, уражень на слизових оболонках та шкірі не виявлено. Шкірні покрови та шерсть - чисті, відмічено, що очі, ніс, губи, ротова порожнина, анальний отвір та зовнішні статеві органи нормальної будови у всіх тварин.

За результатами розтину дослідних статевозрілих тварин встановлено, що серозні оболонки черевної, навколосерцевої та плевральної порожнин гладенькі, блискучі, без наявних ознак ушкодження та запалення, кількість вільної серозної рідини в порожнинах в нормі. Головний мозок, органи грудної порожнини (легені, серце), органи черевної порожнини та малого тазу – звичайного кольору, розташовані без відхилень від норми, перенаповнення кров'ю не спостерігалось. Серце тварин мало звичайну форму. У тварин, яких піддавали евтаназії, форма серця – без видимих змін, стінки шлуночків та міжшлуночкова перетинка не потовщені. У всіх тварин міокард пружно-еластичної консистенції, темно-червоного (вишневого) кольору, однорідний на розрізі. Ендокард передсердь та шлуночків гладенький, блискучий, трабекулярний рельєф порожнини шлуночків чіткий. Серцеві клапани тоненькі, еластичні, стінка аорти має звичайну товщину, еластична. Тканина легень неоднорідна, має пухку консистенцію. Просвіт гортані, трахеї та великих бронхів вільний, слизові оболонки не змінені, вкриті невеликою кількістю слизу.

Не виявлено альтеративних змін та виразок у ШКТ усіх щурів, проте відмічено розширення судин шлунка та тонкого кишечника. Слизова оболонка шлунка без набряків, без ушкоджень ерозивного чи виразкового характеру, має виражені крипти.

Розміри печінки не змінені, капсула печінки блискуча та гладка, тканина - однорідна, щільно-еластична. Підшлункова залоза також без ознак ушкоджень та запалення, розміщується в брижі 12-палої кишки, тканини білувато-жовтуватого кольору.

Тканина нирок еластичної, без ознак структурних змін, з чітким кірковим і мозковим шарами, які визначаються на розрізі органу. Нирки мають звичайну форму та розміри, вкриті незміненою щільною фіброзною капсулою, що легко відокремлюється від паренхіми органу. Миски нирок не розширені, їхні слизові оболонки тонкі, гладкі, блискучі, блідо-рожевого кольору.

Відмічено, що стінка сечового міхура є тонкою, еластичною, блідо-рожевого кольору, з невеликою кількістю прозорої сечі в порожнині.

Стан та розміри щитовидної залози, наднирників не мають відхилень від норми. Надниркові залози на розрізі мають жовтуватий колір. Щитоподібна залоза часточкової структури, на розрізі має бурувато-червонуватий колір. Тимус та селезінки без ознак видимих змін, атрофії та гіпертрофії та гемоциркуляторних порушень.

Таким чином, за результатами зовнішнього огляду, проведенні аутопсії та макроскопічному дослідженні щурів обох статей, яким одноразово перорально вводили рідкий екстракт агастахе фенхельного у різних дозах в діапазоні від 1,5 мл/кг до 5,0 мл/кг маси тіла через 14 днів після введення не виявлено ознак порушення гемоциркуляції у внутрішніх органів. Таким чином, як у тварин дослідних, так і у тварин контрольної груп не виявлено альтеративних, запальних та гемодинамічних порушень у різних органах та тканинах.

Отже, в результаті проведених досліджень, неможливо визначити величину середньої летальної дози (ЛД<sub>50</sub>) рідкого екстракту агастахе фенхельного за його внутрішньошлункового одноразового введення білим

статевозрілим щурам через відсутність загибелі тварин, навіть за застосування препарату у дозі 5,0 мл/кг. Введення більш високих доз не вважається доцільним [236]. Отримані дані дозволяють віднести рідкий екстракт агастахе фенхельного з огляду на класифікацію хімічних речовин за ступенем небезпечності (за ГОСТ 12.1.007.76 «Шкідливі речовини. Класифікація та загальні вимоги нешкідливості») до малонебезпечних препаратів (IV клас) [237, 238].

### 5.3 Дослідження фармакологічної дії виділених субстанцій

5.3.1 Дослідження гепатопротекторної дії рідкого екстракту агастахе фенхельного. Багаторічна медична практика довела, що препарати рослинного походження за своєю ефективністю не лише не поступаються синтетичним аналогам при лікуванні багатьох захворювань, а й мають ряд переваг, зокрема багатогранну фармакологічну активність та відсутність побічних дій, оскільки вони містять комплекс біологічно активних речовин, які потенціюють лікувальний ефект та підвищують біодоступність лікарського засобу [239, 240].

Дослідження гепатопротекторної дії рідкого екстракту агастахе фенхельного проводилося на базі Інституту фармакології і токсикології АМН України у Лабораторії фармакології ефекторних органів і систем під керівництвом завідувача лабораторією, д.мед.н., проф. Серединської Н.М.

Дослідження гепатопротекторної дії рідкого екстракту агастахе фенхельного проводилося у дослідах на статевозрілих білих нелінійних щурах обох статей на моделі токсичного ураження печінки, викликаного шляхом внутрішньошлункового введення чотирехлористого вуглецю ( $CCl_4$ ), одноразово, у різних дозах – 3,0 та 5,0 мл/кг маси тіла у вигляді 50%-ного олійного розчину за методикою, що наведена в розділі 2.3, п.2.

Результати дослідження виживання тварин за лікувально-профілактичного застосування екстракту агастахе фенхельного та Силібору

свідчать про суттєву загибель тварин за застосування 50% олійного розчину токсиканту у дозі 5 мл/кг маси тіла тварини (табл. 5.8). Так, на першу добу після його введення загинуло 9 щурів, а до 7-ї доби – ще три тварини. Загалом, за 7 діб за введення  $CCl_4$  загинуло 12 щурів з 20-ти, що входили до даної групи. Таким чином, через 1 та 7 діб після внутрішньошлункового введення  $CCl_4$  загинуло 45% та 60% відповідно. І Силібор, і екстракт агастахе фенхельного проявляли певну захисну дію, про що свідчить нижча загибель – 55% та 50% відповідно на 7 добу після введення  $CCl_4$  спостереження.

За введення  $CCl_4$  в дозі 3 мл/кг (50% олійний розчин) відмічалася загибель 10% щурів у контрольній групі, лікувально-профілактичне використання Силібору та екстракту агастахе фенхельного убезпечувало тварин від загибелі.

Таблиця 5.8

**Вживання тварин з гострим гепатитом за застосування рідкого екстракту агастахе фенхельного**

Показник	Термін, доба	Група		
		Контроль ( $CCl_4$ )	Силібор ± $CCl_4$	Агастахе± $CCl_4$
1	2	3	4	5
$CCl_4$ , 5 мл/кг				
Кількість тварин в групі, n		20	20	20
Загибель, n	1	9	9	8
	7	3	2	2
Загальна кількість загиблих, n	7	12	11	10
% загибелі	1	45	45	40
	7	60	55	50

Продовж. табл. 5.8

1	2	3	4	5
CCl <sub>4</sub> , 3 мл/кг				
Кількість тварин в групі, n		10	10	10
Загибель, n	1	0	0	0
	7	1	0	0
Загальна кількість загиблих, n	7	1	0	0
% загибелі	7	10	0	0

Показовими є дані, що засвідчують гепатопротекторну активність екстракту агастахе фенхельного, отримані за дослідження КМП з урахуванням маси тіла тварин.

Так, за ураження CCl<sub>4</sub> спостерігалось зниження маси тіла щурів за використання токсиканту у дозі 5 мл/кг на 4,2% (Табл.5.9). На 1,7% знижувалася маса тварин за лікувально-профілактичного застосування Силібору, водночас при введенні рідкого екстракту агастахе фенхельного спостерігалася позитивна динаміка цього показника, про що свідчило його зростання через 7 діб після уведення токсичного агента та загалом 13 діб застосування нового засобу. За використання CCl<sub>4</sub> у нижчій дозі не відмічалось суттєвого негативного впливу на масу тіла тварин у щурів усіх дослідних груп.

За даними табл. 5.9 можна зробити висновок про суттєвий позитивний вплив на КМП Силібору та рідкого екстракту агастахе фенхельного. Водночас, відзначений значно вищий коригувальний вплив на КМП, притаманний екстракту агастахе фенхельного, ніж Силібору. Про переважаючий вплив екстракту агастахе фенхельного свідчить, фактично, нормалізація КМП, навіть, за застосування CCl<sub>4</sub> (50% розчину в олії) у дозі 5 мл/кг. Власне КМП може бути свідченням набряку органу та порушення його кровообігу [241]. Тому

позитивний вплив екстракту агастахе фенхельного (та Силібору) є, вочевидь, свідченням зниження набряку печінки та нормалізації кровообігу, а врешті-решт – зменшення інтенсивності запального процесу в органі.

Таблиця 5.9

**Вплив рідкого екстракту агастахе фенхельного на масу тіла тварин та КМП за внутрішньошлункового введення білим щурам з гострим тетрахлорметановим гепатитом**

Показник	Групи тварин						
	Інтактні	Контроль (CCl <sub>4</sub> )		Силібор ±		Агастахе±	
		CCl <sub>4</sub> , 3 мл/кг	CCl <sub>4</sub> , 5 мл/кг	CCl <sub>4</sub> , 3 мл/кг	CCl <sub>4</sub> , 5 мл/кг	CCl <sub>4</sub> , 3 мл/кг	CCl <sub>4</sub> , 5 мл/кг
n	10	9	8	10	9	10	10
Маса тіла,% зміни	±14,8	±18,7	-4,2	±15,2	-1,7	±0,5	±3,4
КМП	3,17 ±0,05	3,88 ±0,20*	4,57 ±0,30*	3,61 ±0,12*	3,97 ±0,23*	3,15 ±0,10 <sup>δ</sup>	3,20 ±0,12 <sup>#δ</sup>
% зміни КМП		±22 (до інтактних)	±44,2 (до інтактних)	-7 (до CCl <sub>4</sub> , 3 мл/кг)	-13 (до CCl <sub>4</sub> , 5 мл/кг)	-19 (до CCl <sub>4</sub> , 3 мл/кг)	-30 (до CCl <sub>4</sub> , 5 мл/кг)

Примітка. \* - ( $p \leq 0,05$ ) вірогідність відмінностей в порівнянні з даними у інтактних тварин, # - ( $p \leq 0,05$ ) вірогідність відмінностей в порівнянні з даними у тварин контрольної групи, <sup>δ</sup> - ( $p \leq 0,05$ ) вірогідність відмінностей в порівнянні з даними тварин, лікованих Силібором.

Відомо, що АЛАТ та АсАТ, а також ЛФ, є високоспецифічними індикаторами функції мембран гепатоцитів і його органел та запального процесу в печінці. Введення CCl<sub>4</sub> призводить до порушення мембран печінкових клітин та їх органел, що супроводжується зростанням маркерних для досліджуваної патології зазначених ферментів. Різке зростання активності ферментів: АЛАТ, АсАТ та ЛФ характеризує розвиток цитолізу гепатоцитів,

біохімічного синдрому гепатоцелюлярної недостатності та внутрішньо-печінкового холестазу [242].

За введення тетрахлорметану (3 мл/кг 50% олійного розчину) білим щурам (контрольна група) відбувалося зростання активності досліджуваних ферментів відносно значень у інтактних тварин: АлАТ – на  $\pm 141,7\%$ , АсАТ – на  $\pm 45,8\%$ , ЛФ – на  $\pm 60,6\%$  через 7 діб після введення токсичного агенту (табл. 5.10).

Лікувально-профілактичне введення рідкого екстракту агастахе фенхельного та Силібору призводило до суттєвого зниження досліджуваних показників відносно значень у тварин контрольної групи (патологія без лікування). Отримані дані вивчення активності ферментів в сироватці крові щурів свідчать про притаманну екстракту агастахе фенхельного гепатопротекторну активність на моделі тетрахлорметанового гепатиту.

Таблиця 5.10

**Активність АлАТ, АсАТ та ЛФ ( $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ ) у сироватці крові білих щурів (n=7 у кожній групі) з гострим токсичним гепатитом**

Група	АлАТ, ммоль/хв·л	АсАТ, ммоль/хв·л	ЛФ, мкмоль/хв·л
Інтактні	0,72±0,07	0,96±0,04	8,28±0,3
Контроль (CCl <sub>4</sub> )	1,74±0,09*	1,4±0,08*	13,30±1,12*
% змін (до інтактних)	±141,7	±45,8	±60,6
Агастахе± CCl <sub>4</sub>	1,23±0,06*	1,02±0,04*	9,45±1,06*
% змін (до контролю)	-29,3	-27,1	-28,9
Силібор± CCl <sub>4</sub>	1,35±0,07*	1,09±0,05*	9,95±1,10*
% змін (до контролю)	-22,4	-22,1	-25,2

Примітка. \* - ( $p \leq 0,05$ ) вірогідність відмінностей в порівнянні з даними у інтактних або контрольних тварин

Отримані результати свідчать про значно менше ушкодження гепатоцитів за застосування відомого гепатопротекторного засобу Силібор, а також про притаманні аналогічні за спрямованістю дії та, фактично, аналогічні за ступенем впливу властивості у екстракту агастахе фенхельного.

Через 7 діб після введення токсичного агенту (загалом – 13 діб лікування Силібором або рідким екстрактом агастахе фенхельного, за винятком щурів контрольної групи) тваринам вводили тіопентал для індукції сну і реєстрації латентного періоду та його тривалості. Саме зазначені показники можуть характеризувати антитоксичну функцію печінки на тлі патологічного процесу (гострий тетрахлорметановий гепатит) [243].

Цікаві результати отримані за введення різних доз  $CCl_4$ . Латентний період за введення  $CCl_4$  у вигляді олійного розчину у дозі 3 мл/кг маси тіла тварини становив 270 с, тоді як за введення вищої дози токсиканту (5 мл/кг) – 445 с (табл. 5.11). Зі збільшенням дози  $CCl_4$  зростала і тривалість тіопенталового сну у щурів.

*Таблиця 5.11*

**Латентний період та тривалість сну (с) при дії рідкого екстракту агастахе фенхельного на моделі тіопенталового сну за умов гострого гепатиту, індукованого введенням тетрахлоретану, у щурів**

Група	Доза $CCl_4$			
	3 мл/кг		5 мл/кг	
	лат.період	тривалість	лат.період	тривалість
Контроль ( $CCl_4$ )	142±19	270±30	445±50	1160±90
Силібор± $CCl_4$	200±17	260±70	312±99	204±80*
Агастахе± $CCl_4$	1050±67*	200±17	290±45*	192±19*

Примітка. \* - ( $p \leq 0,05$ ) вірогідність відмінностей в порівнянні з даними контрольної групи тварин.



Профілактично-лікувальне введення Силібору, фактично, не впливало на тривалість досліджуваних показники за введення  $CCl_4$  у дозі 3 мл/кг, тоді як за інтоксикації більш тяжкого ступеня цей препарат сприяв суттєвому зниженню тривалості сну та зменшував латентний період засинання тварин на 30%. Введення рідкого екстракту агастахе фенхельного призводило до суттєвого продовження латентного періоду засинання тварин та скороченню тривалості сну на 26% відносно тварин контрольної групи за застосування  $CCl_4$  у дозі 3 мл/кг. За інтоксикації більш високого ступеня екстракту агастахе фенхельного проявив ще більш значущу активність, зменшуючи латентний період засинання на 35% та тривалість тіопенталового сну – на 83%.

Слід також зазначити, що за отруєння щурів  $CCl_4$  у різних дозах індукція сну відбувалася у всіх без виключення тварин. За застосування Силібору 2 та 3 тварини не засинали взагалі за отруєння  $CCl_4$  в дозах 3 та 5 мл/кг відповідно. За введення рідкого екстракту агастахе фенхельного у всіх тварин, яким було введено  $CCl_4$  у дозі 3 мл/кг спостерігався поверхневий сон, тварини то приймали бокове положення, то стиналися на лапи і, фактично, саме період такої поведінки визначений за тривалість сну. За введення  $CCl_4$  у дозі 5 мл/кг та лікування екстракту агастахе фенхельного 5 тварин не засинали взагалі, тому показники тривалості сну та латентного періоду засинання визначені лише серед двох тварин (табл. 5.12).

Таким чином, на підставі проведених досліджень доведено, що отримані результати – показники величин маси тіла тварин та КМП за лікувально-профілактичного внутрішньошлункового введення рідкого екстракту агастахе фенхельного, є підтвердженням його гепатопротекторної активності.

**Кількість тварин, що засинали за введення тіопенталу, за застосування рідкого екстракту агастахе фенхельного на тлі ураження CCl<sub>4</sub>**

Група	Доза CCl <sub>4</sub>	
	3 мл/кг	5 мл/кг
Контроль (CCl <sub>4</sub> )	7/7*	7/7
Силібор± CCl <sub>4</sub>	2/7	3/7
Агастахе ± CCl <sub>4</sub>	0/7	5/7

Примітка. \* - відношення кількості тварин, які не засинали у відповідь на введення тіопенталу за умов інтоксикації CCl<sub>4</sub> та застосування Силібору і рідкого екстракту агастахе фенхельного

Отримані дані є свідченням прояву гепатопротекторної активності, що притаманна як Силібору (препарату порівняння), так і фітозасобу на основі сировини агастахе фенхельного. При цьому доведений більш значущий коригувальний вплив рідкого екстракту агастахе фенхельного на КМП та функціонування печінки на моделі тіопенталового сну за умов гострого гепатиту.

5.3.2 Дослідження антиоксидантної активності рідкого екстракту агастахе фенхельного. В останні роки в усьому світі підвищується інтерес до природних антиоксидантів, поліфенольних сполук, які мають здатність знижувати чи усувати вільнорадикальне окиснення органічних речовин мономолекулярним киснем. Антиоксидант – це молекула, здатна інгібувати окиснення іншої молекули, вони беруть участь в контролі процесів вільнорадикальних перетворень в клітинах, забезпечуючи їх цілісність і функціональну активність. При порушенні балансу між біохімічними механізмами оксигеназної утилізації кисню, механізмами захисту від шкідливих впливів його високореакційних метаболітів виникає окислювальний стрес.

У рослинній сировині містяться БАР, яким притаманна антиоксидантна дія, зокрема відомі результати досліджень антиоксидантної активності вітаміну С, вітаміну Е, каротинів та ліпоєвої кислоти, речовин поліфенольної природи [244, 245].

У зв'язку з чим, вивчення рослинної сировини, що потенційно володіє антиоксидантними властивостями, є актуальним завданням фармакогностичних досліджень.

Антиоксидантну активність досліджуваної сировини вивчали за їхньою здатністю пригнічувати аутоокиснення адреналіну *in vitro* і тим самим запобігати утворенню активних форм кисню. Виявлено, що в процесі аутоокиснення адреналіну в лужному середовищі при кімнатній температурі інтенсивно наростає поглинання з максимумом при 347 нм. Встановлено, що поява цього продукту окислення адреналіну значно випереджає за часом утворення адренохрому (480 нм). Тому пропонується використовувати визначення даної речовини для вимірювання антиоксидантної активності різних видів лікарської рослинної сировини і препаратів на їх основі [246 - 250].

Послідовно, відповідно до методики, вимірювали оптичну густина розчину чистого адреналіну і розчину адреналіну в присутності рідкого екстракту а.фенхельного. За результат брали середнє арифметичне значення з трьох послідовних вимірювань (стандартне квадратичне відхилення не більше 5%) (рис. 5.1).

На рис. 5.1 відображена динаміка реакції аутоокиснення адреналіну. Прослідковується збільшення з часом експозиції оптичної густини розчину адреналіну, що свідчить про активне утворення продукту окиснення адреналіну, та, разом з тим, при додаванні до адреналіну екстракту агастахе фенхельного, оптична густина зменшувалась до 4 хв експозиції. Це дає змогу зробити висновок, що екстракт агастахе фенхельного слугує певною «пасткою» для аніон-радикалу кисню  $O_2^-$  та зменшує процес аутоокиснення адреналіну завдяки своєму багатоконпонентному складу БАР та поліфенольними сполуками (гідроксикоричні кислоти, флавоноїди), зокрема.

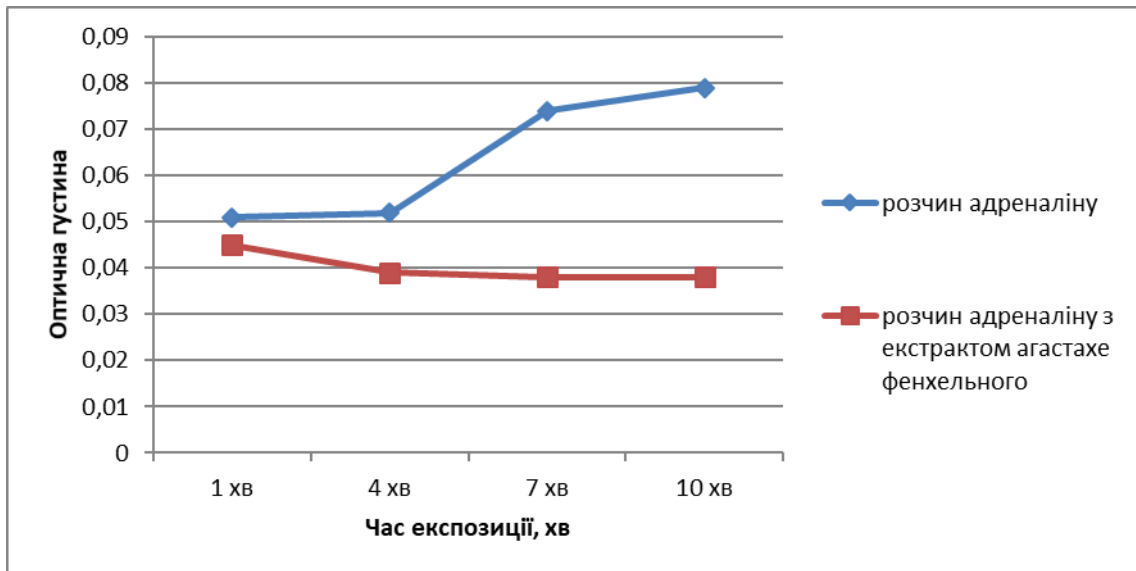


Рис. 5.1. Залежність оптичної густини від часу реакції аутоокиснення адреналіну

Розрахунок антиоксидантної активності (АОА) рідкого екстракту агастахе фенхельного показав, що досліджувана сировина володіє достатньо високою АОА (табл. 5.13). Так, згідно даних літературних джерел, АОА кверцетину, визначена за цією ж методикою, при 10-хвилинній експозиції, становить 35,7% [251, 252], що в 1,7 рази менше порівняно з водно-спиртовим екстрактом агастахе фенхельного. Це може свідчити про суттєвий внесок в загальну антиоксидантну дію суми поліфенольних сполук, зокрема, гідроксикоричних кислот (розмаринова, хлорогенова, кофейна тощо) і флавоноїдів (лютеолін, кверцетин, рутин).

Таблиця 5.13

**Антиоксидантна активність (АОА) рідкого екстракту агастахе**

**фенхельного, %;  $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$  в залежності від часу експозиції**

	Час, хв			
	1	4	7	10
АОА, %	24,7 ±3,3	38,8 ±1,13	57,4 ±1,14	60,6 ±1,73

Примітка. n = 3, P = 0,95

5.3.3 Дослідження антимікробної активності ліпофільного екстракту агастахе фенхельного. Дослідження антимікробної активності проводили на базі ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» у лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ під керівництвом зав. лабораторії, к.біол.н. Осолодченко Тетяни Павлівни.

Проведено дослідження протимікробної активності спиртового екстракту ліпофільної фракції трави агастахе фенхельного, результати наведені у таблиці 5.14. В результаті скринінгу встановлено, що екстракт володіє помірною протимікробною активністю щодо референтних штамів мікроорганізмів. По відношенню до *S. aureus* ATCC 25923 діаметри зон затримки росту становили 22–25 мм, до *E. coli* ATCC 25922 діаметри зон затримки росту становили 17–18 мм, до *B. subtilis* ATCC 6633 – 20–24 мм до *P. vulgaris* ATCC 4636 – 16–17мм, до *P. aeruginosa* ATCC 27853 –17–18 мм. По відношенню до *C. albicans* ATCC 653/885 діаметри зон затримки росту становили 17 мм. В якості контролю використовували спиртовий розчин хлорфіліпту.

Таблиця 5.14

**Антимікробна активність спиртового екстракту ліпофільної фракції трави агастахе фенхельного**

	Діаметри зон затримки росту в мм ( $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ ) ( $p \leq 0,05$ )					
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>
Дослідж. екстракт	22, 23, 25	18, 18, 18	16, 17, 16	18, 18, 17	22, 23, 22	17, 17, 17
Контроль (розчин хлорфіліпту)	21, 22, 23	16, 17, 17	ріст	ріст	17, 16, 16	12, 13, 12

Методом серійних розведень було встановлено, що зразок спиртового екстракту ліпофільної фракції трави Агастахе фенхельного при розведенні у чотири рази проявляв антибактеріальні властивості по відношенню до *S. aureus* ATCC 25923 та *B. subtilis* ATCC 6633, при розведенні у два рази до *E. coli* ATCC 25922. Антибактеріальні властивості спиртового екстракту ліпофільної фракції трави Агастахе фенхельного по відношенню до *P. vulgaris* ATCC 4636 *P. aeruginosa* ATCC 27853 *C. albicans* ATCC 653/885 спостерігались тільки у нерозведеному зразку (цільному). Дані наведені в таблиці 5.15.

Таблиця 5.15

**Антибактеріальна активність спиртового екстракту ліпофільної фракції трави Агастахе фенхельного**

Екстракт розведення	Діаметри зон затримки росту в мм ( $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ ) ( $p \leq 0,05$ )					
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>
Цільний	Нема росту	Нема росту	Нема росту	Нема росту	Нема росту	Нема росту
1:2	Нема росту	Нема росту	ріст	ріст	Нема росту	ріст
1:4	Нема росту	ріст	ріст	ріст	Нема росту	ріст
1:8	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст

Отже, ліпофільний екстракт трави агастахе фенхельного проявляє високу антимікробну активність щодо грампозитивних мікроорганізмів: *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, помірну – щодо грамнегативних мікроорганізмів: *P. aeruginosa*, *E. coli*, *P. vulgaris* та дріжджоподібних грибів *C. albicans*, тому його можна розглядати як потенційну субстанцію з широким спектром антимікробної дії.

#### 5.4 Розробка проектів МКЯ на отримані субстанції

На основі результатів фітохімічних досліджень вмісту БАР у ліпофільному екстракті агастахе фенхельного – встановлення складу терпеноїдів, визначення вмісту каротиноїдів та хлорофілів (п. 4.6.), випробувань на чистоту – втрати в масі при висушуванні, граничного вмісту залишкових кількостей органічних розчинників, нами було розроблено проект МКЯ «Ліпофільний екстракт агастахе фенхельного», які наведено в табл. 5.16.

На основі результатів фітохімічних досліджень вмісту БАР у рідкому екстракті агастахе фенхельного – встановлення складу та визначення вмісту флавоноїдів та гідроксикоричних кислот (п. 4.8.), випробувань на чистоту – визначення вмісту важких металів та мікробіологічної чистоти, нами було розроблено проект МКЯ «Поліфенольний екстракт агастахе фенхельного», які наведено в табл. 5.17.

Таблиця 5.16

## Проект МКЯ Ліпофільний екстракт агастахе фенхельного

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
1	2	3
Опис	Маса темно-зеленого кольору з приємним м'ятним ароматом, жирна на дотик	Візуальний
Розчинність	Нерозчинний у воді, при нагріванні до 30°C розчиняється у 96% спирті етиловому, розчинний у хлороформі, гексані.	Візуальний
Ідентифікація:		
Метод ТШХ	<p><i>Терпеноїди.</i> Проводять на пластинках із шаром силікагелю Р, розчин порівняння – розчин ментолу і пулегону, рухома фаза: етилацетат Р – толуол Р (1:19), фронт рухомої фази не менше 12 см від лінії старту, висушування в тоці холодного повітря, для виявлення використовують розчин анісового альдегіду, витримуючи пластинку при температурі 100-105 °С протягом 5-10 хв, переглядають при денному та УФ-світлі.</p> <p>На хроматограмі випробовуваного розчину в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм проявляються плями, що відповідають за значенням R<sub>f</sub> і флуоресценцією стандартним зразкам ментолу і пулегону.</p>	ДФУ, 1 вид., 2.2.27
Випробування:		
Втрата в масі при висушуванні	Не більше 10,0%.	ДФУ, Доп. 1., 2.8.17



Продовж. табл. 5.16

1	2	3
Граничний вміст залишкових кількостей органічних розчинників	Вміст хлороформу не більше 0,005%.	ДФУ, 1 вид., 2.2.28
Кількісне визначення:		
Каротиноїди	<p><i>Спектрофотометричний метод</i> при аналітичній <math>\lambda = 450</math> нм у перерахунку на <math>\beta</math>-каротин. Питомий показник поглинання <math>\beta</math>-каротину в гексані при <math>450 \pm 5</math> нм дорівнює 2500.</p> <p>Сума каротиноїдів у перерахунку на <math>\beta</math>-каротин не менше 8,5%.</p>	ДФУ, 1 вид., 2.2.25
Хлорофіли	<p><i>Спектрофотометричний метод</i> при аналітичній <math>\lambda = 670</math> нм у перерахунку на хлорофіл А. Питомий показник поглинання хлорофілу А при <math>\lambda = 670 \pm 5</math> нм дорівнює 944,5. Сума хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А - не менше 49%.</p>	ДФУ, 1 вид., 2.2.25

## Проект МКЯ Поліфенольний екстракт агастахе фенхельного

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
1	2	3
Опис	Рідина світло-коричнево-зеленого кольору зі специфічним запахом агастахе. При зберіганні допускається незначне утворення осаду.	Візуальний
Ідентифікація:		
Метод ТШХ	<p><i>Флавоноїди та гідроксикоричні кислоти.</i> Проводять на пластинках із шаром силікагелю Р, розчин порівняння – розчин рутину, кверцетину, хлорогенової та кофейної кислот, рухома фаза: кислота мурашина безводна Р – вода Р – етилацетат Р (6:9:90), фронт рухомої фази не менше 14 см від лінії старту, висушування на повітрі та при температурі від 100°C до 105°C протягом 2 хв, для виявлення теплу пластинку обприскують розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти Р у метанолі Р, сушать на повітрі. Потім пластинку обприскують розчином 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р, сушать на повітрі протягом 30 хв і переглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 365 нм.</p> <p>На хроматограмі випробовуваного мають виявлятися плями, що відповідають за значенням R<sub>f</sub> і флуоресценцією стандартним зразкам: оранжева флуоресціююча зона на рівні рутину, блакитна – хлорогенової кислоти, жовто-коричнева – кверцетину, блакитна – кофейної кислоти. На хроматограмі можуть проявляться інші зони з жовто-оранжевою та блакитною флуоресценцією.</p>	ДФУ, 1 вид., 2.2.27

1	2	3
Випробування:		
Вміст важких металів	Не більше 100 ppm.	ДФУ, Доп. 1., 2.8.16
Мікробіологічна чистота	Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів – не більше $10^5$ бактерій, грибів – не більше $10^4$ в 1 мл. Ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій не більше $10^3$ в 1 мл. Не допускається наявність <i>Escherichia coli</i> в 1 мл. Не допускається наявність <i>Salmonella</i> у 10 мл.	ДФУ, 1 вид., 2.6.12, 2.6.13
Кількісне визначення:		
Сума гідроксикоричних кислот	<i>Спектрофотометричний метод</i> при аналітичній $\lambda = 327$ нм у перерахунку на хлорогенову кислоту. Питомий показник поглинання хлорогенової кислоти при $\lambda = 327 \pm 5$ нм, рівний 531. Сума гідроксикоричних кислот у перерахунку на кислоту хлорогенову не менше 45%.	ДФУ, 1 вид., 2.2.25
Сума флавоноїдів	<i>Спектрофотометричний метод</i> при аналітичній $\lambda = 400$ нм у перерахунку на лютеолін. Питомий показник поглинання комплексу лютеоліну з хлоридом алюмінію при $\lambda = 400 \pm 5$ нм, рівний 549,41. Сума флавоноїдів у перерахунку на лютеолін і суху сировину - не менше 3,5 %.	ДФУ, 1 вид., 2.2.25

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в публікаціях [153, 209, 234, 254, 255].

## ВИСНОВКИ

1. Проведено стандартизацію ліпофільного та рідкого екстрактів агастахе фенхельного, розроблено проекти МКЯ на отримані субстанції.

2. Проведено дослідження гострої токсичності рідкого екстракту агастахе фенхельного. За результатами проведених досліджень, рідкий екстракт агастахе фенхельного віднесено до малонебезпечних препаратів (IV клас за класифікацією хімічних речовин за ступенем небезпечності (за ГОСТ 12.1.007.76 «Шкідливі речовини. Класифікація та загальні вимоги нешкідливості»).

3. Проведено дослідження гепатопротекторної активності рідкого екстракту агастахе фенхельного. На підставі проведених фармакологічних досліджень доведено, що отримані результати – показники величин маси тіла тварин та КМП за лікувально-профілактичного внутрішньошлункового введення рідкого екстракту агастахе фенхельного, є підтвердженням його гепатопротекторної активності. Доведений більш значущий коригувальний вплив рідкого екстракту агастахе фенхельного, в порівнянні з референтним препаратом Силібор, на КМП та функціонування печінки на моделі тіопенталового сну за умов гострого гепатиту.

4. Встановлено, що досліджуваний екстракт агастахе фенхельного проявляє антиоксидантну активність за здатністю пригнічувати аутоокиснення адреналіну *in vitro*.

5. Досліджено спектр антимікробної активності ліпофільного екстракту агастахе фенхельного та встановлено, що даний екстракт проявляє високу антимікробну активність щодо грампозитивних мікроорганізмів: *S. aureus*, *B. subtilis*, помірну – щодо грамнегативних мікроорганізмів: *P. aeruginosa*, *E. coli*,

*P. vulgaris* та дріжджоподібних грибів *C. albicans*, тому його можна розглядати як нову субстанцію, що проявляє антимікробну дію широкого спектру.

## ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та практичне вирішення наукового завдання, що полягає у пошуку нових джерел БАР серед представників роду *Agastache*, шляхом комплексного фітохімічного дослідження сировини деяких видів роду *Agastache* як нового перспективного джерела БАР, стандартизації сировини та вивчення фармакологічної активності нових потенційних фітозасобів на її основі.

1. За допомогою хроматографічних методів у сировині *A. foeniculum* ідентифіковано 112 сполук, які включають 15 класів сполук, з яких вперше - багатоатомні спирти, моно- та дисахариди. В сировині *A. urticifolia* ідентифіковано 112 сполук, які включають 15 класів сполук, серед яких вперше – ГКК, флавоноїди, багатоатомні спирти, моно- та дисахариди, органічні та жирні кислоти, амінокислоти, мінеральні елементи.

2. Вперше методом РФА досліджено якісний склад та кількісний вміст макро- та мікроелементів трави *A. foeniculum* та *A. urticifolia* в порівнянні з мінеральним складом ґрунту з-під рослин; методом ГХ-МС вперше досліджено жирнокислотний склад.

Методом ГХ-МС вперше було визначено вміст моно- та дисахаридів, встановлено, що в сировині досліджуваних видів накопичується значна кількість сахарози (в траві а. фенхельного – 48220 мг/кг, в траві а. кропиволистого – 62870 мг/кг).

Вивчено компонентний склад летких сполук в процесі онтогенезу та встановлено, що домінуючими компонентами трави досліджуваних видів, незалежно від фази онтогенезу, є ментон, ізоментон, пулегон, D-лімонен, виявлено, що в процесі онтогенетичного розвитку вміст летких сполук змінюється, а саме: вміст пулегону істотно збільшується у фазу масового цвітіння (МЦ) (у 2,8 раз у *A. foeniculum* та у 2,64 рази у *A. urticifolia*) в порівнянні з фазою розвитку вегетативних органів (РВО).

Методом ВЕРХ ідентифіковано та визначено вміст 16 амінокислот, 7 флавоноїдів, 4 катехинів, 5 гідроксикоричних кислот, 2 фенольних кислот, 1 кумарину, домінуючими компонентами трави *A. foeniculum* були епігалокатехін (1411,7 мг/100 г), апігенін (1185 мг/100 г) та розмаринова кислота (1179,1 мг/100 г).

3. Вперше досліджено динаміку накопичення суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол, суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту, суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін, суми проціанідинів у сировині досліджуваних видів в процесі онтогенезу методом спектрофотометрії. На основі проведених досліджень рекомендованими оптимальними строками заготівлі трави *A. foeniculum* та *A. urticifolia* визначено фазу МЦ.

4. Визначено загальні та відмінні макро-, мікроскопічні ознаки сировини *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, які використано для ідентифікації сировини та при розробці проектів МКЯ на сировину.

5. Вперше отримано культуру рослин роду *Agastache*, вирощених *in vitro* (з насіння). Проведено порівняльне дослідження вмісту основних БАР у траві *A. foeniculum* та *A. urticifolia*, що культивувались *in vitro* та в природних умовах. Встановлено, що рослини *Agastache* обох досліджених видів успішно піддаються вирощуванню в асептичній культурі тканин (*in vitro*), накопичують значну біомасу та відрізняються досить високим, майже незмінним протягом всієї вегетації вмістом поліфенольних сполук.

6. Розроблено схему комплексної переробки сировини *A. foeniculum*, що передбачає отримання двох субстанцій – ліпофільного екстракту з сировини та рідкого водно-спиртового екстракту зі шроту після отримання ліпофільного екстракту. У ліпофільному екстракті методом ТШХ визначено наявність терпеноїдів, встановлено вміст суми каротиноїдів у перерахунку на  $\beta$ -каротин та хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А. У рідкому екстракті методом ТШХ визначено наявність флавоноїдів та ГКК, встановлено вміст суми поліфенолів у перерахунку на пірогалол, вміст суми ГКК у перерахунку на хлорогенову кислоту та суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін.

7. На основі результатів визначення показників якості сировини, морфолого-анатомічних досліджень трави *A. foeniculum* та фітохімічних досліджень вмісту БАР, вперше було проведено стандартизацію сировини та отриманих екстрактів, розроблено проекти МКЯ «Агастахе фенхельного трава», «Ліпофільний екстракт агастахе фенхельного» та «Поліфенольний екстракт агастахе фенхельного».

8. Вивчено фармакологічну дію отриманих субстанцій та встановлено, що рідкий екстракт агастахе фенхельного проявляє виражену антиоксидантну активність. На моделі токсичного ураження печінки, викликаного шляхом внутрішньошлункового введення чотирихлористого вуглецю у дослідах на статевозрілих білих нелінійних щурах встановлено, що фітозасіб на основі сировини агастахе фенхельного проявляє геатопротекторну дію

Доведено, що ліпофільний екстракт агастахе фенхельного проявляє антимікробну активність грампозитивних мікроорганізмів: *S. aureus*, *B. subtilis*, помірну – щодо грамнегативних мікроорганізмів: *P. aeruginosa*, *E. coli*, *P. vulgaris* та дріжджоподібних грибів *C. Albicans*, тому його можна розглядати як потенційну субстанцію з широким спектром антимікробної дії.



## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Cantino P. D., Sanders R. W. Subfamilial Classification of Labiatae. *Systematic Botany*. 1986. 11. P. 163–185.
2. Буданцев А. Л. Триба Nepetae Benth. семейства Lamiaceae Lindl. (систематика, география, возможность использования): автореф. дис. д-ра биол. наук. СПб., 1993. 22 с.
3. Чумакова В. В., Попова О. И. Лорфант анисовый. *Фармация и фармакология*. Пятигорск. 2013. №1. С. 41-46 с.
4. Sanders R. W. Taxonomy of Agastache section Brittonastrum (Lamiaceae-Nepeteae). *Systematic Botany Monograph*. American Society of Plant Taxonomists. USA. 1987. No 15. P. 1–92.
5. Vogelmann J. E. Crossing relationships among North American and Eastern Asian populations of Agastache sect. Agastache (Labiatae). *Systematic Botany*. 1985. 10(4). P. 445–452.
6. Lint H., Epling H. A revision of Agastache. *American Midland Naturalist*. 1945. 33. P. 207–230.
7. Fuentes-Granados R., Widrlechner L.A., Wilson M.P. An overview of Agastache research. *J Herbs Spices Med Plants*. 1998. 6(1). P. 69–97.
8. <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=agastache>
9. Zielińska S., Matkowski A. Phytochemistry and bioactivity of aromatic and medicinal plants from the genus Agastache (Lamiaceae). *Phytochemistry Reviews*. 2014. 13(2). P. 391–416.
10. <http://www.plantsoftheworldonline.org/?page=1&q=Agastache>
11. Douglas G.W., Meidinger D.V., Pojar J. Illustrated Flora of British Columbia. Volume 3: Dicotyledons (Diapensiaceae Through Onagraceae). B.C. Ministry of Environment, Lands & Parks and B.C. Ministry of Forests. Victoria. 1999. 423 p.
12. Дослідження анатомічних діагностичних ознак сировини деяких видів роду Agastache як показників якості при стандартизації / І. О. Гуртовенко, О.

Ю. Коновалова, О. Ф. Щербакова, В. О. Меньшова, О. І. Гудзенко. *Запорізький медичний журнал*. 2018. № 2. С. 230-237.

13. Skinner M. Propagation protocol for production of container *Agastache urticifolia* (Benth.) Kuntze plants; Pullman Plant Materials Center, Pullman, Washington. In: Native Plant Network. 2005. URL: <http://www.nativeplantnetwork.org> (accessed 8 May 2016).

14. Палій І. М. Регуляція продуктивності та фармакологічних властивостей *Agastache foeniculum* Pursh. і *Nepeta cataria* var. *citriodora* Beck. елементами мінерального живлення в умовах Південного берега Криму. *Фітотерапія часопис*. 2013. № 1. С. 77-80.

15. Рудік Г. О. Інтродукція *Agastache rupestris* (Greene) Standl. у Ботанічний сад ім.акад. О. В.Фоміна. *Інтродукція рослин, збереження та збагачення біорізноманіття в ботанічних садах та дендропарках*: мат. міжнародної наукової конференція, Київ. 2015. С. 217-218.

16. Березкіна В. І. Меньшова В. О. Інтродукція рідкісних трав'янистих рослин у Ботанічному саду ім. акад. О. В. Фоміна. *Вісник Київського національного університету ім.Тараса Шевченка. Інтродукція та збереження рослинного різноманіття*. 2011. Вип. 29. С.12-15.

17. Скибіцька М. І. Могиляк М. Г. Перспективи інтродукції лікарських та декоративних рослин з родини *Lamiaceae* у західному лісостепу України. *Науковий вісник України*. 2013. Вип.23.10. С.40-45.

18. Нонік М. О. Біологічні особливості *Lophanthus anisatus* Adans. *Біологічні дослідження* : мат. IV наук.-практич. всеукр. конф., 16-18 квітня 2013 р., м. Житомир. 2013. С.1-3

19. Котюк Л. А. Рахметов Д. Б. Біоморфологічні особливості *Lophanthus anisatus* Adans при інтродукції в умовах Ботанічного саду ЖНАЕУ. *Modern Phytomorphology*. 2014. 6. Р. 297–302.

20. Горлачева З. С. Изменчивость биоморфологических признаков *Agastache foeniculum* O. Ktze. и *Agastache rugosa* (Fisch. et Mey) O.Ktze. при интродукции в Донбассе. *Промышленная ботаника*. 2001. Вип. 1. С. 120-125.

21. Мельничук О. А., Рахметов Д. Б. Особливості росту і розвитку рослин *Lophanthus anisatus* Adans. при інтродукції в Кременецькому ботанічному саду. *Інтродукція рослин*. 2016. № 4 С. 39-44.

22. Хлыпенко Л. А., Орел Т. И. Итоги интродукции рода *Agastache* Horsemint в условиях южного берега Крыма. *Тр. Никитского бот. сада*. 2011. Т. 133. С. 230-235.

23. Хлыпенко Л. А., Работягов В. Д., Свиденко Л. В. Биологические особенности лофанта анисового в условиях Юга Украины. *Інтродукція рослин на початку ХХІ століття: досягнення і перспективи розвитку досліджень*: мат. міжнародної наукової конференції, присвяченої 70- річчю Національного ботанічного саду ім. М.М.Гришка НАН України 19-21 вересня 2005 р., м. Київ. 2005. С.133-135.

24. Pliszko A. *Agastache rugosa* (Lamiaceae), a new casual alien in the flora of Poland. *Botanica lithuanica*. 2015. 21(1). P. 74–76.

25. Guzik J., Pacyna A. Nowe lub rzadkie w Polsce rośliny synantropijne. 2. *Agastache urticifolia* (Lamiaceae). *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica*. 2003. 10. P. 57–65.

26. Jabłoński B., Kołtowski Z. Nectar secretion and honey potential of honey-plants growing under Poland's conditions. *Journal of Apicultural Science*. 2001. 45. P. 29–35.

27. Duda M. M., Matei C. F., Vârban D. I. *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze – A new plant in the landscape of our country. *Hop and medicinal plants*. 2011. 1-2 (37-38). P. 63-65.

28. The Results of Cultivating the Species *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze at Jucu, CJ / M. M. Duda, C. F. Matei, D. I. Vârban, S. Muntean and C. Moldovan. *Bulletin UASMV serie Agriculture*. 70(1). 2013. P. 214-217.

29. Многоколосник морщинистый (лофант) (*Agastache rugosa*. A. Mey.) при интродукции в Белоруссию / Л. В. Кухарева, И. Н. Тычина, А. И. Курчавая, А. В. Эльяшевич. *"Пряно-ароматические и лекарственные растения:*

перспективы интродукции и использования": материалы докладов Международной конференции, Минск, 1999. С. 71-72.

30. Влияние погодных условий вегетационного периода на углеводный состав многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa* (Fisch et Mey) при интродукции в Беларуси / Ж. А. Рупасова, Л. В. Кухарева, Р. Н. Рудаковская и др. *Природные ресурсы: Межведомственный бюллетень*. 1998. 1. С. 34-38.

31. Воробьева Т. А. Некоторые биологические особенности видов рода *Agastache* Clayton ex Gronov в условиях среднего Урала. *Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій: матеріали третьої Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 15-16 травня 2014 р. Полтава, 2014. С. 10-14.*

32. Демьянова Е. И., Шумихин С. А. Антэкологические исследования некоторых лекарственных хрестений в ботаническом саду Пермского университета. *Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы: материалы I Международной научной конференции, 21-22 мая 2013 г., Новосибирск, 2013. С. 38-39.*

33. Чумакова В. В., Попова О. И., Чумакова В. Вл. Опыт интродукции некоторых видов *Agastache* (Lamiaceae) в Ставропольском крае. *Растительные ресурсы*. 2011. Т. 47, №1. С. 51-55

34. Fuentes-Granados R. G., Widrlechner M. P. Evaluation of *Agastache* and Other Lamiaceae Species for Reaction to *Verticillium dahliae*. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*. 1996. 3 (3). P. 3-11.

35. Чумакова В. В., Попова О. И. Лофант анисовый (*Agastache foeniculum* L.) – перспективный источник получения лекарственных средств. *Фармация и фармакология*. 2013. № 1. С. 41-46.

36. Analysis of the volatile organic compounds from leaves, flower spikes, and nectar of Australian grown *Agastache rugosa* / Н. Yamani, N. Mantri, P. D. Morrison, E. Pang. *BMC Complement Altern Med*. 2014. 14. P. 495.

37. Omidbaigi R., Mahmoodi M. Effect of irrigation regimes on the essential oil content and composition of *Agastache foeniculum*. *J Essent Oil Bear Pl.* 2010. 13(1). P. 59–65.
38. Omidbaigi R., Kabudani M., Khoorang M. Nitrogen fertilizer affecting herb yield, essential oil content and composition of *Agastache foeniculum* Purch. *J Essent Oil Bear Pl.* 2008. 11(3). P. 261–266.
39. Omidbaigi R., Sefidkon F. Effect of sowing time on the essential oil content and composition of *Agastache foeniculum*. *J Essent Oil Bear Pl.* 2004. 7(2). P. 190–194.
40. Omidbaigi R., Sefidkon F. Essential oil composition of *Agastache foeniculum* cultivated in Iran. *J Essent Oil Res.* 2003. 15(1). P. 52–53.
41. Svoboda K. P., Gough J., Hampson J. Analysis of the essential oils of some *Agastache* species grown in Scotland from various seed sources. *Flavour Fragr J.* 1995. 10. P. 139–145.
42. Suchorska-Tropiło K., Pióro-Jabrucka E. Morphological, developmental and chemical analysis of the chosen *Agastache* species. *Ann Warsaw Univ Life Sci SGGW Horticult Landsc Architect.* 2004. 25. P. 25–31.
43. Rudik G. O. Онтоморфогенез *Agastache rugosa* (Fisch. et C.A. Mey.) O. Kuntze ex situ. *Mod Phytomorphol.* 2013. 4. P. 257–260.
44. Качественный состав летучих соединений *agastache foeniculum* в онтогенезе / Е. Ю. Коновалова, И. А. Гуртовенко, Т. К. Шураева, В. А. Меньшова, Т. С. Омельковец. «*Рецент*». 2017. том 20, № 6. С. 544–550.
45. Fujita S. I., Fujita Y. Miscellaneous contributions to the essential oils of plants from various territories XXXIII. Essential oil of *Agastache rugosa* O. Kuntze. *Yakugaku Zasshi.* 1973. 93. P. 1679–1681.
46. Charles D. J., Simon J. E., Widrlechner M. P. Characterization of essential oil of *Agastache* species. *J Agric Food Chem.* 1991. 39(11). P. 1946–1949.
47. Chemical composition and nematicidal activity of essential oil of *Agastache rugosa* against *Meloidogyne incognita* / H. Q. Li, Q. Z. Liu, Z. L. Liu. et al. *Molecules.* 2013. 18. P. 4170–4180.

48. Chae Y. A., Hyun-Choong O., Song J. S. Variability of the volatile composition of *Agastache rugosa* in South Korea. *Acta Hortic.* 2005. 675. P. 59–64.
49. Phytochemical investigation and antimicrobial activity of *Agastache rugosa* growing in Xinjiang / H. Y. Gong, J. B. Ding, M. Zhu, et al. *China. Asian J Chem.* 2012. 24(7). P. 2961–2964.
50. Constituents of essential oil isolated from the dried flower and leaf of *Agastache rugosa* (Fisch. et Mey) from Xinjiang, in China / H. Gong, X. Zhou, M. Zhu et al. *J Essent Oil Bear Pl.* 2012. 15(4). P. 534–538.
51. Comparative chemical composition of *Agastache mexicana* subsp. *mexicana* and *A. mexicana* subsp. *Xolocotziana* / R. Estrada-Reyes, E. A. Hernandez, A. Garcia-Argaez et al. *Biochem Syst Ecol.* 2004. 32. P. 685–694.
52. Molecular cloning, functional expression and characterization of *d*-Limonene synthase from *Agastache rugosa* / T. Maruyama, D. Saeki, M. Ito et al. *Biol Pharm Bull.* 2002. 25(5). P. 661–665.
53. Mo J. X., Jang C., Zhang X. Y. Studies on characteristics of volatile oil and micro identification between *Herba Pogostemonis* and *Herba Agastache rugosae*. *J Chin Med Mater.* 2009. 32(11). P. 1675–1677.
54. Polak E. H., Hixson R. M. The volatile oil from *Lophanthus anisatus* Benth. *J Am Pharm Assoc.* 1945. 35. P. 240–243.
55. Mazza G., Kiehn F. A. Essential oil of *Agastache foeniculum*, a potential source of methylchavicol. *J Essent Oil Res.* 1992. 4(3). P. 295–299.
56. Volatile constituents of *Agastache rugosa* / P. Weyerstahl, H. Marschall, E. Manteuffel et al. *J Essent Oil Res.* 1992. 4(6). P. 585–587.
57. Wilson L. A., Senechal N. P., Widrlechner M. P. Headspace analysis of the volatile oils of *Agastache*. *J Agric Food Chem.* 1992. 40(8). P. 1362–1366.
58. Tirillini B. B., Menghini A. A., Pellegrino R. R. Constituents of the leaf secretory hairs of *Agastache foeniculum* Kuntze. *J Essent Oil Res.* 1997. 9(1). P. 19–21.
59. Георгіївський В. П., Комісаренко Н., Дмитрук З. Е. Біологічно активні речовини лікарських рослин. Новосибірськ : Наука. 1990. С.101.

60. Химический состав лофанта анисового / Н. В. Фурсов, В. В. Фурсов, В. Н. Фурсов, Х. А. Абделаал. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2009. №10 (60). С. 66-71
61. Великородов А. В., Ковалев В. Б., Носачев С. Б., Тырков А. Г. Способ получения и состав эфирного масла из лофанта анисового : пат. RU 2433166 С2, заявка №2009143766 от 27.11.2009 г, опубл. 10.11.2011.
62. Lee C., Kim H., Kho Y. Agastinol and agastenol, novel lignans from *Agastache rugosa* and their evaluation in an apoptosis inhibition assay. *J Nat Prod*. 2002. Mar; 65(3). P. 414-6.
63. Influence of plant growth regulators on volatiles produced by in vitro grown shoots of *Agastache rugosa* (Fisher & C.A.Meyer) O.Kuntze / S. Zielińska, E. Piatczak, D. Kalemba et al. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 2011. 107. P. 161–167.
64. Fuentes -Granados R., Widrlechner M. P., Wilson L. A. An overview of *Agastache* research. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*. 1998. 6(1). P. 69–97.
65. Itokawa H., Suto K., Takeya K. Structures of isoagastachoside and agastachin, new glucosylflavones isolated from *Agastache rugosa*. *Chem Pharm Bull*. 1981. 29. P. 1777–1779.
66. Zakharova O. I., Zakharov A. M., Glyzin V. I. Flavonoids of *Agastache rugosa*. *Chem Nat Comp*. 1980. 15. P. 561–564.
67. Accumulation of tilianin and rosmarinic acid and expression of phenylpropanoid biosynthetic genes in *Agastache rugosa* / P. A. Tuan, W. T. Park, H. Xu, N. I. Park, S. U. Park. *J Agric Food Chem*. 2012 Jun 13. 60(23). P. 5945-51.
68. Comparative studies of the rosmarinic and caffeic acid contents of Lamiaceae species / G. Janicsak, I. Mathe, V. Mikklosy-Vari et al. *Biochem Syst Ecol*. 1999. 27. P. 733–738.
69. Han D. S. Triterpenes from the root of *Agastache rugosa*. *Kor. J Pharmacogn*. 1987. 18. P. 50–53.
70. Zou Z. M., Cong P. Z. Studies on the chemical constituents from roots of *Agastache rugosa*. *Acta Pharmacol Sin*. 1991.26(12). P. 906–910.

71. Ursolic acid from *Agastache mexicana* aerial parts produces antinociceptive activity involving TRPV1 receptors, cGMP and a serotonergic synergism / J. Verano, M. E. Gonzales-Trujano, M. Deciga-Campos et al. *Pharmacol Biochem.* 2013. 110. P. 255–264.

72. Essential and fatty oil of *Agastache rugosa* / A. M. Zakharov, V. S. Dolya, O. I. Zakharova et al. *Chem Nat Comp.* 1988. 24. P. 448–450.

73. Variation of carotenoid content in *Agastache rugosa* and *Agastache foeniculum* / S. C. Chae, S. W. Lee, J. K. Kim et al. *Asian J Chem.* 2013. 25(8). P. 4364–4366.

74. Биологически активные вещества и антиоксидантная активность растений рода *Agastache* Clayton ex Gronov. (Lamiaceae L.), культивируемых в условиях Среднего Урала / М. А. Мяделец, Т. А. Кукушкина, Т. А. Воробьева, Т. М. Шалдаева. *Химия растительного сырья.* 2014. № 4. С. 147-152.

75. Чередниченко М. Ю., Поливанова О. Б. Перспективы биотехнологических методов размножения представителей рода *Agastache* Clayton ex Gronov. для получения вторичных метаболитов. *Труды Кубанского аграрного университета.* 2015. №4 (55). С. 282-285.

76. Bruni R., Bianchi A., Bellardi M. G. Essential oil composition of *Agastache anethiodora* Britton (Lamiaceae) infected by cucumber mosaic virus (CMV). *Flavour Fragr J.* 2007. 22. P. 66–70.

77. Leaf surface flavonoids in Iranian species of *Nepeta* (Lamiaceae) and some related genera / Z. Jamzad, R. J. Grayer, G. C. Kite et al. *Biochem Syst Ecol.* 2003. 31. P. 587–600.

78. Frequency and pattern of Chinese herbal medicine prescriptions for chronic hepatitis in Taiwan / F. P. Chen, Y. Y. Kung, Y. C. Chen et al. *J Ethnopharmacol.* 2008. 117. P. 84–91.

79. Verification of biological activity of irradiated Sopoongsan, an oriental medicinal prescription, for industrial application of functional cosmetic material / J. Y. Lee, T. S. Park, J. H. Son et al. *Radiat Phys Chem.* 2007. 76. P. 1890–1894.



80. Effects of QWBZP on T-cell subsets and their cytokines in intestinal mucosa of HRV infection suckling mice / C. Wu, X. Jiang, S. He et al. *J Ethnopharmacol.* 2010. 131. P. 130–134.

81. Effects of Ya-hom on the gastric secretion in rats / W. Suvitayavat, J. Kodchawongs, S. S. Thirawarapan et al. *J Ethnopharmacol.* 2004. 94. P. 331–338.

82. Protein kinase G-dependent heme oxygenase-1 induction by *Agastache rugosa* leaf extract protects RAW 264.7 cells from hydrogen peroxide-induced injury / H. M. Oha, Y. J. Kangb, Y. S. Leea, M. K. Parka, S. H. Kima, H. J. Kima. *J Ethnopharmacol.* 2006. 103. P. 229–235.

83. Vasoactive and antioxidant activities of plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of cardiovascular diseases / C. Ibarra-Alvarado, A. Rojas, S. Mendoza et al. *Pharm Biol.* 2010. 48. P. 732–739.

84. Spasmolytic and antinociceptive activities of ursolic acid and acacetin identified in *Agastache mexicana* / M. E. Gonzalez-Trujano, R. Ventura-Martinez, M. Chavez et al. *Planta Med.* 2012. 78(08). P. 793–796.

85. Błaszczyk T., Krzyżanowska J., Lamer-Zarawska E. Screening for antimycotic properties of 56 Traditional Chinese Drugs. *Phytother Res.* 2000. 14. P. 210–212.

86. Shin S., Pyun M. S. Anti-Candida effects of etragole in combination with ketoconazole or amphotericin B. *Phytother Res.* 2004. 18. P. 827–830.

87. Antimicrobial activity and components of extracts from *Agastache rugosa* during growth period / J. H. Song, M. J. Kim, H. D. Kwon et al. *J Food Sci Nutr.* 2001. 6. P. 10–15.

88. Shin S. Essential oil compounds from *Agastache rugosa* as antifungal agent against *Trichophyton* species. *Arch Pharm Res.* 2004. 27. P. 295–299.

89. Shin S., Kang C. A. Antifungal activity of the essential oil of *Agastache rugosa* Kuntze and its synergism with ketoconazole. *Lett Appl Microbiol.* 2003. 36. P. 111–115.

90. Antifungal effects of Thyme, Agastache and Satureja essential oils on *Aspergillus fumigates*, *Aspergillus flavus*, and *Fusarium solani* / A. Ownagh, A. Hasani, K. Mardani et al. *Vet Res Forum*. 2010. 1(2). P. 99–105.

91. 4-Methoxycinnamaldehyde inhibited human respiratory syncytial virus in a human larynx carcinoma cell line / K. C. Wang, J. S. Changb, L. C. Chiangd et al. *Phytomedicine*. 2009. 16. P. 882–886.

92. Antipicornavirus flavone Ro 09–0179 / H. Ishitsuka, C. Ohsawa, T. Ohiwa et al. *Antimicrob Agents Chemotherapy*. 1982. 22. P. 611–616.

93. Sandoval I. V., Carrasco L. Poliovirus infection and expression of the poliovirus protein 2B provoke the disassembly of the Golgi complex, the organelle target for the antipoliovirus drug Ro-090179. *J Virol*. 1997. 71. P. 4679–4693.

94. The effect of the oil of *Agastache rugosa* O. Kuntze and three of its components on human cancer cell lines / M. K. Kim, W. T. Chung, Y. K. Kim et al. *J Essent Oil Res*. 2001a. 13(3). P. 214–218.

95. Agastaquinone, a new cytotoxic diterpenoid quinone from *Agastache rugosa* / H. K. Lee, S. R. Oh, J. I. Kim et al. *J Nat Prod*. 1995. 58. P. 1718–1721.

96. Protein kinase G-dependent heme oxygenase-1 induction by *Agastache rugosa* leaf extract protects RAW264.7 cells from hydrogen peroxide induced injury / H. M. Oh, Y. J. Kang, Y. S. Lee et al. *J Ethnopharmacol*. 2006. 103. P. 229–235.

97. Antihypertensive and vasorelaxant effects of tilianin isolated from *Agastache mexicana* are mediated by NO/cGMP pathway and potassium channel opening / O. Hernandez-Abreu, P. Castillo-Espana, I. Leon-Rivera et al. *Biochem Pharmacol*. 2009. 78. P. 54–61.

98. Dose-dependent antihypertensive determination and toxicological studies of tilianin isolated from *Agastache mexicana* / O. Hernandez-Abreu, M. Torres-Piedra, S. Garcia-Jimenez et al. *J Ethnopharmacol*. 2013. 146. P. 187–191.

99. Inhibition of cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression; possible mechanism for anti-atherogenic effect of *Agastache rugosa* / J. J. Hong, J. H. Choi, S. R. Oh et al. *FEBS Lett*. 2001. 495. P. 142–147.

100. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the *Agastache mexicana* extracts by using several experimental models in rodents / A. Gonzalez-Ramirez, M. E. Gonzalez-Trujano, F. Pellicer et al. *J Ethnopharmacol.* 2012. 142. P. 700–705.

101. Pharmacological activity of (R)-(+)- pulegone, a chemical constituent of essential oils / D. P. De Sousa, F. F. Nobrega, M. R. De Lima et al. *Z Naturforsch.* 2011. 66c(7–8). P. 353–359.

102. Menthol: a simple monoterpene with remarkable biological properties / G .P. Kamatou, I. Vermaak, A. M. Viljoen et al. *Phytochemistry.* 2013. 96. P. 15–25.

103. Molina-Hernandez M., Tellez-Alcantara P., Martinez E. *Agastache mexicana* may produce anxiogenic-like actions in the male rat. *Phytomedicine.* 2000. 7(3). P. 199–203.

104. Корсун Е. И. Корсун А. В. Фитотерапия хронического вирусного гепатита. *Врач.* 2006. № 14. С. 48-31.

105. Кривцов Н. И. Специально для пчел. *Пчеловодство.* 2008. № 7. С. 20-23.

106. Эфиромасличные культуры и пряноароматические растения для использования в фитотерапии / В. Д. Работягов, Н. Н. Бакова, Л. А. Хлыпенко, Т. Ф. Голубева. *Гос. Никитский бот. сад.* Ялта, 1998. 82 с.

107. Абделаиз А. Х., Фурсов В. Н. Употребление нового чайного напитка из лофанта анисового в лечебных целях. *Естеств. науки.* 2009. № 4. С. 61-66.

108. Применение эфирных масел традиционных растений и нового для России растения – лофанта анисового (*Lophanthus anisatus* Benth.) / А. Х. Абделаиз, А. В. Великородов, А. Г. Тырков [и др.]. *Естеств. науки.* 2009. № 3. С. 78-86.

109. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений. М.: Колос, 1983. 241 с.

110. Подходы к антивирусной фитотерапии / Ю. А. Смирнов, Т. Л. Киселева, А. Е. Смирнова [и др.]. *Традиц. мед.* 2009. № 17. С. 47-39.

111. Лавруков М. Ю., Кузнецова Н. М. *Нерета* (котовник) и *Dracoscephalum* (змееголовник) - нетрадиционные культуры с уникальными свойствами. *Известия Санкт-Петербургского гос. аграр. универс.* 2008. № 9. С. 49-50.

112. Эфирномасличные и пряноароматические растения / О.К. Лобусь, О.Д. Работягов, С.П. Кутько, Л.А. Хлыпенко. *Фито, арома- и аромотерапия.* Херсон: Айлант. 2004. С.139-143.

113. Active components of common traditional Chinese medicine decoctions have antioxidant functions / K. J. Guo, S. F. Xu, P. Yin et al. *J Anim Sci.* 2011. 83. P. 3107-3115.

114. Дослідження анатомічних діагностичних ознак сировини деяких видів роду *Agastache* як показників якості при стандартизації / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, О. Ф. Щербакова, В. О. Меньшова, О. І. Гудзенко. *Запорізький медичний журнал.* 2018. № 2. С. 230-237.

115. Romeis V. *Mikroskopische Technik.* [Microscopic technique]. Munich, R. Oldenbourg. 1948. 695 p.

116. Baranova M. A. Classification of morphological types of stomata. *Botanicheskiy zhurnal.* 1985. 70 (12). P. 1585–1595.

117. Zakharevich S. F. To the technique of sheet description. *Vestnik Leningradskogo universiteta.* 1954. 4. P. 65–75.

118. Кушнір Г. П., Сарнацька В. В. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика. К.: Наукова думка, 2005. 269 с.

119. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol.15. P. 473–497.

120. Пушкарьова Н. О. Розробка способів мікроклонального розмноження та вивчення впливу культивування *in vitro* на біохімічні властивості та генетичну мінливість рослин рідкісних видів роду *Crambe*: дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: 03.00.20 «Біотехнологія». Режим доступу: <http://icbge.org.ua/re/images/9/90/%D0%94%D0%B8%D1%81%D0%B5%D1%80>

[%D1%82%D0%B0%D1%86%D1%96%D1%8F %D0%9F%D1%83%D1%88%D0%BA%D0%B0%D1%80%D1%8C%D0%BE%D0%B2%D0%B0\\_kincevyj.pdf](#)

121. Химический анализ лекарственных растений / под. ред.. Н. И. Гринкевич, Л. Н. Сафронович. – М.: Высш. шк., 1983. 176 с.

122. Ковальов В. Н. Фармакогнозія з основами біохімії рослин : учбове видання / В. Н. Ковальов, О. І. Павлій, Т. І. Ісакова Х.: НФАУ, 2000. 704 с.

123. Дослідження полісахаридних комплексів рослин родини Asteraceae / С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, І. С. Дахим, Т. С. Бердей, Г. Р. Козир. *Scientific Journal «ScienceRise»*. 2015.№10/4(15). С. 31-35.

124. Дослідження хімічного складу та імуномодулюючої активності полісахаридних комплексів вероніки широколистої (*Veronica teucrium* L.) / А. П. Осьмачко та ін. *Вісник фармації*. 2017. № 2 (90). С. 38-42.

125. Дослідження речовин первинного метаболізму *Veronica longifolia* L. / А. П. Осьмачко та ін. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин: матеріали I Міжнар. наук.–практ. internet–конф., м. Харків, 20–21 берез. 2014 р. Харків : НФаУ, 2014. С. 128-129.*

126. Идентификация органических кислот методом ТСХ в извлечениях из растительных объектов / О. В. Тринеева, И. И. Сафонова, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин. *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2013. Т. 13., Вып. 6. С. 896-901.

127. Максютин Н. П., Литвиненко В. И. Методы выделения и исследования фенольных соединений. Фенольные соединения и их биологические функции. М.: 1968. С. 7-26.

128. Wagner H., Bladt S. Plant drug analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas. Tokyo: Springer Verlag, 1984. 390 p.

129. Применение цветных реакций для обнаружения флавоноидов путем хроматографии на бумаге / В. А. Бандюкова и др. *Растительные ресурсы*. Т. 1. № 4. 1965. С. 591-597.

130. Солодовниченко Н. М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: посібник з фармакогнозії з основами біохімії лік. рослин /

Солодовниченко Н. М., Журавльов М. С., Ковальов В. М. – Х. : Вид-во НФАУ «Золоті сторінки». 2001. 408 с.

131. Qualitative assay of essential oils of Lavender and Peppermint in commercial products through spectral and chromatographic methods / S. Imre, S. Eşianu, A. Miklos, I. Tiuca, et al. *Farmacia*. 2016. Vol. 64, 6. P. 857-862.

132. Оленников Д. Н., Дударева Л. В. Химический состав и антирадикальная активность эфирного масла российских образцов *Mentha piperita* L. *Химия растительного сырья*. 2011. №4. С. 109-114.

133. Carvalho M. L., Brito J., Barreiros M. A. Study of trace element concentration by EDXRF spectrometry. *X-Ray Spectrometry*. 1998. V. 27. P.198-204.

134. Джапаридзе Дж. И., Шавгулидзе Н. В. и др. Определение тяжелых металлов в волосах человека методами дифференциальной импульсной полярографии и рентгеновской флуоресцентной спектроскопии. *Український журнал з проблем медицини праці*. 2008. 2(14). С. 59-63.

135. Jámbor, I. Molnár-Perl. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. *Journal of Chromatography A*. 2009. P. 6218-6223.

136. Rapid, Accurate, Sensitive, and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids. Amino Acid Analysis Using Zorbax Eclipse-AAA Columns and the Agilent 1100 HPLC / J. W. Henderson, R. D. Ricker, B. A. Bidlingmeyer, C. Woodward. *Agilent Technical Note*. 1999. P. 980-1193.

137. Вміст вільних та зв'язаних амінокислот у деяких видах роду Агастахе при інтродукції / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, В. О. Меньшова, Т. К. Шураєва, Є. М. Гергель, О. В. Гергель. *Фітотерапія. Часопис*. 2016. N 4. С. 24-26.

138. Garcés R, Mancha M. One-step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues. *Anal Biochem*. 1993 May 15; 211(1): 139-143.

139. Дослідження жирнокислотного складу трави деяких видів роду агастахе (*Agastache J. Clayton ex Gronov.*) / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Є. М. Гергель, О. В. Гергель, Т. К. Шураєва, К. А. Градзіон, В. О. Меньшова. «Сучасні теоретичні та практичні аспекти щодо стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини»: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 28-29 жовтня 2016 р. К., 2016. С. 48.

140. Analysis of the monosaccharide composition of purified polysaccharides in *Ganoderma atrum* by capillary gas chromatography / Y. L. Chen, M. Y. Xie, Y. X. Wang, S. P. Nie, C. Li. *Phytochem Anal.* 2009. Nov-Dec;20(6). P. 503-510.

141. Guerrant, G. O., Moss C. W. Determination of monosaccharides as aldononitrile, O-methyloxime, alditol, and cyclitol acetate derivatives by gas-chromatography. *Analytical Chemistry.* 1984. 56. P. 633–638.

142. Determination of carbohydrate content in raw material of *Agastache foeniculum* and *Agastache urticifolia* / I. Gurtovenko, E. Konovalova, T. Shuraeva, M. Kalista. *The Pharma Innovation Journal.* 2017. Vol.6, N 9 (Part G). P.454-457.

143. Гергель, Є. М. Дослідження вмісту вуглеводів у плодах маслинки багатоквіткової (*Elaeagnus multiflora* L.) та маслинки вузьколистої (*Elaeagnus angustifolia* L.) / Є. М. Гергель, О. Ю. Коновалова, Т. В. Джан, Є. А. Васюк. *Фармацевтичний журнал.* 2011. № 6. С. 96–98.

144. Державна фармакопея України. Державне підприємство „Науково-експертний фармакопейний центр”. 1-ше вид. Х.: РІРЕГ, 2001.

145. Державна фармакопея України. Державне підприємство „Науково-експертний фармакопейний центр”. 1-ше вид. (доповнення 1). Х.: РІРЕГ, 2004. 520 с.

146. Державна фармакопея України. Державне підприємство „Науково-експертний фармакопейний центр”. 1-ше вид. (доповнення 2). Х.: РІРЕГ, 2008. 620 с.

147. Державна Фармакопея України. 1-е вид. Доповнення 3. Харків: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2009. 280 с.

148. Черногород Л. Б., Виноградов Б. А. Эфирные масла некоторых видов рода *Achillea* L., содержащие фразанол. *Растит. ресурсы. Санкт-Петербург*. 2006. Т. 42. Вып. 2. С. 61–68.

149. Качественный состав летучих соединений *agastache foeniculum* в онтогенезе / Е. Ю. Коновалова, И. А. Гуртовенко, Т. К. Шураева, В. А. Меньшова, Т. С. Омельковец. «*Рецепт*». 2017. том 20, № 6. С. 544-550.

150. Цуркан О. О., Ковальчук Т. В., Гергель О. В. Хромато-мас-спектрометричне дослідження летких компонентів надземної частини шовковиці. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2012. № 1 (26). С. 54-59.

151. Медведев Ю.В. Исследование содержания фенолокислот в лекарственном и пищевом растительном сырье методом ВЭЖХ : автореф. дисс. на соискание учен. степени канд. фармацев. наук; ГОУ ВПО Московская медицинская академия имени И. М. Сеченова. М., 2010. 24 с.

152. Quantitative determination of phenolic compounds by UHPLC-UV-MS and use of partial least-square discriminant analysis to differentiate chemo-types of Chamomile / *Chrysanthemum* flower heads / Avula Bharatmi, Yan-Hong Wang, Mei Wang, Christine Avonto [et al.]. *J. of Pharmac. and Biomed. Anal.* 2014. № 88. P. 278-288.

153. Дослідження вмісту поліфенольних сполук трави агастахе фенхельного *Agastache foeniculum* (Pursch)O.Kuntze / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко, Т. К. Шураєва, В. О. Меньшова. *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 3. С. 46-49.

154. Глущенко А.В. Кількісне визначення суми поліфенолів в екстрактах кураю пагорбкового. *Зб. наук. праць співробіт. НМАПО ім. П.Л. Шупика*. 2014. Вип. 23(4). С. 240-245.

155. Евдокимова О. В. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве тысячелистника. *Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация*. 2007. № 2. С. 155-160.



156. Хишова О. М., Бузук Г. Н. Количественное определение процианидинов плодов боярышника. *Хим.-фармац. журн.* 2006. Т. 40, №2. С. 20-21.

157. Ковальов В. М., Бородіна Н. В. Вивчення ліпофільних речовин *Populus tremula*. *Вісник фармації.* 2003. № 4(36). С. 55-59.

158. Стефанов О. В. (ред.) Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. Київ: Авіцена, 2001. 528 с.

159. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the Approximation of the Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Regarding the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. *Official Journal of the European Communities.* 1986. L 358. P. 1-29.

160. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose : Council of Europe. Strasbourg, 1986. 52 р.  
Режим доступу: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF>

161. Про затвердження порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів : Наказ МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. *Офіційний вісник України. Офіц. вид.* 2010. 4. 61 с.

162. Про затвердження Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і Типового положення про комісії з питань етики : Наказ МОЗ України № 690 від 23.09.2009. *Офіційний вісник України. Офіц. вид.* 2009. № 87. 95 с.

163. Про захист тварин від жорстокого поводження : Закон України № 3447-IV. *Відомості Верховної Ради України. Офіц. вид.* 2006. № 27. 230 с.

164. Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах : Наказ Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012. *Офіційний вісник України. Офіц. вид.* 2012. № 24. С. 82.

165. Прозоровский В. Б., Прозоровская М. П., Демченко В. М. Табличный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты. *Токс.вестник*. 1998. №1. С. 28-32.

166. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Второе изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. 832 с.

167. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике: справочное пособие. Одесса: Экология, 2005. С. 407-408.

168. Сравнительная эффективность лекарственных средств разных фармакотерапевтических групп при экспериментальном токсическом гепатите / А. Н. Тауки, В. Н. Федоров, З. А. Куница, Н. А. Смирнов, Н. В. Кочнева. *Российский медико-биологический вестник им. И. П. Павлова*. 2010. 1. С.1-7.

169. Рикало Н. А., Гумінська О. Ю., Андрощук О. В. Експериментальна модель хронічного медикаментозного гепатиту у статевонезрілих щурів. *Таврический медико-биологический вестник*. 2012. Т. 15, №3, ч. 1(59). С. 283-286.

170. Бардер Е. Г. Біохімічні зміни функціонального стану печінки в сироватці крові щурів після введення цитостатичного препарату оксаліплатин та їх корекції ліпосомальним препаратом «ЛЮЛІВ». *Вісник ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»*. 2017. Т. 18, вип.1 (61). С. 162-165.

171. Переверзева О. А. Изучение антиоксидантной активности растительного сырья при исследовании процесса аутоокисления адреналина. *Научное сообщество студентов XXI столетия. Естественные науки*: сб. ст. по мат. XVII междунар. студ. науч.-практ. конф. № 3(17). С 17-21.

172. Новый подход в оценке антиоксидантной активности растительного сырья при исследовании процесса аутоокисления адреналина / Е. И. Рябина, Е. Е. Зотова, Е. Н. Ветрова, Н. И. Пономарева, Т. Н. Илюшина. *Химия растительного сырья*. 2011. № 3. С. 117-121.

173. Стандартизація приготування мікробних суспензій / Ю. Л. Волянський, Л. Г. Міроненко, С. В. Калініченко [та ін.]. Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я України № 163-2006, К.: (Укрмедпатентінформ), 2006. 10 с. (Нормативний документ МОЗ України; Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. Інформаційний лист).

174. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»: Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 05.04.2007 р. № 167 / Міністерство охорони здоров'я України Режим доступу:<http://mozdocs.kiev.ua/view.php?id=6958>

175. Шапіро А. В. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків методами серійних розведень та Е-тесту. *Клиническая антибиотикотерапия*. 2001. № 3 (11). С. 11-16.

176. Практикум по фармакогнозии: учеб. пособие для студ. вузов / В. Н. Ковалёв, Н. В. Попова, В. С. Кисличенко [и др.]; под общ. ред. В. Н. Ковалёва. Х.: Изд-во НфаУ «Золотые страницы», 2003. 512 с.

177. Тернинко І. І., Онищенко У. Є. Дослідження елементного складу сировини мальви лісової в порівнянні з ґрунтом. *Український медичний альманах*. 2011. Том 14, № 4. С. 168-169.

178. Скальный А. В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. М.: Издательский дом «Оникс 21 век»: Мир, 2004. 216 с.

179. Медико-биологические требования и санитарные нормы качества продовольственного сырья и пищевых продуктов. М., 1990. 155 с.

180. Кисличенко В. С., Вельма В. В. Изучение аминокислотного состава цветков, листьев и экстракта из цветков *Sambucus nigra*. *Химия природ. соедин.* 2006. №1. С. 98.

181. Гонський Я. І., Максимчук Т. П., Калинський М. І. Біохімія людини: [підручник]. Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. 744 с.

182. Амінокислотний склад трави *Polygonum hydropiper* L. та *Polygonum persicaria* L. флори України / І. А. Лукіна, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська, Г.

В. Мазулін, І. М. Шевченко. *Акт. пит. Фармац. і мед. науки та практ.* 2015. №1 (17). С. 56-59.

183. Марчишин С. М., Шанайда М. І., Пасемків Ю. А. Амінокислотний склад трави *Dracoscephalum grandiflorum* L. *Укр. Біофармац. журн.* 2011. № 4(15). С. 50-53.

184. Стажила Є. М., Коновалова О. Ю. Дослідження вмісту амінокислот у плодах обліпихи культивованих сортів та дикорослих форм. *Фітотерапія. Часопис.* 2010. №2. С. 95

185. Кайшева Н. Ш., Василенко Ю. К. Изучение анаболического действия полисахаридов при свинцовой интоксикации. *Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: сб. тез. 6-го междунар. съезда.* Санкт-Петербург, 2002. С. 398.

186. Кисличенко В. С., Ткаченко О. Ю., Борисенко О. І. Вивчення впливу водних екстрактів та полісахаридних комплексів з кори гілок представників роду *Ribes* L. на імунологічні показники. *Фармацевтичний журнал.* 2000. № 6. С. 85-86.

187. Дослідження вмісту вуглеводів у плодах маслинки багатоквіткової (*Elaeagnus multiflora* L.) та маслинки вузьколистої (*Elaeagnus angustifolia* L.) / Є. М. Гергель, О. Ю. Коновалова, Т. В. Джан, Є. А. Васюк. *Фармацевтичний журнал.* 2011. № 6. С. 96-98.

188. Дослідження полісахаридних комплексів рослин родини *Asteraceae* / С. М. Марчишин, О. Л. Демидяк, І. С. Дахим, Т. С. Бердей, Г. Р. Козир. *Scientific Journal «ScienceRise».* 2015. №10/4(15). С. 31-35.

189. Duffy C., Kane M. T. Investigation of the role of inositol and the phosphatidylinositol signal transduction system in mouse embryonic stem cells. *J Reprod Fertil.* 1996. Sep;108(1). P. 87-93.

190. Holub V. J. Metabolism and function of myoinositol and inositol phospholipids. *Annual Review Nutrition.* 1986. 6. P. 563-597.

191. Мумладзе М. Г. Динамика накопления и формирования состава эфирных масел растениями лопанга (*Lophanthus anisatus* Berth.), котовника

(*Nepeta cataria*, var. *citriodora* Beck), эшпольции (*Eisholzia patrinii* Lep. Garck.) в онтогенезе: автореф. дис. канд. биол. наук: спец. 03.00.04. М., 1986. 21 С.

192. Chae Y. A., Hyun-Choong O., Song J. S. Variability of the volatile composition of *Agastache rugosa* L. in South Korea. 2008 г. Режим доступа: <http://www.actahort.org>.

193. *In vitro* production of *M. piperita* not containing pulegone and menthofuran / A. Bertoli, M. Leonardi, J. Krzyzanowska, W. Oleszek, L. Pistelli. *Acta Biochimica Polonica*. 2012. Vol. 59, No 3. P. 417-423.

194. Танасиенко Ф. С. Эфирные масла: содержание и состав в растениях. Киев: Наукова думка, 1985. 264 с.

195. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Тараховский Ю. С., Ким Ю. А., Абдрасилов Б.С., Музафаров Е.Н.; [отв. ред. Е.И. Маевский]. Пушино: Synchronobook, 2013. 310 с.

196. Biological activities of polyphenols from Grapes / En-Qin Xia, Gui-Fang Deng, Ya-Jun Guo, Hua-Bin Li. *Internat. J. of molec. Sci.* 2010. Vol. 11. P. 622-646.

197. Медведев Ю. В. Исследование содержания фенолокислот в лекарственном и пищевом растительном сырье методом ВЭЖХ : автореф. дисс. на соискание учен. степени канд. фармац. наук. ГОУ ВПО Московская медицинская академия имени И. М. Сеченова. М., 2010. 24 с.

198. Recent studies on rosmarinic acid and its biological and pharmacological activities / N. A. Al-Dhabi, M. V. Arasu, C. H. Park, S. U. Park. *EXCLI J.* 2014. Vol. 13. P. 1192-1195.

199. Recent Advances in the Analysis of Rosmarinic Acid From Herbs in the *Lamiaceae* Family / B. Sik, V. Kapcsándi, R. Székelyhidi, E. L. Hanczné, Z. Ajtony. *Natural Product Communications*. 2019. V 14 (7). P. 1-7.

200. Дослідження мінерального складу трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволисного / О. Ю. Коновалова, І. О. Гуртовенко, Є. М. Гергель, О. В. Гергель, Т. К. Шураєва, К. О. Кузь. *Фармація XXI століття: Тенденції та перспективи*: мат. VIII Національного з'їзду фармацевтів України. Харків, 13-

16 вересня 2016 р. У двох томах: Т.1. Харків: НФаУ «Золоті сторінки», 2016. С. 96.

201. Дослідження жирнокислотного складу трави деяких видів роду агастахе (*Agastache J. Clayton ex Gronov.*) / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Є. М. Гергель, О. В. Гергель, Т. К. Шураєва, К.А. Градзійон, В.О. Меньшова. *«Сучасні теоретичні та практичні аспекти щодо стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини»* : мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 28-29 жовтня 2016 р. К.: ПВНЗ КМУ УАНМ, 2016. С. 148.

202. Дослідження амінокислотного складу трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, В. О. Меньшова, Є. М. Гергель, О. В. Гергель, Т. К. Шураєва. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: мат. VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10–11 листоп. 2016 р. Тернопіль: ТДМУ, 2016. С. 40-41.

203. Михайловська О. А., Гуртовенко І. О. Визначення вмісту жирних кислот в сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого / *«Хист»*, *Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених*. 2017. N 19. С. 499.

204. Ящук Б. О., Гуртовенко І. О. Порівняльний аналіз елементного складу трави деяких видів роду агастахе *Agastache J. Clayton ex Gronov* / *«Хист»*, *Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених*. 2017. N 19. С. 503.

205. Атякшева Н., Гуртовенко І. Визначення вмісту вільних моно- та дисахаридів в сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого / XXI Міжнародний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України: мат конф., 24-26 квітня 2017 р. Тернопіль, Укрмедкнига, 2017. С. 223.

206. Романюк А. Гуртовенко І. Дослідження летких сполук деяких видів роду агастахе *Agastache J. Clayton ex Gronov.* / XXI Міжнародний конгрес

студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України: мат конф., 24-26 квітня 2017 р. Тернопіль, Укрмедкнига, 2017. С. 236.

207. Гуртовенко І. О., Коновалова О. Ю., Омельковець Т. С. Динаміка накопичення летких сполук в траві агастахе кропиволистого в онтогенезі / *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 5 квітня 2018 р., Харків, НФаУ, 2018. С. 42.

208. Ящук Б., Гуртовенко І. Дослідження вмісту фенольних сполук в траві агастахе фенхельного / XXII Міжнародний конгрес студентів та молодих вчених Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України: мат. конф., 23-25 квітня 2018 р. Тернопіль, Укрмедкнига, 2018. С. 195-196.

209. Ідентифікація терпеноїдів у сировині *Agastache foeniculum* та *Agastache urticifolia* методом «холодової» ТШХ / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: мат. III Міжнар. наук.-практ. internet-конф., 26-28 листопада 2018 р., Харків, НФУ, 2018. С. 61.

210. Динаміка накопичення сполук поліфенольної природи у траві *Agastache foeniculum* та *Agastache urticifolia* / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Т. К. Шураєва, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко. *Хімія природних сполук*: мат. V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 30-31 травня 2019 р., Тернопіль, 2019. С. 26-27.

211. Коновалова О. Ю., Гуртовенко І. О., Ящук Б. О. Визначення вмісту фенольних сполук у траві агастахе фенхельного. *Людина та ліки*: мат. XII Національного медичного конгресу з міжнар. участю, 27-28 березня 2019 р. Київ, 2019. С. 28.

212. Kaviani B. Micropropagation of *Matthiola incana* using BA and IBA. *Iranian J. Plant Physiol.* 2014. Vol. 4, № 3. P. 1071-1078.

213. Sedlák J., Paprštejn F. *In vitro* establishment and proliferation of red currant cultivars. *Hort. Sci. (Prague)*. 2012. Vol. 39 (1). P. 21-25.

214. Soni M., Kaur R. Rapid *in vitro* propagation, conservation and analysis of genetic stability of *Viola pilosa*. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2014. Vol. 20 (1). P. 95-101.

215. Biotechnology approaches for conservation of the endangered species *Crambe koktebelica* (Junge) N. Busch and effect of aseptic *in vitro* cultivation on its biochemical properties / N. O. Pushkarova, M. S. Kalista, M. A. Kharhota, D. B. Rakhmetov, M. N. Kuchuk. *Biotechnol. Acta*. 2016. V. 9, N 4. P. 19-27.

216. Отримання культури рослин зникаючого виду *Crambe steveniana* та вивчення впливу асептичних умов культивування на їх біохімічний склад / Н. О. Пушкарьова, М. С. Каліста, В. Б. Белокурова, М. В. Кучук. *Вісник Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна*. 2016. Т. 27. С. 155-162.

217. Пушкарьова Н. О., Белокурова В. Б., Кучук М. В. Застосування регуляторів росту для мікроклонального розмноження *in vitro* рослин, що охороняються. *Рідкісні рослини і гриби України та прилеглих територій: реалізація природоохоронних стратегій* : матеріали IV Міжнародної конференції. Київ, 2016. С. 218–222.

218. Биохимический и молекулярно-генетический анализ многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa* (Fisch. Et Mey.) Kuntze) в культуре *in vitro* / Е. В. Спиридович, Т. И. Фоменко, А. Б. Власова, Т. В. Мазур, А. Н. Юхимук. *Вестник фармации*. 2012. №4 (58). С. 75-87.

219. Флавоны генетически трансформированных корней шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi) и индукция их образования при элиситации метилжасмонатом / И. Н. Кузовкина [и др.]. *Физиология растений*. 2005. Т. 52. С. 90-96.

220. Karuppusamy S. A. review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by *in vitro* tissue, organ and cell cultures. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2009. Vol. 3, №13. P. 1222-1239.



221. In vitro culture establishment of *Schizandra chinensis* (turz.) Baill. and *Rhodiola rosea* L., two adaptogenic compounds producing plants / J. Martin [et al.]. *Journal of Phytology. Tissue Culture*. 2010. V. 2 (11). P. 80-87.

222. Особенности получения вторичных метаболитов в культуре клеток, тканей и органов *Hedysarum theinum* (Fabaceae) *in vitro* / А. А. Эрст, Т. В. Железниченко, Т. А. Кукушкина, Т. И. Новикова, А. А. Кузовкова, О. В. Копач, Е. В. Банаев. *Turczaninowia*. 2015. 18 (4). С. 26-35.

223. Пушкарьова Н. О., Белокурова В. Б., Кучук М. В. Ефективність поверхневої стерилізації насіння як важлива умова створення *in vitro* колекції рослин, що охороняються. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2015. Т. 17. С. 241-244.

224. Пушкарьова Н. О., Белокурова В. Б. Особливості введення в культуру *in vitro* рідкісного виду *Crambe tataria* Sebeok. *Біотехнологія XXI століття: тези доповідей ІХ Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченій 170 річниці від народження Іллі Мечникова, 24 квітня 2015 р. Київ, 2015. С. 162-163.*

225. Воробьева Т. А. Некоторые биологические особенности видов рода *Agastache* Clayton ex Gronov в условиях среднего Урала. *Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій: матеріали третьої Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 15–16 травня 2014 р. Полтава, 2014. С. 10-14.*

226. Докшина А. Ю. Лабораторная всхожесть лекарственных и пряно-ароматических растений интродуцированных в ЦБС НАН Беларуси. Материалы Международной научной конференции, посвященной 85-летию Центрального ботанического сада НАН Беларуси, 6–8 июня 2017 г., Минск. 2017. Ч. 1. С. 69-73.

227. Лопотова О. В. Изучение морфологии *Agastache foeniculum* Benth. (Purch) Kunt. *Бюллетень ГНБС*. 2011. №103. С. 74-80.

228. Рыбин В. Г., Блинов Ю. Г. Антимикробные свойства липидов. *Известия ТИНРО*. 2001. № 129. С. 179-196.

229. Пат. на корисну модель № 103390 України, МПК: А61К 47/44, А61Р 17/02, А61К 36/00. Спосіб отримання ліпофільного екстракту з рослинної сировини, що має ранозагоюючу та протизапальну активність / Малюгіна О. О., Беленічев І. Ф., Смойловська Г. П., Мазулін О. В. Заявл. 07.07.15; опубліковано 10.12.2015, Бюл. №23.

230. Пат. на корисну модель № 104458 України, МПК: А61К 36/185, А61К 135/00, А61Р 31/04. Спосіб одержання ліпофільного комплексу антимікробної дії / Очкур О. В., Ільїна Т. В., Горяча О. В., Кашпур Н. В., Грудько І. В., Абдулкафарова Е. Р., Ковальова А. М., Волянський А. Ю., Комісаренко А. М. Заявл. 24.10.2011; опубліковано: 10.02.2014, Бюл. №3.

231. Хлороформ. URL: <http://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/211/xloroform>.

232. Яковенко В. К. Дослідження якісного складу препарату комплексної дії «Клімасед». *Запорозький медичинський журнал*. 2011. Т. 13, № 1. С. 98-101.

233. Дослідження спиртового екстракту *Agastache foeniculum* методом ІЧ-спектроскопії / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, І. І. Геращенко, Н. В. Гудзенко. *Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи*: мат. II Всеукраїнської наук. конф. Житомирський державний університет ім. Івана Франка, 16 травня 2018 року. Житомир, 2018. С. 225-226.

234. Дослідження хімічного складу сировини Агастахе в культурі *in vitro* / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Н. О. Пушкарьова, М. С. Каліста. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин*: мат. III Міжнар. наук.-практ. internet-конф., 26-28 листопада 2018 р., Харків, НФаУ, 2018. С. 62-63.

235. Вивчення складу БАР ліпофільного екстракту з трави Агастахе фенхельного / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Т. К. Шураєва, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко. *Хімія природних сполук*: мат. V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 30-31 травня 2019 р., Тернопіль, 2019. С. 25.

236. Измеров Н. Ф., Саноцкий И. В., Сидоров К. К. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии. М.: Медицина. 1977. 240 с.

237. Рыболовлев Ю. П., Сидяров Д. П., Афонин Н. И. Токсикологические аспекты готовых лекарственных форм. М.: Медицина. 1992. С. 9-22.

238. Принципы и критерии отнесения лекарственных средств к категории сильнодействующих и ядовитых : метод. реком. / И. М. Трахтенберг, В. А. Шаповалова, А. П. Викторов [и др.]. ГФЦ МОЗ Украины. 2002. 52 с.

239. Adewusi E. A., Afolayan A. J. A review of natural products with hepatoprotective activity. *J Med Plants Res.* 2010; 4. P. 1318-1334.

240. Protective Mechanisms of Acacetin against D-Galactosamine and Lipopolysaccharide-Induced Fulminant Hepatic Failure in Mice / H. I. Cho, J. H. Park, H. S. Choi, J. H. Kwak, D. U. Lee at al. *J Nat Prod.* 2014, Nov 26; 77(11). P. 2497-503.

241. Бевзо В. В. Каталітична активність ферментів-маркерів функціонального стану печінки щурів за умови тривалого введення глютамаму натрію. *Клінічна та експериментальна патологія.* 2016. Т. XV, No4 (58). С. 15-18.

242. Галенова Т. І., Ракша Н. Г., Савчук О. М. Зміна біохімічного профілю організму за умов тетрахлорметан-індукованого ураження печінки у щурів. *Scientific Journal «ScienceRise:Biological Science».* 2016. №2(2). С. 47-54.

243. Бардер Е. Г. Біохімічні зміни функціонального стану печінки в сироватці крові щурів після введення цитостатичного препарату оксаліплатин та їх корекції ліпосомальним препаратом «ЛІОЛІВ». *Вісник ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».* 2017. Т. 18, вип.1 (61). С. 162-165.

244. Прида А. И., Иванова Р. И. Природные антиоксиданты полифенольной природы (антирадикальные свойства и перспективы использования). *Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки.* 2004. №2. С. 76-78.

245. Влияние водных извлечений из лекарственных растений на процессы свободно-радикального окисления / М. А. Рыжикова, Р. Р. Фархутдинова, С. В. Сибиряк, Ш. З. Загудиллин. Экспериментальная и клиническая фармакология. 1999. Т. 62, №2. С. 36-38.

246. Визначення антиоксидантної активності забарвлених рослинних екстрактів *in vitro* / Г. Р. Ламазян, І. М. Ситник, П. А. Черновол, І. С. Чекман, М. В. Хайтович. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 4. С 60-64.

247. Переверзева О. А. Изучение антиоксидантной активности растительного сырья при исследовании процесса аутоокисления адреналина. *Научное сообщество студентов XXI столетия. Естественные науки*: сб. ст. по мат. XVII междунар. студ. науч.-практ. конф. № 3(17). С. 17-21.

248. Новый подход в оценке антиоксидантной активности растительного сырья при исследовании процесса аутоокисления адреналина / Е. И. Рябина, Е. Е. Зотова, Е. Н. Ветрова, Н. И. Пономарева, Т. Н. Илюшина. *Химия растительного сырья*. 2011. № 3. С. 117-121.

249. Сравнение химико-аналитических методов определения танидов и антиоксидантной активности растительного сырья / Е. И. Рябина, Е. Е. Зотова, Е. Н. Ветрова, Н. И. Пономарева, Т. Н. Илюшина. *Аналитика и контроль*. 2011. Т. 15. № 2. С. 202-208.

250. Gupta D. Methods for determination of antioxidant capacity: a review. *Intern. J. of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2015. 6(2). P. 546-566.

251. Сирота Т. В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы. *Вопросы мед. химии*. 1999. № 31. С. 3-14.

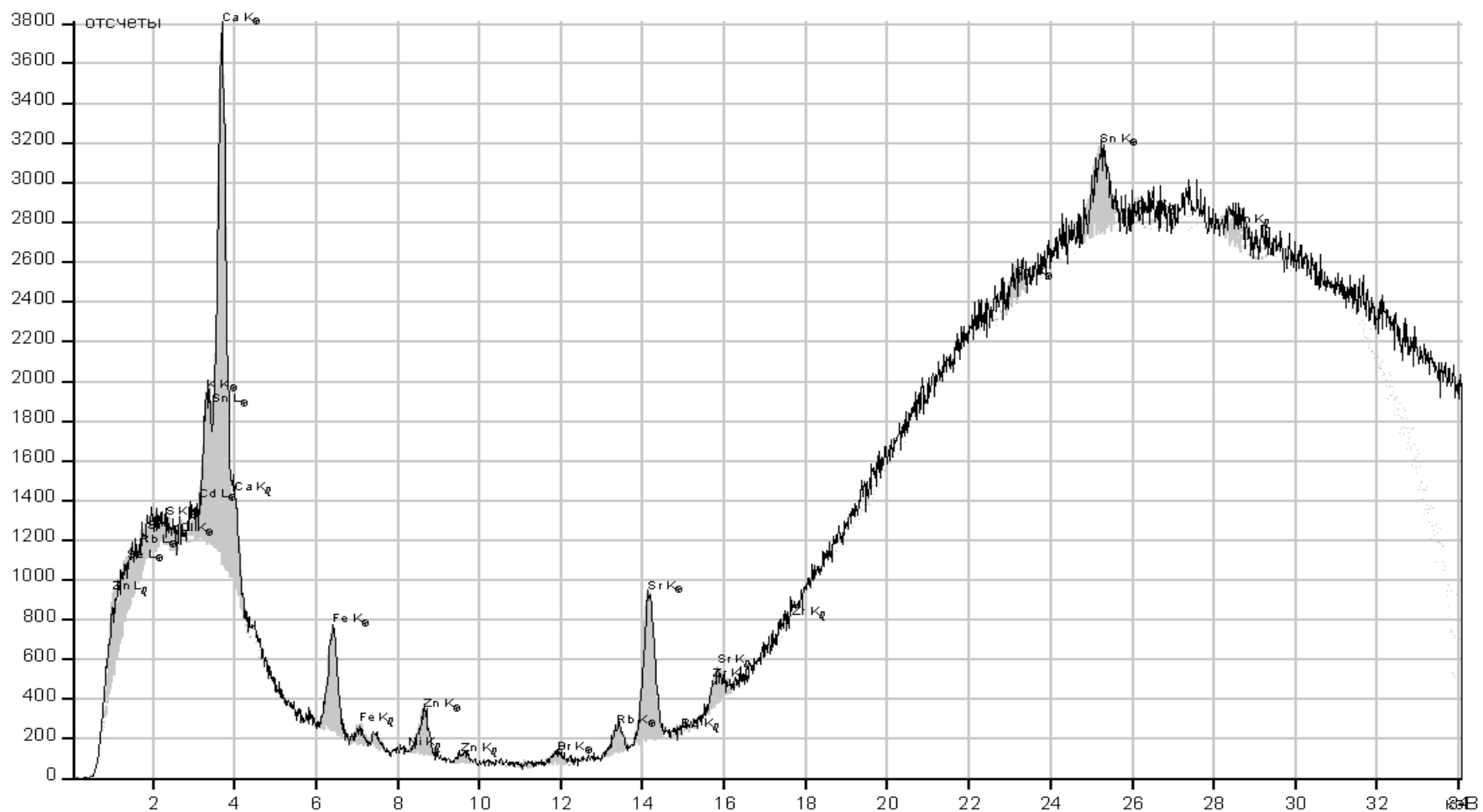
252. Сравнительное изучение антиоксидантной активности растительных сборов / С. Р. Хасанова, Т. И. Плеханова, Д. Т. Гашимова, Э. Х. Галияхметова, Е. А. Клыш. *Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация*. 2007. № 1 .С. 163-166.

253. Пат на корисну модель 130906 Україна, МПК А61К 35/00, А61К 35/66. Фітозасіб із гепатопротекторною активністю / О.Ю. Коновалова, І.О.

Гуртовенко, Н.М. Серединська, П.І. Середа, В.О. Меньшова. № и 2018 07949; заявл. 17.07.2018; опубл. 26.12.18, Бюл. № 24. 5 с.

254. Коновалова О. Ю., Гуртовенко І. О., Шураєва Т. К. Дослідження антимікробної активності ліпофільного екстракту трави агастахе фенхельного. *Людина та ліки*: мат. XII Національного медичного конгресу з міжнар. участю, 27-28 березня 2019 р. Київ, 2019. С. 29.

255. Дослідження гепатопротекторної дії рідкого екстракту *Agastache foeniculum* / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Т. К. Шураєва, Н. М. Серединська. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку*: мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, 19-20 вересня 2019 р. Харків, 2019. Т.1. С. 290-291.



Спектр: Проба Agastache foeniculum.evt

Получено программным обеспечением ElvaX.  
 Все права защищены © ООО Элватех.

Рис. А.1. Спектр проби сировини агастахе фенхельного

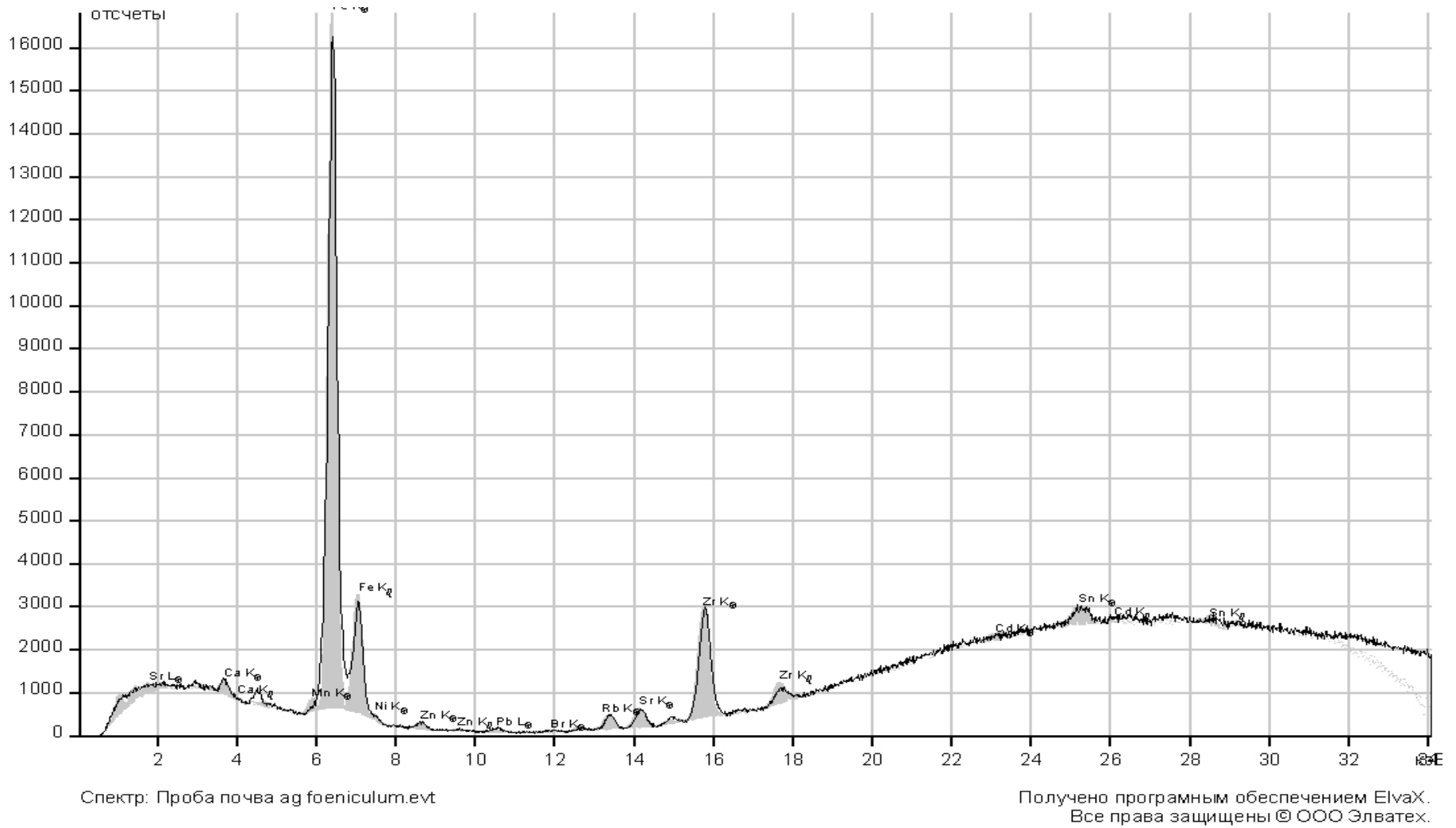
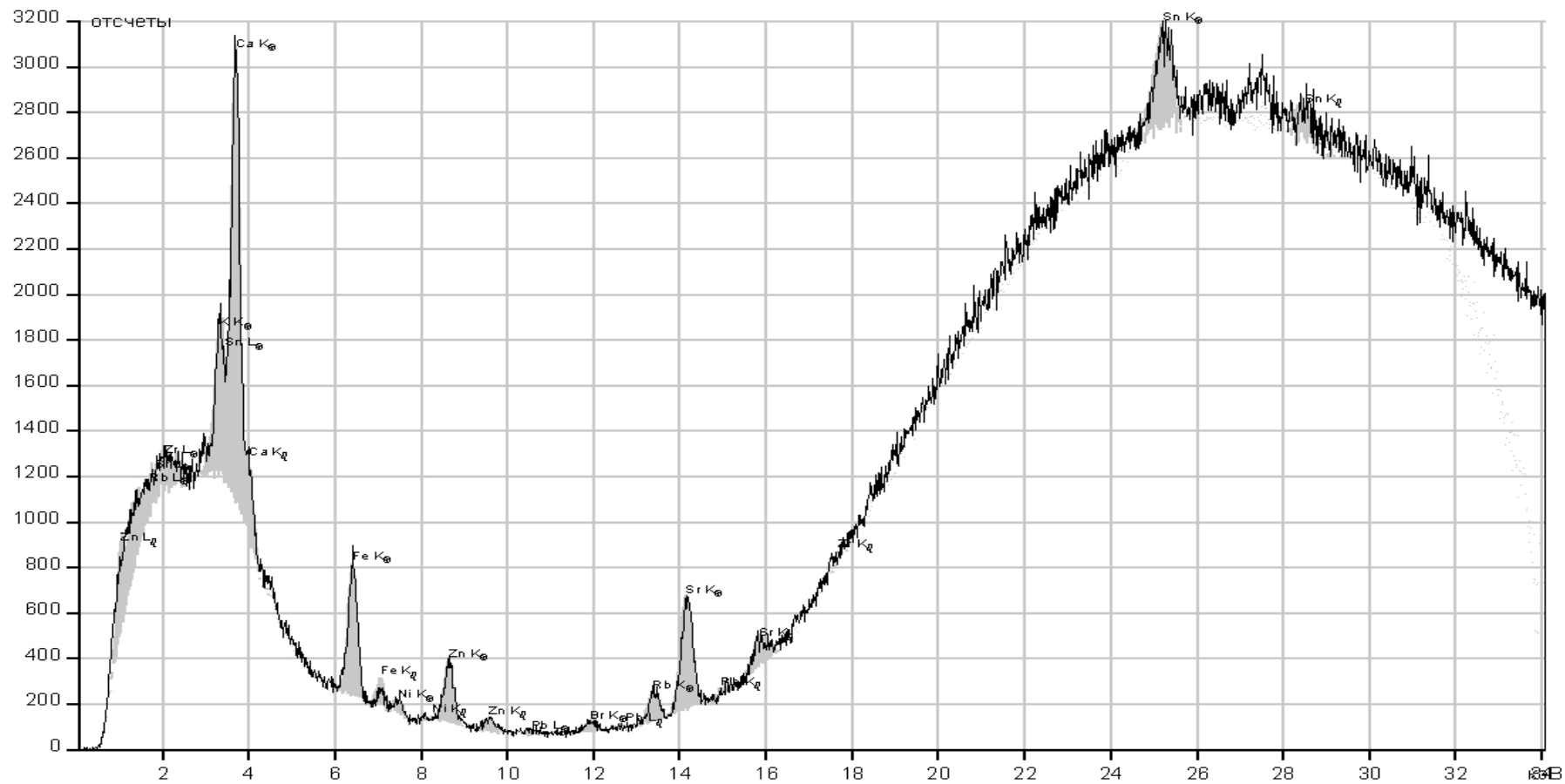


Рис. А.2. Спектр проби ґрунту аґастахе фенхельного

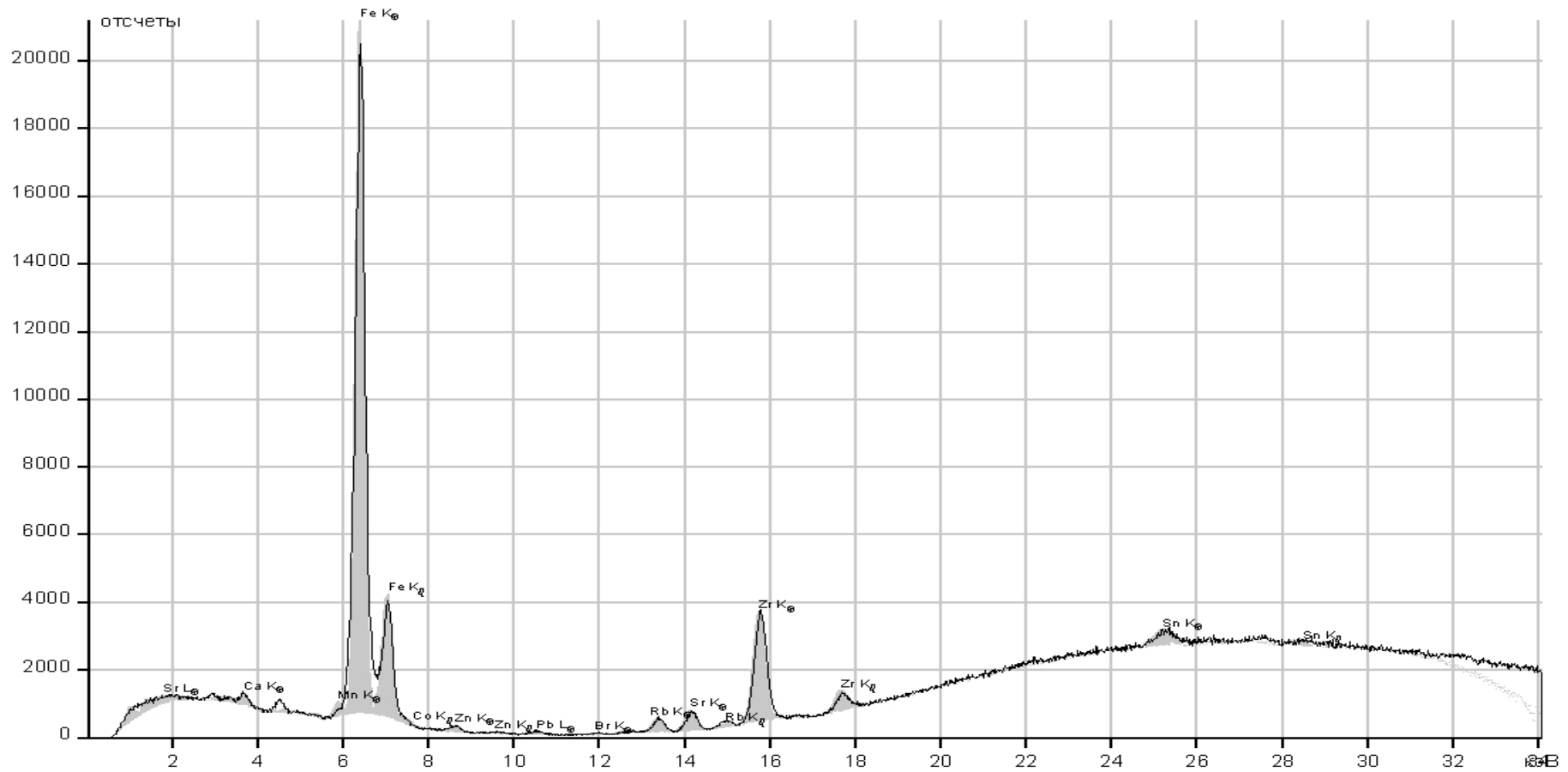


Спектр: Проба Agastache urticifolia.evt

Получено программным обеспечением ElvaX.  
Все права защищены © ООО Элватех.

Рис. А.3. Спектр проби сировини агастахе кропиволистого





Спектр: Проба почва Ag urticifolia.evt

Получено программным обеспечением ElvaX.  
Все права защищены © ООО Элватех.

Рис. А.4. Спектр проби ґрунту аґастахе кропиволистого

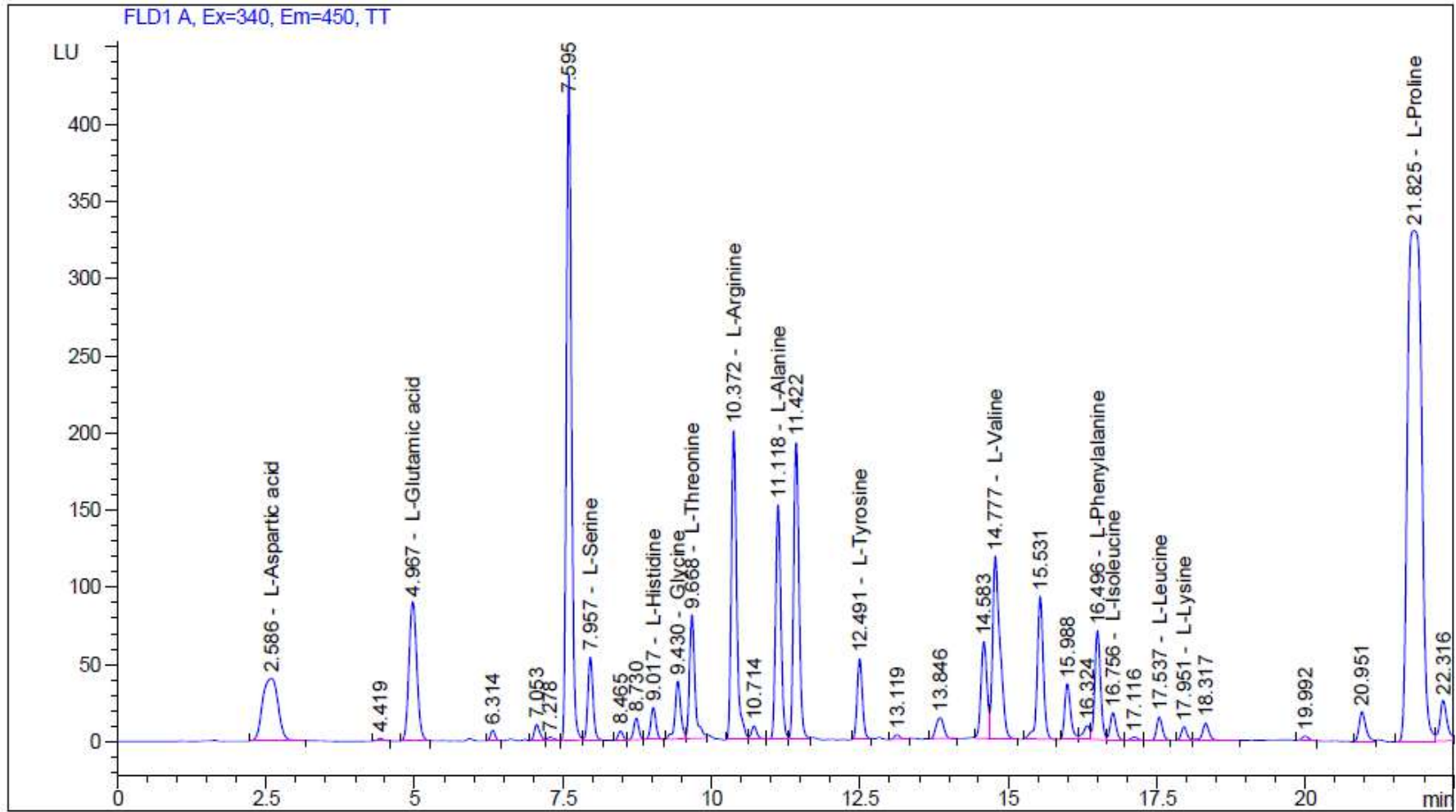


Рис. Б.1. Хроматограма вільних амінокислот трави агастахе фенхельного

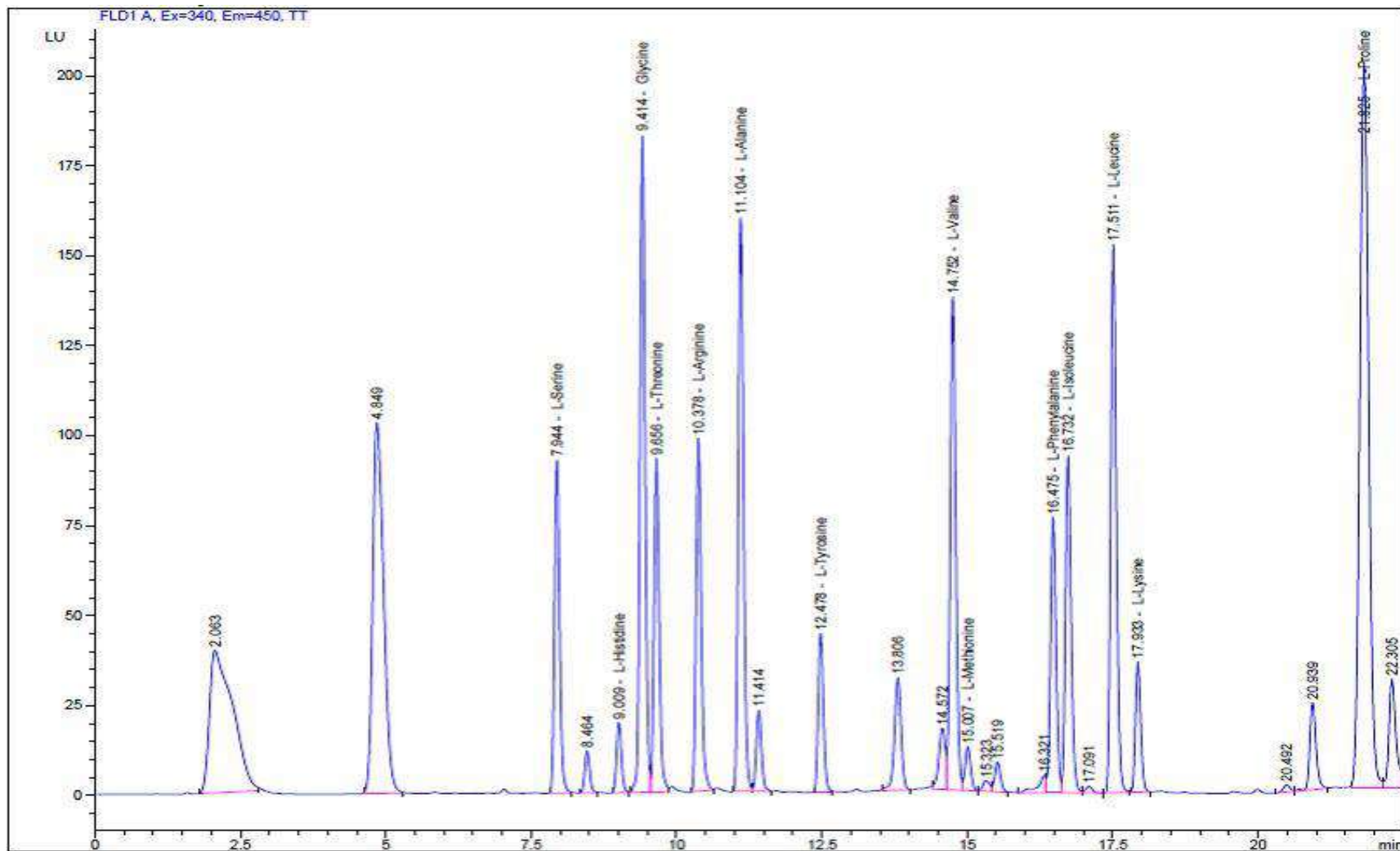


Рис. Б.2. Хроматограма зв'язаних амінокислот трави агастахе фенхельного

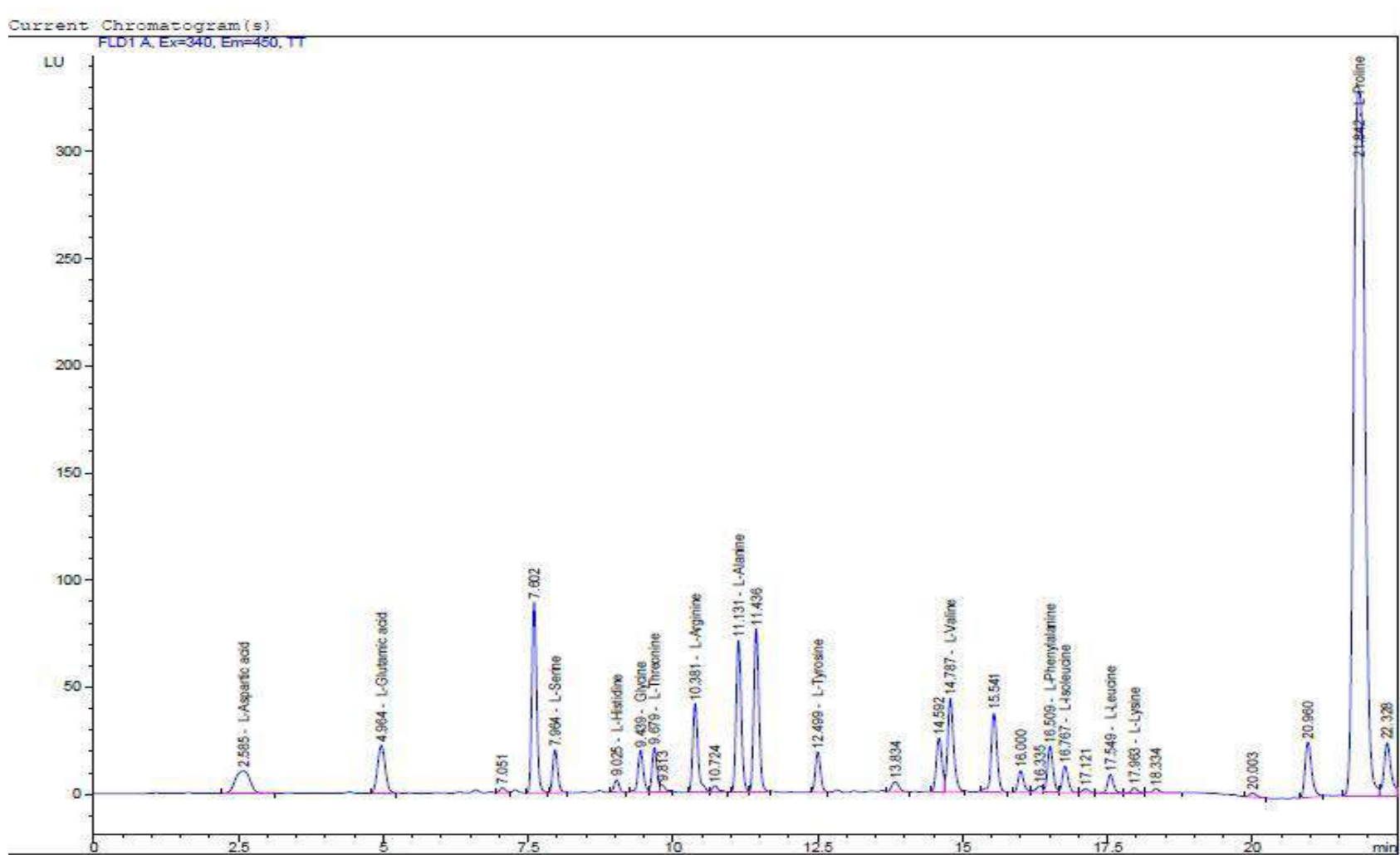


Рис. Б.3. Хроматограма зв'язаних амінокислот трави агастахе фенхельного

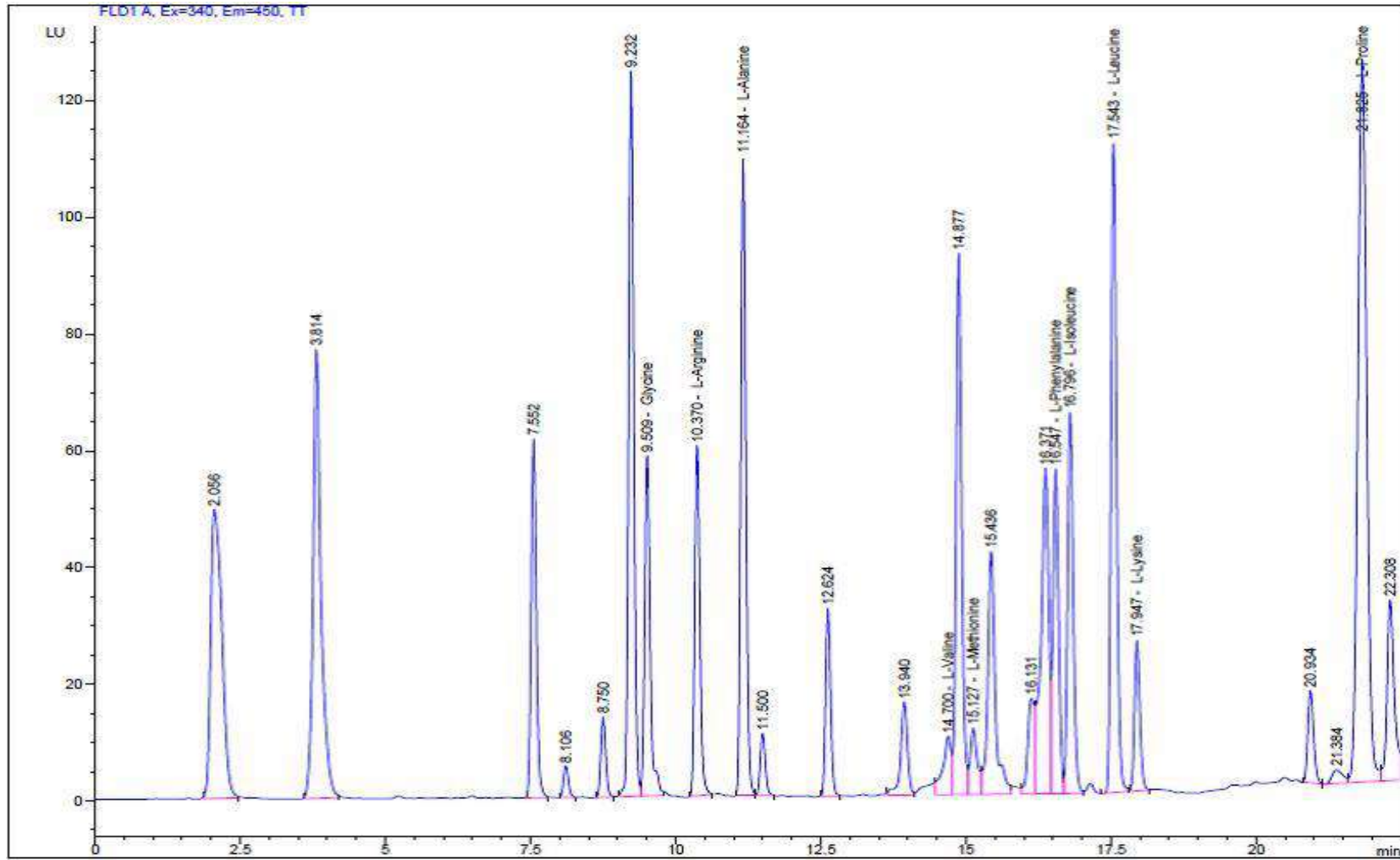


Рис. Б.4. Хроматограма зв'язаних амінокислот трави агастакропиволистого

## Додаток В.1

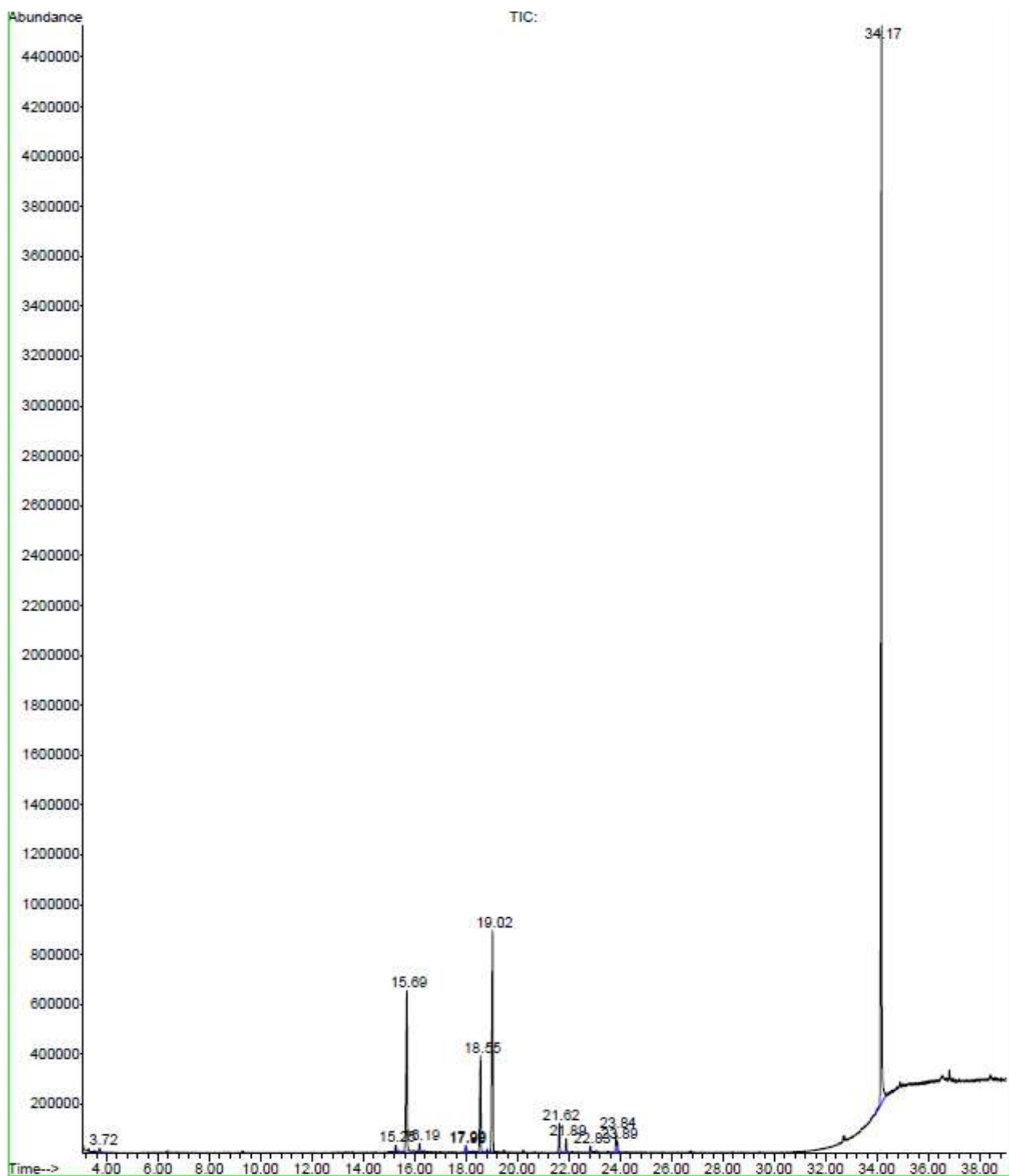


Рис. В.1. Хроматограма вільних цукрів трави агастахе фенхельного

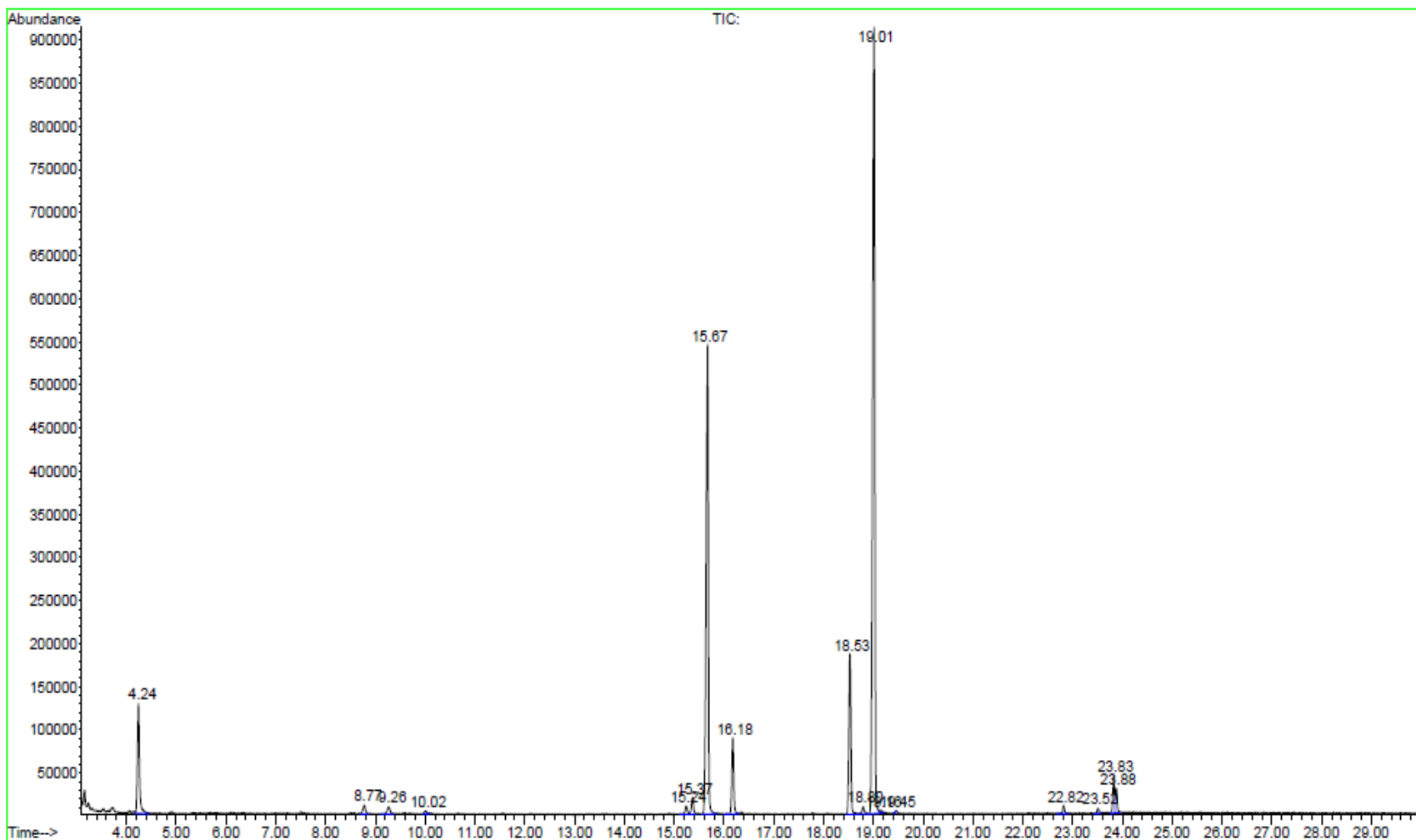


Рис. В.2. Хроматограма загальних цукрів трави агастахе фенхельного

## Додаток В.3

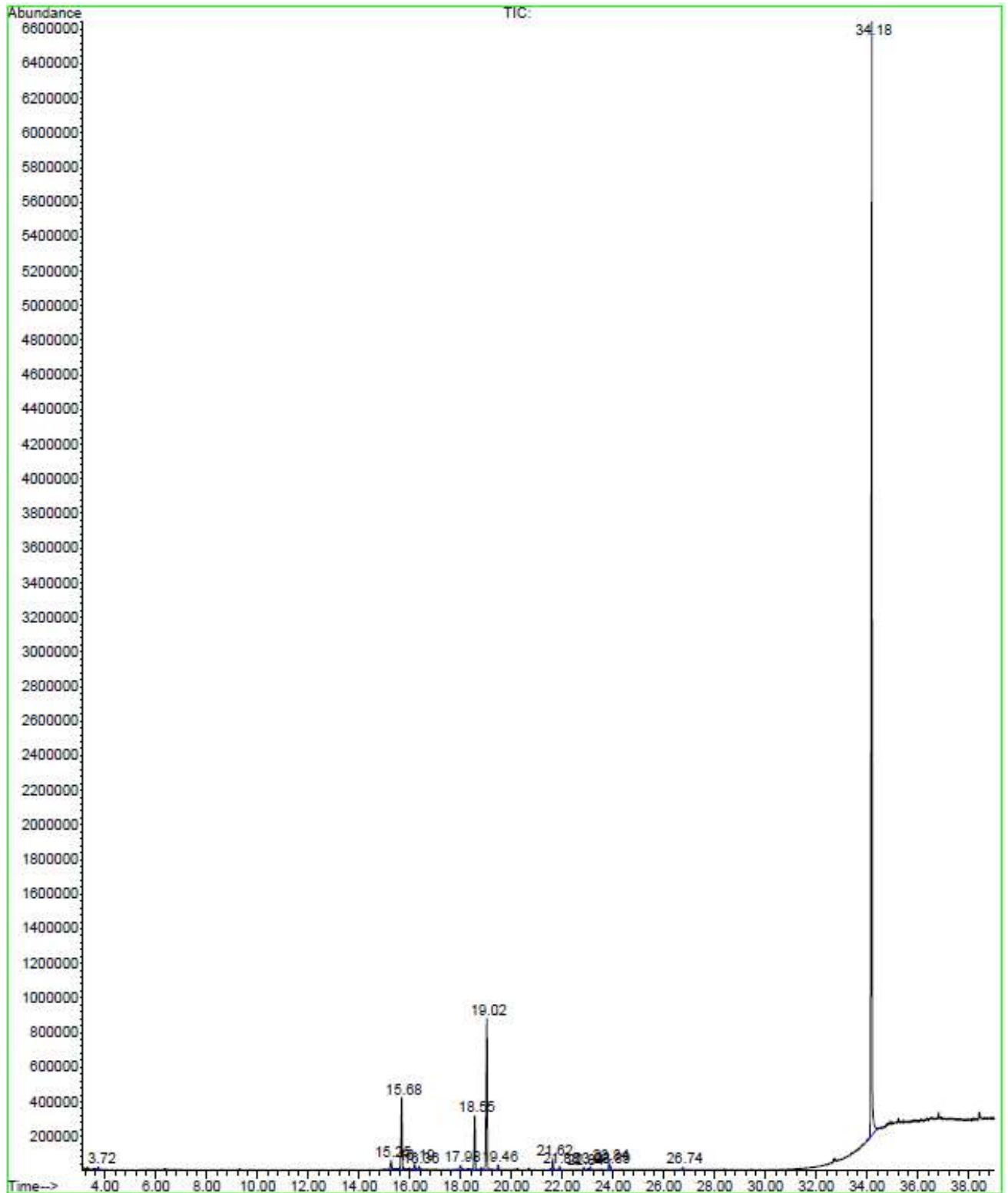


Рис. В.3. Хроматограма вільних цукрів трави агастахе кропиволистого



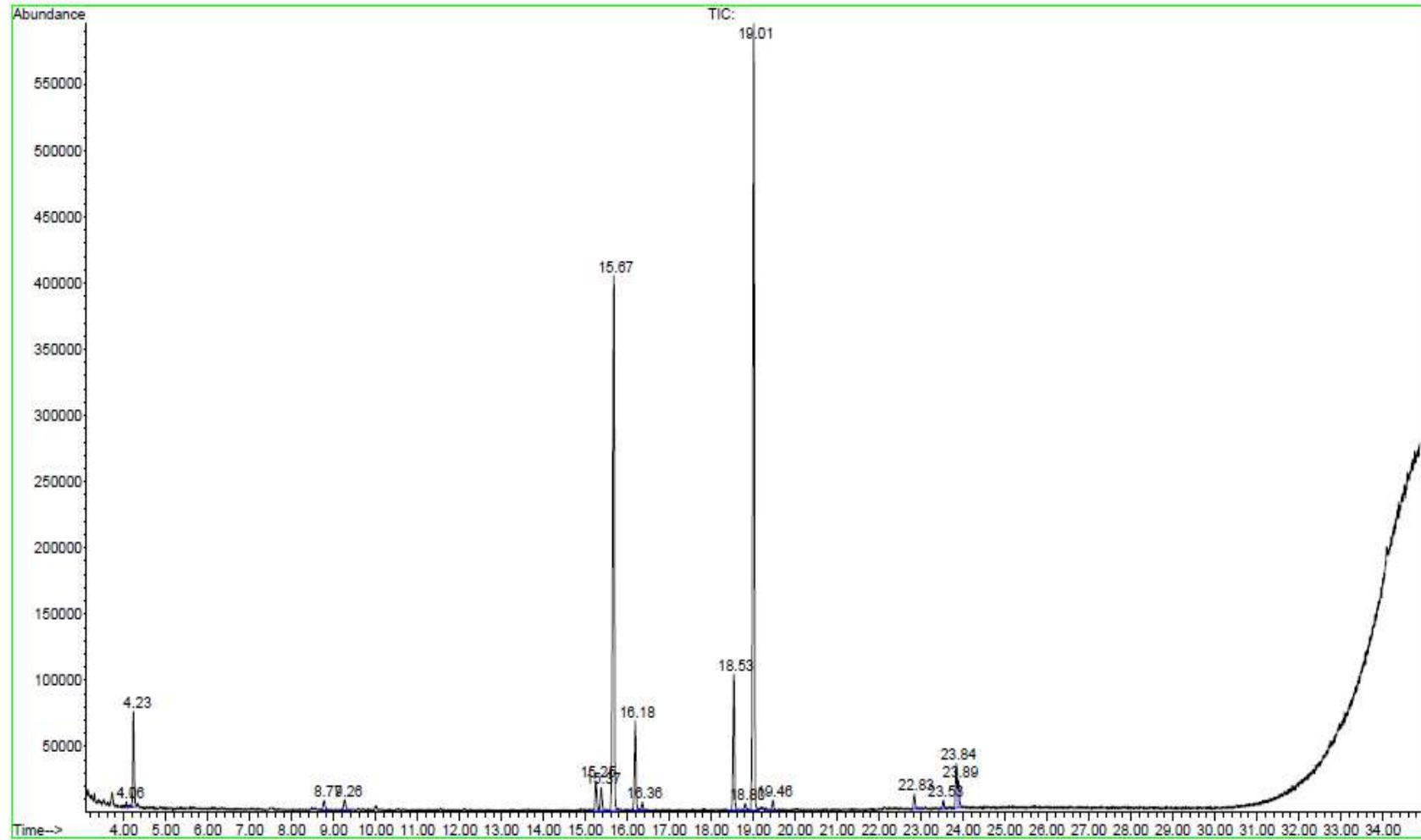


Рис. В.4. Хроматограма загальних цукрів трави агастахе кропиволистого

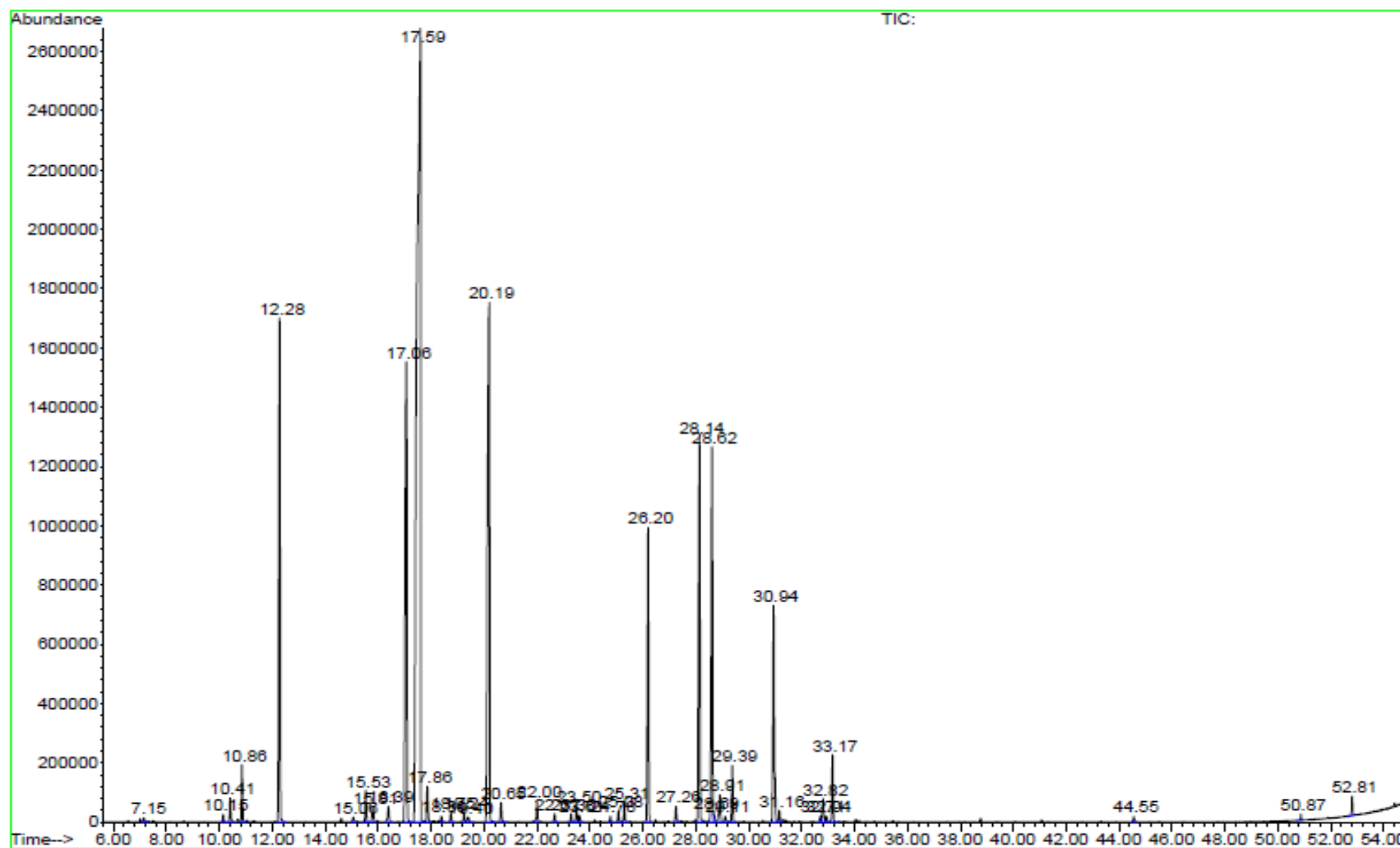


Рис. Д.1. Хроматограмма летких сполук агастахе фенхельного у фазу РВО

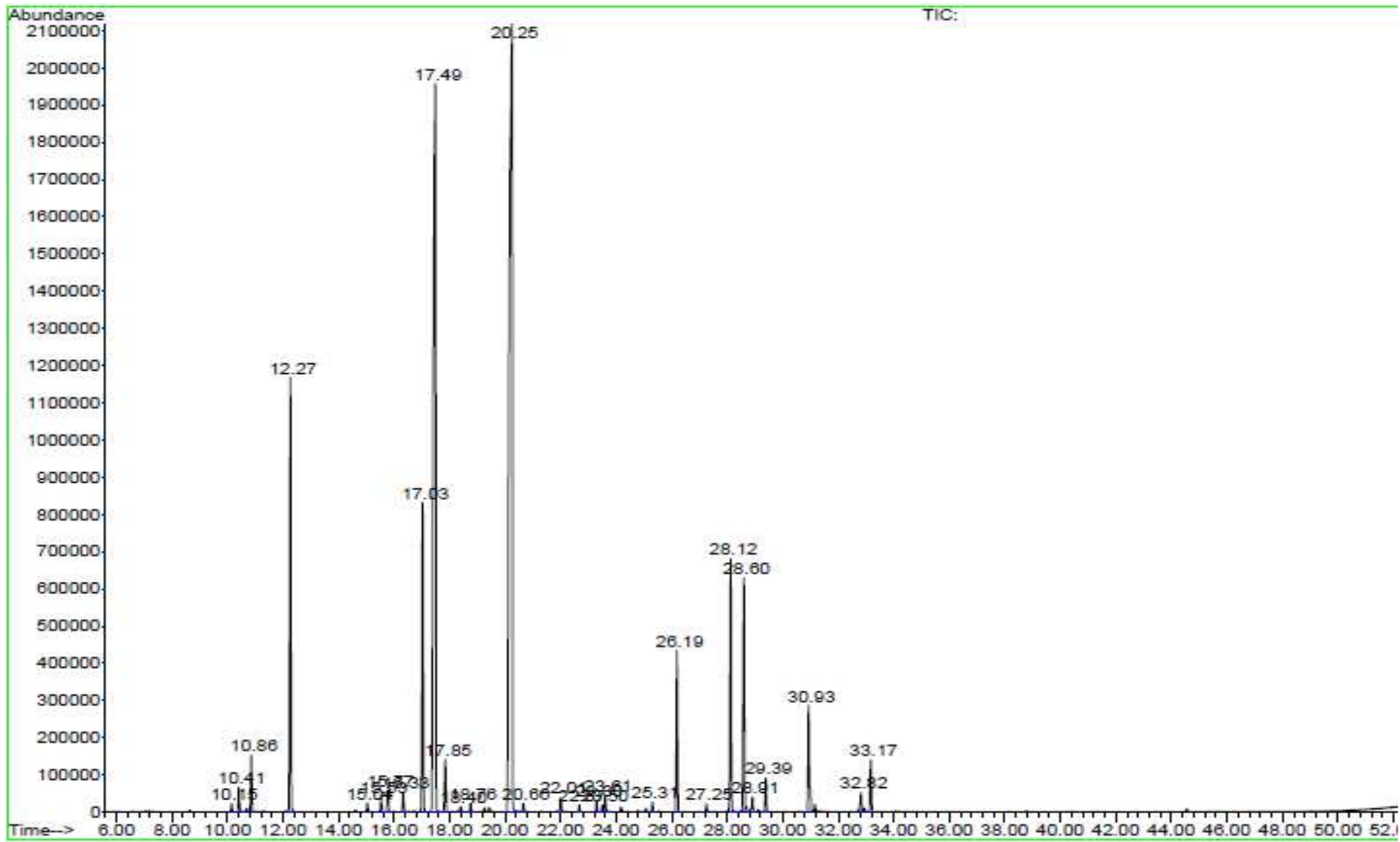


Рис. Д.2. Хроматограма летких сполук агастахе фенхельного у фазу МЦ

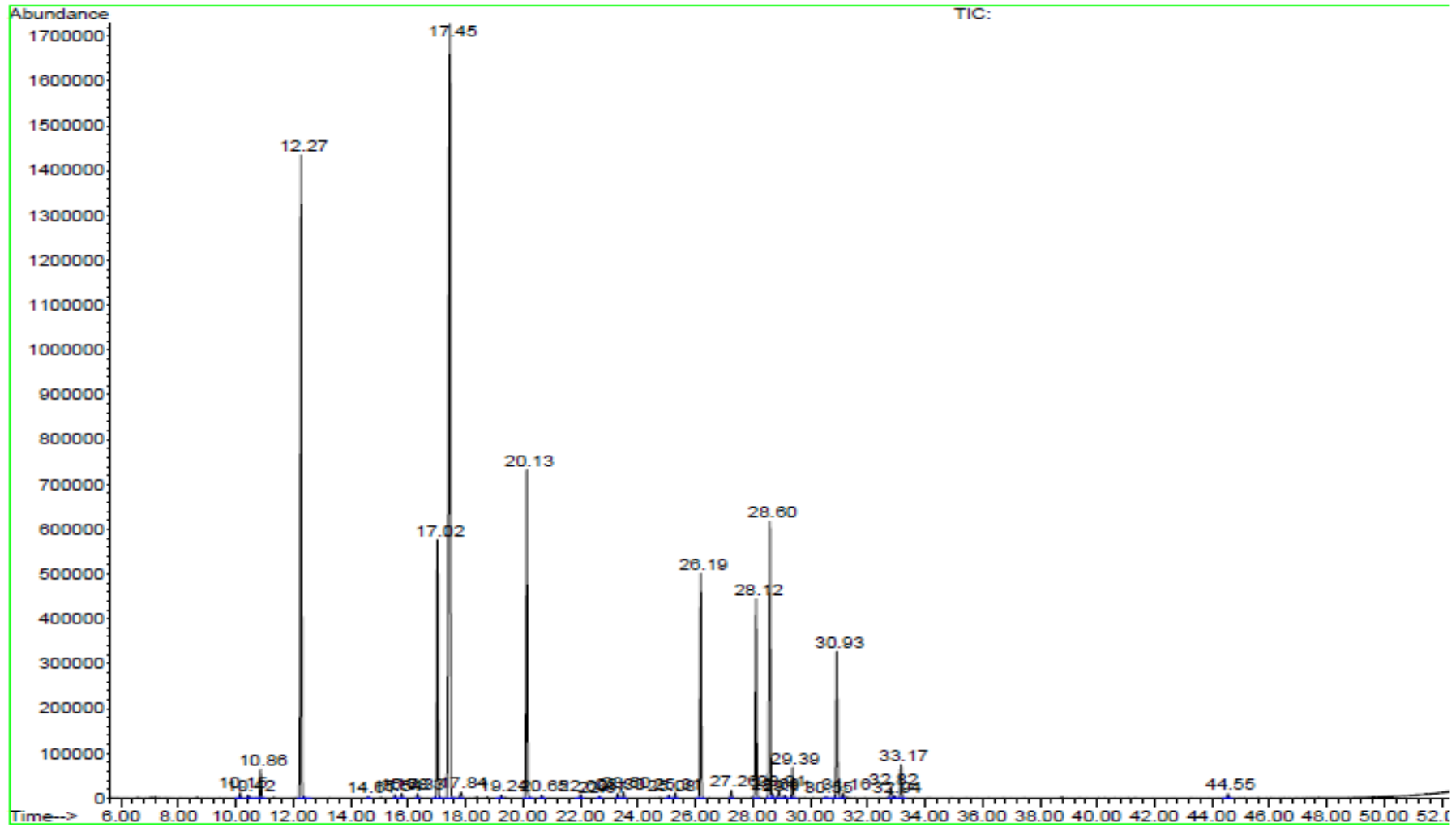


Рис. Д.3. Хроматограмма летких сполук агастахе кропиволистого у фазу РВО

## Додаток Д.4

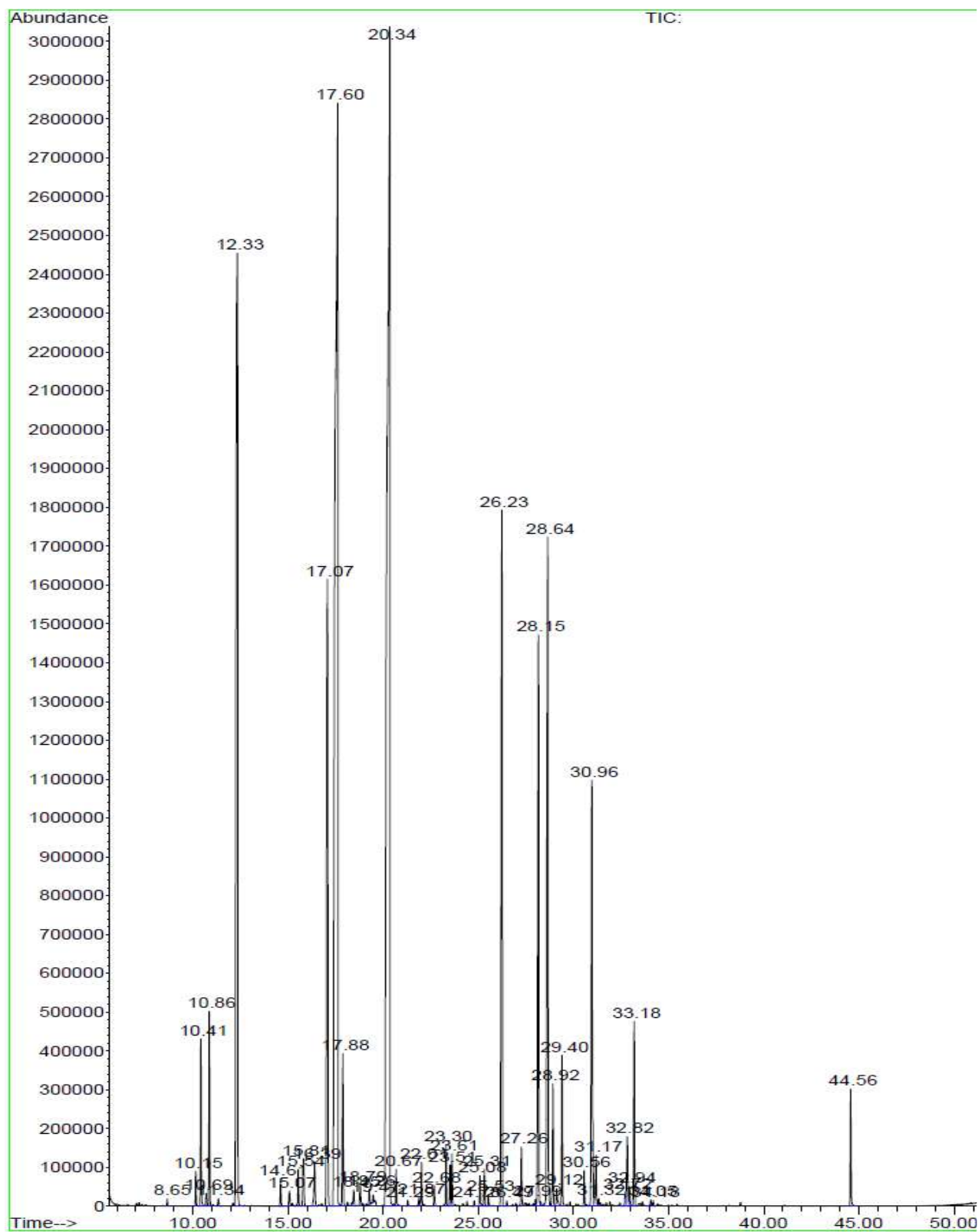


Рис. Д.4. Хроматограмма летких сполук агастахе кропиволистого у фазу МЦ

## Додаток Е.1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Проректор з наукової роботи ДВНЗ  
 «Тернопільський державний медичний  
 університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ  
 України» \_\_\_\_\_ проф. Кліш І.М.  
 \_\_\_\_\_ 2017 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: матеріали експериментальних досліджень, представлені в дисертаційній роботі здобувача кафедри фармацевтичної хімії та фармакології ПВНЗ «Київський медичний університет» Гуртовенко І.О. "Порівняльне фармакогностичне дослідження деяких видів роду *Agastache* (*Agastache J. Clayton ex Gronov.*)".
2. Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів: ПВНЗ «Київський медичний університет», м. Київ, вул. Л.Толстого, 9. Кафедра фармацевтичної хімії та фармакології, д.фарм.н., проф. Ковалова О.Ю., здобувач кафедри Гуртовенко І.О.
3. Джерела інформації: 1. Ковалова О.Ю., Гуртовенко І.О., Гергель С.М., Гергель О.В., Шурасва Т.К., Кузь К.О. Дослідження мінерального складу трави агастахе феїхельного та агастахе кропиволистого // Фармація XXI століття: Тенденції та перспективи: Матер. VIII Національного з'їзду фармацевтів України. Харків, 13-16 вересня 2016 р. – У двох томах. Т.1. – Харків: НФаУ «Золоті сторінки», 2016. – С.96. 2. Атякшева Н., Гуртовенко І. Визначення змісту вільних моно- та дисахаридів в сировині агастахе феїхельного та агастахе кропиволистого // Матеріали XXI Міжнародного конгресу студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 24-26 квітня 2017. – Тернопіль, Укрмедкнига, 2017. – С. 223. 3. Гуртовенко, І.О.; Ковалова, О.Ю.; Меньшова, В.О.; Шурасва, Т.К.; Гергель, С.М.; Гергель, О.В. Вміст вільних та зв'язаних амінокислот у деяких видах роду *Agastache* при інпродукції // Фітотерапія. Часопис. - 2016. - № 4. - С. 24-26.
4. Ким впроваджено: Кафедра фармакології з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського.
5. Термін впровадження: 2017-2018 навчальний рік.
6. Ефективність впровадження: поглиблення знань студентів і питань хімічного складу та застосування лікарської рослинної сировини.
7. Пропозиції та зауваження: немає

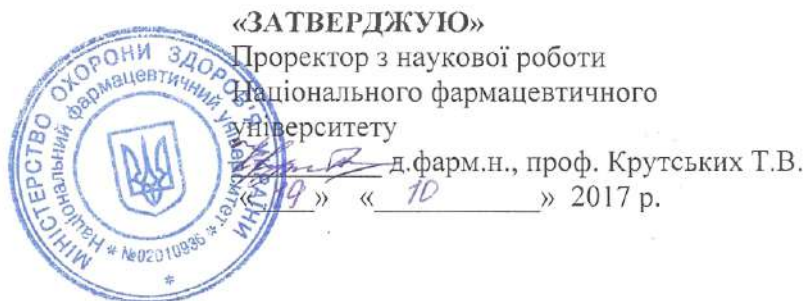
Завідуюча кафедри фармакології  
 з медичною ботанікою Тернопільського  
 державного медичного університету  
 ім. І. Я. Горбачевського  
 д.фарм.н., проф.



С.М. Марчук



## Додаток Е.2

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження агастахе кропиволистого (*Agastache urticifolia (Fisch. et Mey) O.Kuntze*).
2. **Установа, автори:** 01004, м. Київ, вул. Л. Толстого, 9, ПВНЗ «Київський медичний університет» завідувач кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії д.фарм.н., проф. Коновалова О.Ю., здобувач Гуртовенко І.О.
3. **Джерела інформації:** 1. Gurtovenko I., Konovalova E., Shuraeva T., Kalista M. Determination of carbohydrate content in raw material of *Agastache foeniculum* and *Agastache urticifolia* // *The Pharma Innovation Journal*. – 2017. – Vol.6, N 9 (Part G). – P.454-457.  
 2. Яшук Б. О., Гуртовенко І. О. Порівняльний аналіз елементного складу трави деяких видів роду агастахе *Agastache J.Clayton ex Gronov* // «Хист», Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених. – 2017. N 19. – С. 503.  
 3. Гуртовенко І.О., Коновалова О.Ю., Гергель Є.М., Гергель О.В., Шураєва Т.К., Градзійон К.А., Меньшова В.О. Дослідження жирнокислотного складу трави деяких видів роду агастахе (*Agastache J.Clayton ex Gronov.*) // Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні теоретичні та практичні аспекти щодо стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» 28-29 жовтня 2016 р.: Матеріали конференції. – К.: ПВНЗ КМУ УАНМ, 2016. – С.148.
4. **Де впроваджено:** в навчальний процес та наукову роботу кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі, науковій роботі кафедри.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу, використання в медицині видів роду Агастахе.
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Завідувач кафедри  
 кафедри фармакогнозії,  
 д.фарм.н., проф.  
 Відповідальна за впровадження:  
 к.фарм.н., доц.

О.М. Кошовий

Н. В. Бородіна

## Додаток Е.3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Перший проректор  
 Івано-Франківського національного  
 медичного університету  
 д.біол.н., проф. А.М. Ерстенюк  
 «24» 10 2017 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Фармакогностичне дослідження деяких видів роду Агастахе (*Agastache J. Clayton ex Gronov.*).
2. **Установа, автори:** ПВНЗ «Київський медичний університет», кафедра фармацевтичної хімії та фармакогнозії, Гуртовенко Ірина Олександрівна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Михайловська О. А., Гуртовенко І. О. Визначення вмісту жирних кислот в сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого // «Хист», Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених. – 2017. N 19. – С. 499.
  2. Гуртовенко І.О., Коновалова О.Ю., Меньшова В.О., Гергель Є.М., Гергель О.В., Шураєва Т.К. Дослідження амінокислотного складу трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: Матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю (10–11 листоп. 2016 р.). – Тернопіль: ТДМУ, 2016. – С.40-41.
  3. Gurtovenko I., Konovalova E., Shuraeva T., Kalista M. Determination of carbohydrate content in raw material of *Agastache foeniculum* and *Agastache urticifolia* // *The Pharma Innovation Journal*. – 2017. – Vol.6, N 9 (Part G). – P.454-457.
4. **Де впроваджено:** в навчальний процес та наукову роботу кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу, використання в медицині рослин роду Агастахе (родина Губоцвіті).
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

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



А.Р. Грицик



## Додаток Е.4

**“ЗАТВЕРДЖУЮ”**  
 Перший проректор з науково-педагогічної роботи  
 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця  
 член-кор. НАПН України, д.мед.наук, професор Я.В. Цехмістер

\_\_\_\_\_» 2017 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** результати фітохімічного дослідження складу ліпофільної фракції трави агастахе фенхельного.
- 2. Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** 01004, м. Київ, вул. Л. Толстого, 9. ПВНЗ «Київський медичний університет». Кафедра фармацевтичної хімії та фармакогнозії, д.фарм.н., проф. Коновалова О.Ю., здобувач кафедри Гуртовенко І.О.
- 3. Джерела інформації:** 1. Михайловська О. А., Гуртовенко І. О. Визначення вмісту жирних кислот в сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого // «Хист», Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених. – 2017. N 19. – С. 499. 2. Гуртовенко І.О., Коновалова О.Ю., Гергель Є.М., Гергель О.В., Шураєва Т.К., Градзійон К.А., Меньшова В.О. Дослідження жирнокислотного складу трави деяких видів роду агастахе (*Agastache J.Clayton ex Gronov.*) // Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні теоретичні та практичні аспекти щодо стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» 28-29 жовтня 2016 р.: Матеріали конференції. – К.: ПВНЗ КМУ УАНМ, 2016. – С.148. 3. Gurtovenko I., Konovalova E., Shuraeva T., Kalista M. Determination of carbohydrate content in raw material of *Agastache foeniculum* and *Agastache urticifolia* // *The Pharma Innovation Journal*. – 2017. – Vol.6, N 9 (Part G). – P.454-457.
- 4. Ким впроваджено:** в навчальний процес та наукову роботу кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О.О.Богомольця.
- 5. Термін впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.
- 6. Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційному курсі.
- 7. Пропозиції та зауваження:** немає

Завідувач кафедри фармакогнозії та ботаніки  
 Національного медичного університету  
 ім.О.О.Богомольця, д.б.н., проф.



В.М. Мінарченко

\_\_\_\_\_» 2017 р.

## Додаток Е.5



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозицій для впровадження:** матеріали експериментальних досліджень, представлені в дисертаційній роботі здобувача кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет» І.О. Гуртовенко «Порівняльне фармакогностичне дослідження деяких видів роду Агастахе (*Agastache J. Clayton ex Gronov.*)».
2. **Установа, автор:** 01004, м. Київ, вул. Л.Толстого, 9, ПВНЗ «Київський медичний університет» кафедра фармацевтичної хімії та фармакогнозії, здобувач Гуртовенко І.О.
3. **Джерела інформації:** 1. Коновалова О.Ю., Гуртовенко І.О., Гергель Є.М., Гергель О.В., Шураєва Т.К., Кузь К.О. Дослідження мінерального складу трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволистного // Фармація XXI століття: Тенденції та перспективи: Матер. VIII Національного з'їзду фармацевтів України. Харків, 13-16 вересня 2016 р. – У двох томах: Т.1. – Харків: НФаУ «Золоті сторінки», 2016. – С.96. 2. Гуртовенко, І.О.; Коновалова, О.Ю.; Меньшова, В.О.; Шураєва, Т.К.; Гергель, Є.М.; Гергель, О.В. Вміст вільних та зв'язаних амінокислот у деяких видах роду Агастахе при інтродукції // Фітотерапія. Часопис. - 2016. - N 4. - С. 24-26. 3. Романюк А. Гуртовенко І. Дослідження летких сполук деяких видів роду агастахе *Agastache J. Clayton ex Gronov.* // Матеріали XXI Міжнародного конгресу студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 24-26 квітня 2017. – Тернопіль, Укрмедкнига, 2017. – С.236.
4. **Де впроваджено:** в навчальний процес та наукову роботу кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, у лекційному курсі.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу, використання в медицині рослин родини Губоцвіті.
7. **Строки впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Зав. кафедри хімії природних сполук  
Національного фармацевтичного  
університету, д.фарм.н., проф.

В.С. Кисличенко

Відповідальний за впровадження:  
к. фармац. н., доцент кафедри хімії  
природних сполук НФаУ,

О.М. Новосел



## Додаток Е.6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор  
Запорізького державного медичного  
університету

доцент Авраменко М.О.

« 11 » \_\_\_\_\_ 2017 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Результати хімічного дослідження сировини агастахе фенхельного та а. кропиволистого.
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** ПВНЗ «Київський медичний університет», м. Київ, вул. Л.Толстого, 9. Кафедра фармацевтичної хімії та фармакогнозії, д.фарм.н., проф. Коновалова О.Ю., здобувач кафедри Гуртовенко І.О.
3. **Джерела інформації:** 1. Гуртовенко, І.О.; Коновалова, О.Ю.; Меньшова, В.О.; Шураєва, Т.К.; Гергель, Є.М.; Гергель, О.В. Вміст вільних та зв'язаних амінокислот у деяких видах роду Агастахе при інтродукції // Фітотерапія. Часопис. - 2016. - N 4. - С. 24-26. 2. Ящук Б. О., Гуртовенко І. О. Порівняльний аналіз елементного складу трави деяких видів роду агастахе *Agastache J.Clayton ex Gronov // Хист*, Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених. – 2017. N 19. –С. 503. 3. Атякшева Н., Гуртовенко І. Визначення вмісту вільних моно- та дисахаридів в сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого // Матеріали ХХІ Міжнародного конгресу студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 24-26 квітня 2017. – Тернопіль, Укрмедкнига, 2017. – С. 223.
4. **Де впроваджено:** Кафедра фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** навчальний процес, в лекційному курсі.
6. **Ефективність впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу лікарської рослинної сировини і методів його дослідження.
7. **Термін впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармацевтичної  
хімії Запорізького державного  
медичного університету  
д.фарм.н., проф.

Л.І. Кучеренко

## Додаток Е.7

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з наукової роботи Запорізького  
державного медичного університету

д.мед.н., проф. Туманський В.О.

«14» листопада 2017 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** фітохімічне дослідження видів роду Агастахе (*Agastache J. Clayton ex Gronov*).
2. **Установа, автори:** ПВНЗ «Київський медичний університет», м. Київ, вул. Л.Толстого, 9. Кафедра фармацевтичної хімії та фармакогнозії, д.фарм.н., проф. Коновалова О.Ю., здобувач кафедри Гуртовенко І.О.
3. **Джерела інформації:** 1. Gurtovenko I., Konovalova E., Shuraeva T., Kalista M. Determination of carbohydrate content in raw material of *Agastache foeniculum* and *Agastache urticifolia* // *The Pharma Innovation Journal*. – 2017. – Vol.6, N 9 (Part G). – P.454-457. 2. Коновалова О.Ю., Гуртовенко І.О., Гергель Є.М., Гергель О.В., Шураєва Т.К., Кузь К.О. Дослідження мінерального складу трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого // *Фармація XXI століття: Тенденції та перспективи: Матер. VIII Національного з'їзду фармацевтів України*. Харків, 13-16 вересня 2016 р. – У двох томах: Т.1. – Харків: НФаУ «Золоті сторінки», 2016. – С.96. 3. Михайловська О. А., Гуртовенко І. О. Визначення вмісту жирних кислот в сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого // «Хист», Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених. – 2017. N 19. – С. 499.
4. **Де впроваджено:** у науково-дослідну роботу кафедри фармакогнозії, фарм.хімії і технології ліків ФПО ЗДМУ при фітохімічному аналізі рослинної сировини, яка містить жирні кислоти, неорганічні елементи, органічні кислоти.
5. **Форма впровадження:** якісне та кількісне визначення біологічно активних речовин у рослинній сировині.
6. **Термін впровадження:** IV квартал 2017 р. – I квартал 2018 р.
7. **Ефективність впровадження:** скорочення терміну та підвищення якості визначення жирних кислот, неорганічних елементів, органічних кислот у рослинній сировині.
8. **Зауваження та пропозиції:** немає

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри фармакогнозії,  
фарм.хімії і технології ліків ФПО  
Запорізького державного медичного  
університету д.фарм.н., проф.

О.В. Мазулін

## Додаток Е.8



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор  
з науково-педагогічної роботи  
ЛНМУ ім. Данила Галицького  
член-кор. НАМН України  
проф. Гжегоцький М. Р.  
«08» «02» 2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозицій для впровадження:** Результати дослідження хімічного складу трави агастахе фенхельного (*Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze) та агастахе кропиволистого (*Agastache urticifolia* (Benth) Kuntze).

**2. Установа, автор:** ПВНЗ «Київський медичний університет», кафедра фармацевтичної хімії та фармакогнозії, д. фарм. н., проф. Коновалова О.Ю., здобувач кафедри Гуртовенко І.О.

**3. Джерела інформації:**

- Гуртовенко, І.О., Коновалова, О.Ю., Меньшова, В.О., Шураєва, Т.К., Гергель, Є.М., Гергель, О.В. Вміст вільних та зв'язаних амінокислот у деяких видах роду Агастахе при інтродукції // Фітотерапія. Часопис. – 2016. – № 4. – С. 24-26.
- Коновалова Е.Ю., Гуртовенко И.А., Шураева Т.К., Меньшова В.А., Омельковец Т.С. Качественный состав летучих соединений *Agastache foeniculum* в онтогенезе // Рецепт, 2017. – Том 20, № 6. – С. 544-550.
- Gurtovenko I., Konovalova E., Shuraeva T., Kalista M. Determination of carbohydrate content in raw material of *Agastache foeniculum* and *Agastache urticifolia* // The Pharma Innovation Journal. – 2017. – Vol. 6, N 9 (Part G). – P. 454-457.
- Михайловська О. А., Гуртовенко І. О. Визначення вмісту жирних кислот в сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого // «Хист», Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених. – 2017. № 19. – С. 499.
- Ящук Б. О., Гуртовенко І. О. Порівняльний аналіз елементного складу трави деяких видів роду агастахе *Agastache J.Clayton ex Gronov* // Хист», Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених. – 2017. № 19. – С. 503.
- Коновалова О.Ю., Гуртовенко І.О., Гергель Є.М., Гергель О.В., Шураєва Т.К., Кузь К.О. Дослідження мінерального складу трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого // Фармація XXI століття: Тенденції та перспективи: Матер. VIII Національного з'їзду фармацевтів України. Харків, 13-16 вересня 2016 р. – У двох томах: Т.1. – Харків: НФаУ «Золоті сторінки», 2016. – С.96.

**4. Де впроваджено:** кафедра фармакогнозії і ботаніки ЛНМУ імені Данила Галицького.

**5. Форма впровадження:** навчальний процес (лекційний курс) та наукова робота викладачів кафедри фармакогнозії і ботаніки ЛНМУ ім. Данила Галицького.

**6. Ефективність впровадження:** поглиблення знань студентів з питань хімічного складу, фармакологічної активності та перспектив використання в медицині нових видів лікарських рослин зарубіжної флори, інтродукованих в Україні, а саме: 2 видів роду Агастахе (Лофант).

**7. Термін впровадження:** 2017-2018 навчальний рік.

Завідувач кафедри фармакогнозії і ботаніки  
ЛНМУ імені Данила Галицького,  
канд. фарм. наук, доцент

Р. С. Дармограй



## Додаток Е.9

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Заст. директора з регуляторних відносин  
 СУП ТОВ «СПЕРКО Україна»  
 Качаловська Н.І.

« 10 » 12 2019 р.



АКТ

апробації методик контролю якості  
 розчину олійного «Агастол» (ТФС 42У \_\_\_\_\_)

**Найменування пропозиції для впровадження** методика контролю якості розчину олійного «Агастол» (ТФС 42У \_\_\_\_\_).

Препарат «Агастол» є антимікробним засобом.

**Ким запропоновано** Тимчасова фармакопейна стаття безпосередньо розроблена завідувачем кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет», д.ф.н., проф. Коноваловою О.Ю. та асистентом кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет», Гуртовенко І.О.

До проекту Тимчасової фармакопейної статті на ліпофільний екстракт трави агастахе фенхельного включено такі показники якості: Опис зовнішній вигляд, розчинність, тотожність, втрата в масі при висушуванні, граничний вміст залишкових кількостей органічних розчинників (хлороформу), кількісне визначення суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А та суми каротиноїдів у перерахунку на β-каротин.

**Апробацію проведено** Лабораторія фізико-хімічного контролю СУП ТОВ «СПЕРКО», м. Вішниця

**Результати апробації** У відповідності до методик контролю якості, викладених у проекті Тимчасової фармакопейної статті на лікарський засіб «Агастол» з антимікробною дією, проведено дослідження показників якості 3-х серій лікарського засобу розчину олійного «Агастол» з антимікробною дією.

Перевірка показала повне відтворення методик контролю якості продукту.

**Зауваження та пропозиції** Дана Тимчасова фармакопейна стаття оформлена у відповідності до ГНД 09-001-98. Зауважень щодо методик контролю не має.

Відповідальний за апробацію:

Заст. директора з розвитку  
 та дослідного виробництва  
 СУП ТОВ «СПЕРКО Україна»



Бочарова І.А.

## Додаток Е.10

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Заст. директора з регуляторних відносин  
 СУП ТОВ «СПЕРКО Україна»  
 Качаловська Н.І.

*Н.І. Качаловська*  
 « 10 » 12 2019 р.  


## АКТ

апробації методики контролю якості  
 ліпофільного екстракту трави агастахе фенхельного (ТФС 42У \_\_\_\_\_)

**Найменування пропозиції для впровадження** методика контролю якості ліпофільного екстракту трави агастахе фенхельного (ТФС 42У \_\_\_\_\_).

Ліпофільний екстракт трави агастахе фенхельного є субстанцією для приготування лікарського засобу «Агастол, розчин олійний» з антимікробною дією.

**Ким запропоновано** Тимчасова фармакопейна стаття безпосередньо розроблена завідувачем кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет», д.ф.н., проф. Коноваловою О.Ю. та асистентом кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет», Гуртовенко І.О.

До проекту Тимчасової фармакопейної статті на ліпофільний екстракт трави агастахе фенхельного включено такі показники якості: опис зовнішнього вигляду, розчинність, тотожність, втрата у масі при висушуванні, граничний вміст залишкових кількостей органічних розчинників (хлороформу), кількісне визначення суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А та суми каротиноїдів у перерахунку на  $\beta$ -каротин.

**Апробацію проведено** Лабораторія фізико-хімічного контролю СУП ТОВ «СПЕРКО Україна», м. Вінниця

**Результати апробації** У відповідності до методик контролю якості, викладених у проекті Тимчасової фармакопейної статті на ліпофільний екстракт трави агастахе фенхельного, проведено дослідження показників якості 2-х серій ліпофільного екстракту трави агастахе фенхельного.

Перевірка показала повне відтворення методик контролю якості продукту.

**Зауваження та пропозиції** Дана Тимчасова фармакопейна стаття оформлена у відповідності до ГНД 09-001-98. Зауважень щодо методик контролю не має

Відповідальний за апробацію  
 Заст. директора з розвитку  
 та дослідного виробництва  
 СУП ТОВ «СПЕРКО Україна»



Бочарова І.А.

## Додаток Е.11

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Заст. директора з регуляторних відносин  
 СУП ТОВ «СПЕРКО Україна»  
 Качаловська Н.І.

« 10 »

2019 р.



АКТ

апробації методик контролю якості  
 трави агастахе фенхельного (ТФС 42У \_\_\_\_\_)

**Найменування пропозиції для впровадження** методика контролю якості трави агастахе фенхельного (ТФС 42У \_\_\_\_\_).

Трава агастахе фенхельного є сировиною для приготування ліпофільного екстракту трави агастахе фенхельного, що є складником препарату «Агастол, розчин олійний».

**Ким запропоновано** Тимчасова фармакопейна стаття безпосередньо розроблена завідувачем кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет», д.ф.н., проф. Коноваловою О.Ю. та асистентом кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет», Гуртовенко І.О.

До проекту Тимчасової фармакопейної статті на траву агастахе фенхельного включено такі показники якості: Опис зовнішній вигляд за анатомо-морфологічними ознаками, ідентифікація, визначення домішок, втрата в масі при висушуванні, загальна зола, зола, нерозчинна у 10% розчині кислоти хлористоводневої, кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін.

**Апробацію проведено** Лабораторія фізико-хімічного контролю СУП ТОВ «СПЕРКО», м. Вінниця

**Результати апробації** У відповідності до методик контролю якості, викладених у проекті Тимчасової фармакопейної статті на траву агастахе фенхельного, проведено дослідження показників якості 3-х серій трави агастахе фенхельного. Перевірка показала повне відтворення методик контролю якості сировини.

**Зауваження та пропозиції** Дана Тимчасова фармакопейна стаття оформлена у відповідності до ГНД 09-001-98. Зауважень щодо методик контролю не має.

Відповідальний за апробацію  
 Заст. директора з розвитку  
 та дослідного виробництва  
 СУП ТОВ «СПЕРКО Україна»



Бочарова І.А.



## Додаток Е.12

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор департаменту з наукової роботи  
ТОВ «БІОТЕСТЛАБ»  
канд. фарм. наук, доцент

Салій О.О.  
«17» травня 2019 р.



АКТ

апробації методик контролю якості  
трави агастахе фенхельного (ТФС 42У \_\_\_\_\_)

Найменування пропозиції для впровадження методика контролю якості трави агастахе фенхельного (ТФС 42У \_\_\_\_\_).

Трава агастахе фенхельного є сировиною для приготування ліпофільного екстракту трави агастахе фенхельного, що є складником препарату «Агастол, розчин олійний».

Ким запропоновано Тимчасова фармакопейна стаття безпосередньо розроблена завідувачем кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет», д.ф.н., проф. Коноваловою О.Ю. та асистентом кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет», Гуртовенко І.О.

До проекту Тимчасової фармакопейної статті на траву агастахе фенхельного включено такі показники якості: Опис зовнішній вигляд за анатомо-морфологічними ознаками, ідентифікація, визначення домішок, втрата в масі при висушуванні, загальна зола, зола, нерозчинна у 10% розчині кислоти хлористоводневої, кількісне визначення суми гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та суми флавоноїдів у перерахунку на лютеолін.

Апробацію проведено Лабораторія фізико-хімічного контролю ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», м. Київ.

Результати апробації У відповідності до методик контролю якості, викладених у проекті Тимчасової фармакопейної статті на траву агастахе фенхельного, проведено дослідження показників якості 3-х серій трави агастахе фенхельного.

Перевірка показала повне відтворення методик контролю якості сировини.

Зауваження та пропозиції Дана Тимчасова фармакопейна стаття оформлена у відповідності до ГНД 09-001-98. Зауважень щодо методик контролю не має

Відповідальний за апробацію:

Заст. директора департаменту  
з наукової роботи  
ТОВ «БІОТЕСТЛАБ»

Деркач М.В.

## Додаток Е.13

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор департаменту з наукової роботи  
ТОВ «БІОТЕСТЛАБ»,  
канд. фарм. наук, доцент,



Салій О.О.

«17» грудня, 2019 р.

## АКТ

апробації методики контролю якості  
ліпофільного екстракту трави агастахе фенхельного (ТФС 42У \_\_\_\_\_)

Найменування пропозиції для впровадження методика контролю якості ліпофільного екстракту трави агастахе фенхельного (ТФС 42У \_\_\_\_\_). Ліпофільний екстракт трави агастахе фенхельного є субстанцією для приготування лікарського засобу «Агастол, розчин олійний» з антимікробною дією.

Ким запропоновано Тимчасова фармакопейна стаття безпосередньо розроблена завідувачем кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет», д.ф.н., проф. Коноваловою О.Ю. та асистентом кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет», Гуртовенко І.О.

До проекту Тимчасової фармакопейної статті на ліпофільний екстракт трави агастахе фенхельного включено такі показники якості: опис зовнішнього вигляду, розчинність, totoжність, втрата у масі при висушуванні, граничний вміст залишкових кількостей органічних розчинників (хлороформу), кількісне визначення суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А та суми каротиноїдів у перерахунку на  $\beta$ -каротин.

Апробацію проведено Лабораторія фізико-хімічного контролю ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», м. Київ.

Результати апробації У відповідності до методик контролю якості, викладених у проекті Тимчасової фармакопейної статті на ліпофільний екстракт трави агастахе фенхельного, проведено дослідження показників якості 3-х серій ліпофільного екстракту трави агастахе фенхельного.

Перевірка показала повне відтворення методик контролю якості продукту.

Зауваження та пропозиції Дана Тимчасова фармакопейна стаття оформлена у відповідності до ГНД 09-001-98. Зауважень щодо методик контролю не має

Відповідальний за апробацію:

Заст. директора департаменту  
з наукової роботи ТОВ «БІОТЕСТЛАБ»

Деркач М.В.

## Додаток Е.14

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор департаменту з наукової роботи  
ТОВ «БІОТЕСТЛАБ»,  
канд. фарм. наук, доцент,

Салій О.О.

«18» грудня 2019 р.



АКТ

апробації методик контролю якості  
розчину олійного «Агастол» (ТФС 42У \_\_\_\_\_)

**Найменування пропозиції для впровадження** методика контролю якості розчину олійного «Агастол» (ТФС 42У \_\_\_\_\_).

Препарат «Агастол» є антимікробним засобом.

**Ким запропоновано** Тимчасова фармакопейна стаття безпосередньо розроблена завідувачем кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет», д.ф.н., проф. Коноваловою О.Ю. та асистентом кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет», Гуртовенко І.О.

**До проекту Тимчасової фармакопейної статті на ліпофільний екстракт трави агастахе фенхельного** включено такі показники якості: Опис зовнішній вигляд, розчинність, тотожність, втрата в масі при висушуванні, граничний вміст залишкових кількостей органічних розчинників (хлороформу), кількісне визначення суми хлорофілів у перерахунку на хлорофіл А та суми каротиноїдів у перерахунку на β-каротин.

**Апробацію проведено** Лабораторія фізико-хімічного контролю ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», м. Київ.

**Результати апробації** У відповідності до методик контролю якості, викладених у проекті Тимчасової фармакопейної статті на лікарський засіб «Агастол» з антимікробною дією, проведено дослідження показників якості 3-х серій лікарського засобу розчину олійного «Агастол» з антимікробною дією.

Перевірка показала повне відтворення методик контролю якості продукту.

**Зауваження та пропозиції** Дана Тимчасова фармакопейна стаття оформлена у відповідності до ГНД 09-001-98. Зауважень щодо методик контролю не має

*Відповідальний за апробацію*

Заст. директора департаменту  
з наукової роботи  
ТОВ «БІОТЕСТЛАБ»

Деркач М.В.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Вміст вільних та зв'язаних амінокислот у деяких видах роду Агастахе при інтродукції / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, В. О. Меньшова, Т. К. Шураєва, Є. М. Гергель, О. В. Гергель. *Фітотерапія. Часопис*. 2016. № 4. С. 24-26. (Особистий внесок – проведення частини експериментальних досліджень, участь у обговоренні результатів та підготовка тексту статті).

2. Дослідження анатомічних діагностичних ознак сировини деяких видів роду *Agastache* як показників якості при стандартизації / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, О. Ф. Щербакова, В. О. Меньшова, О. І. Гудзенко. *Запорізький медичний журнал*. 2018. № 2. С. 230-237. (Особистий внесок – підготовка зразків для аналізу, участь у проведенні мікроскопічного аналізу досліджуваних зразків, обробка та аналіз результатів, підготовка тексту статті).

3. Дослідження вмісту поліфенольних сполук трави агастахе фенхельного *Agastache foeniculum* (Pursch) O.Kuntze / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко, Т. К. Шураєва, В. О. Меньшова. *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 3. С. 46-49. (Особистий внесок – підготовка зразків для аналізу, проведення експериментальних досліджень, участь у обробці результатів та підготовка тексту статті).

4. Качественный состав летучих соединений *agastache foeniculum* в онтогенезе / Е. Ю. Коновалова, И. А. Гуртовенко, Т. К. Шураева, В. А. Меньшова, Т. С. Омельковец. *«Рецепт»*. 2017. том 20, № 6. С. 544-550. (Особистий внесок – підготовка зразків для аналізу, проведення експериментальних досліджень, участь у обробці результатів та підготовка тексту статті).

5. Determination of carbohydrate content in raw material of *Agastache foeniculum* and *Agastache urticifolia* / I. Gurtovenko, E. Konovalova, T. Shuraeva, M. Kalista. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. Vol.6, N 9 (Part G). P. 454-457.



## Продовж. дод. 3

(Особистий внесок – проведення літературного пошуку за темою публікації, проведення частини експериментальних досліджень, участь у обговоренні результатів та підготовка тексту статті).

6. Пат. на корисну модель 130906 Україна, МПК А61К 35/00, А61К 35/66. Фітозасіб із гепатопротекторною активністю / Коновалова О. Ю., Гуртовенко І. О., Серединська Н. М., Серета П. І., Меньшова В. О. № у 2018 07949; заявл. 17.07.2018; опубл. 26.12.18, Бюл. № 24. 5 с. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці одержаних результатів, оформлення патенту).

7. Дослідження мінерального складу трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого / О. Ю. Коновалова, І. О. Гуртовенко, Є. М. Гергель, О. В. Гергель, Т. К. Шураєва, К. О. Кузь. *Фармація XXI століття: Тенденції та перспективи* : мат. VIII Національного з'їзду фарм. України, 13-16 верес. 2016 р. Х. : НФаУ, 2016. Т.1. С. 96. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

8. Дослідження жирнокислотного складу трави деяких видів роду агастахе (*Agastache J.Clayton ex Gronov.*) / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Є. М. Гергель, О. В. Гергель, Т. К. Шураєва, К. А. Градзійон, В. О. Меньшова. *Сучасні теоретичні та практичні аспекти щодо стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини* : мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 28-29 жовт. 2016 р. К., 2016. С. 48. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

9. Дослідження амінокислотного складу трави агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, В. О. Меньшова, Є. М. Гергель, О. В. Гергель, Т. К. Шураєва. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : мат. VI

## Продовж. дод. 3

наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10–11 листоп. 2016 р. Тернопіль, 2016. С. 40-41. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

10. Михайловська О. А., Гуртовенко І. О. Визначення вмісту жирних кислот в сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого. *«Хист», Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених*. 2017. № 19. С. 499. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

11. Ящук Б. О., Гуртовенко І. О. Порівняльний аналіз елементного складу трави деяких видів роду агастахе *Agastache J. Clayton ex Gronov.* *«Хист», Всеукраїнський медичний журнал студентів і молодих вчених*. 2017. № 19. С. 503. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

12. Атякшева Н., Гуртовенко І. Визначення вмісту вільних моно- та дисахаридів в сировині агастахе фенхельного та агастахе кропиволистого. *XXI Міжнародний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України* : мат. конф., 24-26 квіт. 2017 р. Тернопіль, 2017. С. 223. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

13. Романюк А. Гуртовенко І. Дослідження летких сполук деяких видів роду агастахе *Agastache J. Clayton ex Gronov.* *XXI Міжнародний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України* : мат. конф., 24-26 квіт. 2017 р. Тернопіль, 2017. С. 236. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

## Продовж. дод. 3

14. Гуртовенко І. О., Коновалова О. Ю., Омельковець Т. С. Динаміка накопичення летких сполук в траві агастахе кропиволистого в онтогенезі. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження* : мат. І Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., 5 квіт. 2018 р. Х., 2018. С. 42. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

15. Ящук Б., Гуртовенко І. Дослідження вмісту фенольних сполук в траві агастахе фенхельного. *XXII Міжнародний конгрес студентів та молодих вчених Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України* : мат. конф., 23-25 квіт. 2018 р. Тернопіль, 2018. С. 195-196. (Особистий внесок – збір матеріалу, проведення експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

16. Дослідження спиртового екстракту *Agastache foeniculum* методом ІЧ-спектроскопії / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, І. І. Геращенко, Н. В. Гудзенко. *Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи* : мат. ІІ Всеукраїнської наук. конф, 16 трав. 2018 р. Житомир, 2018. С. 225-226. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз матеріалу, оформлення тез до друку).

17. Визначення антиоксидантної активності екстракту агастахе фенхельного / О. Ю. Коновалова, І. О. Гуртовенко, Т. К. Шураєва, Т. С. Омельковець, О. І. Гудзенко. *Сучасні теоретико-практичні аспекти у розв'язанні послідовності реалізації впровадження «Стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» у первинну ланку охорони здоров'я* : мат. наук. форуму з міжнар.участю. 26 жовт. 2018 р, Київ, 2018. С. 92-93. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

## Продовж. дод. 3

18. Ідентифікація терпеноїдів у сировині *Agastache foeniculum* та *Agastache urticifolia* методом «холодової» ТШХ / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : мат. III Міжнар. наук.-практ. internet-конф., 26-28 листоп. 2018 р., Харків, 2018. С. 61. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз матеріалу, оформлення тез до друку).

19. Дослідження хімічного складу сировини Агастахе в культурі *in vitro* / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Н. О. Пушкарьова, М. С. Каліста. *Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин* : мат. III Міжнар. наук.-практ. internet-конф., 26-28 листоп. 2018 р., Харків, 2018. С. 62-63. (Особистий внесок – збір та аналіз матеріалу, виконання експериментальної частини, аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

20. Вивчення складу БАР ліпофільного екстракту з трави Агастахе фенхельного / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Т. К. Шураєва, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко. *Хімія природних сполук* : мат. V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 30-31 трав. 2019 р., Тернопіль, 2019. С. 25. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз отриманих даних, оформлення тез до друку).

21. Динаміка накопичення сполук поліфенольної природи у траві *Agastache foeniculum* та *Agastache urticifolia* / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Т. К. Шураєва, Н. В. Гудзенко, О. І. Гудзенко. *Хімія природних сполук* : мат. V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 30-31 трав. 2019 р., Тернопіль, 2019. С. 26-27. (Особистий внесок – виконання експериментальної частини, аналіз матеріалу, оформлення тез до друку).

22. Коновалова О. Ю., Гуртовенко І. О., Ящук Б. О. Визначення вмісту фенольних сполук у траві агастахе фенхельного. *Людина та ліки* : мат. XII Національного мед. конгресу з міжнар. участю, 27-28 берез. 2019 р. Київ, 2019. С. 28. (Особистий внесок – підготовка матеріалу для дослідження, виконання



## Продовж. дод. 3

експериментальної частини, аналіз отриманих результатів, оформлення тез до друку).

23. Коновалова О. Ю., Гуртовенко І. О., Шураєва Т. К. Дослідження антимікробної активності ліпофільного екстракту трави агастахе фенхельного. *Людина та ліки* : мат. XII Національного мед. конгресу з міжнар. участю, 27-28 берез. 2019 р. Київ, 2019. С. 29. (Особистий внесок – підготовка матеріалу для дослідження, аналіз отриманих результатів, оформлення тез до друку).

24. Дослідження гепатопротекторної дії рідкого екстракту *Agastache foeniculum* / І. О. Гуртовенко, О. Ю. Коновалова, Т. К. Шураєва, Н. М. Серединська. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : мат. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, 19-20 верес. 2019 р. Харків, 2019. Т.1. С. 290-291. (Особистий внесок – підготовка матеріалу для дослідження, аналіз отриманих результатів, оформлення тез до друку).

## АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. VIII Національний з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття: Тенденції та перспективи» (13-16 вересня 2016, Харків, форма участі – усна доповідь).

2. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні теоретичні та практичні аспекти щодо стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» (28-29 жовтня 2016, Київ, форма участі – публікація тез).

3. VI науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (10–11 листопада 2016, Тернопіль, форма участі – публікація тез).

4. IV Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів і молодих учених «Інновації та перспективи сучасної медицини» ВІМСО 2017 (5-7 квітня 2017, Чернівці, форма участі – публікація тез),

5. XXI Міжнародний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України (24-26 квітня 2017, Тернопіль, форма участі – публікація тез).

6. I Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (5 квітня 2018, Харків, форма участі – публікація тез).

7. XXII Міжнародний конгрес студентів та молодих вчених Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України (23-25 квітня 2018, Тернопіль, форма участі – публікація тез).

## Продовж. дод. Ж

8. II Всеукраїнська наукова конференція «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи» (16 травня 2018, Житомир, форма участі – публікація тез).

9. Науковий форум з міжнародною участю. Сучасні теоретико-практичні аспекти у розв'язанні послідовності реалізації впровадження «Стратегії розвитку народної і нетрадиційної медицини» у первинну ланку охорони здоров'я (26 жовтня 2018, Київ, форма участі – публікація тез).

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

11. V Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю „Хімія природних сполук" (30-31 травня 2019 року, м. Тернопіль, форма участі – публікація тез).

12. XII Національний медичний конгрес з міжнародною участю «Людина та ліки» (27-28 березня 2019, Київ, форма участі – публікація тез).

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