

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»

УДК 615.322:615.07

ЁРШИК
Ольга Александровна

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ САБЕЛЬНИКА БОЛОТНОГО

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук

по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия

Витебск, 2009

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

Научный руководитель:

Бузук Георгий Николаевич, доктор фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой фармакогнозии и ботаники с курсом ФПК и ПК, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Официальные оппоненты:

Хейдоров Василий Петрович, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой общей, физической и коллоидной химии, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»



Шеряков Александр Александрович, кандидат фармацевтических наук, заместитель директора, РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»

Оппонирующая организация: РУП «Белмедпрепараты»

Защита состоится «3» декабря 2009 года в 12.00 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). E-mail: admin@vgmu.vitebsk.by.

Телефон учёного секретаря 24-94-38

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

Автореферат разослан «28» октября 2009 года.

Учёный секретарь

совета по защите диссертаций,
кандидат фармацевтических наук



В.В. Кугач

ВВЕДЕНИЕ

Сабельник болотный издавна применяется в народной медицине: настой и отвар корневищ применяется как ранозаживляющее и болеутоляющее средство при гастралгии, настойка из корневищ – при бронхитах, туберкулезе и, особенно часто, при различных заболеваниях суставов.

В настоящее время ЗАО «Эвалар» (Россия) выпускает биологически активную добавку «Сабельник - Эвалар» в следующих лекарственных формах: настойка из подземных органов, таблетки из порошка корней, крем, представляющий собой водно – спиртовой и масляный экстракты корней и корневищ, капли – вытяжка корневищ 40 % спиртом этиловым, чайный напиток – из травы и корневищ сабельника [Д.О. Одуладжа и др., 2007]. В комплексном лечении ревматоидных артритов, обменно-дистрофических остеоартрозов, артрита, спондилоартроза и остеохондроза позвоночника биологически активные добавки на основе сабельника болотного хорошо зарекомендовали себя, показали положительные результаты при практически полном отсутствии токсичности и побочных эффектов [Л.Г. Прокопьева и др., 2003; И.И. Чемесова и др., 2004]. Данные заболевания протекают, как правило, в хронической форме, поэтому прием назначаемых лекарственных средств является длительным, иногда пожизненным. Современные противовоспалительные средства, широко применяемые при этих заболеваниях, оказывают влияние не только на опорно-двигательную систему, но и на желудочно-кишечный тракт в виде многочисленных побочных эффектов. Лекарственные средства из лекарственного растительного сырья (ЛРС) обладают малой токсичностью, значительно лучшей переносимостью, возможностью длительного приема.

В современной отечественной медицине не существует аналогов лекарственных средств сабельника болотного, поэтому актуальным является детальное изучение химического состава и фармакологических свойств, разработка нормативной документации на ЛРС сабельника болотного, которое может быть использовано для получения средств с противовоспалительной и противопаразитарной активностью.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами, темами

Диссертационная работа выполнена в рамках темы Государственной народнохозяйственной программы развития сырьевой базы и переработки лекарственных и пряно-ароматических растений на 2005-2010 годы «Фитопрепараты» (регистрационный номер 20053509).

Цель и задачи исследования

Целью настоящей работы является провести фармакогностический анализ сабельника болотного и разработать нормативную документацию на ЛРС для его использования в качестве источника соединений с противовоспалительной и противопаразитарной активностью.

Для реализации цели поставлены следующие задачи:

1. Исследовать локализацию основной группы биологически активных веществ (БАВ) в различных органах сабельника болотного, определить параметры подлинности, доброкачественности ЛРС и настойки сабельника болотного, установить оптимальные: период заготовки, температуру сушки и срок хранения ЛРС сабельника болотного.
2. Установить основную группу БАВ, обуславливающих противовоспалительную активность сабельника болотного, изучить токсикологические свойства ЛРС, противовоспалительное и противопаразитарное действие сабельника болотного.
3. Изучить закономерности изменения содержания суммы проантоцианидинов в процессе ускоренного старения сырья сабельника болотного.
4. Выявить взаимосвязь между морфологическими параметрами листьев (размер, форма) и накоплением БАВ в листьях и корневищах сабельника болотного.
5. Разработать нормативную документацию на ЛРС сабельника болотного.

Объект и предмет исследования. Объект исследования – органы сабельника болотного, водные и водно – спиртовые извлечения, очищенная сумма проантоцианидинов. Предмет исследования – локализация проантоцианидинов; влияние условий экстракции на выход суммы проантоцианидинов; влияние температуры сушки, фазы вегетации, сроков хранения на содержание суммы проантоцианидинов; качественный и количественный состав доминирующей группы проантоцианидинов; противовоспалительная активность выделенной и очищенной суммы проантоцианидинов; противопаразитарная активность; взаимосвязи между морфологическими параметрами листьев (размер, форма) и накоплением БАВ в листьях и корневищах сабельника болотного.

Положения, выносимые на защиту

1. Качественный и количественный состав проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного, показатели подлинности, доброкачественности, сроки годности ЛРС сабельника болотного и настойки; оптимальные период заготовки и условия сушки корневищ с корнями сабельника болотного.
2. Противовоспалительная активность корневищ с корнями сабельника болотного обусловлена суммой проантоцианидинов, которая не обладает ulcerогенным действием. Водные и водно-спиртовые извлечения корневищ с корнями сабельника болотного не обладают острой токсичностью. Корневища с корнями сабельника болотного обладают противопаразитарным действием.

3. Закономерности изменения содержания суммы проантоцианидинов в процессе ускоренного старения сырья сабельника болотного, установленные с помощью спектрофотометрического, цветометрического и хроматографического исследования.

4. С помощью регрессионного и корреляционного анализов выявлена возможность прогнозировать содержание БАВ в корневищах с корнями сабельника болотного по морфологическим параметрам листьев и их частей.

Личный вклад соискателя

Соискателем выполнена вся экспериментальная часть диссертационной работы по фармакогностическому анализу корневищ с корнями сабельника болотного; получению и фитохимическому анализу настойки корневищ с корнями сабельника болотного; эксперименты с лабораторными животными: острая токсичность водных и водно-спиртовых извлечений корневищ с корнями сабельника болотного, противовоспалительная активность выделенной суммы проантоцианидинов и водно-спиртовых извлечений корневищ с корнями сабельника болотного. Соискатель участвовала в проведении исследований по изучению противопаразитарной активности настойки из корневищ с корнями сабельника болотного в совместно с сотрудниками УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» А.И. Ятусевич, Н.Г. Толкач, Л.В. Титович. Все этапы научно-исследовательской работы: проведение аналитического обзора литературы, создание базы данных, систематизация, статистическая и графическая обработка полученных данных, написание, оформление публикаций и рукописи диссертации, автореферата выполнены соискателем лично. Научным руководителем была предложена тема диссертационного исследования, оказана консультативная помощь в организации исследования и обсуждении полученных результатов. Написание публикаций, включая фармакопейную статью и два патента, осуществлялось соискателем. Конкретный вклад соискателя в совместные публикации по теме диссертации составляет 90%. Сотрудниками Института биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук М.Я. Ловковой, С.М. Соколовой осуществлялась методическая и консультативная помощь при выполнении экспериментальных исследований и интерпретации полученных результатов. Доцентом кафедры военной подготовки и экстремальной медицины УО «Витебский государственный медицинский университет» Г.Д. Коробовым осуществлялась консультативная и методическая помощь в интерпретации результатов по статистической обработке данных противовоспалительной активности проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного. Доцентом кафедры ботаники Гродненского государственного университета им. Я. Купалы О.В. Созиновым осуществлялась консультативная помощь при разработке методических подходов взятия репрезентативных образцов, в наибольшей степени отражающих влияние эколо-

гических условий на форму, размеры листьев отдельных особей и ценопопуляции в целом изучаемого вида.

Апробация результатов диссертации

Материалы диссертации доложены и обсуждены на международных научных конференциях «Студенческая медицинская наука XXI века» (Витебск, 2007, 2008 гг.); на научных конференциях молодых учёных и студентов УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» «Актуальные вопросы современной медицины и фармации» (2007, 2008, 2009 гг.); на научных сессиях УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» «Достижения фундаментальной клинической медицины и фармации» (2008, 2009 гг.); представлены на первой Республиканской научно - практической конференции «Национальная лекарственная политика» (Витебск, 2008 г.).

Опубликованность результатов диссертации

Основные результаты диссертационной работы опубликованы в 11 статьях (4,5 авторских листа) в журналах, рекомендованных ВАК для опубликования результатов диссертационных исследований (в том числе 2 статьи в зарубежных журналах); 8 статьях в сборниках материалов научных конференций и тезисов докладов (1,0 авторский лист); одной фармакопейной статье в Государственной фармакопее Республики Беларусь Т. 2, 2008; поданы две заявки на патент.

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, общей характеристики работы, основной части, включающей 5 глав (аналитический обзор литературы и четыре главы экспериментальных исследований), заключения, списка библиографических источников и приложений. Она изложена на 197 страницах машинописного текста, содержит 51 рисунок и 43 таблицы объемом 75 страниц, 7 приложений объемом 20 страниц. Список использованных библиографических источников объемом 26 страниц включает 330 наименований, в том числе 236 иностранных источников и 22 собственные публикации.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ

Глава 1 Аналитический обзор литературы

В обзоре рассмотрены строение и классификация проантоцианидинов, методы их качественного анализа и количественного определения, основные фармакологические свойства.

Глава 2 Фармакогностический анализ и разработка нормативной документации на корневища с корнями сабельника болотного

Установлено, что химический состав сабельника болотного представлен по-

лифенольным комплексом, в котором преобладают дубильные вещества, главным образом, конденсированные – проантоцианидины.

Исследование количественного содержания суммы проантоцианидинов в различных органах сабельника болотного показало, что сырьем с наибольшим содержанием суммы проантоцианидинов являются, преимущественно, корневища с корнями и стебли (таблица 1), которые и были нами предложены в качестве ЛРС сабельника болотного.

Таблица 1 – Содержание суммы проантоцианидинов (X,%) в различных органах сабельника болотного (n=16; P=0,95)

Сырьё	X, %
Стебли	4,48±0,19
Корневища с корнями	4,63±0,19
Листья	1,45±0,06
Цветки	0,72±0,11

Выявлен новый диагностический признак, позволяющий устанавливать подлинность цельного и измельченного сырья при микроскопическом анализе сабельника болотного: в паренхиме корневищ и укоролившихся стеблей содержатся многочисленные включения пурпурного цвета.

Установлены нормы показателей качества корневищ с корнями сабельника болотного: потеря в массе при высушивании – не более 13,0%, золы общей – не более 6,0%, золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте – не более 2,0%. Допустимые примеси: несырьевые части растения, а именно, листья и другие части растения, в том числе отделенные при анализе – не более 10%. Органические примеси – не более 3%. Минеральные примеси – не более 1%.

Определение подлинности корневищ с корнями сабельника болотного проводили методом ТСХ. Пластинку «Сорбфил ПТСХ-В» хроматографировали в подвижной фазе, содержащей этилацетат – метанол – воду очищенную – кислоту муравьиную безводную (8,5:0,3:0,35:0,4, об/об/об/об), опрыскивали раствором 1 г/л ванилина в 96% спирте этиловом, затем погружали на 1-2 мин в раствор 10 г/л кислоты серной в 96% спирте этиловом. В качестве раствора сравнения применяли водно – спиртовое извлечение зеленого чая. Полученную хроматограмму высушивали при температуре 100-105°C в течение 5 минут и просматривали при дневном свете. На хроматограмме раствора сравнения в верхней трети пластинки должны обнаруживаться пять зон красного цвета (катехины чая). На хроматограмме испытуемого раствора – одна или несколько зон красного цвета в средней и верхней части пластинки (проантоцианидины и катехины).

Количественное определение проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного проводили по методике, основанной на окислительной деполимеризации олигомерных и полимерных проантоцианидинов при нагревании в кислой среде до окрашенных продуктов (антоцианидинов) в присутствии катали-

затора (ионов Fe^{3+}). Подобраны оптимальные условия извлечения суммы проантоцианидинов из корневищ с корнями сабельника болотного (тип экстрагента – 70% спирт этиловый, измельченность сырья – 250 мкм, время экстрагирования – 20 мин, соотношение сырья и экстрагента – 1:40).

Предложенная методика обладает высокой точностью (значение S_r не превышает 0,07). Специфичность и правильность результатов контролировали методом добавок стандарта проантоцианидина В₂, при этом относительная погрешность определения не превышает 2,16%. Линейный диапазон определяемых содержаний составляет 0,034–0,210 мг суммы проантоцианидинов в пробе.

Для определения оптимальных условий сушки свежесобранные образцы корневищ с корнями сабельника болотного высушивали при различных температурных режимах: 20, 40, 60, 80, 110°C в сушильных шкафах без принудительной вентиляции. Результаты представлены на рисунке 1. Оптимальной для данного сырья является сушка в естественных условиях. Исследование корневищ с корнями сабельника болотного, не подвергавшихся сушке, показало, что сушка при комнатной температуре (20°C) не оказывает влияния на содержание суммы проантоцианидинов: содержание суммы проантоцианидинов в корневищах с корнями сабельника болотного, высушенных при 20°C, составило $5,40 \pm 0,18\%$, а в свежем сырье, не подвергавшемся сушке – $5,50 \pm 0,20\%$. Результаты статистически не отличаются: $t_{\text{эсп}} < t_{\text{крит}}$; $t_{\text{эсп}} = 1,85$; $t_{\text{крит}} (P=0,95; f=4) = 2,78$.

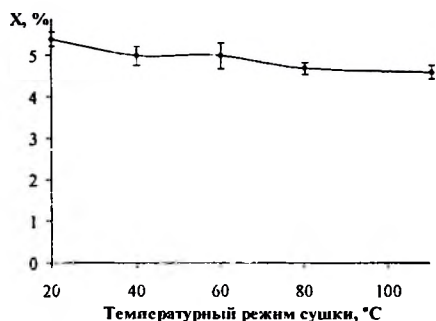
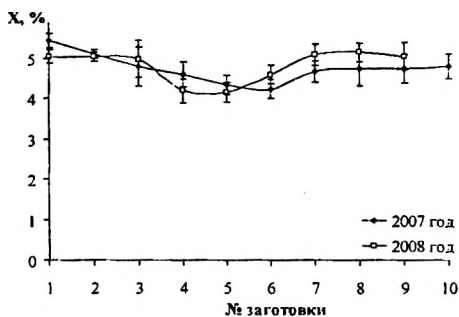


Рисунок 1 – Зависимость содержания суммы проантоцианидинов (X,%) в корневищах с корнями сабельника болотного от температурного режима сушки сырья

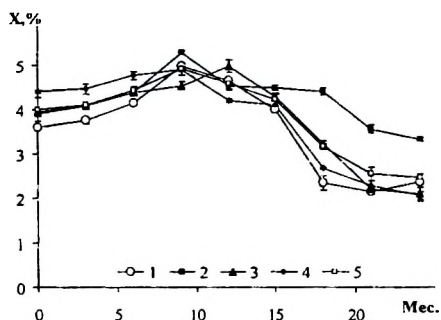
Для определения динамики накопления суммы проантоцианидинов заготовку корневищ с корнями проводили в течение двух вегетационных периодов сабельника болотного (2007, 2008 гг.) в соответствии с прохождением растения последовательных фаз вегетации. Полученные результаты представлены на рисунке 2. Содержание суммы проантоцианидинов в корневищах с корнями в течение вегетационного периода сабельника болотного колеблется незначительно. Но, с учетом происходящих колебаний в содержании основной группы БАВ, рекомендовано заготавливать корневища с корнями сабельника болотного в период конец августа – октябрь (фаза увядания).



1 – отрастание; 2, 3 – стеблевание; 4 – бутонизация; 5, 6 – цветение; 7 – плодоношение; 8, 9, 10 – увядание

Рисунок 2 – Зависимость содержания суммы проантоцианидинов (X, %) в корневищах с корнями сабельника болотного от фаз вегетации растения

в корневищах с корнями сабельника болотного 1 раз в квартал, а также потери в массе при высушивании, золы и содержания примесей – 1 раз в год. В течение двух лет изучаемые показатели соответствовали установленным нами в фармакопейной статье нормам. Рекомендуемый срок хранения – два года.



1 – д. Казакова; 2 – д. Лебартово; 3 – д. Войтово; 4 – д. Осиповщина; 5 – г.п. Улановичи

Рисунок 3 – Зависимость содержания суммы проантоцианидинов (X, %) в корневищах с корнями сабельника болотного от срока естественного хранения

Определение сроков хранения корневищ с корнями сабельника болотного проводили методами естественного и ускоренного хранения. При хранении сырья в бумажных пакетах в первые 12 месяцев происходит увеличение содержания проантоцианидинов, а затем их содержание начинает снижаться (рисунок 3). Вероятнее всего, это связано с постепенной деполимеризацией высокомолекулярных проантоцианидинов до проантоцианидинов с более низкой молекулярной массой и мономеров, которые являются более доступными для экстракции. Осуществляли контроль содержания суммы проантоцианидинов

Результаты, полученные в ускоренных испытаниях, следует рассматривать как дополнительные данные к результатам, полученным в процессе естественного хранения ЛРС. Нами были изучены изменения в химическом составе, цветовых параметрах листьев и корневищ с корнями сабельника болотного при ускоренном старении в упаковке с высокими защитными свойствами и без защитных свойств. В термостат помещали 2 серии сырья: 1-ая серия – измельченные листья и корневища с корнями сабельника болотного, находящиеся в открытом виде; 2-ая серия – в герметично укупленном виде. Экспери-

ментальные образцы сабельника болотного выдерживали в термостате при температуре 60°C различное по продолжительности время: 2, 6, 9, 16 дней и исследовали.

При ускоренном старении открытой серии корневищ с корнями сабельника болотного происходит снижение содержания проантоцианидинов с некоторым увеличением в первые 10 дней. Такая динамика содержания суммы проантоцианидинов согласуется с результатами естественного хранения корневищ с корнями сабельника болотного. Герметизация корневищ с корнями сабельника болотного в процессе ускоренного старения способствует значительному снижению содержания суммы проантоцианидинов в первые 10 дней.

В процессе ускоренного старения проб листьев и корневищ с корнями сабельника болотного происходит изменение цвета ЛРС. Для количественной оценки возможных связей изменения цветовых параметров с содержанием различных групп БАВ проводили цветометрическое исследование проб листьев и корневищ с корнями сабельника болотного, подвергнутых ускоренному старению. При исследовании изменений цветовых характеристик проб порошка листьев сабельника болотного установлено, что цвет проб (в координатах RGB (Red – красный, Green – зеленый, Blue – синий) и Hue (Hue – цвет, Brightness – яркость, Saturation – насыщенность)), подвергнутых ускоренному старению в открытой форме, одинаков, а изменения обусловлены интенсивностью цвета (светлотой), которая постепенно уменьшается. При ускоренном старении проб в закрытой форме происходит увеличение интенсивности цвета со значительным сдвигом спектра влево, в сторону красных тонов. При визуальной оценке четко наблюдается переход цвета сырья от серо-зеленого до буро-зеленого или буровато-зеленого. Это свидетельствует о разнонаправленном характере и различной интенсивности процессов, происходящих при ускоренном старении в открытой и закрытой формах.

Проведен регрессионный анализ связи содержания фенольных соединений и проантоцианидинов с цветовыми параметрами ЛРС. Наибольшее число достоверных связей выявлено для листьев сабельника болотного и наименьшее – для корневищ с корнями. Для листьев сабельника болотного число связей закономерно увеличивается при переходе от открытого к закрытому варианту ускоренного старения, одновременно меняется характер связей – от нелинейных к линейным. В наибольшей степени с цветовыми параметрами листьев сабельника связано содержание проантоцианидинов и, в значительно меньшей степени, фенольных соединений.

Определение содержания суммы проантоцианидинов проводили в корневищах с корнями сабельника болотного, собранных в различных регионах Республики Беларусь и Российской Федерации. Содержание суммы проантоцианидинов колеблется в пределах от 2,94±0,09% до 5,56±0,11% и в среднем составляет

около $4,19 \pm 0,13\%$. Установлен показатель содержания суммы проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного в нормативной документации не менее $2,00\%$.

Глава 3 Качественный и количественный состав БАВ корневищ с корнями, взаимосвязь морфологических параметров листьев с содержанием БАВ листьев и корневищ с корнями сабельника болотного

Проведение качественного химического анализа показало, что состав корневищ с корнями сабельника болотного представлен, главным образом, фенольными соединениями, среди которых доминируют проантоцианидины. Также присутствуют флавоноиды и фенолкарбоновые кислоты.

На основании измерения видимых и легко определяемых в полевых условиях морфологических признаков можно прогнозировать содержание БАВ в ЛРС. Для этого определяли взаимосвязь между морфологическими параметрами (размер, форма) листьев сабельника болотного и накоплением в них фенольных соединений, флавоноидов и проантоцианидинов. В качестве индикаторной выбрана терминальная листовая пластинка листа сабельника болотного. С помощью регрессионного анализа при аппроксимации зависимостей полиномом первой степени установлено, что с параметрами размеров и формы в наибольшей степени связано содержание фенольных соединений, в меньшей - флавоноидов и проантоцианидинов. С уменьшением размеров листьев и увеличением вытянутости терминальной листовой пластинки происходит увеличение содержания исследуемых групп БАВ.

Для определения связи содержания различных групп БАВ в терминальной листовой пластинке листьев (собранных в период их максимального развития – стадия цветения – начало плодоношения) и в корневищах с корнями (собранных в период их заготовки – конец вегетационного периода), собирали образцы корневищ с корнями сабельника болотного из тех же мест произрастания и исследовали. С помощью корреляционного анализа выявлено, что наблюдается тесная связь между содержанием проантоцианидинов в листьях и корневищах ($r=0,99$) сабельника болотного. Таким образом, показана возможность прогнозировать содержание проантоцианидинов в корневищах с корнями сабельника болотного (в осенний период) по морфологическим параметрам листьев и их частей (в летний период). Для суммы фенольных соединений и флавоноидов зависимости не достоверны ($r < 0,53$).

Нами разработана методика количественного определения фенольных соединений корневищ с корнями сабельника болотного денситометрическим методом: в качестве матрицы использовали хроматографическую бумагу, проявление проводили реактивом Брентда (смесь водных растворов железа хлорида (III) и гексацианоферрата (III) калия (феррицианида)), в качестве стандартного образца при-

меняли галловую кислоту. Оптимальная концентрация проявляющего реактива, равная 0,5 %, установлена экспериментально. Фенольные соединения проявляются в виде полосок темно-синего цвета на бесцветном или слегка голубоватом фоне. Полученное цифровое изображение обрабатывали с помощью компьютерной программы ImageJ ver. 1.42k. Разработанная методика обладает высокой точностью (значение S_r не превышает 0,03). Правильность результатов методики количественного определения суммы фенольных соединений в корневищах с корнями сабельника болотного денситометрическим методом проверяли, сравнивая результаты с известной методикой спектрофотометрического определения фенольных соединений с реактивом Фолина-Чокальте, в пересчете на галловую кислоту. Результаты, полученные по предложенной нами методике, статистически не отличаются от результатов методики сравнения: $t_{\text{экс}} < t_{\text{крит}}$; $t_{\text{экс}}=1,47$; $t_{\text{крит}}$ ($P=0,95$; $f=7$)=2,37.

Глава 4 Компонентный состав проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного

Качественный анализ и количественное определение проантоцианидинов в растительных объектах связаны с определенными сложностями: сложным строением проантоцианидинов, одновременным присутствием в растениях проантоцианидинов с разной степенью полимеризации и различным строением мономерных звеньев. В процессе хранения ЛРС может происходить полимеризация или деполимеризация проантоцианидинов. Поэтому при стандартизации ЛРС следует проводить определение суммы проантоцианидинов или фракции проантоцианидинов с определенным интервалом степени полимеризации. Степень полимеризации проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного устанавливали путем фракционирования на колонке с сорбентом Диасорб-100-С₁₆. Доминирующими являются низкомолекулярные проантоцианидины со степенью полимеризации меньше 5. По результатам фракционирования на колонках с полиамидом и Sephadex LH-20 доминирующей группой являются олигомеры проантоцианидинов со степенью полимеризации 2-8. Полноту разделения суммы проантоцианидинов контролировали методами ТСХ и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Компонентный состав проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного устанавливали путем идентификации продуктов кислотной деполимеризации проантоцианидинов – антоцианидинов и с помощью флороглюцинового метода.

Для идентификации продуктов кислотной деполимеризации проантоцианидинов корневища с корнями сабельника болотного экстрагировали смесью 96% спирта этилового и концентрированной хлористоводородной кислоты. Полученный экстракт, окрашенный в красный цвет, очищали методом колоночной

хроматографии на полиамиде. По ходу движения элюента (раствора 80% метанола водного, содержащего 0,01% от объема смеси кислоты хлористоводородной концентрированной) в колонке наблюдали одну четко выраженную зону окрашивания. После отбора фракции, соответствующей этой зоне, и её упаривания было получено соединение, окрашенное в малиново – фиолетовый цвет. Идентификацию проводили методами ТСХ, ВЭЖХ и УФ – спектроскопией. В результате идентифицирован цианидин.

Хроматографическое исследование извлечения корневищ с корнями сабельника болотного до и после проведения реакции с флороглюцином позволило установить, что основными продуктами деполимеризации проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного являются катехин и эпикатехин. Исследование методом ТСХ подтвердило сделанные выводы (таблица 2).

Таблица 2 – Значения Rf хроматографических пятен, полученных на пластинках «Сорбфил ПТСХ-В» (1) и в тонком слое целлюлозы (2), извлечения корневищ с корнями сабельника болотного после проведения реакции с флороглюцином

Вещество	Rf (1)	Rf (2)
катехин	78-80	48-50
эпикатехин	84-86	52-55

Глава 5 Изучение токсикологических свойств и фармакологической активности проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного

Острую токсичность водных и водно – спиртовых извлечений корневищ с корнями сабельника болотного исследовали на мышах обоего пола. Отсутствие гибели животных при максимально возможном объеме введения в желудок позволяют, согласно классам токсичности веществ в соответствии с модифицированной классификацией Организации экономического содействия и развития, водные и водно – спиртовые извлечения отнести к VI классу, т.е. относительно безвредные (ЛД₅₀ более 5000 мг/кг).

Изучение противовоспалительных свойств проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного проводили с помощью карагиненовой модели. Эксперименты проводились на 90 крысах – самцах линии Wistar. Водно – спиртовые извлечения корневищ с корнями сабельника болотного вводили внутрижелудочно в течение 5 дней в дозах 460, 630 и 930 мг/кг, в пересчете на сухой остаток. Сумму проантоцианидинов, выделенную и очищенную с помощью сорбента Sephadex LH-20, вводили внутрижелудочно в течение 5 дней в дозах 10, 20 и 40 мг/кг, в пересчете на сухой остаток. В качестве препарата сравнения использовали ацетилсалициловую кислоту в дозе 200 мг/кг, контрольная группа животных получала эквивалентный объем воды очищенной. Острое экссудативное воспаление

ние вызывали введением под плантарный (подошвенный) апоневроз правой задней лапы крысы 0,1 мл 1% раствора карагинена, приготовленного на изотоническом растворе хлорида натрия. Через 3,5 часа после инъекции карагинена животных умерщвляли, соблюдая «Правила работы с лабораторными животными». Величину отека определяли по разности масс воспаленной и невоспаленной лапок, ампутированных на уровне голеностопных суставов. Об интенсивности воспаления судили по проценту угнетения отека на пике воспаления, скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и содержанию лейкоцитов в крови. Выделенная сумма проантоцианидинов обладает противовоспалительным действием (таблица 3).

Таблица 3 – Влияние суммы проантоцианидинов на угнетение отека лапы крысы при моделировании карагиненового воспаления (n=10)

Экспериментальная группа	Доза, мг/кг	Угнетение отека на пике воспаления, %
Контроль (вода очищенная)	—	—
Ацетилсалициловая кислота	200	46,0-88,0*
Сумма проантоцианидинов	10	27,0-67,7*
Сумма проантоцианидинов	20	53,5-82,3*
Сумма проантоцианидинов	40	63,3-87,6*

Примечание - * - $P < 0,05$ по сравнению с контролем (однофакторный дисперсионный анализ)

Для оценки зависимостей угнетения отека от введенной дозы водно – спиртовых извлечений и выделенной суммы проантоцианидинов использовали регрессионный анализ при аппроксимации зависимостей полиномом второй степени.

Противовоспалительный эффект выделенной и очищенной суммы проантоцианидинов носит дозозависимый характер. Максимальное действие наблюдается в дозе около 30 мг/кг. Максимальный эффект противовоспалительной активности водно – спиртовых извлечений из корневищ с корнями сабельника болотного проявляется в дозе около 200 мг/кг.

Под действием водно – спиртовых извлечений из корневищ с корнями сабельника болотного и выделенной суммы проантоцианидинов происходит достоверное снижение СОЭ и лейкоцитов в крови по сравнению с контрольной группой животных.

Вскрытие желудков крыс и визуальный осмотр их слизистой оболочки показал, что водно – спиртовые извлечения сабельника болотного, выделенная и очищенная сумма проантоцианидинов не оказывают ulcerогенного действия.

Для изучения противопаразитарной активности проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного получали настойку на 70% спирте этиловом. Настойку стандартизировали по сумме проантоцианидинов, сумме полифенольных соединений, сумме конденсированных и мономерных катехинов. Рекомен-

дурмый срок хранения настойки корневищ с корнями сабельника болотного – 2 года.

Исследования проводили на 60 овцах в возрасте 5-6 месяцев, спонтанно инвазированных стронгилятозами желудочно-кишечного тракта: 3 мл/кг настойки 1 раз в день в течение 3 дней (группа 1); 5 мл/кг настойки однократно (группа 2); контрольная (группа животных, не получающая препарат) (группа 3); 3 мл/кг 70% спирта этилового 1 раз в день в течение 3 дней (группа 4); 5 мл/кг 70% спирта этилового однократно (группа 5). Во избежание коагуляции белков настойку из корневищ с корнями сабельника болотного и 70% спирт этиловый при введении животным разбавляли водой очищенной до достижения концентрации этилового спирта около 40% (об/об). Противопаразитарную активность настойки корневищ с корнями сабельника болотного оценивали по динамике интенсивности инвазии, проводя копроскопические исследования по методу Дарлинга, до введения настойки сабельника болотного, а также через 1, 3, 5, 7 и 14 дней после ее применения. Настойка из корневищ с корнями сабельника болотного обладает выраженной противопаразитарной активностью (таблица 4). К концу эксперимента количество лейкоцитов и доля эозинофилов от общего числа лейкоцитов крови в группе животных, получавших настойку (группа 1), достоверно снизилось по сравнению с группой контроля, что указывает на противовоспалительное и противопаразитарное действие настойки корневищ с корнями сабельника болотного.

Таблица 4 – Противопаразитарная активность настойки из корневищ с корнями сабельника болотного (n=10)

Экспериментальная группа	До дегельминтизации		После дегельминтизации			
	ЭИ, %	ИИ, в 1 г фекалий	ЭИ, %	ЭЭ, %	ИИ, в 1 г фекалий	ИЭ, %
Группа 1	100	364,5±44,3	20	80	7,3±4,6*□	97,9
Группа 2	100	262,6±37,8	20	80	9,2±3,4*□	96,5
Группа 3	100	487,2±54,5	100	0	543,6±60,3	0
Группа 4	100	692,7±98,8	100	0	700,3±120,6	0
Группа 5	100	583,4±70,8	100	0	602,1±90,2	0

Примечание – ЭИ – эффективность инвазии, ИИ – интенсивность инвазии, ЭЭ – экстенсэффективность, ИЭ – интенсэффективность, * - P<0,05 (критерий Манна-Уитни) по сравнению с контролем, □ - P<0,05 (критерий Вилкоксона) по сравнению с результатами до дегельминтизации

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Сырьем сабельника болотного с наибольшим содержанием суммы проантоцианидинов являются корневища с корнями [1, 12, 16]. Выявлен новый микроскопический диагностический признак корневищ с корнями сабельника болотного: многочисленные включения пурпурного цвета в клетках паренхимы [20].

Установлены нормы числовых показателей сырья: потеря в массе при высушивании – не более 13,0%; золы общей – не более 6,0%; золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте – не более 2,0%; несырьевых частей растения, а именно, листьев и других частей растения, в том числе отделенных при анализе – не более 10%; органической примеси – не более 3%; минеральной примеси – не более 1%, показатель содержания суммы проантоцианидинов – не менее 2,00% [4, 13, 20].

Установлены оптимальные: период заготовки корневищ с корнями сабельника болотного – конец августа – октябрь (фаза увядания), режим сушки – комнатная температура, срок годности – 2 года [15].

Предложена методика определения подлинности корневищ с корнями сабельника болотного методом ТСХ [20].

Предложена методика количественного определения суммы проантоцианидинов в корневищах с корнями сабельника болотного спектрофотометрическим методом, основанная на окислительной деполимеризации олигомерных и полимерных проантоцианидинов при нагревании в кислой среде до окрашенных продуктов (антоцианидинов) в присутствии катализатора (ионов Fe^{3+}). Подобраны оптимальные условия извлечения суммы проантоцианидинов из корневищ с корнями сабельника болотного (тип экстрагента – 70% спирт этиловый, измельченность сырья – 250 мкм, время экстрагирования – 20 мин, соотношение сырья и экстрагента – 1:40). Погрешность единичного определения не превышает $\pm 4,38\%$ ($p=0,95$) [1, 20].

Предложена методика количественного определения фенольных соединений корневищ с корнями сабельника болотного с применением планшетного сканера в качестве аналитического инструмента и компьютерных программ цифровой обработки изображений. Погрешность единичного определения не превышает $\pm 2,30\%$ ($p=0,95$). Результаты, полученные по предложенной нами методике, статистически не отличаются от результатов методики сравнения: $t_{\text{ксп}} < t_{\text{крит}}$; $t_{\text{ксп}}=1,47$; $t_{\text{крит}}(p=0,05; f=7)=2,37$ [8].

Установлены параметры подлинности настойки корневищ с корнями сабельника болотного: качественное обнаружение суммы проантоцианидинов методом ТСХ; и доброкачественности: количественное содержание спирта этилового – 65,0 – 75,0% по объему; плотность – 0,8617 – 0,9075 г/см³; сухой остаток – не менее 2,00%, количественное содержание суммы проантоцианидинов – не менее 0,20%, полифенольных соединений – не менее 0,60%, конденсированных и мономерных катехинов – не менее 1,50%; срок годности – 2 года.

При изучении химического состава впервые определена доминирующая группа суммы проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного: олигомеры проантоцианидинов со степенью полимеризации 2-8 (фракционирование на Sephadex LH-20 и полиамиде), низкомолекулярные проантоцианидины со

степенью полимеризации меньше 5 (фракционирование на сорбенте Диасорб-100-С16) [2, 14, 19].

С помощью флороглюцинового метода установлен состав проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного: [эпикатехин-(4 β →8)-катехин]_n, [эпикатехин-(4 β →8)-эпикатехин]_n, [катехин-(4 β →8)-катехин]_n, [катехин-(4 β →8)-эпикатехин]_n [6]. Выделен и идентифицирован методами ТСХ, ВЭЖХ и УФ – спектроскопией антоцианидин корневищ с корнями сабельника болотного – цианидин [11].

2. Впервые доказано, что противовоспалительная активность корневищ с корнями сабельника болотного обусловлена суммой проантоцианидинов [3, 7]. Противовоспалительный эффект выделенной и очищенной суммы проантоцианидинов носит дозозависимый характер. Максимальное действие наблюдается в дозе около 30 мг/кг. Максимальный эффект противовоспалительной активности водно – спиртовых извлечений из корневищ с корнями сабельника болотного проявляется в дозе около 200 мг/кг.

Водно – спиртовые извлечения из корневищ с корнями сабельника болотного и выделенная сумма проантоцианидинов ультракоротким действием не обладают [3].

Согласно классам токсичности веществ в соответствии с модифицированной классификацией Организации экономического содействия и развития, водные и водно – спиртовые извлечения корневищ с корнями сабельника болотного относятся к VI классу, т.е. относительно безвредные (ЛД₅₀ более 5000 мг/кг) [18].

Впервые обнаружено противопаразитарное действие корневищ с корнями сабельника болотного [17, 21, 22].

3. С помощью хроматографического и спектрофотометрического методов выявлено, что при ускоренном старении открытой серии корневищ с корнями сабельника болотного происходит снижение содержания проантоцианидинов с некоторым увеличением в первые 10 дней: постепенная деполимеризация высокомолекулярных проантоцианидинов с накоплением проантоцианидинов, имеющих более низкие степени полимеризации, которые являются более доступными для экстракции. Такая динамика содержания суммы проантоцианидинов согласуется с результатами естественного хранения корневищ с корнями сабельника болотного. Герметизация корневищ с корнями сабельника болотного в процессе ускоренного старения способствует значительному снижению содержания суммы проантоцианидинов в первые 10 дней [5].

С помощью цветометрического исследования установлено, что изменения цвета проб листьев сабельника болотного, подвергнутых ускоренному старению: цвет проб, подвергнутых ускоренному старению в открытой форме, одинаков, а изменения обусловлены интенсивностью цвета (светлотой), которая уменьшается.

В закрытой форме установлено увеличение интенсивности цвета со значительным сдвигом спектра влево, в сторону красных тонов.

Изменения химического состава сырья в процессе ускоренного старения связаны с цветовыми параметрами листьев и корневищ с корнями сабельника болотного. Наибольшее число достоверных связей содержания фенольных соединений с цветовыми характеристиками выявлено для листьев сабельника болотного и наименьшее – для корневищ с корнями, число линейных связей закономерно увеличивается при переходе от открытого к закрытому варианту ускоренного старения. В наибольшей степени с цветовыми параметрами листьев сабельника болотного связано содержание проантоцианидинов и, в значительно меньшей степени, фенольных соединений [9].

4. С помощью регрессионного и корреляционного анализов выявлено, что с уменьшением размеров листьев и увеличением вытянутости терминальной листовой пластинки происходит увеличение содержания фенольных соединений, проантоцианидинов и флавоноидов. Наблюдается тесная связь между содержанием проантоцианидинов в листьях и корневищах ($r=0,99$) сабельника болотного: показана возможность прогнозировать содержание проантоцианидинов в корневищах с корнями сабельника болотного (в осенний период) по морфологическим параметрам листьев и их частей (в летний период) [10].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Разработана и включена в Государственную Фармакопею Республики Беларусь Т. 2 фармакопейная статья «Сабельника болотного корневища с корнями» [20]. Критерии подлинности и доброкачественности корневищ с корнями сабельника болотного используются в контрольно-аналитических лабораториях и при приемке сырья от заготовителей на промышленных предприятиях.

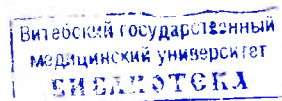
Корневища с корнями сабельника болотного рекомендуется использовать в качестве источника соединений с противопаразитарной активностью. Поданы две заявки на патент и получены приоритетные справки [21, 22].

Условия заготовки, сушки и сроки хранения корневищ с корнями сабельника болотного рекомендуется учитывать при заготовке и приведении сырья в стандартное состояние.

Список публикаций соискателя

Статьи в научных журналах

1. Ёршик, О.А. Количественное определение проантоцианидинов в сабельнике болотном *Comarum palustre* L. / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Вестник фармации. – 2007. - № 4. – С. 10-17.
2. Ёршик, О.А. Фракционирование проантоцианидиновых комплексов корневищ с корнями сабельника болотного *Comarum palustre* L. / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Вестник фармации. – 2008. - № 1. – С. 18-24.
3. Ёршик, О.А. Изучение противовоспалительной активности проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного *Comarum palustre* L. / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук, Г.Д. Коробов // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2008. – Т. 7, № 2. – С. 151-158.
4. Ёршик, О.А. Корневища с корнями сабельника болотного как новый источник проантоцианидинов. / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Вестник фармации. – 2008. - № 2. – С. 28-30.
5. Ёршик, О.А. Ускоренное старение сабельника болотного *Comarum palustre* L. / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Вестник фармации. – 2008. - № 2. – С 59-66.
6. Ёршик, О.А. Компонентный состав проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного *Comarum palustre* L. / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Вестник фармации. – 2008. - № 3. – С 28-34.
7. Бузук, Г.Н. Новый источник проантоцианидинов с противоартритной активностью - корневища с корнями сабельника болотного (*Comarum palustre* L.). / Г.Н. Бузук, М.Я. Ловкова, О.А. Ёршик, С.М. Соколова // Доклады РАН. – 2008. – Т. 421. – № 4. – С. 546-548.
8. Ёршик, О.А. Применение сканера и компьютерных программ цифровой обработки изображений для количественного определения фенольных соединений корневых с корнями сабельника болотного / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Вестник фармации. – 2008. - № 4. – С. 6-12.
9. Ёршик, О.А. Взаимосвязь содержания проантоцианидинов, фенольных соединений с цветовыми параметрами листьев, корневищ с корнями сабельника болотного при ускоренном старении / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Вестник фармации. – 2009. - № 1. – С. 28-41.
10. Ёршик, О.А. Морфометрия сабельника болотного: взаимосвязь размеров, формы и химического состава листьев / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук, О.В. Созинов // Вестник фармации. – 2009. – № 1. – С. 13-27.
11. Ёршик, О.А. Определение продуктов деструкции проантоцианидинов в корневищах с корнями сабельника болотного / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Хим. фарм. журн. – 2009. – Т. 43, № 7. – С. 32-33.



Статьи в сборниках материалов научных конференций и тезисы докладов:

12. Ёршик, О.А. Изучение содержания полифенолов в различных органах сабельника болотного / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 59-ой итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых. Витебск, 26-27 апреля 2007 г. / ВГМУ; редкол.: А.П. Солодков и др.– Витебск, 2007. – С. 202-203.
13. Ёршик, О.А. Разработка показателей качества сырья сабельника болотного / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Студенческая медицинская наука XXI века: материалы VII международной научно-практической конференции. Витебск, 1-2 ноября 2007 г. / ВГМУ; редкол.: А.П. Солодков и др.– Витебск, 2007. – С. 264-265.
14. Ёршик, О.А. Фракционирование проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Достижения фундаментальной клинической медицины и фармации: материалы 63-й научной сессии университета, Витебск, 26-27 марта 2008 г. / ВГМУ; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2008. – С. 63-66.
15. Ёршик, О.А. Проантоцианидины сабельника болотного: динамика накопления в течение вегетации, оптимальные условия сушки корневищ с корнями / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 60-ой итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых. Витебск, 24-25 апреля 2008 г. / ВГМУ; редкол.: А.П. Солодков и др.– Витебск, 2008. – С. 533-535.
16. Ёршик, О.А. Определение неэкстрагируемой суммы проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Студенческая медицинская наука XXI века: материалы VIII международной научно-практической конференции. Витебск, 13-14 ноября 2008 г. / ВГМУ; редкол.: А.П. Солодков и др.– Витебск, 2008. – С. 501-503.
17. Ёршик, О.А. Изучение противопаразитарной активности настойки корневищ с корнями сабельника болотного / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук, А.И. Ятусевич, Н.Г. Голкач, Л.В. Титович // Достижения фундаментальной клинической медицины и фармации: материалы 64-ой юбилейной научной сессии университета, посвященной 75-летию его образования. Витебск, 26-27 марта 2009 г. / ВГМУ; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2009. – С. 85-87.
18. Ёршик, О.А. Токсикологические свойства корневищ с корнями сабельника болотного / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Достижения фундаментальной клинической медицины и фармации: материалы 64-ой юбилейной научной сессии университета, посвященной 75-летию его образования. Витебск, 26-27 марта 2009 г. / ВГМУ; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2009. – С. 84-85.
19. Ёршик, О.А. Выделение суммы проантоцианидинов корневищ с корнями сабельника болотного на сорбенте Sephadex LH-20 / О.А. Ёршик, Г.Н. Бузук // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 61-ой итоговой

научно-практической конференции студентов и молодых ученых университета, посвященной 75-летию его образования. Витебск, 23-24 апреля 2009 г. / ВГМУ; редкол.: А.П. Солодков [и др.]. – Витебск, 2009. – С. 246-248.

Фармакопейная статья

20. Сабельника болотного корневища с корнями / Государственная Фармакопея Республики Беларусь. Т. 2. Контроль качества вспомогательных веществ и лекарственного растительного сырья / Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении; под общ. ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: Типография «Победа», 2008. – С. 414-416.

Приоритетные справки

21. Способ получения настойки из корневищ с корнями сабельника болотного 1:5 и применение её в качестве противопаразитарного средства: заявка на пат. Респ. Беларусь, МКП (2006) А 61 К 47/10 / Г.Н. Бузук, О.А. Ёршик, А.И. Ятусевич, Н.Г. Толкач, Л.В. Титович; заявитель Витебский государственный медицинский университет, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – № а 20080748: заявл. 06.06.08 // Уведомление / Нац. центр интеллектуал. собственности.

22. Противопаразитарное средство: заявка на пат. Респ. Беларусь, МКП (2006) А 61 К 36/00 / Г.Н. Бузук, О.А. Ёршик, А.И. Ятусевич, Н.Г. Толкач, Л.В. Титович; заявитель Витебский государственный медицинский университет. – № а 20090507: заявл. 10.04.09 // Уведомление / Нац. центр интеллектуал. собственности.

Рэзюмэ

Ёршык Вольга Аляксандраўна

Фармакагнастычны аналіз шабельніку балотнага

Ключавыя словы: карэнішча з каранямі шабельніку балотнага, праантацыанідзіны, дэнсітаметрыя, колераметрыя, паскоранае старэнне, морфаметрыя, флораглюцынавы метад, танкаслойная храматаграфія.

Мэта работы: правесці фармакагнастычны аналіз шабельніку балотнага і распрацаваць нарматыўную дакументацыю на лекавую раслінную сыравіну для яго выкарыстання ў якасці крыніцы злучэнняў з супрацьзапаalenчай і супрацьпаразітарнай актыўнасцю.

Метады даследавання і апаратура: спектрафотаметрыя, танкаслойная храматаграфія, высокаэфектыўная вадкасная храматаграфія, дэнсітаметрыя, колераметрыя; спектрафотометр СФ-46, вадкасны храматаграф Agilent HP 1100, сканер EPSON Perfection 1270, вагі аналітычныя электронныя Adventure.

Вынікі даследавання і іх навуковая навізна. Упершыню даказана, што супрацьзапаalenчая актыўнасць карэнішча з каранямі шабельніку балотнага абумоўлена ўтрыманнем сумы праантацыанідзінаў, упершыню ўстаноўлены іх якасны і колькасны састаў; упершыню выяўлена супрацьпаразітарная актыўнасць. Атрыманы новыя эксперыментальныя даныя колераметрычнага і храматаграфічнага даследаванняў па заканамернасцях змянення якаснага саставу сумы праантацыанідзінаў у працэсе паскоранага старэння; упершыню выяўлены ўзаемасувязі марфалагічных параметраў лісця і хімічнага саставу лісця і карэнішча з каранямі. Упершыню распрацавана метадыка колькаснага вызначэння фенольных злучэнняў з выкарыстаннем сканера і камп'ютэрных праграм лічбавай апрацоўкі адбітку на экране.

Ступень выкарыстання: распрацаваны і ўключаны ў Дзяржаўную Фармакапею Рэспублікі Беларусь Т. 2 фармакапейны артыкул; аформлены дзве заяўкі на патэнт, атрыманы прыярытэтныя даведкі.

Галіна выкарыстання: фармакагнозія, фармакалогія, стандартызацыя лекавай расліннай сыравіны.

РЕЗЮМЕ

Ёршик Ольга Александровна

Фармакогностический анализ сабельника болотного

Ключевые слова: корневища с корнями сабельника болотного, проантоцианидины, денситометрия, цветометрия, ускоренное старение, морфометрия, флороглюциновый метод, тонкослойная хроматография.

Цель работы: провести фармакогностический анализ сабельника болотного и разработать нормативную документацию на лекарственное растительное сырье для его использования в качестве источника соединений с противовоспалительной и противопаразитарной активностью.

Методы исследования и аппаратура: спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, денситометрия, цветометрия; спектрофотометр СФ-46, жидкостный хроматограф Agilent HP 1100, сканер EPSON Perfection 1270, весы аналитические электронные Adventure.

Результаты исследования и их научная новизна. Впервые доказано, что противовоспалительная активность корневищ с корнями сабельника болотного обусловлена суммой проантоцианидинов, впервые установлен их качественный и количественный состав; впервые выявлена противопаразитарная активность. Получены новые экспериментальные данные цветометрического и хроматографического исследований по закономерностям изменения качественного состава суммы проантоцианидинов в процессе ускоренного старения; впервые выявлены взаимосвязи морфологических параметров листьев и химического состава листьев и корневищ с корнями. Впервые разработана методика количественного определения фенольных соединений с применением сканера и компьютерных программ цифровой обработки изображений.

Степень использования: разработана и включена в Государственную Фармакопею Республики Беларусь Т. 2 фармакопейная статья; оформлены заявки на патент, получены приоритетные справки.

Область применения: фармакогнозия, фармакология, стандартизация лекарственного растительного сырья.

SUMMARY

Yorshyk Volha Alexandrovna

Pharmacognostic analysis of *Comarum palustre*

Keywords: rhizomes with roots, proanthocyanidins, densitometry, colourmetry, accelerated ageing, morphometry, phloroglucinol method, thin layer chromatography.

Am of investigation: to conduct the pharmacognostic analysis of *Comarum palustre* and work out normative documentation on medicinal and vegetable raw materials for their use as source of compounds with anti-inflammatory and antiparasitary activities.

Methods of research and equipment used: spectrophotometry, thin layer chromatography, high performance liquid chromatography, densitometry, colourmetry; spectrophotometer SPh-46, liquid chromatograph Agilent HP 1100, scanner Epson Perfection 1270, analytic electronic scales Adventure.

Results of investigation and their scientific novelty: for the first time it has been proven that the anti-inflammatory activity of rhizomes with roots is conditioned by the sum of proanthocyanidins, for the first time has been established their qualitative and quantitative composition; for the first time antiparasitary activity has been revealed. New experimentary data of the colourmetric and chromatographic researches on regularities of changes of qualitative composition of the sum of proanthocyanidins in the process of accelerated ageing have been obtained; for the first time have been revealed interconnections between morphological parameters of leaves and chemical composition of leaves and rhizomes with roots. For the first time have been devised methods of quantitative definition of phenol compounds, using scanner and computer programs of digital processing of images.

The degree of use: V. 2 pharmacopoeia article has been elaborated and included into State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus; patent applications have been made, priority confirmations have been received.

The field of application: pharmacognosia, pharmacology, standardization of medicinal and vegetable raw materials.



Подписано в печать 27.10.09 Формат 64×84 1/16

Бумага типографская №2. Гарнитура Times New Roman. Усл. печ. л. 1,34

Тираж 60 экз. Заказ № 611

Издательство УО «Витебский государственный медицинский университет»

Лицензия №02330/0549444 от 08.04.2009 г.

Отпечатано на ризографе УО «Витебский государственный медицинский университет»,
210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27