

Учреждение образования
«Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

УДК 615.322:615.03

Корожан
Наталья Валерьевна

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ПРИМЕНЕНИЯ НОВОГО ИСТОЧНИКА ЧЕРЕДЫ ТРАВЫ
И КОМБИНИРОВАННОГО СРЕДСТВА НА ЕЕ ОСНОВЕ

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

по специальности 14.04.01 – Технология получения лекарств.
Фармацевтическая химия, фармакогнозия.
Организация фармацевтического дела.

Витебск 2016

Научная работа выполнена в УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Научный руководитель: **Бузук Георгий Николаевич**, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Хишова Ольга Михайловна**, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой промышленной технологии с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Царенков Валерий Минович, доктор фармацевтических наук, ведущий консультант по науке управления инновационного развития РУП «Белмедпрепараты», Заслуженный работник промышленности Республики Беларусь

Оппонирующая организация: УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Защита диссертации состоится 6 мая 2016 года в 13⁰⁰ на заседании совета по защите диссертаций Д 03.16.02 при УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» по адресу: 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27 (конференц-зал морфологического корпуса, 7 этаж). E-mail: admin@vgmu.vitebsk.by, телефон ученого секретаря: (80212) 60-14-08; (+37529) 217-62-05.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Автореферат разослан 5 апреля 2016 года

Ученый секретарь
совета по защите диссертаций Д 03.16.02

Г.А. Хуткина

ВВЕДЕНИЕ

Аллергические заболевания являются одной из самых значимых медико-социальных проблем. За последние 25 лет встречаемость данной патологии возросла в 3-4 раза, и в Республике Беларусь регистрируется в той или иной форме у 25% населения [А. Нефедова, 2012]. Основным подходом в лечении аллергических заболеваний является применение антигистаминных лекарственных средств (ЛС). Данные ЛС не эффективны в качестве профилактических средств, имеют ряд побочных эффектов, взаимодействий с другими ЛС и продуктами питания, что ограничивает их применение [Van Schoor J., 2012].

В связи с этим в последние десятилетия возрос интерес к поиску противоаллергических ЛС на основе лекарственного растительного сырья (ЛРС). Данные ЛС могут применяться как с целью профилактики аллергических заболеваний, так и лечения хронических форм аллергии. Ввиду многокомпонентного состава ЛРС, ЛС на их основе оказывают многонаправленное действие, влияя не только на уровень гистамина в крови, но и на другие механизмы формирования аллергических реакций [В. В. Cota, С. М. Bertollo, D. M. de Oliveira, 2013].

На современном белорусском фармацевтическом рынке ассортимент ЛРС с противоаллергической активностью включает в себя исключительно траву череды трехраздельной (череды траву). Перерабатывающие предприятия республики испытывают значительную потребность (до 120 тонн в год) в этом ЛРС, источник которого произрастает в дикорастущем виде и в настоящее время не культивируется [В. Н. Решетников, 2010]. В то же время биологический запас череды трехраздельной в Республике Беларусь позволяет заготавливать только от 10 до 100 тонн сырья в год.

Последние несколько лет отмечается тенденция к сокращению ареала череды трехраздельной на территории страны за счет вытеснения ее другими видами череды. Некоторые из этих видов (череда поникшая и череда олиственная) характеризуются достаточным ресурсным потенциалом в Республике Беларусь, их компонентный, и особенно флавоноидный состав, хорошо изучены. Однако в данный момент эти растения не могут являться источниками востребованного сырья ввиду отсутствия данных о сходстве их компонентного состава с таковым для череды трехраздельной, а также сведений об их безопасности и противоаллергической активности. В связи с этим недостаточный объем заготовок востребованного ЛРС восполняется травой череды трехраздельной, закупаемой в других странах (Украина, Российская Федерация, Республика Молдова) за валюту.

Таким образом, введение в обращение других видов череды флоры Республики Беларусь в качестве дополнительных источников востребованного ЛРС череды травы, а также разработка комбинированных средств на их основе с другими видами ЛРС для снижения потребности рынка в череды траве являются актуальными направлениями в реализации импортозамещения.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Диссертационная работа выполнена в рамках темы «Химическая дифференциация вторичных метаболитов растений рода череда Республики Беларусь» при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор №М13М-098 от 16.04.2013 г., номер государственной регистрации 20131683 от 30.06.2013 г.) и соответствует подпункту 2.7 перечня приоритетных направлений научных исследований Республики Беларусь на 2011-2015 гг., утвержденного постановлением Совета Министров Республики Беларусь №585 от 19.04.2010 г.

Цель и задачи исследования

Цель исследования – на основании сравнительного фитохимического изучения и доклинической оценки безопасности и противоаллергических свойств травы видов череды обосновать выбор дополнительного источника ЛРС и критерии оценки его качества, а также разработать комбинированное средство на основе череды травы и провести его стандартизацию.

Задачи исследования:

1. Изучить диагностические внешние и анатомические признаки травы череды трехраздельной, травы череды поникшей и травы череды олиственной для совершенствования критериев оценки подлинности сырья.

2. Провести сравнительное фитохимическое изучение состава полисахаридов, флавоноидов и эфирного масла травы видов череды и оценить сходство их компонентного состава.

3. Изучить безопасность (острую и подострую токсичность) травы видов череды, противоаллергические свойства исследуемого сырья и выделенных из него очищенных фракций полисахаридов и флавоноидов на моделях системного анафилактического шока, индуцированного соединением 48/80 *in vivo* и стабилизации мембран тучных клеток *in vitro*.

4. Установить критерии подлинности и числовые показатели череды травы с учетом дополнительного источника сырья, данных о фармакологической активности очищенных фракций полисахаридов и флавоноидов и изменчивости содержания этих биологически активных веществ (БАВ) от периода заготовки, условий сушки и срока хранения сырья.

5. Провести фитохимическое изучение, оценку противоаллергической активности и определить показатели качества комбинированного средства на основе череды травы, фиалки травы и березы листьев и разработать на него технические условия.

Научная новизна

Впервые установлено сходство компонентного состава полисахаридов, флавоноидов, эфирного масла и отсутствие различий в безопасности (острой и подострой токсичности) и противоаллергических свойствах (E_{max} , ED_{50}) травы череды олиственной и травы череды трехраздельной, что доказывает целесообразность использования череды олиственной как ЛРС при заготовке череды травы.

Установлено, что противоаллергическая активность череды травы обусловлена фракциями полисахаридов и флавоноидов, на основании чего впервые предложено регламентировать содержание обеих групп БАВ в череды траве.

Получены новые экспериментальные данные об изменчивости содержания полисахаридов и флавоноидов в зависимости от периода заготовки, условий сушки и срока хранения череды травы. На основании изменчивости содержания полисахаридов и флавоноидов в череды траве определены нижние границы содержания обеих групп БАВ в исследуемом ЛРС.

Впервые в оценке подлинности череды травы методом тонкослойной хроматографии предложено использование для проявления хроматограмм раствора дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира в метаноле.

Разработана и валидирована спектрофотометрическая методика количественного определения суммы флавоноидов в череды траве, основанная на взаимодействии этих соединений с растворами натрия нитрита, алюминия хлорида и натрия гидроксида последовательно.

Впервые изучен компонентный состав флавоноидов, определены показатели качества и установлена противоаллергическая активность комбинированного средства на основе череды травы, фиалки травы и березы листьев.

Положения, выносимые на защиту

1. Сходство компонентного состава полисахаридов, флавоноидов и эфирного масла травы череды трехраздельной и травы череды олиственной. Основными мономерами полисахаридов являются глюкоза, галактоза, глюкуроновая и галактуроновая кислоты. Доминирующий флавоноид травы череды трехраздельной и травы череды олиственной – лютеолин-7-О-глюкозид, доминирующий компонент эфирного масла – кариофиллен оксид.

2. Трава череды олиственной безопасна при однократном и длительном применении и обладает в виде настоев и настоек антианафилактическим действием в модели *in vivo*, стабилизирующим действием на мембраны тучных клеток *in vitro* и не уступает по противоаллергическим свойствам траве череды трехраздельной. Противоаллергическая активность череды травы обусловлена полисахаридами и флавоноидами.

3. Оптимальный реагент для обработки хроматограмм при оценке подлинности череды травы методом тонкослойной хроматографии – раствор 10 г/л дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира *P* в метаноле *P*, нормы числовых показателей и валидированная методика определения суммы флавоноидов в череды траве. Периоды заготовки и условия сушки травы череды трехраздельной и травы череды олиственной схожи, при хранении в течение двух лет компонентный состав флавоноидов в сырье не изменяется.

4. Комбинированное средство на основе череды травы, фиалки травы и березы листьев содержит полисахариды и флавоноиды и обладает противоаллергической активностью на моделях *in vitro* и *in vivo*.

Личный вклад соискателя ученой степени

Обоснование темы, постановка целей и задач исследования, формулирование положений, выносимых на защиту, и заключения проведены совместно с научным руководителем профессором Г.Н. Бузуком. Результаты фармакогностического и фармакологического исследований, включенные в диссертацию, получены преимущественно соискателем. Доцентом кафедры токсикологической и аналитической химии В.М. Ёршиком оказана методическая помощь при работе на жидкостном хроматографе. Газовая хроматография выполнена на базе БГУ. Соавтором публикации [3], доцентом кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК ВГМУ В.В. Янченко и заведующим этой же кафедрой, профессором Д.К. Новиковым оказывалась консультативная помощь в обосновании выбора моделей изучения противоаллергических свойств и интерпретации полученных результатов. Сотрудниками научно-исследовательской лаборатории ВГМУ была оказана методическая помощь при работе с животными.

Вклад соискателя в публикацию [3] составляет 90%, в другие публикации – 95%. Личный вклад соискателя – 85%.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Результаты диссертационного исследования доложены на 68, 69 и 70-й научных сессиях сотрудников университета «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации» (Витебск, 2013, 2014, 2015); 65, 66-й итоговых научно-практических конференциях студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины и фармации» (Витебск, 2013, 2014); XIII, XIV международных научно-практических конференциях «Студенческая медицинская наука XXI века» (Витебск, 2013, 2014); I международной научно-практической конференции «Лекарственные растения: биоразнообразие, технологии, применение» (Гродно, 2014); республиканской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Минский консилиум-2014» (Минск,

2014); Второй научно-практической конференции «Молодые ученые и фармация XXI века» (Москва, 2014); II Всероссийской с международным участием XIII научной сессии молодых ученых и студентов «Современные решения актуальных научных проблем в медицине» (Нижний Новгород, 2015); V Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2015); Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные вопросы медицинской науки» (Ярославль, 2015).

Разработаны технические условия и получены свидетельства о государственной регистрации двух биологически активных добавок к пище: «Villergen» (производитель ОДО «Аматег») и «Сбор Антиэлерджи» (производитель ООО «Калина»). Получено уведомление о положительном результате предварительной экспертизы и установленной дате подачи заявки на выдачу патента Республики Беларусь на способ выделения фракции флавоноидов из череды травы. Утверждены два рационализаторских предложения. Результаты исследования внедрены в образовательный процесс ВГМУ.

Опубликование результатов диссертации

По материалам диссертационного исследования опубликовано 27 печатных работ: 8 статей (4,1 авторских листа) опубликовано в журналах, включенных в «Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований» и российском рецензируемом журнале «Растительные ресурсы», 1 краткое сообщение, 18 статей и тезисов докладов в сборниках материалов конференций (2,7 авторских листа). Общий объем публикаций – 7,0 авторских листов.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав результатов собственных исследований, заключения, библиографического списка и приложений. Диссертация изложена на 174 страницах печатного текста, содержит 82 рисунка, занимающих 26 страниц; 49 таблиц, занимающих 28 страниц; 10 приложений, занимающих 22 страницы. Библиографический список располагается на 17 страницах и включает 193 наименования, в том числе 27 публикаций соискателя. Объем диссертации без библиографического списка и приложений – 135 страниц.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Глава 1 Аналитический обзор литературы

В аналитическом обзоре литературы приведены ботаническая, экологическая характеристика и сведения о фитохимическом изучении видов череды, встречающихся во флоре Республики Беларусь, а также данные доклинических и клинических исследований лекарственных средств на их основе, отдельных компонентов и очищенных фракций, выделенных из видов череды.

Глава 2 Материалы и методы

Объектами исследования являлись трава череды поникшей и трава череды олиственной, траву череды трехраздельной использовали в качестве ЛРС сравнения.

Подлинность и числовые показатели сырья оценивали согласно Государственной фармакопее Республики Беларусь (ГФ РБ).

Для изучения состава полисахаридов использовали экстракцию водой с последующим фракционированием, вискозиметрию, кислотный гидролиз, тонкослойную хроматографию. Количественное определение полисахаридов выполняли согласно требованиям частной фармакопейной статьи «Череды трава» ГФ РБ.

Компонентный состав флавоноидов изучали, используя жидкостную хроматографию со спектрофотометрическим детектированием, содержание определяли по разработанной и валидированной методике.

Количественное определение эфирного масла проводили методом перегонки с водяным паром (ГФ РБ, метод В), компонентный состав изучали методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием.

Острую и подострую токсичность оценивали на беспородных мышах (18-22 г) и крысах (200-250 г) обоего пола как указано в ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика».

Противоаллергическую активность лекарственных форм травы видов череды и комбинированного средства, а также очищенных фракций полисахаридов и флавоноидов изучали на мышах-самцах на модели системного анафилактического шока, индуцированного соединением 48/80 *in vivo*, и на модели стабилизации мембран тучных клеток *in vitro*.

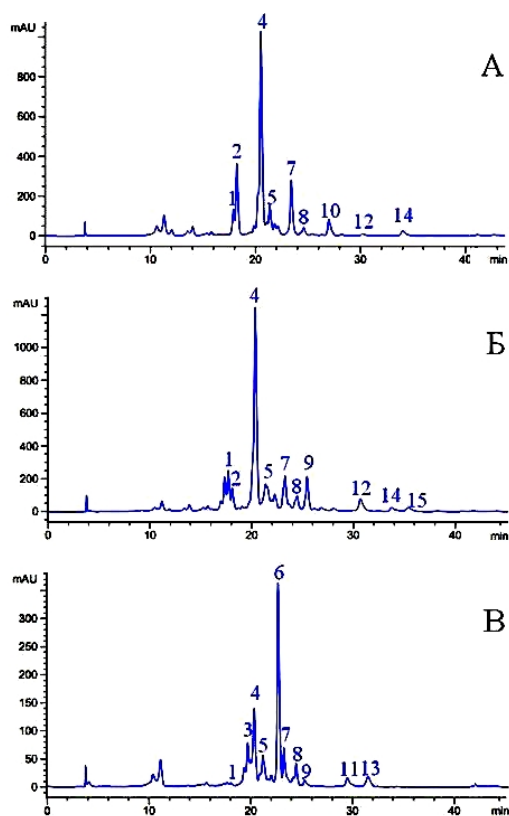
Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica 10.0 Advanced.

Глава 3 Сравнительный фармакогностический анализ и доклиническая оценка травы видов череды

Выявленные внешние признаки череды трехраздельной, череды поникшей и череды олиственной, произрастающих на территории Республики Беларусь, согласуются с описанными в литературе; дополнительные внешние признаки не выявлены. Анатомические признаки, по которым достоверно можно различить исследуемые виды череды, не обнаружены [1, 10, 20].

Из травы череды трехраздельной, травы череды поникшей и травы череды олиственной выделены водорастворимые полисахариды (до 10%), пектиновые вещества (до 1,0%) и гемицеллюлозы А и Б (до 3,0% и до 0,6% соответственно). Во фракционном составе водорастворимых полисахаридов травы этих видов череды преобладают полисахариды с небольшой молекулярной массой, основными моносахаридами являются глюкоза, галактоза, глюкуроновая и галактуроновая кислоты [27].

Методом жидкостной хроматографии с использованием градиентного режима элюирования в траве череды трехраздельной идентифицированы доминирующий флавоноид – лютеолин-7-О-глюкозид (рисунок 1А, пик 4) и лютеолин (рисунок 1А, пик 14).



А – трава череды трехраздельной; Б – трава череды олиственной; В – трава череды поникшей; пики 1, 2, 4, 8, 11, 13, 14 и 15 – флавоны; 6 – флавонол; 5, 7, 9, 10 – халконы; 3 и 12 – аураны

Рисунок 1. – Хроматограммы спиртовых извлечений из травы видов череды, полученные в градиентном режиме элюирования при длине волны детектирования 360 нм [2]

В траве череды олиственной, как и в траве череды трехраздельной, доминирующим флавоноидом является лютеолин-7-О-глюкозид, идентифицирован лютеолин (рисунок 1Б, пики 4 и 14). Для травы череды олиственной отмечено сходство компонентного состава флавонов, халконов и ауранов с травой череды трехраздельной.

В траве череды поникшей доминирующим флавоноидом является неидентифицированный флавонол (рисунок 1В, пик 6), идентифицирован лютеолин-7-О-глюкозид (рисунок 1В, пик 4). Компонентный состав флавонов травы череды поникшей и травы череды трехраздельной сходен, халконов и ауранов – различается [2, 14].

Эфирное масло травы видов череды (до 2,5 мл/кг в траве череды поникшей и менее 1 мл/кг в траве череды трехраздельной и траве череды олиственной) представляет собой маслянистую жидкость от коричневого до темно-коричневого цвета.

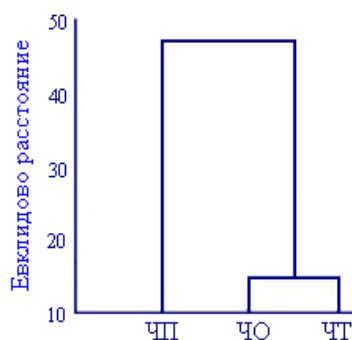
В эфирном масле травы череды трехраздельной преобладают производные кариофиллена; обнаружены β -элемен, акоренон, спатуленол и бисаболол оксид.

В эфирном масле травы череды олиственной, как и в эфирном масле травы череды трехраздельной, преобладает кариофиллен оксид; обнаружен акоренон.

Основным компонентом эфирного масла травы череды поникшей является 1-фенил-1,3,5-гептатриин. Данное вещество не обнаружено в эфирном масле других видов череды. Кроме того, в эфирном масле травы череды поникшей обнаружены кариофиллен оксид, акоренон, бисаболол оксид, сабинен, терпинен-4-ол, β -фарнезен, β -селинен, куркумен, α -бисаболол, производное тиюфена [5].

Сходство компонентного состава полисахаридов, флавоноидов и эфирного масла травы видов череды оценивали с помощью кластерного анализа, рассчитывая Евклидово расстояние (рисунок 2).

Евклидово расстояние для травы череды трехраздельной и травы череды олиственной составляло менее 15, что свидетельствовало о значительном сходстве компонентного состава данных видов сырья.



ЧП – трава череды поникшей, ЧО – трава череды олиственной, ЧТ – трава череды трехраздельной

Рисунок 2. – Дендрограмма сходства компонентного состава видов череды

Евклидово расстояние для травы череды поникшей (свыше 45) свидетельствовало о том, что компонентный состав этого сырья значительно отличается от двух других видов. Ввиду значительных отличий в компонентном составе полисахаридов, флавоноидов и эфирного масла траву череды поникшей рекомендуется считать недопустимой примесью к череды траве [2].

В связи с этим доклинические исследования безопасности и противоаллергических свойств в сравнении с травой череды трехраздельной проводили только для травы череды олиственной.

При изучении острой токсичности для настоев и настоек травы череды олиственной, как и для аналогичных лекарственных форм травы череды трехраздельной, установить DL_{50} не удалось, лекарственные формы травы череды олиственной отнесены к VI классу токсичности. При введении в течение 28 дней настоев травы череды трехраздельной и травы череды олиственной, в том числе в максимально возможных дозах, токсического действия не выявлено [21].

На модели системного анафилактического шока, индуцированного соединением 48/80 *in vivo* в исследуемых группах, получавших настой травы череды трехраздельной или травы череды олиственной, отмечалась 100% выживаемость животных. Анафилактический индекс (АИ) в этих группах составил 0,2-0,6 и статистически значимо ($p < 0,05$) отличался от группы «плацебо» (АИ=3,6). Дозозависимый эффект антианафилактического действия настоев травы череды трехраздельной и травы череды олиственной в исследуемом диапазоне доз не выявлен.

Для настоек травы череды трехраздельной или травы череды олиственной антианафилактическое действие носило дозозависимый характер, полуэффективные дозы соответственно составили 376 и 378 мг/кг и статистически значимо не различались между собой ($p > 0,05$). Выраженность антианафилактического действия (E_{max}) лекарственных форм трав видов череды была близка к таковой для раствора натрия кромогликата [7, 19].

На модели стабилизации мембран тучных клеток *in vitro* настои и настойки травы череды трехраздельной и травы череды олиственной не обладали способностью вызывать анафилactoидную реакцию.

Наибольшее снижение количества дегранулированных тучных клеток в исследуемой группе в присутствии аллергена с 19-22% до 5-10% ($p < 0,05$) отмечалось при добавлении настоев и настоек травы череды трехраздельной и травы череды олиственной в дозе 10 мг/мл среды. Снижение дозы лекарственных форм приводило к снижению стабилизирующего действия на мембраны тучных клеток.

Значения максимального эффекта и полуэффективных доз статистически значимо не различались ни для различных лекарственных форм на основе конкретного вида сырья, ни для одинаковых лекарственных форм на основе разных видов сырья ($p > 0,05$) [4].

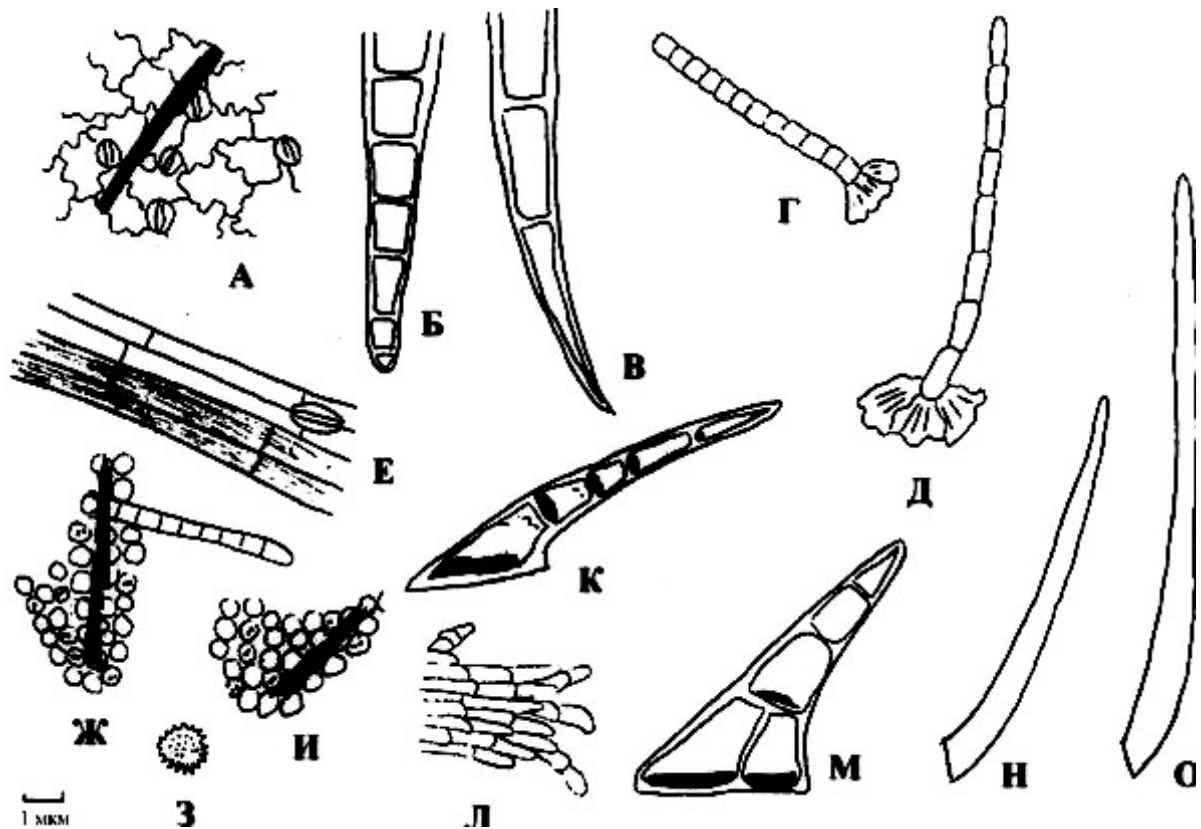
Глава 4 Обоснование критериев оценки подлинности и норм числовых показателей череды травы с учетом нового источника сырья

Внешние признаки череды травы с учетом двух источников сырья включали описание внешнего вида стеблей, листьев, соцветий и плодов череды трехраздельной и череды олиственной.

Анатомические диагностические признаки череды травы включали клетки эпидермы верхней и нижней стороны листа и листочков наружной обертки с извилистыми стенками и устьичным аппаратом аномоцитного типа. Клетки эпидермы листочков внутренней обертки многоугольные или округлые, у основания – прямоугольные, иногда встречаются устьица. Клетки эпидермы лепестков трубчатых цветков у основания прямоугольные, в середине цветка переходят в 5-7-гранные клетки. На верхушке лепестков трубчатых цветков есть сосочковидные выросты эпидермы. По жилкам и краю листа, листочков наружной и внутренней обертки, а также по краю лепестков трубчатых цветков встречаются секреторные ходы с оранжевым содержимым. Толстостенные простые волоски из 2-11 клеток с заостренной конечной клеткой встречаются по краю и вдоль жилок листа и листочков наружной обертки. Тонкостенные простые волоски из 4-14 клеток, конечная клетка которых не отличается по форме от остальных, встречаются на листьях, листочках наружной и внутренней обертки и цветках. Изредка в сырье встречаются простые волоски остей и плодов с заостренной верхушкой. Пыльца округлая, шиповатая (рисунок 3) [1, 10, 20].

Для оценки подлинности череды травы методом тонкослойной хроматографии определены оптимальные условия: подвижная фаза этилацетат P : кислота уксусная ледяная P : вода P (5 : 1 : 1, об/об/об), неподвижная фаза – силикагель P , реагент для проявления – раствор 10 г/л дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира P в метаноле P , раствор сравнения – 0,1 г/л раствор лютеолин-7-О-глюкозида. На хроматограмме испытуемого раствора обнаруживаются пять основных зон – три зоны желтого цвета, одна из которых соответствует лютеолин-7-О-глюкозиду, и две зоны ярко-красного цвета. Между зоной лютеолин-7-О-глюкозида и ярко-красной зоной, расположенной в верхней части пластинки не должно быть дополнительного желтого пятна (примесь травы череды поникшей) [11, 12].

Рекомендуемые нормативные значения числовых показателей для череды травы с учетом нового источника сырья – череды олиственной: примеси: пожелтевшие, побуревшие и почерневшие части растения – не более 8,0%; семянки – не более 3,0%; органические примеси – не более 3,0%; минеральные примеси – не более 1,0%; потеря в массе при высушивании – не более 13,0%; общая зола – не более 14,0%; зола, не растворимая в хлористоводородной кислоте, – не более 3,0% [23].



А – эпидерма листа с устьичным аппаратом и секреторным ходом; **Б** – толстостенный волосок листа череды трехраздельной; **В** – толстостенный волосок листа череды олиственной; **Г** – тонкостенный волосок листа череды трехраздельной; **Д** – тонкостенный волосок листа череды олиственной; **Е** – эпидерма стебля; **Ж** – эпидерма лепестка трубчатого цветка с сосочковидными выростами, тонкостенным волоском и секреторным ходом череды трехраздельной; **З** – пыльцевое зерно; **И** – эпидерма лепестка трубчатого цветка с сосочковидными выростами и секреторным ходом череды олиственной; **К** – толстостенный волосок с клетками, заполненными оранжевым содержимым, листочка наружной обертки череды олиственной; **Л** – эпидерма листочка внутренней обертки; **М** – толстостенный волосок с клетками, заполненными оранжевым содержимым, листочка наружной обертки череды трехраздельной; **Н** – волосок семянки череды трехраздельной; **О** – волосок семянки череды олиственной

Рисунок 3. – Диагностические признаки порошка травы видов череды

Для обоснования выбора групп БАВ, используемых для стандартизации череды травы, проведена оценка противоаллергической активности очищенных фракций полисахаридов и флавоноидов.

Очищенные фракции полисахаридов и флавоноидов обладали дозозависимым антианафилактическим действием в модели *in vivo*. В модели *in vitro* выявлено стабилизирующее действие фракций полисахаридов и флавоноидов (суммы, флавонов и халконов) на мембраны тучных клеток [3, 19, 25].

С учетом полученных результатов качество череды травы оценивали по содержанию обеих групп БАВ – полисахаридов и флавоноидов.

Оптимальные условия экстракции суммы флавоноидов из череды травы: однократная экстракция спиртом (60%, об/об) *P* при 100 °С в течение 30 минут, измельченность сырья – 1 мм, соотношение сырья и экстрагента – 1 : 20. Для разработки спектрофотометрической методики количественного определения суммы флавоноидов в череды траве использовали способ, основанный на взаимодействии этих соединений с растворами натрия нитрита, алюминия хлорида, натрия гидроксида последовательно. Измерения оптической плотности проводили при длине волны 510 нм. Пересчет содержания суммы флавоноидов в череды траве проводили на доминирующий флавоноид – лютеолин-7-О-глюкозид. Предложенная методика валидирована по таким критериям, как линейность, специфичность, правильность, сходимость, внутрилабораторная точность, робастность; прогнозируемая неопределенность методики менее 1% [6, 15].

Для череды трехраздельной и череды олиственной в период с фазы отрастания растения до фазы бутонизации наблюдается постепенное увеличение содержания полисахаридов и флавоноидов с максимумом в фазу бутонизации и начала цветения; в фазы массового цветения и плодоношения содержание обеих групп БАВ снижается ($p < 0,05$) [13, 16].

Наибольшее содержание полисахаридов в траве череды трехраздельной и траве череды олиственной отмечается при воздушно-теновой сушке. Статистически значимо не отличается от такового содержание полисахаридов в сырье обоих видов, высушенном при 40 °С с принудительной вентиляцией или без вентиляции ($p > 0,05$). Увеличение температуры сушки приводит к статистически значимому снижению содержания полисахаридов в сырье ($p < 0,05$).

Содержание флавоноидов в сырье, высушенном при 40 °С без вентиляции, статистически значимо не отличалось от такового в сырье, подвергшемся воздушно-теновой сушке ($p > 0,05$). Дальнейшее повышение температуры сушки без вентиляции приводило к снижению содержания флавоноидов в сырье на 15-25% ($p < 0,05$). Сырье, высушенное с принудительной вентиляцией, содержало больше флавоноидов при температуре сушки 40-50 °С для обоих видов череды ($p < 0,05$). Дальнейшее повышение температуры в этих условиях приводило к снижению содержания флавоноидов в сырье на 5-10% ($p < 0,05$).

Компонентный состав сырья, высушенного при 40 °С с принудительной вентиляцией, был максимально близок к таковому для сырья, высушенного в естественных условиях.

С учетом данных об изменчивости содержания полисахаридов и флавоноидов оптимальными условиями сушки череды травы считаем воздушно-теновую сушку либо сушку не выше 40 °С с принудительной вентиляцией [8, 9, 22].

При хранении сырья содержание полисахаридов в течение первых 6 месяцев статистически значимо не изменялось ($p > 0,05$). В течение последующего времени хранения отмечалось плавное снижение содержания полисахаридов в сырье, которое спустя 24 месяца хранения составляло 85% от исходного ($p < 0,05$).

Содержание флавоноидов в траве череды трехраздельной статистически значимо не изменялось в течение первых 15 месяцев хранения ($p > 0,05$). Для череды олиственной статистически значимых изменений в содержании флавоноидов не выявлено в течение первых 9 месяцев хранения ($p > 0,05$). В последующем отмечалось плавное снижение содержания флавоноидов в сырье и через 24 месяца содержание флавоноидов снижалось на 15-18% ($p < 0,05$). Существенных изменений компонентного состава в процессе хранения не выявлено [26].

Рекомендуемое содержание полисахаридов в череды траве в пересчете на сухое сырье – не менее 3,5%, флавоноидов – не менее 1,0% [17, 18].

Глава 5 Комбинированное средство на основе череды травы, фиалки травы и березы листьев

Учитывая высокую потребность в череды траве как ЛРС с противоаллергической активностью и недостаточными запасами череды трехраздельной в Республике Беларусь, перспективным направлением является разработка комбинированных средств, обладающих данным видом фармакологической активности на основе череды травы с другими видами ЛРС. Предложенное средство представляет собой комбинацию череды травы, фиалки травы и березы листьев.

Компонентный состав комбинированного средства включает полисахариды и флавоноиды (лютеолин-7-О-глюкозид, лютеолин, рутин).

Для комбинированного средства установлена выраженная противоаллергическая активность на модели системного анафилактического шока, индуцированного соединением 48/80 *in vivo* (АИ=0,2-0,4) и модели стабилизации мембран тучных клеток *in vitro*. Компоненты комбинированного средства не обладают способностью вызывать анафилактоидную реакцию в исследуемых дозах.

Установлены и включены в технические условия основные критерии качества комбинированного средства [7, 24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Выявленные внешние признаки череды трехраздельной, череды поникшей и череды олиственной, произрастающих на территории Республики Беларусь, согласуются с описанными в литературе; дополнительные внешние признаки не выявлены. Анатомические признаки, по которым достоверно можно различить исследуемые виды череды, не обнаружены [1, 10, 20].

2. Изучен компонентный состав полисахаридов, флавоноидов и эфирного масла травы череды трехраздельной, травы череды поникшей и травы череды олиственной.

Во всех видах сырья среди полисахаридов значительно преобладали водорастворимые полисахариды (до 10%), преимущественно с небольшой молекулярной массой, построенные из глюкозы, галактозы, глюкуроновой и галактуроновой кислот. Содержание пектиновых веществ в траве видов череды составляло до 1,0%; содержание гемицеллюлоз А и Б – до 3,0% и 0,6% соответственно.

Методом жидкостной хроматографии в траве видов череды обнаружено 15 веществ, представленных флавонами, флавонолом, халконами, ауринами. В траве череды трехраздельной и траве череды олиственной преобладал лютеолин-7-О-глюкозид, в траве череды поникшей – неидентифицированный флавонол.

Содержание эфирного масла в траве череды трехраздельной и траве череды олиственной составляло менее 1 мл/кг, среди его компонентов преобладали производные кариофиллена. В траве череды поникшей содержание эфирного масла составляло до 2,5 мл/кг, доминирующий компонент – 1-фенил-1,3,5-гептатриин.

Для травы череды трехраздельной и травы череды олиственной методом кластерного анализа впервые установлено сходство компонентного состава; компонентный состав травы череды поникшей значительно отличается от двух других видов череды [2, 5, 14, 17, 18, 27].

3. Различий в безопасности (острой и подострой токсичности) лекарственных форм травы череды трехраздельной и травы череды олиственной не выявлено. Во всех случаях не отмечалось летальности или токсического действия на животных, в том числе и после приема максимально возможных доз лекарственных форм. Для настоев и настоек травы череды олиственной, как и для аналогичных лекарственных форм травы череды трехраздельной, установить DL_{50} не удалось, исследуемые лекарственные формы отнесены к VI классу токсичности.

На модели анафилактического шока, индуцированного соединением 48/80 *in vivo*, в исследуемых группах, получавших настой травы череды трехраздельной или травы череды олиственной, отмечалась 100% выживаемость животных. Анафилактический индекс в этих группах находился в пределах 0,2-0,6 и статистически значимо ($p < 0,05$) отличался от контроля. Дозозависимый эффект антианафи-

лактического действия настоев травы череды трехраздельной и травы череды олиственной в исследуемом диапазоне доз не выявлен.

Антианафилактическая активность настоев травы видов череды носила дозозависимый характер. Полуэффективные дозы для настоев травы череды трехраздельной и травы череды олиственной соответственно составили 376 и 378 мг/кг и статистически значимо не различались между собой ($p > 0,05$).

Настои и настойки травы череды трехраздельной и травы череды олиственной не обладали способностью вызывать анафилактикоидную реакцию на модели стабилизации мембран тучных клеток *in vitro*. Наибольшее снижение количества дегранулированных тучных клеток в присутствии аллергена с 19-22% до 5-10% отмечалось при добавлении настоев и настоек травы видов череды в дозе 10 мг/мл. Снижение дозы настоев приводило к снижению стабилизирующего действия на мембраны тучных клеток. Значения полуэффективных доз, а также максимальный и полумаксимальный эффекты для исследуемых лекарственных форм травы видов череды статистически значимо не различались ни для различных лекарственных форм на основе конкретного вида сырья, ни для одинаковых лекарственных форм на основе разных видов сырья ($p > 0,05$).

Для очищенных фракций полисахаридов и флавоноидов установлена антианафилактическая активность *in vivo* и стабилизирующее действие на мембраны тучных клеток *in vitro* [3, 4, 7, 8, 19, 21, 25].

4. Определены условия проведения тонкослойной хроматографии при оценке подлинности череды травы: подвижная фаза этилацетат P : кислота уксусная ледяная P : вода P (5 : 1 : 1, об/об/об), неподвижная фаза – силикагель P , реагент для проявления хроматограмм – раствор 10 г/л дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира P в метаноле P . Данные условия позволяют наиболее полно разделить флавоноиды череды травы, а также идентифицировать недопустимую примесь – траву череды поникшей по наличию на хроматограмме между зоной лютеолин-7-О-глюкозида и ярко-красной зоной, расположенной в верхней части пластинки дополнительного желтого пятна.

Установлены новые, дополнительные к имеющимся, нормы числовых показателей череды травы – длина побега не более 20 см (вместо стеблей, в том числе отделенные при анализе) и содержание семян не более 3,0%.

Определены оптимальные условия экстракции суммы флавоноидов из череды травы: однократная экстракция спиртом 60% (об/об) P , в течение 30 минут при 100 °С, измельченность сырья – 1 мм, соотношение сырья и экстрагента – 1 : 20. Данные условия используются в спектрофотометрической методике количественного определения суммы флавоноидов в череды траве в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид, основанной на взаимодействии флавоноидов с растворами натрия нитрита, алюминия хлорида, натрия гидроксида последовательно. Для предложенной методики проведена валидация по таким показателям, как линейность,

специфичность, сходимость, внутрилабораторная точность, правильность, робастность.

С учетом динамики накопления полисахаридов и флавоноидов рекомендуемый период заготовки череды травы – фаза бутонизации и начала цветения. Оптимальные условия сушки череды травы – воздушно-тенивая сушка либо сушка с принудительной вентиляцией при температуре не выше 40 °С. При хранении череды травы в течение двух лет содержание полисахаридов и флавоноидов снижается на 15-18%, соотношение и состав компонентов флавоноидной природы не изменяется. Рекомендуемое содержание полисахаридов не менее 3,5%, содержание флавоноидов – не менее 1,0% [6, 8, 9, 11, 12, 13, 15, 16, 22, 23, 26].

5. Комбинированное средство на основе череды травы, фиалки травы и березы листьев обладает выраженной противоаллергической активностью на модели системного анафилактического шока, индуцированного соединением 48/80 *in vivo* и модели стабилизации мембран тучных клеток *in vitro*.

В лекарственных формах комбинированного средства обнаружены полисахариды и флавоноиды, среди которых преобладают лютеолин-7-О-глюкозид, рутин и лютеолин.

Установленные нормы числовых показателей комбинированного средства включены в технические условия [7, 24].

Рекомендации по практическому использованию результатов

В результате проведенных исследований предложены и приняты для включения во второе издание второго тома Государственной фармакопеи Республики Беларусь изменения в частную фармакопейную статью «Череды трава» (письмо РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» №12-19/9834).

На комбинированное средство на основе череды травы, фиалки травы и березы листьев утверждены ТУ ВУ 690237370.034-2013 Добавка к пище биологически активная «Villergen» (свидетельство о государственной регистрации № ВУ 70.06.01.003.Е.004244.08.13) и ТУ ВУ 300074355.001-2014 Добавка биологически активная к пище «Сбор Антиэлэрджи» (свидетельство о государственной регистрации № ВУ 70.06.01.003.Е.005396.12.15).

Получено уведомление о положительном результате предварительной экспертизы и установленной дате подачи заявки на выдачу патента Республики Беларусь на изобретение № а20140469 «Способ выделения фракции флавоноидов из череды травы».

Получены рационализаторские предложения на «Способ количественного определения флавоноидов в траве череды трехраздельной» и «Методика тонкослойной хроматографии для идентификации флавоноидов в траве череды трехраздельной».

Обоснованные фитохимическими исследованиями сроки заготовки и условия сушки череды травы рекомендуется использовать для разработки инструкции по заготовке данного вида лекарственного растительного сырья.

Результаты работы внедрены в учебный процесс на кафедре фармакогнозии с курсом ФПК и ПК и курсах повышения квалификации при кафедре фармакогнозии с курсом ФПК и ПК ВГМУ.

Список публикаций соискателя

Статьи в научных журналах, включенных в «Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований»

1. Корожан, Н. В. Сравнительное изучение морфологических и анатомо-диагностических признаков травы видов череды / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Вестник фармации. – 2013. – № 1. – С. 12-19.
2. Корожан, Н. В. Сравнительный анализ компонентного состава спиртовых извлечений из травы видов череды методом жидкостной хроматографии / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Вестник фармации. – 2013. – № 4. – С. 49-56.
3. Корожан, Н. В. Влияние флавоноидов и полисахаридов череды трехраздельной на стабилизацию тучных клеток *in vitro* / Н. В. Корожан, В. В. Янченко, Г. Н. Бузук // Вестник фармации. – 2014. – № 3. – С. 100-104.
4. Корожан, Н. В. Стабилизирующее действие на мембраны тучных клеток травы череды трехраздельной и травы череды олиственной / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Вестник Витебск. гос. мед. ун-та. – 2015. – № 1. – С. 136-143.
5. Корожан, Н. В. Сравнительный анализ компонентного состава эфирного масла травы видов череды / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Вестник фармации. – 2015. – № 1. – С. 18-24.
6. Корожан, Н. В. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в череды траве / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Рецепт. – 2015. – № 2. – С. 54-65.
7. Корожан, Н. В. Антианафилактическая активность настоев травы видов череды и противоаллергического сбора / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Вестник фармации. – 2015. – № 3. – С. 57-61.

Статья в зарубежном рецензируемом научном журнале

8. Корожан, Н. В. Изменения компонентного состава надземной части *Bidens frondosa* (Asteraceae) в зависимости от условий сушки / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Растительные ресурсы. – 2015. – № 3. – С. 426-435.

Краткое сообщение в научном журнале

9. Корожан, Н. В. Изменчивость компонентного состава травы череды трехраздельной при использовании различных условий сушки / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – № 12. – С. 49-50.

Материалы конференций

10. Корожан, Н. В. Микроскопический анализ травы череды олиственной / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 68-ой науч. сессии сотрудников ун-та, Витебск, 31 янв. – 1 февр. 2013 г. / Витебск. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 289-290.

11. Корожан, Н. В. Идентификация флавоноидов травы череды методом тонкослойной хроматографии / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 65-ой итоговой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 24-25 апр. 2013 г. / Витебск. гос. мед. ун-т ; редкол.: С.А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 380-382.

12. Корожан, Н. В. Сравнительное изучение флавоноидного состава травы видов череды методом тонкослойной хроматографии / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 65-ой итоговой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 24-25 апр. 2013 г. / Витебск. гос. мед. ун-т ; редкол.: С.А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 382-383.

13. Корожан, Н. В. Изменчивость компонентного состава травы череды трехраздельной в течение вегетационного периода / Н. В. Корожан // Молодые ученые – медицине : материалы Всерос. конф. с междунар. участием, Самара, 23 окт. 2013 г. / Самар. гос. мед. ун-т ; редкол. Г.П. Котельников [и др.]. – Самара, 2013. – С. 283-285.

14. Корожан, Н. В. Сравнительное изучение флавоноидного состава травы видов череды методом жидкостной хроматографии / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Студенческая медицинская наука XXI века : материалы XIII междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 14-15 нояб. 2013 г. / Витебск. гос. мед. ун-т ; редкол.: С.А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 188-190.

15. Корожан, Н. В. Выбор концентрации этанола для получения извлечений с наибольшим содержанием флавоноидов из череды травы / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 69-ой науч. сессии сотрудников ун-та, Витебск, 29-30 янв. 2014 г. / Витебск. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2014. – С. 185.

16. Корожан, Н. В. Динамика накопления флавоноидов в траве череды олиственной / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 65-ой итоговой науч.-практ. конф. студентов и мо-

лодых ученых, Витебск, 17-18 апр. 2014 г. / Витебск. гос. мед. ун-т ; редкол.: С.А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2014. – С. 400-402.

17. Корожан, Н. В. Череда олиственная как возможный дополнительный источник череды травы / Н. В. Корожан // Лекарственные растения: биоразнообразие, технологии, применение : сб. науч. статей по материалам междунар. науч.-практ. конф., Гродно, 5-6 июн. 2014 г. / Гродн. гос. аграр. ун-т. ; редкол.: Е. И. Дорошкевич. – Гродно, 2014. – С. 40-42.

18. Корожан, Н. В. Сравнительное изучение содержания основных групп биологически активных веществ в траве череды трехраздельной и траве череды олиственной / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Минский консилиум-2014 : сб. материалов респ. науч.-практ. конф. молодых ученых с междунар. участием, Минск, 10-11 июн. 2014 г. / Бел. мед. акад. последиплом. образов. ; редкол.: Ю. Е. Демидчик [и др.]. – Минск, 2014. – С. 127-128.

19. Корожан, Н. В. Оценка противоаллергической активности настоя и отдельных фракций травы череды трехраздельной на модели системной анафилаксии / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Актуальные направления фундаментальных и прикладных исследований : материалы 4-ой междунар. практ. конф., Северный Чарльстон, 4-5 авг. 2014 г. / НИЦ «Академический». – Северный Чарльстон, США. – Т.2. – С. 170-172.

20. Корожан, Н. В. Диагностически значимые признаки и их проявляемость в траве череды трехраздельной и траве череды олиственной / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Состояние и перспективы оптимизации и эффективности в фармакогнозии, технологии, клинике : сб. материалов науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвященной 30-летию кафедры фармакогнозии и фармацевтической технологии Ярославской гос. мед. акад., Ярославль, сент. 2014 г. / Ярослав. гос. мед. акад. ; редкол.: А. А. Баранов [и др.]. – Ярославль, 2014. – С. 110-115.

21. Корожан, Н. В. Острая токсичность настоев травы череды трехраздельной и травы череды олиственной / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Студенческая медицинская наука XXI века : материалы XIV междунар. науч.-практ. конф., посвященной 80-летию образования ВГМУ, Витебск, 23-24 окт. 2014 г. / Витебск. гос. мед. ун-т ; редкол.: С. А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2014. – С. 124-125.

22. Корожан, Н. В. Компонентный состав травы череды трехраздельной и его изменчивость при использовании различных условий сушки / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Молодые ученые и фармация XXI века : сб. науч. трудов второй науч.-практ. конф., 11-12 дек. 2014 г. / ГНУ ВИЛАР ; редкол.: Н. И. Сидельников [и др.]. – Москва, 2014. – С. 162-167.

23. Корожан, Н. В. Показатели доброкачественности травы череды олиственной / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 70-ой науч. сессии сотрудников ун-та, Витебск, 28-29 янв. 2015 г. / Витебск. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. П. Дейкало [и др.]. – Ви-

тебск, 2015. – С. 170-171.

24. Корожан, Н. В. Противоаллергический сбор и его фармакологическая активность / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Современные решения актуальных научных проблем в медицине : материалы II Всерос. XII Межрегион. с междунар. участием науч. сессии молодых ученых и студентов, Нижний Новгород, 18-19 март. 2015 г. / ГБОУ ВПО Нижегород. гос. мед. акад. ; редкол.: В. В. Шкарин. – Медиаль, 2015. – С. 251.

25. Корожан, Н. В. Выделение и фармакологическая активность фракций флавонов и халконов череды трехраздельной / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Молодая фармация – потенциал будущего : материалы V-ой Юбилейной Всерос. науч. конф. студентов и аспирантов с междунар. участием, Санкт-Петербург, 20-21 апр. 2015 г. / Санкт-Петерб. гос. хим.-фарм. акад. ; редкол.: И. А Наркевич [и др.]. – Фармация, 2015. – С. 435-437.

Тезисы докладов

26. Корожан, Н. В. Изменчивость флавоноидов травы череды в течение первого года хранения / Н. В. Корожан, Г. Н. Бузук // Актуальные вопросы медицинской науки : сб. тезисов науч. работ студентов и молодых ученых Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвященной 70-летию победы в Великой Отечественной войне, Ярославль, 23-24 апр. 2015 г. – Издат. дом ЯГТУ, 2015. – С. 81-82.

27. Корожан, Н. В. Полисахариды некоторых видов череды флоры Республики Беларусь / Н.В. Корожан // Молодые учёные XXI века – от идеи к практике : материалы докладов науч.-практ. конф. с междунар. участием, Самара, 12 окт. 2015 г. / Самар. гос. мед. ун-т ; редкол.: Г. П. Котельников [и др.]. – Самара, 2015. – С 171-172.

РЭЗІЮМЭ

Каражан Наталля Валер'еўна

Фармакагнастычнае абгрунтаванне ўжывання новай крыніцы ваўчкоў травы і камбінаванага сродку на яе аснове

Ключавыя словы: ваўчкі аблісцвелыя, ваўчкі трохпадзельныя, ваўчкі паніклыя, кампанентны склад, проціалергічная актыўнасць, камбінаваны сродак.

Мэта работы: на аснове параўнальнага фітахімічнага вывучэння і даклінічнай адзнакі бяспекі і проціалергічных уласцівасцей травы відаў ваўчкоў абгрунтаваць выбар дадатковай крыніцы лекавай расліннай сыравіны і крытэрыяў адзнакі яе якасці, а таксама распрацаваць камбінаваны сродак на аснове ваўчкоў травы і правесці яго стандартызацыю.

Метады даследавання і апаратура: храматаграфія, спектрафотаметрыя, стабілізацыя мембран тлустых клетак, вадкасны храматограф Agilent HP 1100, спектрафотометр Specord 250, мікраскоп «Біямед-5».

Атрыманыя вынікі і іх навізна: вывучаны кампанентны склад поліцукрыдаў, флаваноідаў і эфірнага алею травы відаў ваўчкоў і ўпершыню ўстаноўлена падабенства кампанентнага складу травы ваўчкоў трохпадзельных і травы ваўчкоў аблісцвелых. Адрозненняў у бяспецы і эфектыўнасці лекавых формаў травы ваўчкоў трохпадзельных і травы ваўчкоў аблісцвелых не выяўлена. Фармакалагічны эфект абумоўлены флаваноідамі і поліцукрыдамі, на падставе вывучэння зменлівасці ўтрымання гэтых злучэнняў вызначаны аптымальныя тэрміны нарыхтоўкі, умовы сушкі і захоўвання сыравіны. Для флаваноідаў ўпершыню распрацавана і валідыравана методыка колькаснага вызначэння і вызначана ніжняя мяжа ўтрымання ў сыравіне. Для камбінаванага сродку ўстаноўлена проціалергічная актыўнасць і вызначаны паказчыкі якасці.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: прыняты для ўключэння змены ў фармакапейны артыкул «Ваўчкоў трава»; на камбінаваны сродак атрыманы пасведчанні аб дзяржаўнай рэгістрацыі і тэхнічныя ўмовы; вынікі працы выкарыстоўваюцца ў навучальным працэсе.

Вобласць ужывання: фармакагнастычны аналіз, фармакалогія, фармацыя.

РЕЗЮМЕ

Корожан Наталья Валерьевна

Фармакогностическое обоснование применения нового источника череды травы и комбинированного средства на ее основе

Ключевые слова: череда олиственная, череда трехраздельная, череда поникшая, компонентный состав, противоаллергическая активность, комбинированное средство.

Цель работы: на основании сравнительного фитохимического изучения и доклинической оценки безопасности и противоаллергических свойств травы видов череды обосновать выбор дополнительного источника лекарственного растительного сырья и критерии оценки его качества, а также разработать комбинированное средство на основе череды травы и провести его стандартизацию.

Методы исследования и аппаратура: хроматография, спектрофотометрия, стабилизация мембран тучных клеток, жидкостный хроматограф Agilent HP 1100, спектрофотометр Spesord 250, микроскоп «Биомед-5».

Полученные результаты и их новизна: изучен компонентный состав полисахаридов, флавоноидов и эфирного масла травы видов череды и впервые установлено сходство компонентного состава травы череды трехраздельной и травы череды олиственной. Различий в безопасности и эффективности лекарственных форм травы череды трехраздельной и травы череды олиственной не выявлено. Фармакологический эффект обусловлен флавоноидами и полисахаридами, на основании изучения изменчивости содержания этих соединений определены оптимальные сроки заготовки, условия сушки и хранения сырья. Для флавоноидов впервые разработана и валидирована методика количественного определения и определена нижняя граница содержания в сырье. Для комбинированного средства установлена противоаллергическая активность и определены показатели качества.

Рекомендации по использованию: приняты для включения изменения в частную фармакопейную статью «Череды трава»; на комбинированное средство получены свидетельства о государственной регистрации и технические условия; результаты работы используются в учебном процессе.

Область применения: фармакогностический анализ, фармакология, фармация.

SUMMARY

Karazhan Natallia Valer'euna

Pharmacognostic substantiation of the use of a new source of Bidens herb
and combined remedy based on it

Keywords: Bidens frondosa, Bidens tripartita, Bidens cernua, component composition, antiallergic activity, combined remedy.

Objective: to substantiate the choice of medicinal plant raw material supplementary source and its quality assessment criteria on the base of comparative phytochemical study and preclinical appreciation of safety and antiallergic properties of Bidens species herb, and also to develop a combined remedy based on Bidens herb and conduct its standartization.

Research methods and apparatus: chromatography, spectrometry, stabilization of mast cell membranes, liquid chromatograph Agilent HP 1100 spectrophotometer Specord 250 microscope "Biomed-5".

The results and their novelty: component composition of polysaccharides, flavonoids and essential oil of Bidens species herb were studied and for the first time the similarity of the component composition of Bidens tripartita herb and Bidens frondosa herb was established. No differences in safety and efficacy of medicinal forms of Bidens tripartita herb and Bidens frondosa herb have been revealed. The pharmacological effect is caused by flavonoids and polysaccharides; optimal harvesting period, drying and storage conditions were determined on the base of variation of these compounds. For the first time the technique of flavonoids quantitative determination was developed and validated and the lower limit of the content in the raw material was determined. Antiallergic activity and quality indicators were defined for the combined remedy.

Usage recommendations: the change in the pharmacopeia monograph "Bur margold herb" is accepted for inclusion; the certificate of state registration and technical conditions on the combined remedy are obtained; the results are used in the educational process.

Field of application: pharmacognostic analysis, pharmacology, pharmacy.

Подписано в печать 22.03.2016 г. Формат 60×84/16.
Бумага типографская №2. Гарнитура Times. Усл. печ. листов ____.
Уч.-изд. л. ____ . Тираж 60 экз. Заказ № ____ .
Издатель и полиграфическое оформление:
УО «Витебский государственный медицинский университет».
ЛП № 02330/453 от 30.12.2013
Пр-т Фрунзе, 27, 210023, Витебск