

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ГБОУ ВПО БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ**

На правах рукописи

ШАКИРОВА ФИРЮЗА АЛЬБИРТОВНА

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ
ДЯГИЛЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО (*ARCHANGELICA OFFICINALIS* HOFFM.)**

14.04.02- фармацевтическая химия, фармакогнозия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
доктор фарм. наук,
профессор Н. В. Кудашкина

УФА 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Характеристика рода <i>Archangelica</i>	13
1.2. Ботаническая характеристика вида <i>Archangelica officinalis</i> Hoffm.	15
1.3. Ареал <i>A.officinalis</i>	17
1.4. Химический состав представителей рода <i>Archangelica</i> и их фармакологические свойства	17
1.5. Основные направления использования <i>A.officinalis</i>	27
1.6. Фармакологическая активность биологически активных веществ <i>A. officinalis</i>	29
1.7. Нормативная документация на сырье дягиля	32
Заключение по главе 1	35
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	36
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	36
2.1. Материалы исследования	36
2.2. Методы исследования	36
2.2.1. Определение подлинности сырья	36
2.2.2. Методы определения доброкачественности	37
2.2.3. Методы фитохимического анализа	37
2.2.3.1. Методы качественного анализа биологически активных веществ	37
2.2.3.2. Методы количественного анализа биологически активных веществ	40
2.2.4. Рентгенофлуоресцентный метод	43
2.2.5. Методы исследований биологической активности	43
2.2.6. Методы технологических исследований	48
2.2.7. Методы статистической обработки результатов исследований	48

ГЛАВА 3. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСНОВНЫХ ГРУПП БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *ARCHANGELICA OFFICINALIS* HOFFM.

	49
3.1. Результаты качественной оценки основных групп биологически активных веществ <i>A. officinalis</i>	49
3.2. Исследование основных групп БАВ в сырье <i>A. officinalis</i>	50
3.2.1. Флавоноиды	50
3.2.2. Дубильные вещества	51
3.2.3. Фенолкарбоновые кислоты	52
3.2.4. Аскорбиновая кислота	53
3.2.5. Кумарины	55
3.2.6. Свободные органические кислоты	62
3.2.7. Сапонины	63
3.2.8. Полисахариды	64
3.3. Разработка методики количественного определения полисахаридов	66
3.4. Методика количественного определения полисахаридов	71
3.5. Валидация методики количественного определения	72
3.6. Изучение количественного содержания и компонентного состава эфирного масла в листьях и в корневищах с корнями <i>A. officinalis</i>	76
3.7. Изучение макро- и микроэлементного состава <i>A. officinalis</i>	85
3.8. Изучение аминокислотного состава сырья <i>A. officinalis</i>	87
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3	89

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА ПАРАМЕТРОВ СТАНДАРТИЗАЦИИ СЫРЬЯ ДЯГИЛЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО

4.1. Морфолого – анатомическое исследование сырья <i>A. officinalis</i>	90
4.2. Определение подлинности и количественного содержания действующих веществ <i>A. officinalis</i>	96
4.3. Определение параметров доброкачественности сырья	99

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4	104
ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЛИСТЬЕВ, КОРНЕВИЦ С КОРНЯМИ ДЯГИЛЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО (<i>ARCHANGELICA OFFICINALIS</i> HOFFM.)	106
5.1. Определение острой токсичности сырья <i>A. officinalis</i>	106
5.2. Определение антимикробной активности листьев, корневищ с корнями <i>A. officinalis</i>	107
5.3. Определение антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности экстрактов <i>A. officinalis</i>	109
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5	116
ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ КОРНЕВИЦ С КОРНЯМИ ДЯГИЛЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО (<i>ARCHANGELICA OFFICINALIS</i> HOFFM)	117
6.1. Разработка способа получения сухого экстракта из корневищ с корнями <i>A. officinalis</i>	117
6.2. Стандартизация экстракта сухого из корневищ с корнями <i>A. officinalis</i>	119
6.2.1. Определение числовых показателей	119
6.2.2. Разработка показателей подлинности и методик количественного определения БАВ в экстракте <i>A. officinalis</i>	120
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6	122
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	123
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	125
ПРИЛОЖЕНИЯ	143

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АОА – антиоксидантная активность
- АФК - активные формы кислорода
- БАВ – биологически активные вещества
- БАД – биологически активная добавка
- ВАК – Высшая аттестационная комиссия
- ВРПС – водорастворимые полисахариды
- ГОСТ – Государственный отраслевой стандарт
- ГФ – Государственная Фармакопея
- ДЗП – диагностически-значимые признаки
- ЛРС – лекарственное растительное сырье
- ЛПНП- липопротеиды низкой плотности являются основной транспортной формой холестерина, перенося его главным образом в виде эфиров холестерина
- МПА – мясопептонный бульон
- МЭ – микроэлементы
- ПДК – предельно допустимая концентрация
- ПОЛ - перекисное окисление липидов
- РСО – рабочий стандартный образец
- РФ – Российская Федерация
- ТСХ – тонкослойная хроматография
- УФ – ультрафиолетовый
- ФС – фармакопейная статья
- ПУВА – терапия – (англ. *PUVA therapy*, PUVA = Psoralens + UltraViolet A — метод лечения, включающий использование фотоактивного вещества (псоралены — класс фурукумаринов) совместно с облучением кожи длинноволновым ультрафиолетовым излучением.
- СФ – 46 – спектрофотометр 46

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Актуальной проблемой фармацевтической науки на современном этапе является поиск источников новых эффективных препаратов, в частности, за счет расширения ассортимента лекарственных культур. Одной из таких перспективных культур, адаптированных к условиям Башкортостана, является дягиль лекарственный (*Archangelica officinalis* Hoffm.) из семейства Зонтичных (*Umbelliferae*) — ценное пищевое, медоносное, эфирномасличное и лекарственное растение.

В России дягиль — традиционное народное средство, которое применяется для усиления секреторной функции кишечника, улучшения пищеварения, в качестве мочегонного, потогонного, отхаркивающего при бронхитах и ларингитах, тонизирующего и укрепляющего при эпилепсии, нервном истощении, истерии, бессоннице, спазмах желудка и кишечника [10].

Корни и корневища дягиля содержат такие группы биологически активных соединений, как: полисахариды, флавоноиды, сапонины, терпены и терпеноиды, кумарины, фитостеролы и полипренолы. На территории Урала и Поволжья население активно использовало в пищу в свежем, сушеном и ферментированном виде листья и цветочные почки дягиля *A. archangelica*.

В историю фармакогнозии это растение вошло, как основной компонент универсального противоядия — териака. Корень дягиля входил в состав териака «Германской фармакопеи» 1535 года и Российской фармакопеи XVIII века [52].

В настоящее время традиции употребления в пищу продуктов из представителей рода *Archangelica* сохраняются в Корее, Китае и Японии. Так, в Корее все части *A. keiskei* (Myeong Il Yeop) и корень *A. gigas* (Dang-gwi) используют для приготовления напитков Danggwí cha, а молодые побеги с нежными зелеными листьями для приготовления салатов. В Азии корни представителей рода *Angelica* называют женским женьшенем и используют при различного рода гинекологических заболеваниях [184]. В Германии популярны гастроэнтерологические препараты — «Гастритол DE», «Карвомин R», «Вентримарин R», «Иберогаст» с добавлением корней дягиля.

Наличие в дягили различных групп биологически активных веществ, обладающих детоксикационным действием, позволяет его включать в рацион для лиц, проживающих в экологически неблагоприятных районах. В соответствии с Минздравом России рекомендуется включать в пищу продукты из дягиля как источник лимонена и полисахаридов [77].

Степень разработанности. В результате научных исследований ученых, в основном зарубежных, хорошо изучены такие классы соединений дягиля лекарственного, как эфирные масла, производные жирных кислот, представленные полиацетиленовыми соединениями, смолы, производные фенольных кислот - фталиды и кумарины, полисахариды, макро- и микроэлементы. В работах А.Д. Туровой показана антимуtagenная и противоопухолевая активность водных вытяжек дягиля [102]. В литературе имеются сведения об активизации жирового обмена под влиянием дягиля [164]. Несмотря на проводимые исследования, оценка качества сырья дягиля ведется лишь по устаревшему ГОСТу 21569 – 76, предусматривающему органолептическую оценку корневищ с корнями в основном для использования в пищевой промышленности. А разработка фармацевтических препаратов на основе дягиля возможна лишь при наличии на него нормативной документации, базирующейся на основе объективных фитохимических исследований.

В Республике Башкортостан достаточно большие сырьевые запасы дягиля, к тому же это растение легко вводится в культуру [52]. Однако углубленное исследование химического состава корневищ с корнями дягиля в условиях Южного Урала не проводилось. Учитывая специфику климатических условий республики (высокий уровень ультрафиолетовой инсоляции, резкие колебания температуры), а также особенность химического состава почв, необходимо детальное изучение химического состава дягиля, поскольку почвенно-климатические условия Южного Урала, определяющие эффективность накопления биологически активных соединений в растении, существенно отличаются от европейских.

Таким образом, целесообразно подробное изучение дягиля лекарственного и создание на основании проведенных исследований нормативной документации для внедрения сырья дягиля в медицинскую практику.

Цель и задачи исследования. Целью наших исследований явилось фармакогностическое исследование дягиля лекарственного в качестве источника нового вида лекарственного растительного сырья.

Для достижения поставленной цели были определены и решались следующие задачи:

1. Провести морфолого-анатомическое исследование листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного и выявить их основные диагностические признаки.

2. Провести фитохимическое исследование основных групп биологически активных веществ в листьях, в корневищах с корнями дягиля лекарственного и определить их количественное содержание.

3. Предложить методы стандартизации листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного и установить их сроки годности.

4. Определить острую токсичность и изучить антимикробные и антиоксидантные свойства водных извлечений листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного.

5. Разработать технологию получения сухого экстракта из корневищ с корнями дягиля лекарственного и провести его стандартизацию.

6. Разработать проект фармакопейной статьи «Дягиля лекарственного листа», «Дягиля лекарственного корневища с корнями».

Научная новизна. Впервые с использованием современных методов анализа проведен количественный и качественный состав различных групп биологически активных соединений листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного.

С использованием современных физико-химических методов анализа (газовая хроматография масс-спектрометрия) изучен состав кумариновых соединений в листьях и корневищах с корнями дягиля лекарственного. Впервые методом газовой хроматографии масс-спектрометрии (ГХ/МС) установлено, что листья дягиля содержат кумариновые соединения: прангенин (оксиимператорин), изомеры прангенина, бергаптен, метоксален, остол, а также хромон - метиловый

эфир пеуцина. В корневищах с корнями дягиля лекарственного впервые установлено содержание метоксалена и ороселона.

Проведено разделение и идентификация компонентов эфирного масла дягиля лекарственного с использованием ГХ/МС. Впервые установлено в корневищах с корнями дягиля лекарственного наличие следующих компонентов: цис-пиперитола, транс-пиперитола, циклосативена, α -кубинена, α -гуайена, β -цедрена, α -пачулена (-)-аристолена. В листьях дягиля лекарственного впервые установлено наличие следующих компонентов: линалоола, нерола, тимола, паратимола, α -кубенена, транс- α -бергамотена, β -кубенена, бициклогермацена, эремофилена, β -гуайена, α -гуайена, δ -неролидола, валенсена, фитола.

В листьях и подземных органах дягиля обнаружено наличие циклогексановых сесквитерпеноидов - элеменов и элеменола, обладающих противовоспалительными и противоопухолевыми свойствами, а также спатуленола, ингибирующего мультирезистентность опухолевых клеток к антибиотикам. В листьях установлено наличие β -элемена, α -кариофиллена (хумулена), усиливающих активность противоопухолевых средств.

С использованием рентгено-флуоресцентного метода изучен макро- и микроэлементный состав растения. Определен аминокислотный состав листьев, корневищ с корнями *A. archangelica*. Установлено наличие 14 аминокислот: для листьев дягиля лекарственного характерно накопление пролина, глицина, валина, аргинина, серина, фенилаланина, для корневищ с корнями – пролина, глицина, цистеина, валина.

Впервые описаны морфолого-анатомические признаки листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного.

Установлена противогрибковая активность экстрактов листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного, наиболее выраженная по отношению к *Candida albicans*.

С использованием нескольких методов установлены антиоксидантные и прооксидантные свойства извлечений из листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного. Определена острая токсичность сырья дягиля лекарственного и

установлено, что листья и корневища с корнями дягиля лекарственного отнесены к классу малотоксичных соединений.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования.

Разработана методика гравиметрического определения суммы полисахаридов в листьях, корневищах с корнями дягиля лекарственного и проведена ее валидация. С учетом современных требований, предъявляемых к подлинности и качеству лекарственного растительного сырья, проведена стандартизация листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного.

На основании проведенных исследований разработан проект ФС «Листья дягиля лекарственного» и «Корневища с корнями дягиля лекарственного». Внедрение дягиля в официальную медицину может позволить использовать листья и корневища с корнями в качестве нового сырьевого источника с антиоксидантными, антимикробными и противогрибковыми свойствами.

Разработана жевательная лекарственная форма на основе сырья дягиля лекарственного. Приоритет проведенных исследований защищен патентом РФ на изобретение № 2503458 от 27.08.12. «Способ местного лечения и профилактики основных стоматологических заболеваний у детей с хронической почечной недостаточностью с применением жевательного субстрата».

Материалы диссертации внедрены в учебный процесс на кафедре фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России. Результаты, полученные в ходе диссертационной работы, вошли в учебное пособие для практических врачей, студентов, интернов «Фитотерапия при заболеваниях кожи».

Методология и методы исследования. Методология диссертационного исследования построена на изучении и обобщении литературных данных по исследованию дягиля лекарственного в качестве источника нового вида лекарственного растительного сырья, оценке степени разработанности и актуальности темы. В соответствии с поставленной целью и задачами был разработан план выполнения всех этапов диссертационной работы, выбраны объекты исследования и подобран комплекс современных методов исследования.

Объектами исследования явились листья и корневища с корнями дягиля лекарственного *Archagelica officinalis*. В процессе исследования использовали, как классические, так и современные методы анализа: хроматографию в тонком слое сорбента, титриметрические методы, спектрофотометрию, газовую хроматографию/масс-спектрометрию (ГХ/МС), рентгенофлуоресцентный метод. Проведены морфолого-анатомические методы анализа, методы оценки биологической активности сырья. Математическая обработка данных проводилась с использованием современных компьютерных технологий.

Связь задач исследования с проблемами фармацевтических наук.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, номер государственной регистрации 01.9.50 007426.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность научных положений и выводов базируется на достаточных по своему объему данных и количеству материала, современных методах исследования и статистической обработке данных. Результаты, полученные при проведении исследований, статистически обработаны и представлены в формулах, таблицах, на рисунках, которые приведены в тексте диссертации.

Статистическую обработку экспериментальных данных исследований (P=95%) проводили с помощью программ «Excel 7.0», «Statistica 5.0», «Statistica 6.0».

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на Республиканской конференции молодых ученых Республики Башкортостан с международным участием «Медицинская наука - 2009», посвященной Году поддержки и развития молодежных инициатив, Дню Медицинского работника, (г. Уфа, 2009 г.), конференции ученых Республики Башкортостан с международным участием «Научный Прорыв - 2009», посвященной Году Поддержки и развития молодежных инициатив, Дню Республики, (г. Уфа, 2009 г.), научно-методической конференции «Гаммермановские чтения - 2011» (г. Санкт-Петербург, 2011 г.),

республиканской конференции стоматологов «Актуальные вопросы современной стоматологии» (г. Уфа, 2012 г.), Всероссийской молодежной конференции «Фармакологическая коррекция процессов жизнедеятельности. Доклинические и клинические исследования новых лекарственных препаратов» (г. Уфа, июль 2012 г.), 77-й Российской научной конференции студентов и молодых ученых, посвященных 80 – летию БГМУ «Вопросы теоретической и практической медицины» (Уфа, апрель 2012 г.), международной научной конференции «Нетрадиционные, новые и забытые виды растений: теоретические и практические аспекты культивирования» (Украина, г. Киев, сентябрь 2013 г.), I международной научной конференции «Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы» (г. Новосибирск, май 2013 г.), XI международном симпозиуме «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (г. Москва, 2015 г.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 17 работ, из них 6 статей - в изданиях из перечня, рекомендованных ВАК, 1 патент.

Основные положения, выносимые на защиту:

- результаты морфолого-анатомического исследования листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного;
- результаты фитохимического исследования сырья дягиля лекарственного;
- методики качественного и количественного анализа листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного и числовые показатели качества сырья;
- результаты исследований по стандартизации сырья дягиля лекарственного;
- результаты биологических исследований сырья дягиля лекарственного;
- результат исследования сухого экстракта, полученного из корневищ с корнями дягиля лекарственного.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 155 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы «Объекты и методы исследования», 5 экспериментальных глав, выводов, списка литературы и приложений, 54 таблиц, 42 рисунков. Список литературы включает 188 библиографических источников, из которых 69 иностранных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Характеристика рода *Archangelica*

Дягиль лекарственный (рис.1) - представитель одного из самых распространенных семейств – семейства зонтичных *Apiaceae* (*Umbelliferae*). Зонтичные - семейство, легко узнаваемое по характерным соцветиям - простые или сложные зонтики с мелкими цветками, большей частью белыми, реже жёлтыми или голубыми, правильными, обоеполыми. Чашечка едва заметна, венчик с пятью лепестками, пестик один, завязь - полунижняя, двугнёздная. Плод — ложная двураздельная семянка. Листья у большинства зонтичных перисто-рассечённые, часто с большим вздутым влагалищем.



Рисунок 1. Внешний вид дягиля лекарственного (*Archangelica officinalis* Hoffm).

Род *Archangelica* представлен в семействе 60 видами, ареал которых довольно обширен. Они произрастают в Азии, Европе, Северной Америке, от Балкан до Западной Сибири [176].

Название рода *Angelica* L. (включая *Archangelica* Wolf) (от лат. *angelicus*, *a*, *um* – ангельский, от греч. *angelos* – ангел, вестник; от греч. *archaios* – ранний,

старший – по имени архангела Михаила, познакомившего людей с лекарственными средствами многих растений; в средние века применялось против чумы) [119].

A. officinalis используется в традиционной медицине стран Восточной Азии, а также Европы. Представители рода дягиль включены в Фармакопеи Китая, Южной Кореи, Японии, Европейского союза и Британии. В этих странах дягиль входит в состав препаратов, используемых для лечения желудочно-кишечных заболеваний. Особой популярностью в Европе пользуется препарат «Iberogast», используемый для лечения гастритов и колитов [132].

Дягиль применяется при производстве настоек, например Шнапса, датского ликера, для ароматизации вин «Горный цветок», «Букет Молдавии», косметических средств. *A. dahurica* содержит фурукумарины и феруловую кислоту в экстрактах корня, извлечение которого известно в Китае, как Бай-Чжи, и применяется при головных болях и кожных заболеваниях. *A. gigas* - источник полисахаридов, стимулирующих иммунную систему [148].

В XXI веке было показано, что введение водной вытяжки корня *A. officinalis* кроликам альбиносам в дозе 0,11 г/кг предотвращает дегенерацию сетчатки глаза, снижает изменения реологических показателей крови и накопление свинца в костях, печени и почках при воздействии ацетата свинца [172]. Активность препаратов *A. officinalis* сопоставима с 2,3 димеркаптоянтарной кислотой (сукцимер, хемет), наиболее эффективно хелатирующей тяжелые металлы (ртуть, свинец, кадмий) [143]. На этом основании рекомендовано включать продукты из дягиля в рацион лиц, подвергающихся воздействию свинца, для профилактики когнитивной дисфункции, нейроповеденческих нарушений, гипертонии и почечной недостаточности [125].

Представители рода *Archangelica*: *A. acutiloba*, *A. archangelica*, *A. atropurpurea*, *A. dahurica*, *A. japonica*, *A. glauca*, *A. gigas*, *A. koreana*, *A. sinensis*, *A. sylvestris* широко применяются в качестве противовоспалительных, мочегонных, отхаркивающих и потогонных средств при простуде, гриппе, гепатите, артрите, расстройстве желудка и метеоризме, кашле, хроническом бронхите, плеврите,

брюшном тифе, головных болях, ревматизме, бактериальных и грибковых инфекциях и заболеваниях мочеполовых органов [176]. Благодаря биологически активным веществам, таким, как кумарины, халконы, сесквитерпены, полисахариды, растения рода *Archangelica* проявляют антибактериальное, противоопухолевое, болеутоляющее, противовоспалительное, гепато-и нефропротекторное действие [133, 186].

1.2. Ботаническая характеристика вида *Archangelica officinalis* Hoffm.

Дягиль лекарственный – двухлетнее или многолетнее травянистое растение рода Дягиль *Archangelica*. Это одно из самых крупных растений высотой до 3 м. Стебель прямостоячий, цилиндрический, толстый, полый [67]. Листья дягиля тройчатые, у основания с вздутыми влагалищами, дважды – или триждыперистые, нижние - длиной 60-90 см.

Доли листа самих верхних листьев яйцевидные или яйцевидноланцетные, длиной 5 – 8 см, длиннозаостренные, неравномерно пильчатые, листочки на концах - трехлопастные, боковые – несимметрично двухлопастные [59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 68, 69, 111]. Соцветия в форме шара, представляют собой сложный зонтик, расположены на главной и боковых осях 2-4-го порядков [73]. Цветки в верхушечных зонтичных соцветиях до 15 см в диаметре, полушаровидные, без оберток, густые, состоящие из 20-40 полушаровидных зонтичков, листочки у оберточек линейно шиловидные, шероховатые или голые. У чашечки слабо выражены зубцы, лепестки венчика желтой или зелено-белой окраски, длиной до 1-1,5 мм, очень длинные тычинки (2-3 мм) и короткие столбики. Дягиль зацветает на второй год жизни – с середины июня по август. Затем отмирает, раскидав тысячи и более, мелких плодиков (крылатых, широкоэллиптических, плоских семянков размером 3-5 и 5-9 мм, сверху сплюснутых, трехреберных с двумя широкими крыльями по бокам) по сторонам.

Плод у дягиля лекарственного – двусемянка, которая состоит из двух мерикарпиев, плотно соединенных между собой перемычкой в начале своего развития. По мере того, как плод созревает перемычка становится все более тонкой, и в тот момент, когда наступает фаза восковой спелости плод распадается на два мерикарпия, которые сво-

бодно свисают на карпофоре. Распространяются семена дягиля с помощью ветра. Это растение имеет высокую семенную продуктивность - в конце лета в землю поступают до 2982- 5218 шт/м² семян [73]. На сухих почвах лугов и лесных вырубок дягиль нередко зацветает через 10-15 лет.

Корневище с корнями у дягиля мочковатые. Корневище у него имеет коническую форму, короткое, почти отвесное (продолжает стебель), кольчато-морщинистое, полое внутри, с поперечными перегородками и вертикально отходящими придаточными корнями длиной до 30 см. Много смоляных ходов в виде блестящих оранжевых точек можно увидеть на изломах корневища в толстой коре. У взрослых виргильных особей меняется в зависимости от увлажнения. У более взрослых особей в зависимости от условий увлажнения меняется тип корневой системы, которая, например, в заболоченных местах размещается в поверхностном 7-сантиметровом слое почвы и представлена коротким, сильно увеличенным базальным участком главного корня и отходящими от него многочисленными беловатыми и морщинистыми боковыми корнями диаметром до 1,5 см. Эти боковые корни покрыты густо тонкими (0,2-0,5 мм) корнями, которые собраны в пучки. Если почва дренирована, то у растения хорошо выражен разветвленный корень, достигающий значительной глубины [73].

Заготовка и хранение корневищ с корнями *Archangelica officinalis Hoffm.*

В 17-18 веках применяли в качестве лекарственного сырья корневища с корнями *A.officinalis*. Самым хорошим считалось сырье крупных двулетних растений, собранное в конце апреля – начале мая или в октябре после того, как увянут листья. После того, как растение выкопано, корневища с корнями моют и нарезают на куски поперечно, тем самым сохраняя сок растений, затем высушивают под крышей в тени.

Затем высушенные корневища и корни дягиля хранят в плотно закрытых ящиках. Сырье дягиля лекарственного представляет собой куски красновато-бурого, кольчатого корневища длиной 3–6 см, от которого отходят снизу многочисленные бурые корни длиной 20-30 см, спутанные нередко с морщинистой корой. У дягиля своеобразный ароматический запах и щиплющий, остро-горьковатый вкус [27].

Заготавливая сырье следует отличать от дягиля лекарственного очень похожий на него дудник (дягиль) лесной (*Archangelica sylvestris*), который встречается часто в тех же

местах. У дягиля лекарственного стебель вверху округлый, тогда как у дудника лесного - многогранный. У дягиля лекарственного окраска венчика зеленовато-белая и плоды с околоплодником не срстаются. У дудника лесного венчик окрашен в белый цвет, а плоды с околоплодником срстаются. Имеется отличие у этих двух растений и по запаху корней: у дягиля лекарственного запах сильный и приятный, тогда, как у дудника лесного - слабый и неприятный [116].

1.3. Ареал *A.officinalis*

Ареал у дягиля лекарственного достаточно обширен и простирается от Скандинавии, Ср. Европы, Балкан до Западной Сибири. Произрастает на влажных почвах в заболоченных лесах, около болот, на заливных лугах. Широко культивируется в странах Западной Европы (Германия, Венгрия и др.), а также в США [119].

Произрастает *A.officinalis* и в горно-лесных районах Башкирии, особенно часто можно встретить это растение в лесах Южного Урала, на северо-востоке республики и в Предуральской лесостепи. Большие заросли дягиля лекарственного обнаружены в лесах Бурзянского, Белорецкого и Ишимбайского районов. Встречается он и в Зауралье. С одного растения дягиля можно заготовить от 57, 5 до 248, 4 г сырых корневищ с корнями [64]. В пойменных лесах горнолесной зоны Южного Урала продуктивность дягиля достигает 4,61 ц/га [38].

Дягиль лекарственный очень требователен к почвам. Встречается там, где рН 5,5 – 7,5, т.е. на почвах слабокислых и нейтральных [110]. Заходит дягиль также на слабо- и средnezасоленные почвы [112]. Хотя *A.officinalis* – светолюбивое растение, может оно произрастать и на затененных участках.

1.4. Химический состав представителей рода *Archangelica* и их фармакологические свойства

Проводя литературный обзор можно говорить о том, что химический состав большинства изученных представителей рода *Archangelica* идентичен. Независимо от

того, какой вид растения и каково место его произрастания, все представители имеют в своем составе эфирные масла, смолы, производные жирных кислот, представленные полиацетиленовыми соединениями, производные фенольных кислот - фталиды и кумарины, полисахариды, микро- и макроэлементы (рис. 2). Благодаря такому химическому составу у дягиля лекарственного высокая антибиотическая, противовоспалительная, противоопухолевая, антитуберкулезная и антиагрегантная активность [150, 166, 188, 183]. Также имеются данные о противоаритмическом, болеутоляющем, жаропонижающем [120], отхаркивающем [136], дезинфицирующем [19] и антисептическом действии данного растения [127]. Столь широкий спектр биологической активности связан с наличием различных групп БАВ в надземной и подземной частях *A.officinalis*, что обуславливает разностороннее применение его в народной и официальной медицине.



Рисунок 2. Основные БАВ *Archangelica officinalis*

Кумарины. Содержание и фракционный состав кумаринов изучен, в основном, в растениях, произрастающих в Европейской части России и Западной Европы (изобергаптен - в корнях, листьях, в плодах – умбеллипренин, умбеллиферон, острутол, остенол, остол, ксантотаксин, ксантотоксол, императорин, изоимператорин, бергаптен, оксипейцеданин, оксипейцеданингидрат, изопимпинеллин, феллоптерин, ангелат, изобиангелицин; в корнях, листьях – ангелицин, псорален; в корнях, плодах – архицин, архангелицин, феллоптерин, колумбианадин; в корнях – архангелин, аптерин, ороселон (кванин), 5- метоксигеракленол, сенеционат геракленола, изовалерат геракленола, 2' – ангелоил – 3' – изовалерилвагинат [137, 147, 151, 159, 168].

Состав кумаринов в корнях и плодах дягиля чрезвычайно вариабелен *Archangelica officinalis* (рис.3) [126].

Основные кумарины корней и корневищ дягиля *Archangelica officinalis*

Название	Структура	Заместители				
		R ₅	6	7	R ₈	
Умбеллиферон	1.	3		ОН		
Ксантотоксол	2.	1		-	ОН	
Архангелицин	3.	4		-		
Ксантотоксин	4.	1		-	OCH ₃	
Изопимпинеллин	5.	1	OCH ₃	-	OCH ₃	
Бергаптен	6.	1	OCH ₃	-	-	
Пимипинеллин	7.	2	OCH ₃		-	
Фелоптерин	8.	1	OCH ₃		-	OCH ₂ CH=C(CH ₃) ₂
Императорин	9.	1	-		-	OCH ₂ CH=C(CH ₃) ₂
Остол	10.	3	-		-	OCH ₂ CH=C(CH ₃) ₂
Умбеллипренин	11.	3	-	-	R	
Изоимператорин	12.	1	OCH ₂ CH=C(CH ₃) ₂	-	-	-

Ряд кумаринов содержится в гликозилированном виде (рис.4). Наиболее известен мармезин (гидроксиизопропилдигидрофуранокумарин), из которого в присутствии цитохрома P450 образуется псорален. Из него, в свою очередь, возможно образование кислородсодержащих производных.

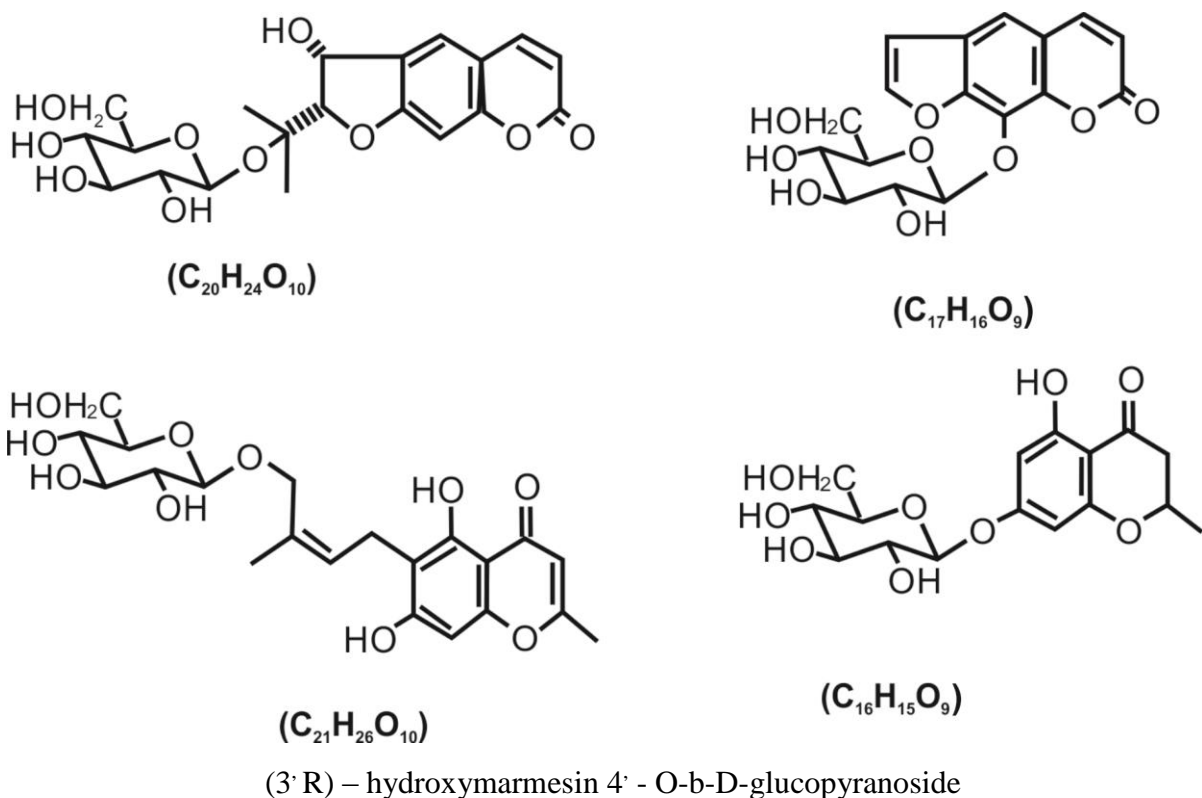


Рисунок 4. Производные гидроксиизопротилдигидрофуранокумарина

У кумаринов установлены следующие свойства: антиоксидантные, мембраностабилизирующие, антигельминтные, противовоспалительные, антибиотические, анаболические, антибактериальные, цитостатические, фотосенсибилизирующие и противогрибковые [1, 88, 123, 145, 175, 177, 190].

Гексановый экстракт корней *Archangelica* содержит значительное количество ксантотоксина, бергаптена, императорина, изоимператорина и остола, ингибирующих бутирилхолинэстеразу (BuChE), что сопровождается улучшением способности к обучению, памяти и зрительно-пространственных функций. Как известно, при болезни Альцгеймера бутирилхолинэстераза выявлена в сенильных бляшках, нейрофибриллярных клубочках и в стенках сосудов (при амилоидной ангиопатии). Предполагается, что этот фермент участвует в образовании сенильных бляшек. С-8 замещенные фурукумарины являются наиболее активными ингибиторами BuChE [161].

Императорин (8-изопентенилоксиборален; 9-(3-метилбутил-2-енилокси)-7Н-фуру [3,2-g]хромен-7-он) is был выделен из корней *Archangelica dahurica* и плодов *Archangelica officinalis* [144]. Показано, что императорин необратимо инак-

тивирует трансминазу γ -аминомасляной кислоты (ГАВА), благодаря чему повышает содержание ГАВА в синаптических щелях нейронов и повышает уровень нейромедиатора ГАМК в головном мозге. γ -аминомасляная кислота (ГАМК, ГАВА) — важнейший тормозной нейромедиатор центральной нервной системы человека [158, 165].

Кумариновые соединения обладают противовирусной активностью [155]. В частности, прангенин (оксиимператорин) подавляет репродукцию респираторно-синцитиального вируса (RS-вируса), являющегося наиболее частой причиной воспалительных реакций у детей раннего возраста. Метоксален известен как фотосенсибилизирующее средство, используемое для повышения эффективности ПУВА-терапии: при псориазе, витилиго, красном плоском лишае, грибковидном микозе.

Особый интерес представляет наличие в дягиле остола, регулирующего синтез эотаксина - мощного хемоаттрактанта, участвующего в мобилизации эозинофилов в дыхательные пути. Остол рассматривают как потенциальное средство для лечения аллергических воспалений дыхательных путей [138]. К тому же остол эффективен в профилактике атеросклероза и жирового перерождения печени [140], препятствует развитию остеопороза [167]. В комбинации с аконитином остол ингибирует развитие опухолей легких, подавляя экспрессию трансформирующего фактора роста TGF- β_1 , играющего ключевую роль в процессах эмбрио- и канцерогенеза [157]. Остол относят к нейропротекторам, препятствующим повреждению мозга при остром ишемическом инсульте [129].

Ряд кумаринов рассматривается как средство предотвращения гепатоцеллюлярной карциномы, вызванной вирусом гепатита С [171].

Оксикоричные кислоты и их амиды. В последние годы внимание фармакологов привлекли амиды феноло- и оксикоричных кислот. Так, установлено, что амиды фенолокислот (аспарагинамид *N*-(*E*)-кофейной кислоты) (рис. 5) снижают адгезию *Helicobacter Pylori* к тканям желудка человека.

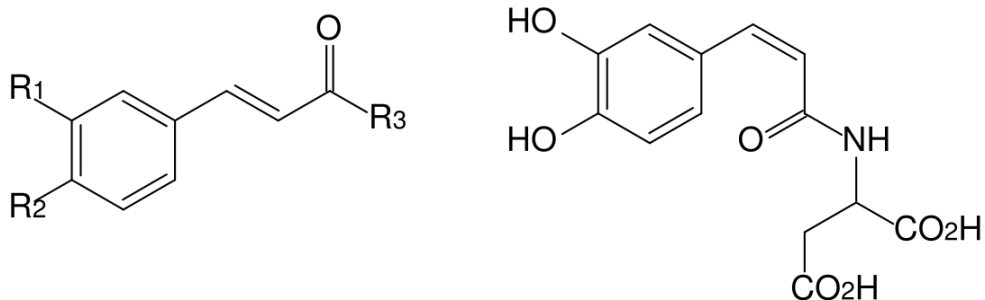


Рисунок 5. Аспарагинамид кофейной кислоты [153]

Амиды коричной кислоты оказывают выраженное антибактериальное действие.

Седативным эффектом обладает ангеликовая кислота, содержание которой в эфирном масле дягиля составляет 0,3%.

Фенольные кислоты обладают антиоксидантным, бактериостатическим и желчегонным действием [90]. Фенолкарбоновые кислоты, представленные в корнях – кофейная, хлорогеновая кислота и протокатехиновая. Представляют интерес и органические кислоты корней дягиля: валериановая, ангеликовая, яблочная, винная, уксусная, аконитовая, щавелевая, лимонная и хинная [83].

Трава дягиля лекарственного *Archangelica officinalis* содержит 3-КХК (3-кофеоилхинную кислоту, изохлорогеновую кислоту) (рис.6) – 0,25%, сумму производных дикофеоилхинной кислоты (рис. 7) – 0,13% [74].

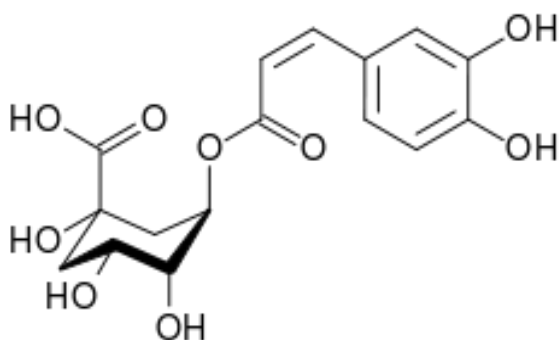


Рисунок 6. 3-кофеоилхинная кислота

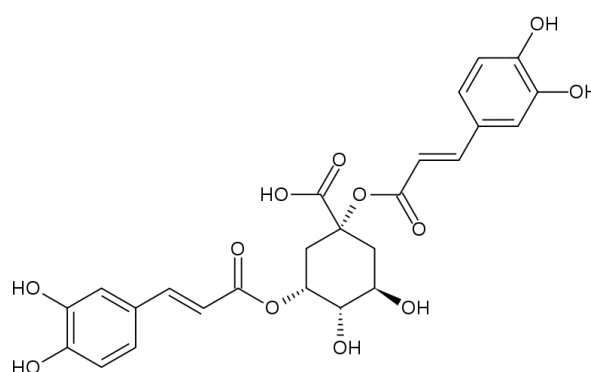


Рисунок 7. Дикофеоилхинная кислота

По антиоксидантной активности 3-кофеоилхинная кислота в 27 раз превосходит флавоноид нарингенин, но уступает феруловой и кофейной кислотам. Ингибирует биосинтез лейкотриенов, блокируя липоксигеназы, окисляющие арахидоновую кислоту. Снижает уровень малонового диальдегида в плазме крови и в составе липопротеинов низкой плотности. Снижая

чувствительность ЛПНП к окислению, может снижать риск сердечно-сосудистых заболеваний.

Окисленные формы фенолкарбоновых кислот проявляют противовирусную активность в отношении возбудителей герпеса. Экстракты, богатые изохлорогеновой кислотой, ингибируют экспрессию обратной транскриптазы ВИЧ. Дикофеоилхинные кислоты являются сильнодействующими и селективными ингибиторами ВИЧ-1 [134].

Активна изохлорогеновая кислота против штаммов кишечной палочки и золотистого стафилококка. Отмечено ее гипогликемическое, гипохолестеринемическое, гепатопротекторное и противоопухолевое действие.

Флавоноиды. У флавоноидов ряд эффектов, начиная от антиоксидантного и заканчивая антиагрегантным [17, 54]. Флавоноид диосмин (гликозид лютеолина), содержащийся в листьях дягиля лекарственного, обладает бактерицидным, вентонизирующим и противовоспалительным действием [89, 90].

Стероиды. Фитостеролы представлены β -ситостеролом (β -ситостерин, 22,23-дигидро-стигмастерол, α -дигидрофукостерол), оказывающим противоопухолевое, фунгицидное, бактериостатическое, эстрогенное и антисклеротическое [136] действие. Применяют эту группу БАВ при болезнях эндокринной системы (простатите), гиперплазии предстательной железы (аденома простаты), а также при нарушении обмена веществ (гипохолестеринемии) [136]. Присутствуют стероиды в корнях и плодах дягиля лекарственного [90].

Полисахариды. Полисахариды представителей рода *Archangelica* обладают иммуностимулирующей активностью [149, 156]. Полисахаридная фракция *A. acutiloba*, также как ангелан - полисахарид из *A. gigas* Nakai показали высокую противоопухолевую активность при некоторых формах рака. В-клетки, активированные ангеланом, активизируют производство антител [149].

Ангелан является индуктором синтеза γ -интерферона, а также интерлейкинов IL-2, IL-4, IL-6. Как известно, интерлейкины связываются со специфическими рецепторами на «клетках-мишенях», стимулируют рост, дифференцировку и пролиферацию Т- и В-лимфоцитов, моноцитов, макрофагов, олигодендроглиальных

клеток, клеток Лангерганса, вызывают образование лимфокинактивированных киллеров, активируют опухольинфильтрирующие клетки, стимулируют цитолитическую активность натуральных киллеров и цитотоксических Т-лимфоцитов, усиливают иммунный ответ (антибактериальный, противовирусный, противогрибковый и противоопухолевый).

Полисахариды из листьев *Archangelica officinalis* показали антикомплементарную активность. Предполагают, что существует взаимосвязь между антипролиферативными свойствами фуранокумаринов и полисахаридами. Кроме того, вполне возможно, что экстракт листьев *A. officinalis* содержит соединения, способные предотвратить рост новых кровеносных сосудов (ангиогенез) в опухоли и таким образом, ограничить ее размер. Экстракты *A. sinensis*, состоящие в основном из полисахаридов, способствуют заживлению язвы желудка на животных моделях [182].

Макро- и микроэлементы, витамины. Содержание микро- и макроэлементов в различных органах растения в зависимости от места произрастания варьирует. Кроме действующих веществ в растениях содержатся также сопутствующие вещества, которые могут оказывать влияние на главное фармакологическое действие БАВ: повышать или понижать их всасываемость, резорбтивные свойства, быть синергистами или антагонистами, а также уменьшать или усиливать их токсическое действие.

Существует взаимосвязь между накоплением в растениях определенных групп БАВ и концентрированием в них МЭ. Например, растения рода *Archangelica*, накапливают железо. Необходимо отметить способность дягиля концентрировать легкодоступный кобальт в виде кобаламиновых пигментов, в частности витамина В₁₂. Поэтому возможно использовать дягиль в качестве эффективного противоанемического средства [121].

Эфирные масла. Состав эфирных масел в корневищах с корнями дягиля очень вариабелен. В корнях эфирное масло может содержаться от 0,25 до 1,5%, в стеблях - 0,33-0,4%, в черешках листьев - 0,16 – 0,48%, в пластинах листьев - от 0,01 до 0,2% [117]. В его состав входят: моно- и сесквитерпеноиды: (+) α-туйен, (-) - α-туйен, α-

туйон, β- туйон, камфора; в корнях, плодах - α-пинен, (+) – α-пинен, β-пинен, (+) - β-пинен, (-) - β-пинен, камфен, (-) - камфен, мирцен, п-цимен, (E) - β-оцимен, лимонен, (-) - лимонен, трициклен, терпинолен, β-фелландрен, γ-терпинен, п-цимол, β-кариофиллен, (+) - сабинен, α-туйен, борнеол; в корнях - (+) - камфен, (+) - лимонен, транс -п- мента-1(7), 2-диен, транс –п-мента 1(7), 5-диенил-2 ацетат, (-) - β-фелландрен, (+) - β-фелландрен, (+) - α-фелландрен, (+) Δ³ - карен, (-) Δ³ - карен, цис-оцимен, терпинолен, транс-оцимен, цис-аллооцимен, транс-аллооцимен, α-терпинен, сантен, трициклен, карвакрол, линалоол, β-терпинеол, α-фенхон, β-фенхон, бизаболон, бизаболол, 7- изопропил-5 метил – 5 - бицикло[2.2.2] октен -2-он, цис - α- копаен-8-ол, α- копаен -11- ол; в плодах - оцимен, (-) - камфен, (-) сабинен, Δ³-карен, цинеол, карвеол, Δ³ -карен, транс-β-оцимен, α-терпинолен, мента- 1,5- диен-8-ол, ментол, терпинен-4-ол, борнилацетат, сабилацетат, гумулен, α-гумулен, эпоксид гумулена, (-) - α-фелландрен, транс-кариофиллен, оксид кариофиллен, гермакрен В, гермакрен D, цингиберен, α- цингиберен, β-фарнезен, фарнезол, цис-вербенол, транс-вербенол, криптон, α-лонгициклен, β-элемен, α-иланген, α-копаен, β-бурбонен, γ-элемен, δ -элемен, цис-β-элеменон, элемол, лонгифолен, β-иланген, α-мурролен, *ar*- куркумен, γ -кукурмен, α-кадинен, γ-кадинен, δ-кадинен, селина 3,7(11)-диен, лонгипинанол, спатуленол, α-мурролол, β-бизаболон, α-бизаболол, бизаболон [115, 135, 141, 154, 187, 170].

Появились сведения о макроциклических лактонах, которые обнаружены в эфирном масле и обуславливают специфический аромат растения – 0,58-0,81% тридеканолида, 0,87% пентадеканолида (тибетолида). Из эфирного масла корней дягиля обыкновенного выделен лигустилид (0,56% -5,07%), (Z)-6,7,-эпоксилигустилид, ангелицид, бутилфталид [83, 160, 169].

Карвеол, содержащийся в эфирном масле всех частей растения *Archangelica officinalis*, стимулирует нервную систему, обладает местно-раздражающей, антисептической, отхаркивающей и диуретической биологической активностью [174, 179], оказывает спазмолитическое, а также обладает сильным транквилизирующим действием.

Содержание смол в корневищах с корнями дягиля достигает 6% [128].

Из жирных кислот в корнях дягиля лекарственного идентифицированы: пальмитиновая, бегеновая, пальмитолеиновая, миристиновая, петрозелиновая, лауриновая, гид-

роксимиристиновая, олеиновая, линолевая, линоленовая, стеариновая, арахидоновая, эйкозеновая, тридекановая и пентадекановая [146].

В корневищах с корнями дягиля преобладает гемицеллюлоза, преимущественно состоящая из глюкозы, в водорастворимых фракциях преобладающими являются глюкоза, арабиноза, галактоза и манноза [83].

Дягиль лекарственный имеет широкий спектр фармакологической активности и представляет огромный интерес в качестве сырья для приготовления лекарственных препаратов. Применение представителей рода *Archangelica* и ассортимент препаратов, завозимых из-за рубежа, свидетельствует о необходимости восстановления *A. officinalis* в статусе официального растения.

1.5. Основные направления использования *A. officinalis*

Представители рода *Archangelica* нашли широкое применение в медицине многих стран. Наиболее известны такие виды, как *A. officinalis*, *A. acutiloba*, *A. atropurpurea*, *A. dahurica*, *A. japonica*, *A. glauca*, *A. gigas*, *A. koreana*, *A. sinensis*, *A. sylvestris* [176]. Начиная с 14-го столетия, *Archangelica officinalis* применяли во многих странах Европы и Азии в качестве пищевого и лекарственного растения [88]. В России корневища с корнями *A. officinalis* являлись официальными с 17-го века [52].

С давних времен корневища и корни дягиля использовали в качестве средства, улучшающего пищеварение, усиливающего секреторную функцию кишечника, мочегонного и потогонного при ларингитах и бронхитах с мокротой как отхаркивающего, тонизирующего и укрепляющего при нервном истощении, эпилепсии, истерии, бессоннице, спазмах желудка и кишечника. Отвар стеблей с цветками применяли при воспалении дыхательных путей, полости рта, спиртовую настойку корня принимали при холере и скарлатине по несколько капель, а также использовали наружно при подагре, ревматизме, болях в пояснице и мышцах. Траву дягиля использовали в качестве противоглистного средства, а плоды при судорогах и болезнях желудка [21, 80].

В Финляндии корень дягиля применяли в качестве пряности, в Норвегии запекали в хлебе, а молодые стебли употребляли вместо спаржи, также из них варили варенье и цукаты [56, 113].

Свежее корневище жевали при зубной боли, капали в дупло зуба сок или настойку дягиля (*tincture Archangelicae*). Если же болело ухо, то помещали в ушную раковину вату, смоченную 2-3 каплями сока.

Эффективным средством против цинги считали листья дягиля. Норвежцы употребляли их заменяя табак, а из семян добывали пахучее масло, которое в дальнейшем использовали для ликерного и парфюмерного производств [116].

Таким образом, растения рода *Archangelica* обладают разносторонней биологической активностью и применяются в народной и традиционной медицине для лечения и профилактики широкого спектра заболеваний.

Эфирное масло корневищ с корнями дягиля лекарственного обладает спазмолитическим и бактерицидным действием, вызывает раздражение слизистой оболочки желудка и повышает желудочную секрецию [104].

Препараты дягиля могут быть назначены при функциональных расстройствах желудочно-кишечного тракта, связанных с уменьшением выделения желудочного сока, гликозаминогликанов желчи и поджелудочного сока, а также для купирования кишечной колики [178]. Эффективны они и при дискинезии желчных путей. В результате проводимой терапии у пациентов улучшается аппетит, исчезает чувство полноты в эпигастральной области, отрыжка, склонность к рвоте и боли в животе [33, 99].

Успешно используют дягиль в терапии заболеваний дыхательной системы - как отхаркивающее и противовоспалительное средство при ларингитах, бронхитах, пневмониях. Корни растения могут входить в состав противовоспалительных и отхаркивающих сборов. Совместно с другими лекарственными растениями аналогичного действия эффективно применение галеновых форм дягиля при гипацидных гастритах, дуоденитах, инфекционных неспецифических колитах в виде комплексных сборов и лечебных чаев [78, 99].

У экстракта корня дягиля дает успокаивающий эффект, аналогичный дей-

ствию препаратов валерианы [33]. Хорошие результаты отмечены при лечении препаратами дягиля больных с вегетативным неврозом. В китайской медицине дягиль употребляется также часто, как женьшень и солодка.

А.Д. Туровой описана противоопухолевая и антимуtagenная активность водных извлечений дягиля [102]. В литературе имеются сведения об активизации жирового обмена под влиянием дягиля [164].

Экстракты *A. officinalis* являются основой средств, применяемых при лечении заболеваний половой сферы [163], грибковых заболеваний [187], невралгии и артрита [124]. Дягиль известен в странах Юго-Восточной Азии как «женский женьшень», который эффективен при нарушениях менструального цикла, используется для лечения анемии, благодаря способности *Archangelica* концентрировать железо, витамин В₁₂ и родственные ему кобаламины [10, 121, 130, 173].

Дягиль лекарственный является основой таких препаратов как «Болюсы Хуато», «Гастритол», «Ламинарина», «Карвомин», «Вентримарин^к», «Антиоксифит», «Артемида» и «Топ» [85, 177].

1.6. Фармакологическая активность биологически активных веществ *A. officinalis*

Дягиль лекарственный обладает разносторонней биологической активностью и применяется в народной и традиционной медицине для лечения и профилактики широкого спектра заболеваний (рис. 8).

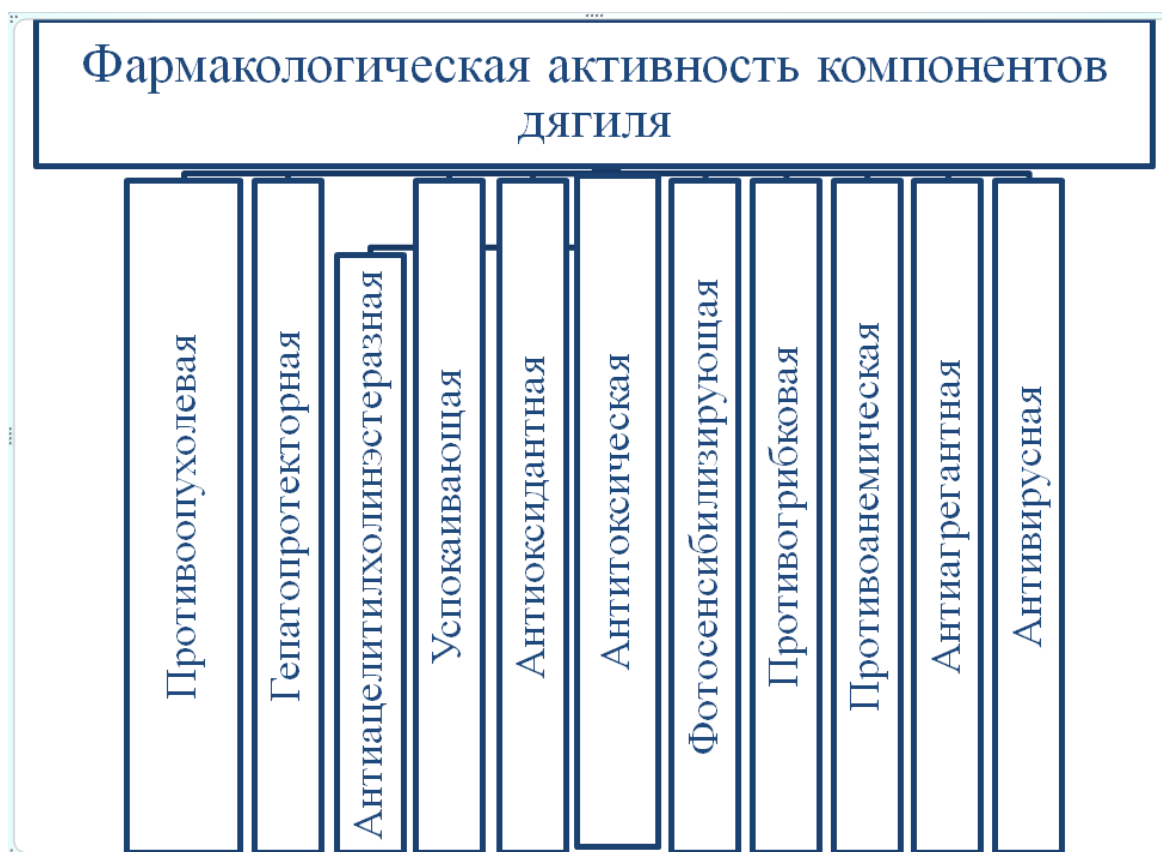


Рисунок 8. Фармакологическая активность БАВ *Archangelica officinalis*

Экстракты *A. officinalis in vitro* показали антиканцерогенную активность по отношению к клеткам опухолей поджелудочной железы. Наиболее выраженная противоопухолевая активность у двух основных кумаринов дягиля: императорина и ксантотоксина. Испытания проводились в естественных условиях и оказались довольно успешными: из одиннадцати мышей, получавших экстракты *A. officinalis*, у 82% не развилось ни одной опухоли или развились незначительно маленькие опухоли по сравнению с безудержным ростом опухоли у контрольных мышей. Однако был сделан вывод, что кумарины, присутствующие в растении, не всегда могут быть ответственны за активность дягиля [180, 181, 182].

Сравнение цитотоксичности эфирных масел из плодов *Archangelica officinalis*, произрастающего в Исландии, показало существенное различие в активности. У двух образцов состав эфирных масел был определен, отличаясь главным образом в отсутствии или в присутствии β -фелландрена. Активность IC_{50} колебалась от 48,6 мкг / мл до 108,3 мкг / мл. Для PANC-1 раковых клеток поджелудоч-

ной железы человека составляло 48,0 мкг / мл, а для CRL клеток рака молочной железы мыши составляло 91,8 мкг/мл.

Цитотоксическая активность эфирных масел дягиля не зависит от количества их основных компонентов [131].

Большое внимание в последнее время уделяется изучению антиоксидантных свойств растительного сырья и препаратов на их основе, а также связи между величиной антиоксидантной активности и содержания биологически активных соединений. Это можно объяснить тем, что многие жизненно важные физиологические и метаболические процессы, которые протекают в организме, тесно связаны со свободно-радикальным окислением и снижение естественной антиоксидантной активности вызывает в организме патологические изменения, являющиеся причиной многих заболеваний [4, 16, 18, 79, 91, 96].

Механизм свободно-радикального окисления и связанная с ним антиоксидантная система рассматриваются как важнейшее патогенетическое звено многих патологических процессов. От этого механизма зависит структурно-функциональная целостность клеток и тканей организма, что напрямую связано с воспалительными процессами, а также опухолевой трансформацией и старением организма. Антиоксидантная защита может стать важным фактором на пути мутагенных изменений, ведущих к образованию неопластических клеток и опухолевой прогрессии [118].

Высокой антиоксидантной активностью обладает феруловая кислота, с наличием которой связывают активность экстрактов *Archangelica officinalis* на развитие симптомов деменции и дегенерации фронтальных долей мозга. Считается, что экстракты *Archangelica officinalis* способны тормозить развитие старческой деменции [139].

Высокой антиоксидантной активностью обладают пренилированные кумарины, в частности умбреллопренин и аураптен (рис. 9).

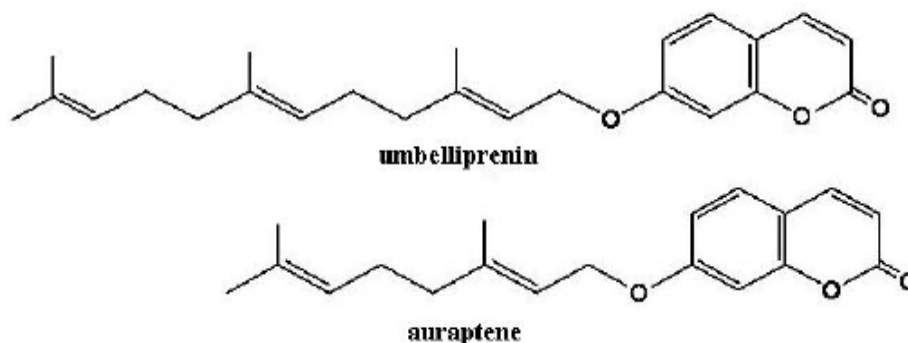


Рисунок 9. Пренилированные кумарины, умбреллипренин и аураптен

1.7. Нормативная документация на сырье дягиля

Согласно ГОСТа 21569 – 76 корни дягиля лекарственного предназначены для поставки на экспорт и использования в пищевой промышленности. Корневища с корнями дягиля необходимо собирать осенью или ранней весной. Сырье дягиля лекарственного должно состоять из коротких (около 6-8 см) корневищ и продольно-морщинистых корней (длиной 15-25 см, толщиной 2-3 см), красновато-серых и бурых снаружи, слегка желтоватых или белых внутри; быть ароматным, при измельчении пахнуть сильнее, иметь горьковатый, слегка жгучий и пряный вкус. Сырье должно храниться в сухих, хорошо проветриваемых помещениях до 3 лет.

В высушенном товаре допускается: влажности - не более 14%; зольности – не более 14%; золы, не растворимой в 10% соляной кислоте – не более 4%; корневищ с остатками неотделенных листьев – не более 5%; измельченных частей (длиной не менее 1 см) – не более 3%; органической примеси - не более 1%, минеральной примеси – не более 1%. Не допускается наличие ядовитых растений и их частей, помета птиц, грызунов, плесени и гнили, а также зараженности сырья дягиля лекарственного амбарными вредителями II и III степени.

На поперечном разрезе корневищ и корней под лупой должна быть видна перидерма наружной коры, широкий пояс внутренней коры с многочисленными блестящими точками перерезанных каналов, темный слой камбия и расходящиеся из центра лучи сосудов ксилемы. В центре корневища имеется сердцевина, отсутствующая в корнях [27].

В Европейской фармакопее (EP) нормируется качество высушенных корневищ с корнями *Archangelica officinalis* Hoffm. Согласно требованиям EP, минимальное содержание эфирных масел должно составлять 2,0 мл/кг высушенного сырья. Вкус жгучий [142].

Корневища серовато-коричневого или красновато-коричневого цвета, с поперечными утолщениями. Основание корня серовато-коричневое или красновато-коричневое, цилиндрическое, продольно бороздчатое, иногда разветвленные корни имеют поперечные хребты. На вершине иногда имеются остатки стеблей и листьев. Изломы неравномерные. На поперечных срезах - серовато-белая, губчатая, отчетливо выделяющаяся кора, в которой видны в виде коричневых пятен секреторные каналы, и яркий желтый или серовато-желтый древесины, которая, в корневище, окружает сероватый или буровато-белый сердцевину.

Хроматографическое исследование дягиля лекарственного, которое проводится согласно Европейской фармакопее:

К 1,0 г свежего порошка препарата добавляют 5 мл метанола и ставят на водяную баню в течение 30 мин. Охлаждают, фильтруют. Растворяют 5 мг кумарина и 25 мкл эвгенола в 10 мл метанола. ТСХ проводят на пластинах силикагеля УФ 254. В качестве подвижной фазы используют метилхлорид: толуол (50:50 по объему). Тестируемый препарат наносят в виде полос. Повторяют дважды разгонку по 10 см. Сушка на воздухе.

Обнаружение. Определяют в ультрафиолетовом свете при 254 нм; отмечают зоны кумарина и эвгенола на хроматограмме раствора сравнения; в ультрафиолетовом свете при λ 365 нм. Посторонние примеси - не более 5% в листьях, не более 5% в корнях. Влажность - не более 10%, общая зола - не более 10%, зола, не растворимая в соляной кислоте - не более 2%. Определение содержания эфирных масел в растительном сырье. Из порошка корней дягиля (500,0 г) берут 40,0 г для определения. Используется 2-литровая круглодонная колба, 10 капель жидкого парафина, 500 мл воды для перегонки жидкости и 0,50 мл, ксилола в градуированную пробирку. Перегонка со скоростью 2-3 мл / мин в течение 4 часов[142].

В Американской фармакопее дается микроскопическая характеристика лекарственного растительного сырья (рис. 10). Порошок корневищ с корнями коричневато-белый. Диагностические признаки: фрагменты состоят из нескольких слоев тонкостенных серовато-коричневых или красновато-коричневых клеток, по поверхности [С] или в поперечном сечении [В]; большие, желтовато-коричневые секреторные каналы, полностью или фрагментированы, в поперечном сечении [А] или в продольном сечении [F]; фрагменты сердцевинных лучей, 2 или 4 клеток в ширину [G], фрагменты из ксилемы [В], состоящей из одревесневших сосудов с сетчатым утолщением [Ва], расположенных по одиночке или небольшими группами, и лигнифицированными оболочками паренхимы, в которых некоторые из клеток связаны с утолщенными сосудами колленхимы.

В порошке многочисленные, простые гранулы крахмала 2-4 мкм в диаметре, свободные или включенные в клетки паренхимы [D].

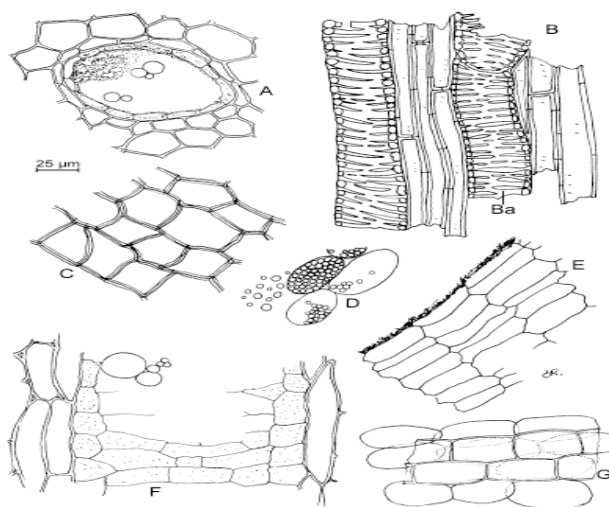


Рисунок 10. Микроскопическая характеристика корневищ с корнями дягиля
(Американская фармакопея)

Аюрведическая фармакопея Индии предусматривает тонкослойную хроматографию метанольного экстракта корней на пластинах силикагеля 'G', с использованием метанола:хлороформа (2:98) в качестве подвижной фазы. По окончании ТСХ пластинки опрыскивают 2% ванилином в серной кислоте и нагревают пластину течение пяти минут при 110°C. При этом должно появиться оранжево ко-

ричное пятно при $R_f=0.37$ (оксипеucedанин) и серовато синее пятно $R_f=0,68$ (архангелин) (рис. 11,12) [122].

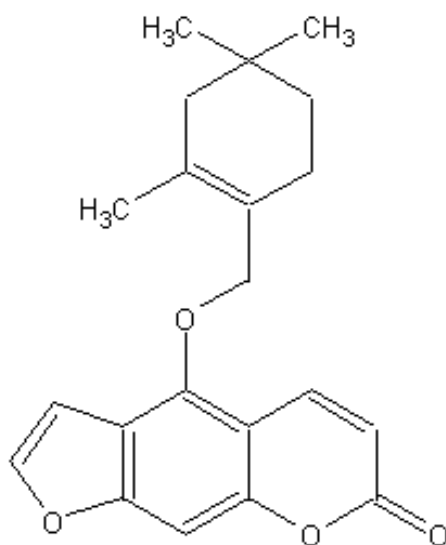


Рисунок 11. Архангелин

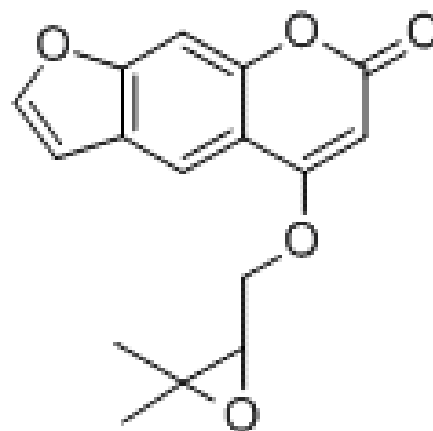


Рисунок 12. Оксипеucedанин

Заключение по главе 1

1. Обобщение и анализ данных литературы показал, что вещества, содержащиеся в дягили лекарственном, обладают разносторонним терапевтическим действием, что позволяет рассматривать это растение как перспективный источник лекарственных средств.

2. Приведенные выше данные показывают, что химический состав листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного, произрастающего на территории РФ, недостаточно исследован, а биологически активные вещества, содержащиеся в нем, обладают широким спектром фармакологического действия, что представляет несомненный интерес для дальнейших исследований.

3. Широкое применение *Archangelica officinalis* в российской народной медицине и в официальной медицине зарубежных стран указывают на перспективность углубленного изучения листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного, с целью расширения ассортимента и внедрения новых видов лекарственного растительного сырья.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

Материалами исследования явились листья и корневища с корнями дягиля лекарственного *Archagelica officinalis*, собранные в соответствии с требованиями нормативной документации. Растительное сырье заготавливали осенью и ранней весной.

Отбор проб для анализа, изучение показателей качества и характеристик подлинности и осуществляли, руководствуясь общими статьями ГФ СССР XI издания.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Определение подлинности сырья

Макроскопический анализ сырья проводили при осмотре составных компонентов аналитической пробы невооруженным глазом и под лупой с десятикратным увеличением. Размеры сырья определяли с помощью миллиметровой линейки, проводили несколько измерений, затем рассчитывали среднее значение.

Микроскопическое исследование листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного проводили следующим образом: подземные органы предварительно замачивали в смеси вода - глицерин - спирт этиловый (1:1:1), затем проводили мацерацию объекта в 5% растворе натрия гидроксида [28, 29, 34].

Готовые препараты фиксированного материала фотографировали фотоаппаратом и с помощью микровизора MVZ-103.

С использованием микроскопического анализа проводили стандартизацию и контроль качества растительного сырья посредством количественной оценки проявления диагностических значимых признаков. Анализ проб проводили по известной методике И.А. Самылиной и О. Г. Потаниной [86].

Для анализа использовали порошки, проходящие сквозь сито с отверстиями диаметром 0,5 мм. Наблюдение проводили под микроскопом «Минимед-501» при

увеличении $4*0,10*37,5$; $10*0,25*7,63$; $40*0,65*0,63$. Исследование проводили в 15 повторностях, подсчитывая сумму диагностических значимых частиц, сумму диагностически незначимых частиц и общую сумму частиц (путем сложения перечисленных сумм).

2.2.2. Методы определения доброкачественности

Определение влажности сырья проводили согласно известной методике по ГФ СССР XI (ч.1).

Общую золу исследуемого сырья определяли по ГФ XII (ч. 1). Также с помощью методик ГФ СССР XI (ч.1) определяли степень измельченности и содержание примесей в сырье.

Сроки годности листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного устанавливали в соответствии со ст. 40 ГФ XII «Сроки годности лекарственных средств». Срок годности устанавливался на основании экспериментального изучения стабильности опытных партий листьев, корневищ с корнями дягиля в различных видах упаковки в соответствии с рекомендациями нормативной документации (бумажные пакеты, картонные пачки, тканевые мешки), и оптимальных условиях хранения [28, 30]. Стабильность сырья в различных видах упаковки и в разных условиях хранения изучали путем периодического и систематического контроля показателей качества, значения которых могли изменяться в период хранения сырья (влажность сырья, количественное содержание полисахаридов).

Микробиологическую чистоту устанавливали согласно ст.32 ГФ XII «Микробиологическая чистота».

2.2.3. Методы фитохимического анализа

2.2.3.1. Методы качественного анализа биологически активных веществ

Для проведения качественных реакций нами были приготовлены очищенные экстракты [40]. Сырье экстрагировали в соотношении 1:10 96% этиловым спиртом. Затем полученное спиртовое извлечение упаривали, густой оста-

ток растворяли в горячей воде и очищали от липофильных веществ хлороформом. Таниды осаждали 5% раствором желатина, а затем экстрагировали этилацетатом, который отгоняли под вакуумом на ротационном испарителе ИР1-М2. Сухой остаток, содержащий флавоноиды, растворяли в 96% этиловом спирте и проводили качественные реакции (цианидиновая проба по Брианту, с 0,5 % раствором хлорида железа (III), с 2% спиртовым раствором алюминия хлорида, с 10% спиртовым раствором натрия гидроксида) [12, 31, 108].

Обнаружение дубильных веществ *проводили* по известным методикам в водном (1:10) извлечении (реакция с желатином и раствором железоаммониевых квасцов) [109].

Качественное обнаружение фенолкарбоновых кислот проводили методом бумажной хроматографии: 0,02 мл спиртового извлечения наносили микропипеткой или микрокапилляром на линию старта бумаги марки Санкт-Петербургская в виде точки. Бумагу с нанесенной пробой высушивали на воздухе в течение 5 минут, затем помещали в камеру (предварительное насыщение камеры не менее 1 часа), содержащую 2% раствор кислоты уксусной и хроматографировали восходящим способом. Как только фронт растворителя доходил до отметки 25-30 см, бумагу вынимали из камеры, высушивали в вытяжном шкафу в течение 10 минут и просматривали в УФ-свете при длине волны 360 нм [8, 107].

Присутствие *аскорбиновой кислоты* в извлечении определяли хроматографическим методом, проявляя 0,04% водным раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия [109].

Для обнаружения *кумаринов* проводили лактонную пробу, используя реакцию, основанную на образовании окрашенных растворов с диазореактивом, и по способности флуоресцировать в УФ-свете [31, 55].

Качественное обнаружение *полисахаридов* проводили, согласно известной методике [29].

Качественный анализ *сапонинов* и установление структурной группы проводили с использованием известных реакций [31].

Качественное определение *аминокислот* проводится нагреванием очищенного водного извлечения на кипящей водяной бане с 0,1% спиртовым раствором нингидрина. Появление и усиление красно-синего окрашивания при охлаждении свидетельствует о наличии α -аминокислот [72, 94].

Хроматографическое исследование

Определение качественного состава кумаринов

Компонентный состав кумаринов исследовали методом восходящей тонкослойной хроматографии на пластинке «Silufol UV 254» в системе 1. этилацетат – толуол (7:93).

Идентификацию веществ кумариновой природы осуществляли по: характеру свечения и окраске пятен веществ на хроматограмме при свечении в УФ-свете (при 365 нм), по величинам R_f в сравнении со стандартными веществами [177].

Выделение индивидуальных веществ и их идентификация

Выделение индивидуальных кумаринов проводили методом препаративной хроматографии в тонком слое сорбента с использованием пластинок с силикагелем марки «Silufol UV-254». После разделения суммарных экстрактов в подходящей системе растворителей хроматограммы детектировали в присутствии «свидетелей» в УФ-свете.

Идентификацию выделенных природных соединений осуществляли путем сравнения хроматограмм с аутентичными образцами веществ [20, 22, 54].

Расчет параметров и количественную оценку тонкослойной хроматографии проводили с помощью денситометра Сорбфил. Прибор предназначен для расчета параметров и количественной оценки результатов анализов в тонкослойной хроматографии.

Для более полного разделения и идентификации компонентов эфирного масла и кумаринов дягиля лекарственного провели газохроматографический анализ в сочетании с масс – спектрометрией на приборе хромато-масс-спектрометре Thermo Finnigan.

Кумарины экстрагировали из корневищ с корнями и листьев *A. archangelica* неполярными растворителями по А.П. Прокопенко и Д.Г. Колесникову [87]. Метод включает следующие стадии: экстракцию 96% спиртом, извлечение кумаринов из упаренных спиртовых экстрактов хлороформом, дихлорэтаном. После отгонки растворителей концентрированные извлечения растворяли метанолом и хроматографировали.

Метанольный экстракт был проанализирован на хромато-масс-спектрометре Thermo Finnigan– хроматограф–Finnigan 800, масс-спектрометр высокого разрешения MAT-95XP ЭВМ “Delta”.

Разделение компонентов осуществлялось на колонке капиллярной – длина 30 м, диаметр 0.25мм, привитая фаза, содержащая 5% диметилфенилсиликона и 95% диметилсиликона.

Программированный нагрев хроматографической колонки: изотерма 50 °С, 2 мин, подъем температуры до 250 °С, скорость подъема 10 °/мин. Температура инжектора -250 °С (Постоянный поток). Идентификация проводилась по полным масс-спектрам, входящей в систему хромато-масс-спектрометра и содержащей библиотеку (“NIST02”) в количестве 250 000 масс-спектров.

Индексы сходства библиотечных и зарегистрированных спектров составляли не ниже 89%.

2.2.3.2. Методы количественного анализа биологически активных веществ

Определение суммы флавоноидов проводили с использованием спектрофотометрического определения на спектрофотометре Спекорд – 46 и UV-1800 (Shimadzu) в пересчете на рутин [13,14].

Содержание *дубильных веществ* осуществляли по ГФ СССР XI [28, 32].

Содержания *фенолкарбоновых кислот* определяли прямым спектрофотометрическим методом.

1,0 г измельченного сырья (точная навеска) помещали в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, приливали 20 мл экстрагента, присоединяли к обратному

холодильнику, нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 мин с момента закипания экстрагента в колбе. Экстракцию повторяли дважды в описанных выше условиях. Охлажденное извлечение фильтровали в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объём экстрагентом до метки (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещали 1 мл фильтрата и доводили объём раствора соответствующим экстрагентом до метки (раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б измеряли на спектрофотометре при длине волны 325 нм. В качестве раствора сравнения использовали соответствующий растворитель.

Содержание суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на кофейную кислоту и воздушно-сухое сырье в процентах (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D * 50 * 100 * 100}{m * 782 * (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; W – потеря массы при высушивании сырья, %, 782 – удельный показатель поглощения кофейной кислоты при 325 нм [71].

Количественное определение *аскорбиновой кислоты* проводили титриметрическим методом раствором 2,6 - дихлорфенолиндофенолята натрия по статье «Fructus *Rosae*» ГФ СССР XI [29].

Количественное определение *кумаринов* проводили спектрофотометрическим методом в пересчете на кумарин, описанном в ФСП 42-0330168301 «Herba *Meliloti*» [105].

Количественное определение свободных органических кислот определяли титриметрическим методом по ГФ СССР XI [29].

Содержание *сапонинов* оценивали спектрофотометрическим методом.

Около 5,0 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл воды и экстрагировали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 120 мин. Полученное извлечение фильтровали в мерную колбу вместимостью 50 мл и тем же экстрагентом доводили до метки. 5 мл экстракта помещали в колбу с обратным холо-

дильником, прибавляли 3 мл смеси хлористоводородная кислота концентрированная - вода (1:1) и нагревали на водяной бане 30 мин. Затем раствор охлаждали под струей холодной воды и смывали в делительную воронку, прибавляли 20 мл смеси хлороформ – этиловый спирт 95% (5:1) и взбалтывали в течение 10 мин. После расслоения хлороформное извлечение фильтровали через фильтр с 5 г натрия сульфата безводного в стеклянную колонку с 2 г алюминия оксида. Операцию извлечения смесью хлороформ- этиловый спирт 95% (5:1) повторяли еще три раза, используя по 20 мл смеси. Хлороформный элюат упаривали на кипящей водяной бане до 2 мл, остаток растворителя удаляли продуванием воздуха. Сухой остаток переносили 70% этиловым спиртом в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили объем раствора этим же растворителем до метки. К 5 мл полученного раствора прибавляли 5 мл серной кислоты концентрированной и тщательно перемешивали. Через 30 мин измеряли оптическую плотность полученного раствора на фотоэлектроколориметре при длине волны 490 нм. В качестве раствора сравнения использовали воду очищенную [41].

Содержание тритерпеновых соединений в пересчете на олеаноловую кислоту и абсолютно сухое сырье в процентах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{D * V * 100}{22.9 * m * (100 - W)},$$

D - оптическая плотность испытуемого раствора;

V - объем экстракта, взятого для измерения, мл;

m - масса сырья, г;

W - потеря в массе экстракта при высушивании, %.

22,9 – удельный показатель поглощения олеаноловой кислоты

Содержание суммы *полисахаридов* определяли по ГФ СССР XI, статье «*Folia Plantaginis majoris*» гравиметрическим методом после осаждения 96% этиловым спиртом из водного извлечения и последовательного промывания осадка суммы полисахаридов органическими растворителями [29].

Количественное содержание *эфирного масла* изучали методом гидродистилляции (метод № 1 по ГФ СССР XI) [28].

2.2.4. Рентгенофлуоресцентный метод

Оценку определения минерального и аминокислотного состава проводили совместно с Лабораторией ФГБНУ «Башкирский научно исследовательский институт сельского хозяйства».

Для определения минерального состава листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного использовался рентгено-флуоресцентный метод с применением электродного анализатора JEOLJXA 6400 с приставкой энерго-дисперсионного анализа Nozan [37, 84].

Аминокислотный состав сырья определяли рентгенофлуоресцентным методом на спектрометре «PacificScientific-6520», предназначенного для определения элементного и аминокислотного состава различных материалов.

Программное обеспечение установки позволяет анализировать пробы «бесстандартным» методом с относительной ошибкой 1-10% в зависимости от соединения. Дополнительная калибровка прибора по эталонным образцам, приводит к уменьшению относительной ошибки меньше $\pm 0,1 \%$ [114].

2.2.5. Методы исследований биологической активности

В составе дягиля лекарственного содержится комплекс различных групп биологически активных соединений, обладающих широким спектром биологической активности. Оценку биологической активности проводили совместно с Лабораторией биоорганической химии УНЦ РАН (доцент Н.Ж. Басченко), кафедрой фармакологии №2 Башкирского государственного медицинского университета (профессор Л.А. Валеева), ЦНИЛ Башкирского государственного медицинского университета (профессор Р.Р. Фархутдинов).

Исследование острой токсичности

Изучение острой токсичности листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного проводили в соответствии с рекомендациями Фармакологического Комитета на 42 белых беспородных мышах обоего пола, массой 18-20 г.

Подготовку животных к исследованию проводили по общепринятой схеме (голодание, маркировка, взвешивание, разделение по группам). Условия содержания животных соответствовали общепринятым стандартам по экспериментальному изучению безопасности веществ. Вводили исследуемые объекты в виде 10% настоя и отвара при однократном пероральном способе введения в дозах: 5000, 7500, 10000 мг/ кг массы животных в пересчете на сухой вес сбора внутрибрюшинно и перорально. За животными вели наблюдение в течение 14 дней; отмечали клиническую картину отравления (внешний вид, поведенческую реакцию, активность, частоту дыхания, пробы на рефлекторную возбудимость, увеличение массы тела), устанавливали взаимосвязь между количеством выживших животных и дозой. Параметры токсичности вычисляли по Литчфильду-Уилкоксону [11].

Антиоксидантная активность

Антиоксидантную активность оценивали с использованием трех методик.

По методике 1 об антиоксидантной активности исследуемого сырья судили по его способности ингибировать аутоокисление адреналина *in vitro* и тем самым предотвращать образование активных форм кислорода. Обнаружено, что в процессе аутоокисления адреналина в щелочной среде при комнатной температуре интенсивно нарастает поглощение с максимумом при 347 нм. Установлено, что появление этого продукта окисления адреналина значительно опережает по времени образование адrenoхрома (480 нм). Поэтому мы использовали определение данного вещества для измерения антиоксидантной активности различных видов лекарственного растительного сырья и растительных композиций [97].

Антиоксидантную активность *методом 2* определяли по изменению хемилюминесцентного свечения.

Измерение антиоксидантной активности проводили в модельных системах (*in vitro*) по изменению интенсивности хемилюминесценции на хемилюминометре ХЛ-003: в реакциях образования активных форм кислорода (АФК) и в

реакциях свободно-радикального перекисного окисления липидов (ПОЛ), наиболее часто встречающихся в организме. В первой модели исследовали воздействие биологических объектов на активные формы кислорода, которые инициировали введением 1 мл 50 мМ раствора сернокислого железа. Для реакции использовали 20 мл фосфатного буфера (20 мМ KH_2PO_4 – 2,72 г, 105 мМ KCl – 7,82 г в 1 л дистиллированной воды) с добавлением 1,5 г цитрата натрия и активатора хемилюминесценции люминола (маточный раствор - 10^{-4} М раствор в диметилсульфоксиде; рабочий раствор люминола – 0,5 мл маточного раствора, разведенного в физиологическом растворе). Величину pH полученного раствора доводили до 7,45 единицами титрованием насыщенным раствором КОН и добавлением 0,2 мл маточного раствора люминола (10^{-5}). Во второй модели для оценки воздействия объектов исследования на перекисное окисление липидов их добавляли к липидам, полученным из куриного желтка, содержащего липопротеиновые комплексы, сходные с липидами крови. Желток смешивали с фосфатным буфером (20 мМ KH_2PO_4 – 2,72 г, 105 мМ KCl – 7,82 г в 1 л дистиллированной воды) в соотношении 1:5, гомогенизировали и разводили в среднем 25 мл полученного гомогената на 1 л буфера. Далее отбирали 20 мл, хемилюминесценцию инициировали добавлением 50 мл раствора сернокислого железа (1,39 г на 100 мл дистиллированной H_2O , подкисленной 0,1 мл 0,1 н HCl) при постоянном перемешивании, что приводило к окислению ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов. О процессах перекисного окисления липидов судили по интенсивности хемилюминесценции, которую регистрировали в течение 5 мин [92].

Для определения антиоксидантной активности *методом 3* мы использовали экспресс-метод на культуре клеток.

Антиоксидантную активность водных настоев изучали с использованием экспресс-метода на культуре клеток по Степановой Э.Ф. и соавт. [51].

К настоящему моменту в биотестировании наиболее широкое распространение получили тесты на одноклеточных микроорганизмах - инфузории парамеции [3, 6, 35, 42].

Paramecium caudatum относится к типу Protozoa, классу Infusoria, подклассу Ciliata. Клетки парамеций имеют постоянную форму в виде эллипса с размерами 200 x 40 мкм, покрыты продольными рядами мелких ресничек. С их помощью инфузории плавают со скоростью до 2,5 мм/с.

Выбор парамеций в качестве живой модели для исследования биологической активности и токсичности лекарственных средств обусловлен тем, что они сочетают в себе морфологические признаки клетки и реакцию самостоятельно-го организма на внешнюю среду. Поэтому на парамециях можно изучить как клеточные, так и организменные реакции на различные воздействия. Так как парамеции, как и человек, являются эукариотами, норма их реакции на те или другие внешние воздействия может быть соотнесена с нормой реакции человека. Немаловажное значение в использовании парамеций в качестве тест-объектов имеет возможность получения стандартизованного биотеста, простота их культивирования в лабораторных условиях, высокая воспроизводимость результатов (значительно лучше, чем при использовании крупных животных организмов), возможность проводить экспериментальные исследования в любое время года и получать результаты в короткий срок – от 3 до 20 минут [39, 57, 85, 93, 95, 98].

Парамеции культивировали на среде Лозина-Лозинского, содержащей 0,1 г натрия хлорида, по 0,01 г калия хлорида, кальция хлорида, магния хлорида и 0,02 г натрия гидрокарбоната, при температуре 22-25°C, естественном освещении, избегая попадания прямых солнечных лучей до достижения концентрации 100-150 клеток в 1 мл. Для питания инфузорий использовали настой зерен овса (1-3 зерна на 10 мл культуры). Культивирование парамеций проводили в колбах емкостью 30-50 мл. Высота культурного слоя не более 3 см для свободного проникновения кислорода, среда нейтральная.

К культуре парамеций добавляли испытуемое извлечение и выдерживали в хроническом опыте 24-72 часа, во время которого формируются защитные механизмы, затем создавали патологическую модель повреждения мембран парамеций 14% раствором этанола и 3% раствором пероксида водорода, засекая

время полной их остановки. Повышая далее процентное содержание ядов, фиксировали концентрацию, вызывающую лизис. Контролем служили интактные клетки. По способности фитопрепаратов повышать толерантность парамеций к клеточным ядам судят об их адаптогенной активности.

Методы определения антимикробной активности

Микробиологические исследования проводились на лабораторных клинических штаммах бактерий, в экспериментальной лаборатории кафедры микробиологии с курсами вирусологии и иммунологии БГМУ.

Для изучения антимикробной активности использовали настой листьев и отвар корневищ с корнями дягиля лекарственного. Активность определяли методом серийных разведений на твердых питательных средах и методом бумажных дисков [15, 25, 44].

Метод серийных разведений

10 мл водного извлечения лекарственного растения смешивали с 10 мл стерильной расплавленной и охлажденной до 45°C питательной средой. После тщательного перемешивания 10 мл смеси переносили во вторую пробирку с 10 мл питательной среды, снова тщательно перемешивали и переносили в третью пробирку.

Смесью среды с извлечением из сырья заливали чашки Петри. Затем на поверхность застывшей селективной питательной среды высевали культуры тест-микроорганизмов: *S.aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. albicans*. Контролем служила питательная среда без добавления извлечения. Опытные и контрольные посева выдерживали в термостате при 37°C 2 суток. Результаты учитывали по наличию (+) или отсутствию (-) роста культур.

Метод бумажных дисков

Стерильным пинцетом пропитывали стерильные бумажные диски исходным извлечением из лекарственного растительного сырья и накладывали на по-

верхность селективной питательной среды. Результаты учитывали по зоне угнетения роста микроорганизмов в мм.

2.2.6. Методы технологических исследований

Сухой экстракт получали по методике ГФ СССР XI, ст. «Определение содержания экстрактивных веществ» [28].

Определение содержания тяжелых металлов, влажности, сухого остатка в сухом экстракте проводили по методикам ГФ СССР XI [28, 29].

2.2.7. Методы статистической обработки результатов исследований

Статистическую обработку полученных результатов проводили стандартными методами вариационной статистики с применением программ «Excel 7.0», «Statistica 5.0», «Statistica 6.0». Для отрицания «нулевой» гипотезы использовали U-тест Манна-Уитни. Различия между группами считались статистически значимыми при $P < 0,05$ [24]. Достоверность различий между выборками определяли по непараметрическому U-критерию Манна - Уитни.

ГЛАВА 3. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСНОВНЫХ ГРУПП БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ *ARCHANGELICA OFFICINALIS* HOFFM.

Чтобы внедрить в медицинскую практику новые виды лекарственного растительного сырья, необходимо проведение исследований, позволяющих разработать для них нормативы качества. Основой эффективности и безопасности растительного сырья является соответствие его требованиям нормативной документации. Решение этой проблемы невозможно без проведения полного фитохимического анализа состава лекарственного растительного сырья.

3.1. Результаты качественной оценки основных групп биологически активных веществ *A. officinalis*

По результатам проведенного общего фитохимического анализа в надземной и подземной части *A. officinalis* были обнаружены следующие группы БАВ (табл. 2). Качественное определение проводили с использованием известных методик (гл. 2, п. 2.2.3.1).

Таблица 2

Основные группы БАВ в надземной и подземной частях *A. officinalis*

Группы БАВ	Присутствие/ отсутствие группы БАВ	
	Листья	Корневища с корнями
Полисахариды	+	+
Полифенольные окисляемые соединения (дубильные вещества)	+	+
Органические кислоты	+	+
Флавоноиды	+	+
Кумарины	+	+
Аминокислоты	+	+
Кислота аскорбиновая	+	+
Сапонины	+	+
Фенолкарбоновые кислоты	+	+

Все группы БАВ, выявленные в ходе фитохимического анализа, оказывают

влияние на проявление биологической активности растения, поэтому представляют интерес в плане более детального изучения состава и количественного содержания каждой группы веществ.

3.2. Исследование основных групп БАВ в сырье *A. officinalis*

3.2.1. Флавоноиды

Количественное определение флавоноидов изучаемых объектов проводили методом дифференциальной спектрофотометрии [13, 14] (гл. 2, п. 2.2.3.2). Результаты количественного определения флавоноидов представлены в таблице 3.

Таблица 3

Содержание флавоноидов в листьях и корневищах с корнями *A. officinalis*

№ серии	Содержание флавоноидов (%)	
	в листьях	в корневищах с корнями
1.	1,048±0,052	0,163±0,008
	1,045±0,042	0,160±0,007
	1,052±0,051	0,162±0,005
2.	1,053±0,050	0,162±0,007
	1,055±0,034	0,164±0,004
	1,058±0,043	0,163±0,002
3.	1,073±0,037	0,164±0,002
	1,069±0,036	0,166±0,003
	1,068±0,045	0,165±0,004

Из данных, представленных в таблице, следует, что содержание флавоноидов в листьях дягиля составляет от 1,048±0,052 до 1,073±0,037, в корневищах с корнями дягиля – от 0,160±0,007 до 0,166±0,003.

Статистическая обработка метода представлена в таблице 4.

Таблица 4

Метрологическая характеристика методики

n	f	\bar{x}_{cp}	Δx^2	S^2_{cp}	S_{cp}	P	T (P,f)	Δx	$\varepsilon, \%$
9	8	1,058	0,000 785	0,0000 11	0,0033	0,95	2,306	0,007 6	0,71
9	8	0,163	0,000 002	0,0000 0036	0,0006	0,95	2,306	0,001 4	0,85

Относительная погрешность результатов количественного определения флавоноидов в корневищах с корнями составила 0,85%, в листьях - 0,71%. Таким образом, ошибка единичного опыта не превышает 5%.

3.2.2. Дубильные вещества

Проведенные качественные реакции (гл. 2, п. 2.2.3.1) показали наличие в дягиле лекарственном дубильных веществ конденсированной природы. Количественное определение дубильных веществ проводили методом окислительно-восстановительного титрования по ГФ СССР XI (гл. 2, п. 2.2.3.2). Результаты исследования представлены в таблице 5.

Таблица 5

Содержание дубильных веществ в сырье *A. officinalis*, %

№ серии	Содержание дубильных веществ, %	
	в листьях	в корневищах с корнями
1.	7,24±0,12	4,51±0,23
	7,22±0,09	4,50±0,19
	7,21±0,08	4,52±0,20
2.	7,46±0,22	4,63±0,25
	7,43±0,18	4,60±0,22
	7,44±0,20	4,59±0,23
3.	7,32±0,14	4,56±0,22
	7,35±0,15	4,53±0,20

	7,34±0,12	4,54±0,20
--	-----------	-----------

Из данных, представленных в таблице, видно, что содержание дубильных веществ в листьях дягиля составляет от 7,21±0,08 до 7,46±0,22, в корневищах с корнями дягиля – от 4,50±0,19 до 4,63±0,25.

Относительная погрешность результатов количественного определения содержания дубильных веществ в корневищах с корнями составила 0,75%, в листьях - 1,0% (таблица 6).

Таблица 6

Метрологическая характеристика методики

n	f	хср	Δx^2	$S^2_{\text{ср}}$	$S_{\text{ср}}$	P	T (P,f)	Δx	$\epsilon, \%$
9	8	7,33	0,0743	0,00103	0,032	0,95	2,306	0,074	1,0
9	8	4,55	0,0161	0,00022	0,015	0,95	2,306	0,034	0,75

Таким образом, ошибка единичного опыта не превышает 5%.

3.2.3. Фенолкарбоновые кислоты

Количественное определение фенолкарбоновых кислот изучаемых объектов проводили прямым спектрофотометрическим методом (гл. 2, п. 2.2.3.2). Результаты определения представлены в таблице 7.

Таблица 7

Содержание фенолкарбоновых кислот в листьях и корневищах с корнями *A. officinalis*, %

№ серии	Содержание фенолкарбоновых кислот, %	
	в листьях	в корневищах с корнями
1.	2,62±0,12	4,31±0,12
	2,60±0,10	4,32±0,15
	2,63±0,12	4,33±0,11
2.	2,55±0,08	4,34±0,10
	2,53±0,09	4,35±0,17

	2,56±0,08	4,32±0,14
3.	2,64±0,10	4,30±0,12
	2,62±0,12	4,31±0,12
	2,65±0,13	4,29±0,14

Из данных, представленных в таблице, видно, что содержание фенолкарбоновых кислот в листьях дягиля составляет от 2,53±0,09 до 2,65±0,13, в корневищах с корнями дягиля – от 4,29±0,14 до 4,35±0,17.

Относительная погрешность результатов определения количественного содержания фенолкарбоновых кислот в корневищах с корнями составила 0,34%, в листьях - 1,27% (таблица 8).

Таблица 8

Метрологическая характеристика методики

n	f	хср	Δx^2	$S^2_{\text{ср}}$	$S_{\text{ср}}$	P	T (P,f)	Δx	$\epsilon, \%$
9	8	2,60	0,0148	0,0002055	0,014	0,95	2,306	0,033	1,27
9	8	4,32	0,0029	0,0000402	0,0063	0,95	2,306	0,015	0,34

Таким образом, ошибка единичного опыта не превышает 5%.

3.2.4. Аскорбиновая кислота

Количество аскорбиновой кислоты в сырье дягиля лекарственного проводили титриметрическим методом по ГФ СССР XI (гл. 2, п. 2.2.3.2). Результаты определений представлены в таблице 9.

Таблица 9.

Содержание аскорбиновой кислоты в листьях и
в корневищах с корнями *A. officinalis*, %

№ се- рии	Содержание в листьях	Содержание в корневищах с корнями
1.	0,89±0,04	0,50±0,02
	0,90±0,04	0,49±0,02
	0,91±0,03	0,51±0,01
2.	0,90±0,02	0,53±0,02
	0,92±0,03	0,52±0,01
	0,91±0,01	0,54±0,02
3.	0,87±0,02	0,49±0,01
	0,88±0,03	0,50±0,02
	0,89±0,04	0,51±0,02

Из данных, представленных в таблице, видно, что содержание аскорбиновой кислоты в листьях дягиля составляет от 0,87±0,02 до 0,92±0,03, в корневищах с корнями дягиля – от 0,49±0,01 до 0,54±0,02.

Относительная погрешность результатов определения содержания аскорбиновой кислоты в корневищах с корнями составила 2,5%, в листьях - 1,3% (таблица 10).

Таблица 10

Метрологическая характеристика методики

n	f	x _{ср}	Δx ²	S ² _{ср}	S _{ср}	P	T (P,f)	Δx	ε, %
9	8	0,90	0,0021	0,000026	0,005	0,95	2,306	0,01	1,3
9	8	0,51	0,0022	0,000031	0,0055	0,95	2,306	0,01	2,5

Таким образом, ошибка единичного опыта не превышает 5%.

3.2.5. Кумарины

Содержание кумаринов в сырье *A. officinalis*

Количественное определение суммы кумаринов проводили спектрофотометрическим методом (гл. 2, п. 2.2.3.2). Результаты определения представлены в таблице 11.

Таблица 11

Содержание кумаринов в листьях, корневищах с корнями *A. officinalis*, %

№ серии	Содержание кумаринов, %	
	в листьях	в корневищах с корнями
1.	3,027±0,121	1,065±0,043
	3,019±0,145	1,062±0,041
	3,025±0,130	1,070±0,038
2.	2,985±0,142	1,092±0,033
	2,972±0,122	1,087±0,042
	2,968±0,114	1,098±0,044
3.	3,007±0,135	1,102±0,051
	3,015±0,092	1,103±0,052
	3,035±0,088	1,099±0,048

Из данных, представленных в таблице, видно, что содержание кумаринов в листьях дягиля составляет от 2,968±0,114 до 3,035±0,088, в корневищах с корнями дягиля – от 1,062±0,041 до 1,103±0,052.

Относительная погрешность результатов определения содержания кумаринов в корневищах с корнями составила 1,20%, в листьях - 0,67% (табл. 12).

Таблица 12.

Метрологическая характеристика методики

n	f	хср	Δx2	S2 ср	Scp	P	T (P,f)	Δx	ε, %
9	8	3,006	0,0049	0,00007	0,0083	0,95	2,306	0,02	0,67

9	8	1,086	0,0022	0,00003	0,0055	0,95	2,306	0,013	1,20
---	---	-------	--------	---------	--------	------	-------	-------	------

Таким образом, ошибка единичного опыта не превышает 5%.

Компонентный состав кумаринов в сырье

Методом ТСХ анализировали извлечения сырья, полученные метиловым спиртом в соотношении 1:10. Наилучшее разделение было достигнуто при использовании следующих систем растворителей: этилацетат – толуол (7:93).

В исследуемых извлечениях корневищ с корнями дягиля лекарственного на всех хроматограммах проявляется 7 пятен. Судя по хроматографическому поведению (свечению в УФ-свете, цвету пятен) выявленные вещества относятся к кумариновым соединениям, из которых одно соединение по флуоресценции в УФ-свете, по величине R_f в сравнении с известными веществами (PCO) соответствует бергаптену (подтверждено в присутствии свидетелей) (рис.13).

Далее с помощью прибора денситометра Сорбфил было проведено исследование нашей хроматограммы. На основании представленных результатов на денситограмме (рис. 14), видно совпадение пиков извлечения корневища с корнями дягиля лекарственного с известным веществом (PCO) бергаптен. Величина R_f – извлечения корневищ с корнями дягиля лекарственного (R_f – 0,33), совпадает с известным веществом (PCO) бергаптен (R_f – 0,33).

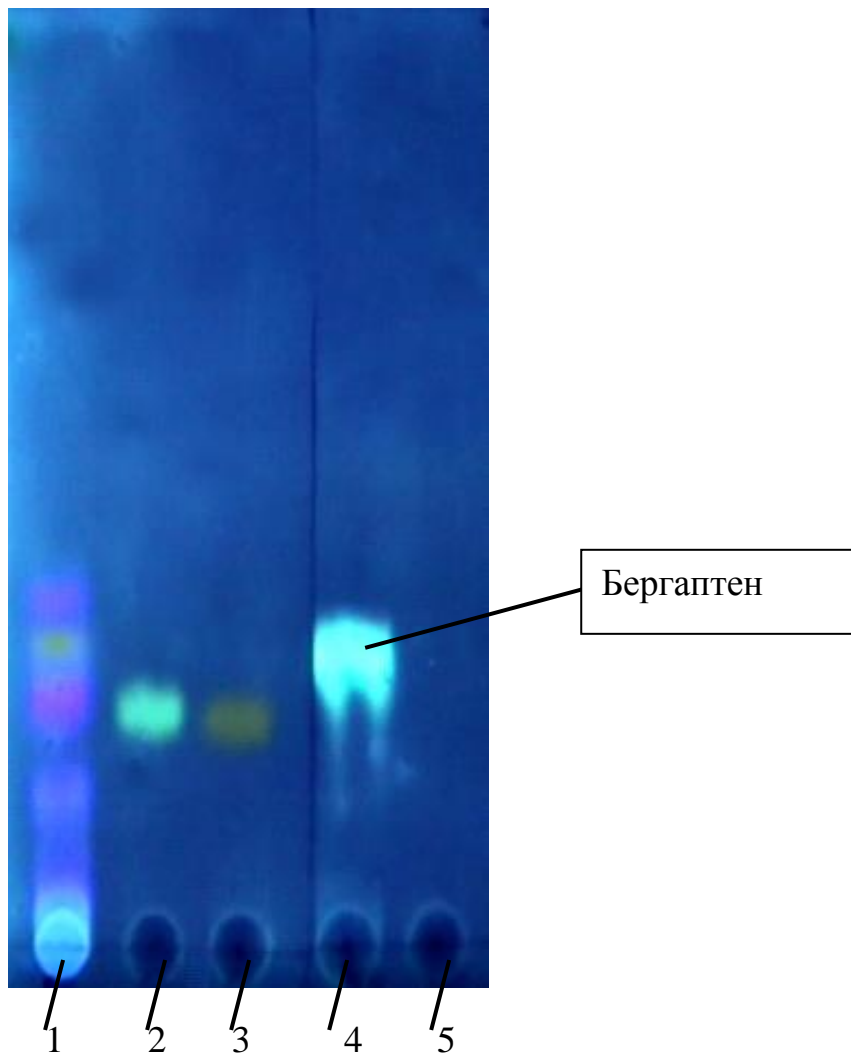


Рисунок 13. Хроматограмма в системе этилацетат – толуол (7:93) в корневищах и корнях дягиля лекарственного (1- извлечение корневищ с корнями дягиля лекарственного, 2 ксантотаксин, 3 – изопимпинеллин, 4 – бергаптен, 5 – кумарин)

Трек № 1(корневища с корнями)

Пик	Rf	L()	S	%S	H	%H	NTP	uNTP	As
1	0		402889	33,1	9105	20,5			
2	0,08		167430	13,8	7095	15,9			
3	0,18		151321	12,4	5964	13,4			
4	0,19		111997	9,2	5952	13,4			
5	0,31		103255	8,5	5407	12,2			
6	0,33		103296	8,5	5508	12,4			
7	0,4		176658	14,5	5453	12,3			
Сумма			1216846		44484				

Трек № 2(бергаптен)

Пик	Rf	L()	S	%S	H	%H	NTP	uNTP	As
1	0,33		167555	100	6880	100	731		
Сумма			167555		6880				

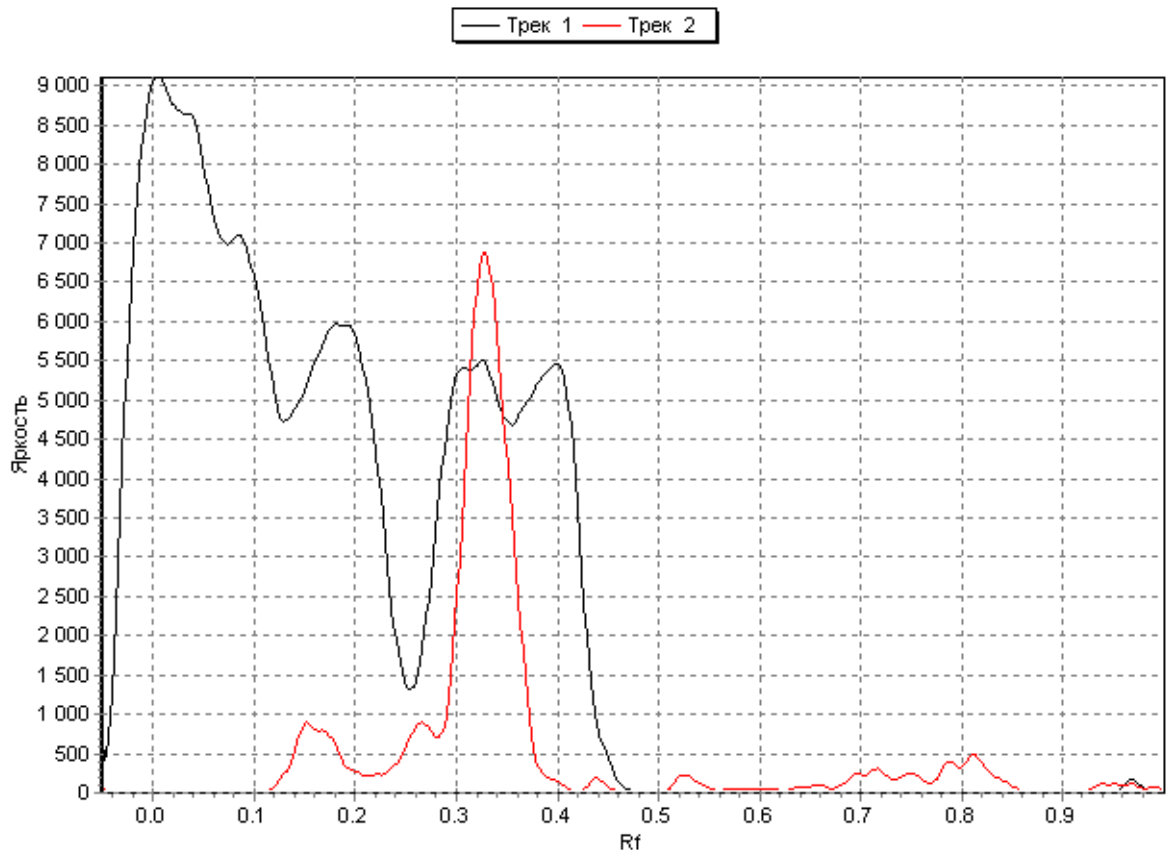


Рисунок 14. Денситограмма извлечения корневищ с корнями дягиля лекарственного и РСО бергаптена.

Также нами исследован компонентный состав суммы кумаринов в листьях дягиля лекарственного *A. officinalis*. Метанольную фракцию анализировали методами: восходящей тонкослойной хроматографии на пластинке «Silufol UV 254» с использованием систем растворителей: этилацетат – толуол (7:93) (рис. 15).

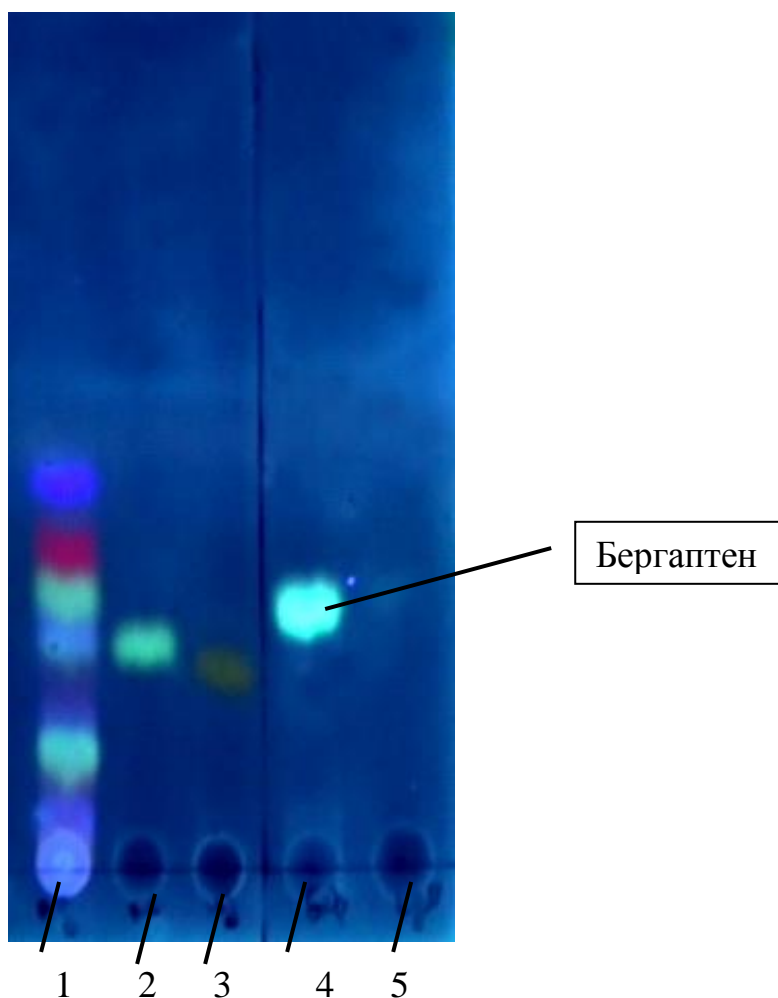


Рисунок 15. Хроматограмма в системе этилацетат – толуол (7:93) в листьях дягиля лекарственного (1- извлечение листьев дягиля лекарственного, 2 - ксантотаксин, 3 – изопимпинеллин, 4 – бергаптен, 5 – кумарин)

Трек № 1(листья)

Пик	Rf	L()	S	%S	H	%H	NTP	uNTP	As
1	0,01		198265	25,8	5625	27,1			
2	0,14		233423	30,4	6129	29,5	140		
3	0,3		242110	31,5	5314	25,6	228		
4	0,45		95282	12,4	3681	17,7	948		
Сумма			769080		20749				

Трек № 2(бергаптен)

Пик	Rf	L()	S	%S	H	%H	NTP	uNTP	As
1	0,3		236382	100	9394	100	578		0,86
Сумма			236382		9394				

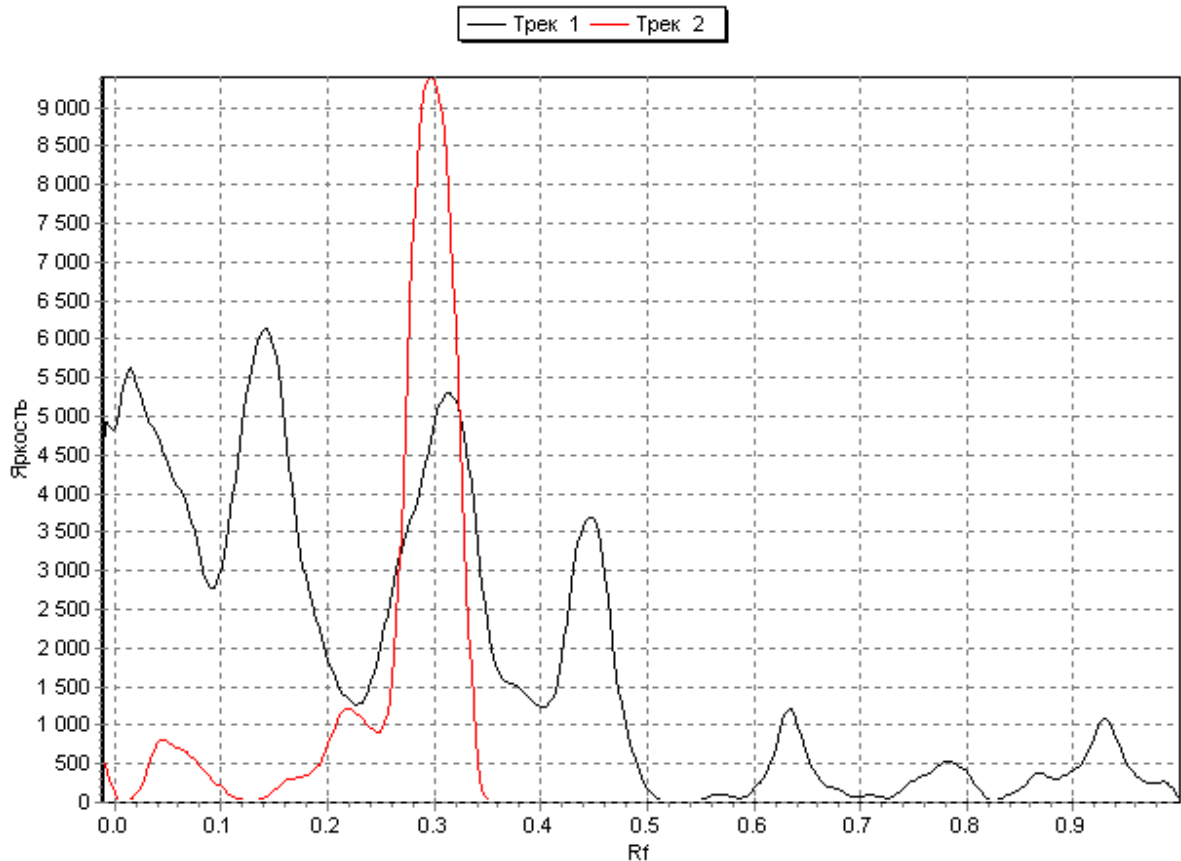


Рисунок 16. Денситограмма извлечения листьев дягиля лекарственного и РСО бергаптена

В листьях дягиля лекарственного обнаружено не менее 4 веществ кумариновой природы, из которых одно соединение по флуоресценции в УФ-свете, по величине R_f в сравнении с известными веществами (PCO) соответствуют бергаптену.

Далее с помощью прибора денситометра Сорбфил было также проведено исследование нашей хроматограммы. На основании представленных результатов на денситограмме (рис.16), видно совпадение пиков извлечения листьев дягиля лекарственного с известным веществом (PCO) бергаптенем. Величина R_f – извлечения листьев дягиля лекарственного ($R_f = 0,3$) совпадает с известным веществом (PCO) бергаптенем ($R_f = 0,3$).

Для подтверждения структуры выделенных веществ нами был использован метод хромато-масс-спектрометрии. Индексы сходства библиотечных и зарегистрированных спектров, составляли не ниже 89%.

Кумарины были экстрагированы из листьев, корневищ с корнями *A. archangelica* неполярными растворителями по Прокопенко и Колесникову [87].

Суммарное содержание кумаринов в листьях дягиля было в 3 раза больше, чем в корнях, соответственно 2,96% и 1,09%. В экстракте листьев идентифицировано семь кумариновых соединений — производных псоралена, из которых наибольший фармакологический интерес представляют: прангенин (оксиимператорин), изомеры прангенина, бергаптен, метоксален, остол. Выделен также хромон - метиловый эфир пеуцина (peucic-7-methyl ether), ранее обнаруженный в корнях горичника японского. Результаты исследования представлены в таблице 13.

Таблица 13

Компонентный состав метанольной фракции листьев и корневищ с корнями *A. archangelica* (метод ГХ)

№№ п/п	Компоненты листьев	Кол-во, %	R _t ,* мин.
1.	Метоксален (меладинин, метокси-8-псорален)	1,94	18,88
2.	Бергаптен	4,07	19,12
3.	Остол	4,78	19,73
4.	8- метил -2Н-фуоро[2,3-h]хромен-2-он	3,61	19,94
5.	Метиловый эфир пеуцина (5-гидрокси-7-метокси-2-метил-6-(3-метил-2-бутенил)- 4Н-бензопиран-4-он)	0,83	22,02
6.	Изомер прангенина (оксиимператорина)	32,80	23,30
7.	Прангенин	20,66	24,63
8.	9-(2-гидрокси-3-метил-3-бутенилокси)-4-метоксифуоро(3,2-g) хромен-7-он	1,56	26,66
	Компоненты корневищ с корнями		
1.	Ангелицин (изопсорален)	1,69	16,22
2.	Метоксален	2,65	18,33
3.	Бергаптен	2,74	19,07

4.	Остол (7-метокси-8-изопентилкумарин)	5,09	19,68
5.	Ороселон (5'-изопрпенилангелицин=кваннин)	71,36	19,90

В экстракте корневищ с корнями идентифицирован ряд кумариновых соединений, из которых преобладают: бергаптен - 2,74%, ангелицин -1,69%, метоксален – 2,65%, остол - 5,09%, ороселан (кваннин) -71,36 %.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности включения свежих продуктов из дягиля в рацион для профилактики вирусных заболеваний в зимний период. Не менее перспективно включение продуктов из дягиля в рацион пожилых лиц с церебральной патологией [155].

В то же время, наличие фотосенсибилизирующих свойств у кумаринов дягиля требует разработки особых рекомендаций по ограничению их применения в периоды с высоким уровнем инсоляции [58].

3.2.6. Свободные органические кислоты

Определение содержания свободных органических кислот проводили титриметрическим методом по ГФ СССР XI (гл. 2, п. 2.2.3.2). Результаты определения представлены в таблице 14.

Таблица 14

Содержание свободных органических кислот в сырье *A.officinalis*, %

№ серии	Содержание свободных органических кислот, %	
	в листьях	в корневищах с корнями
1.	0,62±0,03	0,160±0,006
	0,60±0,01	0,150±0,007
	0,64±0,02	0,170±0,008
2.	0,68±0,02	0,160±0,005
	0,66±0,03	0,170±0,007
	0,65±0,01	0,160±0,005
3.	0,65±0,03	0,170±0,006
	0,64±0,02	0,160±0,005
	0,62±0,02	0,150±0,007

Из результатов, представленных в таблице видно, что содержание свободных органических кислот в листьях дягиля составляет от $0,60 \pm 0,01$ до $0,68 \pm 0,02$, в корневищах с корнями дягиля – от $0,150 \pm 0,007$ до $0,170 \pm 0,007$.

Относительная погрешность результатов определения содержания свободных органических кислот в корневищах с корнями составила 3,8%, в листьях - 2,9% (табл. 15).

Таблица 15

Метрологическая характеристика методики

n	f	х _{ср}	Δx^2	$S^2_{\text{ср}}$	$S_{\text{ср}}$	P	T (P,f)	Δx	$\varepsilon, \%$
9	8	0,64	0,0046	0,0000639	0,008	0,95	2,306	0,018	2,9
9	8	0,16	0,0005	0,0000069	0,0026	0,95	2,306	0,006	3,8

Таким образом, ошибка единичного опыта не превышает 5%.

3.2.7. Сапонины

Количественное определение сапонинов проводили спектрофотометрическим методом (гл. 2, п. 2.2.3.2).

Результаты определения представлены в таблице 16.

Таблица 16

Количественное содержание сапонинов в сырье *A. officinalis*, %

№ серии	содержание сапонинов в листьях	содержание сапонинов в корневищах с корнями
1.	$0,0085 \pm 0,0004$ $0,0084 \pm 0,0003$ $0,0083 \pm 0,0001$	$0,0043 \pm 0,0002$ $0,0040 \pm 0,0001$ $0,0041 \pm 0,0002$
2.	$0,0086 \pm 0,0004$ $0,0085 \pm 0,0002$ $0,0087 \pm 0,0004$	$0,0040 \pm 0,0001$ $0,0039 \pm 0,0002$ $0,0041 \pm 0,0002$
3.	$0,0085 \pm 0,0003$ $0,0086 \pm 0,0003$ $0,0087 \pm 0,0003$	$0,0042 \pm 0,0002$ $0,0040 \pm 0,0001$ $0,0039 \pm 0,0001$

Из результатов, представленных в таблице видно, что содержание сапонинов в листьях дягиля составляет от $0,0083 \pm 0,0001$ до $0,0087 \pm 0,0004$, в корневищах с корнями дягиля – от $0,0039 \pm 0,0001$ до $0,0043 \pm 0,0002$.

Относительная погрешность результатов количественного определения сапонинов в корневищах с корнями составила 2,8%, в листьях - 1,24% (табл. 17).

Таблица 17

Метрологическая характеристика методики

n	f	\bar{x}_{cp}	Δx^2	S^2_{cp}	S_{cp}	P	T (P,f)	Δx	$\epsilon, \%$
9	8	0,0085	0,000000 15	0,0000000 0208	0,000046	0,95	2,306	0,000105	1,24
9	8	0,0040	0,000000 17	0,0000000 0236	0,000049	0,95	2,306	0,000112	2,8

Таким образом, ошибка единичного опыта не превышает 5%.

3.2.8. Полисахариды

Важными биологически активными соединениями, входящими в состав изучаемого растения, являются полисахариды. Известны данные об антибактериальной, противовирусной, иммуностимулирующей, противолучевой и противоопухолевой активности этих соединений. Полисахариды входят в состав соединительной ткани, ферментов, гормонов, стимулируют жизненно важные процессы, обуславливают проницаемость тканей, оказывают влияние на свертываемость крови [53, 76, 100].

Определение суммы *полисахаридов* осуществляли по ГФ СССР XI статье «*Folia Plantaginis majoris*» гравиметрическим методом [29] (гл. 2, п. 2.2.3.2). Результаты определения представлены в таблице 18.

Содержание суммы полисахаридов в сырье дягиля
лекарственного *A.officinalis*, %

№ серии	Содержание полисахаридов, %	
	в листьях	в корневищах с корнями
1.	6,98±0,26	6,95±0,23
	6,48±0,32	7,30±0,22
	6,64±0,028	6,70±0,18
2.	7,30±0,018	7,80±0,32
	7,35±0,22	7,47±0,33
	7,40±0,24	7,81±0,35
3.	7,20±0,25	7,23±0,25
	7,28±0,23	7,56±0,21
	7,30±0,22	7,15±0,26

Из результатов, представленных в таблице, видно, что содержание полисахаридов в листьях дягиля составляет от 6,48±0,32 до 7,40±0,24, в корневищах с корнями дягиля – от 6,70±0,18 до 7,81±0,35.

Относительная погрешность результатов определения количественного содержания полисахаридов в корневищах с корнями составила 3,9%, в листьях - 3,6% (табл. 19).

Таблица 19

Метрологическая характеристика методики

n	f	х _{ср}	Δх ²	S ² _{ср}	S _{ср}	P	T (P,f)	Δх	ε, %
9	8	7,1	0,8853	0,0123	0,1109	0,95	2,306	0,256	3,6
9	8	7,33	1,0985	0,01527	0,1235	0,95	2,306	0,285	3,9

Таким образом, ошибка единичного опыта не превышает 5%.

Таким образом, в сырье дягиля лекарственного нами определены основные группы БАВ, представленные на рисунках 17 и 18.

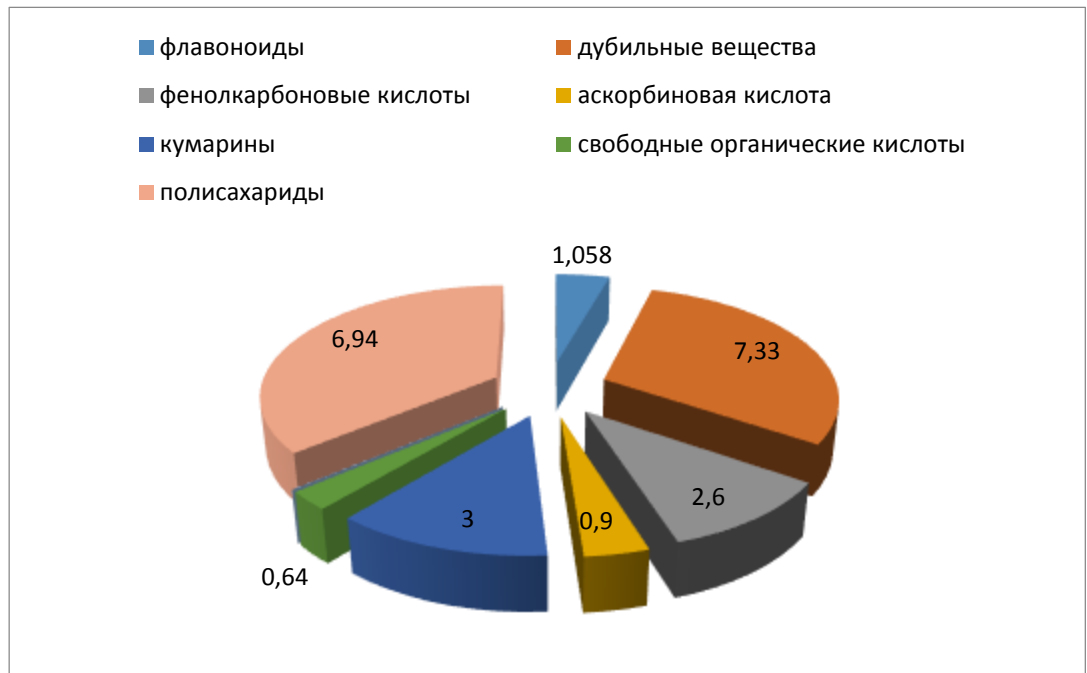


Рисунок 17. Содержание биологически активных веществ в листьях дягиля лекарственного

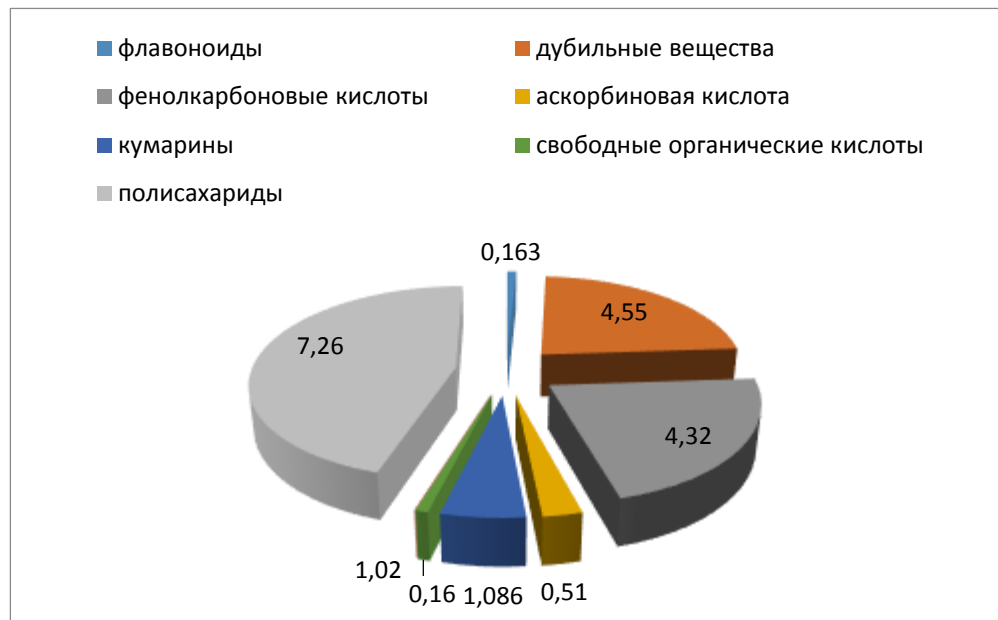


Рисунок 18. Содержание биологически активных веществ в корневищах с корнями дягиля лекарственного

3.3. Разработка методики количественного определения полисахаридов

Согласно полученным нами результатам видно, что содержание полиса-

харидов в сырье дягиля лекарственного значительно и может служить в дальнейшем для его стандартизации. Нами были определены оптимальные условия извлечения полисахаридов.

К управляемым технологическим факторам относятся: соотношение сырья и экстрагента, размер частиц сырья и кратность экстракции.

Водорастворимые полисахариды осаждают 95% этанолом. Для определения оптимального значения выхода из сырья БАВ, для осаждения полисахаридов был взят однократный, двукратный, трехкратный и четырехкратный объем спирта этилового 95% по отношению к извлечению. Результаты исследований представлены в таблице 20.

Таблица 20

Содержание полисахаридов в извлечениях из листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного в зависимости от кратности осаждения (по отношению от объема извлечения) спиртом этиловым 95%

Сырье	Кратность осаждения	Содержание полисахаридов, %
Корневища с корнями	1	2,71±0,08
	2	3,05±0,06
	3	3,74±0,08
	4	3,83±0,07
Листья	1	4,20±0,11
	2	5,19±0,12
	3	7,77±0,19
	4	7,47±0,18

Из результатов, представленных в таблице, видно, что выход полисахаридов при четырехкратном соотношении добавленного 95% этанола по отношению к извлечению из листьев, возрастает незначительно (рис. 19).

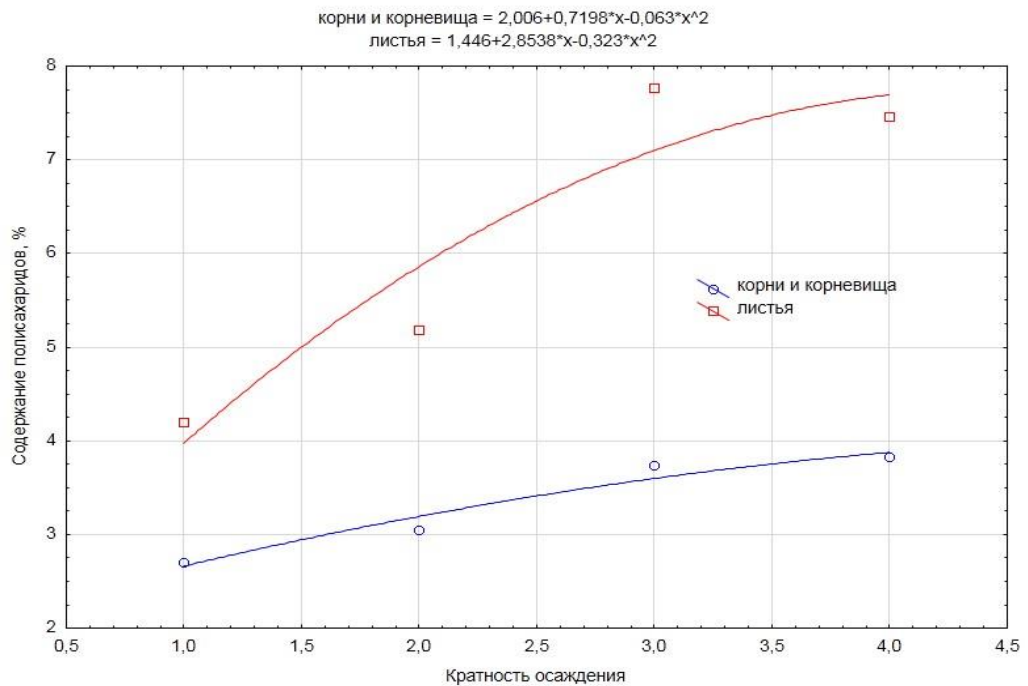


Рисунок 19. Количество осажденных полисахаридов при воздействии этанола при различных соотношениях осадителя

Важным показателем, влияющим на степень истощения растительного сырья при экстракции, является измельченность. Для определения оптимального значения этого показателя исследовали в надземной и подземной частях дягиля лекарственного сырье с размерами частиц 1 мм, 2 мм, 3 мм, 5 мм, 7 мм. Результаты исследования представлены в таблице 21.

Таблица 21

Содержание полисахаридов в извлечениях из листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного в зависимости от размера частиц

Сырье	Размер частиц, мм	Содержание полисахаридов, %
Корневища с корнями	3	2,89±0,05
	5	3,00±0,06
	7	2,57±0,03
Листья	1	5,70±0,09
	2	5,72±0,11
	3	3,00±0,05

Из результатов, представленных в таблице, видно, что оптимальный размер частиц сырья, при котором происходит наибольший выход БАВ для надземной части – 2 мм, и подземной части - 5 мм.

Следующим этапом исследования было определение влияния параметра: «соотношение сырья и экстрагента» на выход БАВ. Были взяты соотношения: 1:10, 1:15, 1:20. Извлечения получали, используя воду очищенную при однократной экстракции, размере частиц для надземной части – 2 мм, подземной части - 5 мм, продолжительности экстрагирования 30 мин. Установили, что выход БАВ находится в прямой зависимости от соотношения сырья и экстрагента (табл. 22). При увеличении соотношения сырье – экстрагент происходит увеличение выхода БАВ из сырья. Наибольший выход наблюдали для надземной части при соотношении 1:20, подземной части 1:15. Дальнейшее увеличение соотношения сырье: экстрагент не приводило к заметному увеличению выхода БАВ. Результаты исследования представлены в таблице 22.

Таблица 22

Содержание полисахаридов в извлечениях из листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного в зависимости от соотношения сырья и экстрагента (однократное извлечение) (в % в пересчете на абсолютно сухое сырье)

Сырье	Соотношение сырье - экстрагент	Содержание полисахаридов, %
Корневища с корнями	1:10	2,40±0,03
	1:15	2,89±0,05
	1:20	2,70±0,03
Листья	1:10	2,60±0,04
	1:15	2,45±0,05
	1:20	3,00±0,05

Для повышения интенсивности и эффективности массообмена при экстрагировании сырья используют метод дробной мацерации, поэтому следующим этапом был подбор кратности экстракции. Извлечения экстрагировали, используя воду очищенную при размере частиц сырья для надземной части – 2 мм, и подземной части - 5 мм, соотношении сырья и экстрагента для надземной части – 1:20 и подземной части – 1:15, продолжительности экстрагирования 30 мин.

Водорастворимые полисахариды (ВРПС) осаждают трехкратным (по отношению к извлечению) объемом спирта этилового 95% при комнатной температуре. Определили, что выход БАВ в извлечение после третьей экстракции возрастает не значительно (табл.23). Поэтому оптимальная кратность экстракции сырья – 3.

Таблица 23

Содержание полисахаридов в извлечениях из листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного в зависимости от кратности экстракции (в % в пересчете на абсолютно сухое сырье)

Сырье	Кратность экстракции	Содержание полисахаридов, в %
Корневища с корнями	1	4,90±0,12
	2	7,50±0,18
	3	8,67±0,21
	4	8,65±0,22
Листья	1	5,70±0,14
	2	7,40±0,15
	3	8,89±0,22
	4	8,80±0,19

Таким образом, на основании проведенных исследований установлено, что наибольший выход полисахаридов достигается при измельчении сырья до

частиц, проходящих сквозь сито с отверстием для корневищ с корнями – 5 мм, для листьев – 2 мм; при соотношении сырья и экстрагента для корневищ с корнями – 1:15, для листьев 1:20; оптимальная кратность экстракции для корневищ с корнями и листьев является – 3-х кратная, при осаждении полисахаридов трехкратным (по отношению к извлечению) объемом спирта 95%.

3.4. Методика количественного определения полисахаридов

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстием для корневищ с корнями 5 мм, для листьев 2 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, соединяют с обратным холодильником и экстрагируют водой очищенной трижды по 30 мин на кипящей водяной бане при соотношении сырье-экстрагент для корневищ с корнями 1:15, для листьев 1:20. Извлечения каждый раз фильтруют через бумажный фильтр и объединяют. Водорастворимые полисахариды (ВРПС) осаждают трехкратным (по отношению к извлечению) объемом спирта этилового 95% при комнатной температуре. Выпавшие плотные осадки отфильтровывают, промывают спиртом этиловым, ацетоном, затем высушивают и взвешивают.

Расчет количественного содержания водорастворимых полисахаридов производят по формуле:

$$X = \frac{m_1 * 100 * 100}{m * (100 - W)},$$

где m – масса сырья, г;

m_1 – масса водорастворимых полисахаридов, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Результаты количественного определения водорастворимых полисахаридов в сырье дягиля представлены в таблице 24.

Таблица 24

Содержание полисахаридов в сырье дягиля
лекарственного *A.officinalis*, %

№ п/п	Содержание полисахаридов, %	
	в корневищах с корнями	в листьях
1.	9,50±0,30	9,22±0,23
2.	8,48±0,28	8,89±0,31
3.	9,15±0,32	8,67±0,22
4.	8,65±0,21	8,77±0,19
5.	8,73±0,28	8,58±0,25
6.	9,01±0,34	8,80±0,23

Из результатов, представленных в таблице видно, что содержание полисахаридов в корневищах с корнями составляет $8,92 \pm 0,29\%$, содержание полисахаридов в листьях составляет $8,82 \pm 0,24\%$.

Относительная погрешность в 7 повторениях в корневищах с корнями составило 3,86%. Относительная погрешность в 7 повторениях в листьях составило 2,15% (табл. 25).

Таблица 25

Метрологическая характеристика методики

n	f	хср	Δx^2	$S^2_{\text{ср}}$	$S_{\text{ср}}$	P	T (P,f)	Δx	ε , %
7	6	8,92	0,6912	0,01646	0,1283	0,95	2,47	0,32	3,86
7	6	8,82	0,2479	0,0059	0,077	0,95	2,47	0,19	2,15

Таким образом, ошибка единичного опыта не превышает 5%.

В ходе исследования установлено, что методика легко воспроизводима, доступна, занимает минимум рабочего времени, не требует дорогостоящих реактивов.

3.5. Валидация методики количественного определения

Согласно требованиям к стандартизации фармацевтических препаратов

неотъемлемой частью современного количественного анализа является валидация (оценка пригодности) используемых аналитических методик, которая включает в себя следующие характеристики: линейность, повторяемость, воспроизводимость [9, 30, 36].

Определение линейности проводили на 5 уровнях концентраций от теоретического содержания полисахаридов в корневищах с корнями (табл. 26), в листьях дягиля лекарственного (табл.27).

Таблица 26

Определение линейности разработанной методики в корневищах с корнями дягиля лекарственного

№	Содержание, %	Масса навески, г	масса водорастворимых полисахаридов, г	Содержание полисахаридов, %
1.	75	0,76	0,040	5,73
2.	100	1,00	0,050	5,98
3.	125	1,26	0,070	6,04
4.	150	1,51	0,080	6,13
5.	175	1,75	0,100	6,20

Критерием приемлемости линейности является коэффициент корреляции. Если его величина близка к единице, то совокупность данных можно описать прямой линией. Величина коэффициента корреляции должна быть не ниже 0,99. Коэффициент корреляции составил 0,99. (табл.26, рис. 20)

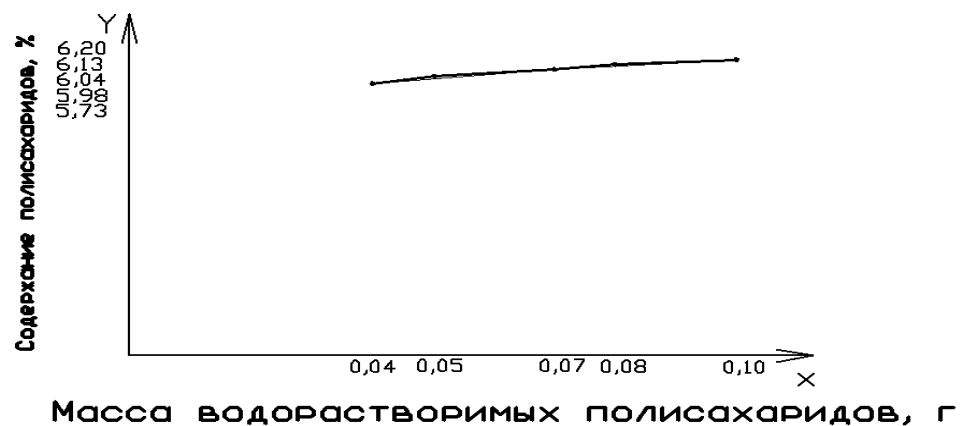


Рисунок 20. Зависимость массы водорастворимых полисахаридов от концентрации полисахаридов в корневищах с корнями

Определение линейности разработанной методики в листьях дягиля
лекарственного

№	Содержание, %	Масса навески, г	масса водорас- творимых поли- сахаридов, г	Содержание полисахаридов, %
1.	75	0,755	0,035	4,90
2.	100	1,050	0,055	5,50
3.	125	1,255	0,070	5,896
4.	150	1,510	0,085	5,95
5.	175	1,750	1,050	6,34

Критерием приемлемости линейности является коэффициент корреляции. Если его величина близка к единице, то совокупность данных можно описать прямой линией. Величина коэффициента корреляции должна быть не ниже 0,99. Коэффициент корреляции составил 0,99. (табл. 27, рис. 21)

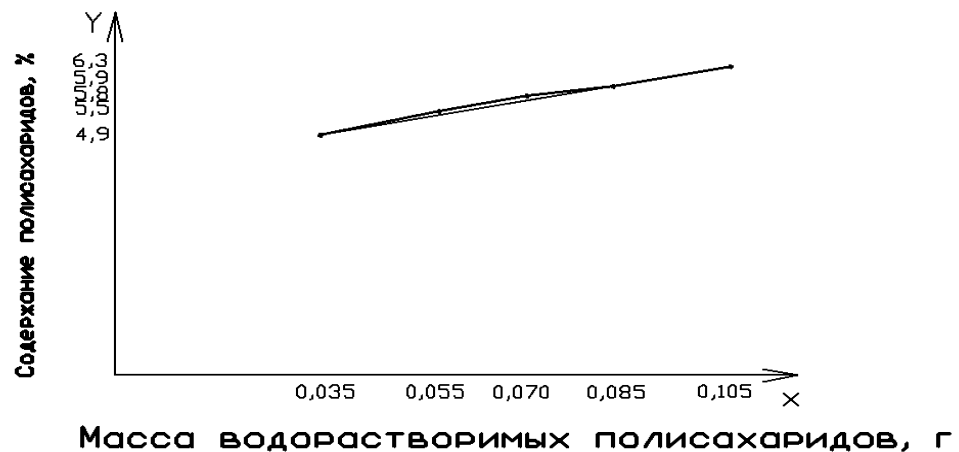


Рисунок 21. Зависимость массы водорастворимых полисахаридов от концентрации полисахаридов в листьях дягиля лекарственного

Повторяемость методики определяли на одном образце в 6 повторностях. Критерий приемлемости выражался относительного стандартного отклонения, которое не должно превышать 10%. Он составил для корневищ с корнями 1,65%, для листьев 3,26%, что свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости (табл. 28).

Повторяемость методики определения водорастворимых полисахаридов

Повторяемость	Содержание полисахаридов, %	
	в корневищах с корнями	в листьях
1.	8,50	9,19
2.	8,47	8,8
3.	8,67	8,48
4.	8,39	8,80
5.	8,48	9,22
6.	8,26	8,89
Среднее значение	8,46	8,90
Относительное стандартное отклонение, %	1,65	3,26

Определение воспроизводимости методики мы выполняли вдвоем (2 аспиранта). Исследование проводили на 3 образцах в 3 повторностях (табл. 29).

Воспроизводимость методики

Повторность	Аналитик	Содержание полисахаридов образцах, %					
		Корневища с корнями			Листья		
		1	2	3	1	2	3
1	1	8,85	8,62	9,01	8,67	8,77	8,89
2	1	8,05	8,58	9,05	8,90	8,72	9,22
3	1	8,48	8,60	9,16	8,55	8,68	8,91
4	2	8,49	8,67	8,92	8,93	8,82	8,80
5	2	8,50	8,65	8,95	8,36	8,48	9,19

6	2	8,47	8,73	8,97	8,82	8,6	9,16
Среднее значение		8,47	8,64	9,01	8,71	8,68	9,03
Относительное стандартное отклонение, %		3,14	0,66	1,01	2,67	1,48	2,43

Критерии приемлемости выражались величиной относительного стандартного отклонения, которое не должно превышать 10%. Он составил для корней и корневищ 2,65%, для листьев 2,19%, что указывает на прецизионность методики в условиях воспроизводимости.

Таким образом, нами была проведена валидационная оценка методики количественного определения суммы полисахаридов по линейности, повторяемости и воспроизводимости. Установлено, что методика количественного определения надежна и дает воспроизводимые результаты.

3.6. Изучение количественного содержания и компонентного состава эфирного масла в листьях и в корневищах с корнями *A. officinalis*

Эфирное масло получали из воздушно-сухого сырья (листьев, корневищ с корнями) методом гидродистилляции с помощью прибора Гинзберга (метод № 1 по ГФ СССР XI) [28].

При получении эфирного масла из листьев дягиля лекарственного, выход был незначительный, отсутствовала возможность определения количественного содержания эфирного масла [7, 23, 26].

Для корневищ с корнями дягиля лекарственного нами были подобраны оптимальные условия количественного определения эфирного масла. Данные исследования представлены в таблицах 30-32.

Таблица 30

Выход эфирного масла в зависимости в зависимости от навески, %.

№ п/п	Навеска, г	Количество эфирного масла, %
1.	10,0	0,10±0,02
2.	20,0	0,12±0,03
3.	30,0	0,14±0,04
4.	40,0	0,13±0,02

Из результатов, представленных в таблице, видно, что максимальный выход эфирного масла наблюдается при использовании навески сырья массой 30,0 г.

Выход эфирного масла в зависимости от степени измельченности, %

Таблица 31

№ п/п	Степень измельченности, мм	Количества эфирного масла, %
1.	3	0,11±0,04
2.	5	0,13±0,04
3.	7	0,15±0,02
4.	10	0,14±0,03

Из результатов, представленных в таблице, видно, что максимальный выход эфирного масла наблюдается при использовании сырья со степенью измельченности 7 мм.

Выход эфирного масла в зависимости от времени перегонки, %

Таблица 32

№ п/п	Время перегонки, ч	Выход эфирного масла, %
1.	1,0	0,10±0,02
2.	1,5	0,12±0,03
3.	2,0	0,15±0,03
4.	2,5	0,14±0,02

Из результатов, представленных в таблице, видно, что максимальный выход эфирного масла наблюдается при времени перегонки 2,0 часа.

На основании проведенных испытаний было выявлено, что максимальный выход эфирного масла наблюдается при времени перегонки - 2 часа, при использовании сырья, прошедшего через сито 7 мм и навеске - 30,0. Дальнейшее увеличение времени перегонки, степени измельченности сырья и массы навески к значительному повышению выхода эфирного масла не приводило.

Полученное эфирное масло представляет собой жидкость светло-желтого цвета со специфическим запахом. Нами был определен также показатель преломления (n_D) эфирного масла дягиля лекарственного. Результаты определения количественного содержания эфирного масла и показателя преломления в корневищах с корнями дягиля лекарственного представлены в таблице 33.

Таблица 33

Количественное содержание и показатель преломления
эфирного масла в корневищах с корнями дягиля лекарственного

№ серии	Содержание эфирного масла, %	Показатель преломления, (n_D)
1.	0,14±0,04	1,4775±0,0152
2.	0,11±0,03	1,4773±0,0228
3.	0,13±0,04	1,4776±0,0238
4.	0,15±0,02	1,4774±0,0352

Из результатов, представленных в таблице, видно, что содержание эфирного масла в корневищах с корнями дягиля лекарственного составило от 0,11%±0,03 до 0,15%±0,02, показатель преломления (n_D) от 1,4773±0,0228 до 1,4775±0,0152.

Качественный состав эфирного масла изучали методом газожидкостной хроматографией на хромато-масс-спектрометре Termo Finnigan –хроматограф

– Finnigan 800, масс- спектрометр высокого разрешения MAT -95XP ЭВМ «Delta» содержащей библиотеку («NIST02») в количестве 250 000 масс–спектров.

Полученная хроматограмма представлена на рисунке 22.

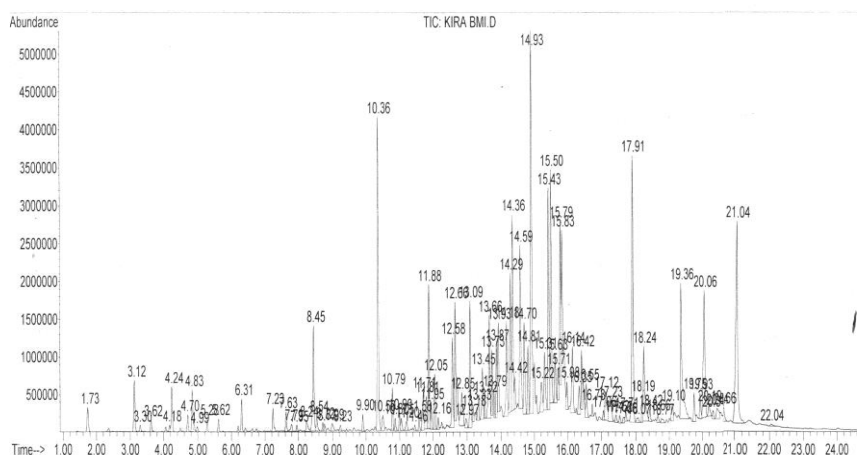


Рисунок 22. Хроматограмма эфирного масла корневищ с корнями дягиля лекарственного

Данные по составу определения эфирных масла из корневищ с корнями дягиля лекарственного представлены в таблице 34. Всего идентифицировано 61 соединение. Индексы сходства библиотечных и зарегистрированных спектров составляли не ниже 89%.

Фракционный состав эфирного масла корневищ с корнями дягиля лекарственного

Таблица 34

№ п/п	Компоненты	Количественное содержание отдельных компонентов, от состава эфирного масла	Время удерживания, мин
1.	α -пинен	0,49	1,73
2.	β -фелландрен	0,89	3,12
3.	β -пинен	0,11	3,30
4.	β -туйен	0,21	3,62
5.	α -фелландрен	0,10	4,18
6.	3- карен	0,73	4,24

7.	1-метил-2-(изо-пропил)-бензол	0,27	4,70
8.	δ -лимонен	0,70	4,83
9.	β -транс-оцимен	0,09	4,99
10.	β -цис-оцимен	0,18	5,28
11.	γ -терпинен	0,20	5,62
12.	(+)-4-карен	0,48	6,31
13.	1-метил-4-(изо-пропил)-транс-2-циклогескан-1-ол	0,39	7,23
14.	1-метил-4-(изо-пропил)-цис-2-циклогексан-1-ол	0,29	7,63
15.	1-(1,4-диметил-3-циклогексан-1-ил)-этанон	0,19	7,79
16.	2-ноненаль	0,10	7,95
17.	триен C11	0,27	8,24
18.	1-терпинен-4-ол	1,87	8,45
19.	пара-цимен-8-ол	0,30	8,54
20.	α -терпинеол	0,13	8,72
21.	цис-пиперитол	0,11	8,77
22.	транс-пиперитол	0,20	8,99
23.	трет-бутил-бензол	0,11	9,23
24.	2-деценаль	0,23	9,90
25.	L-борнилацетат	5,24	10,36
26.	2-бутил-фенол	0,37	10,50
27.	1-этил-2,4,5-триметил-бензол	0,55	10,79

28.	2,4-декадиеналь	0,18	10,87
29.	циклофенхен	0,28	10,99
30.	неоизолонгифолен	0,21	11,05
31.	цикросативен	0,67	11,81
32.	α -кубинен	2,14	11,88
33.	α -гуайен	0,35	11,95
34.	β -элемен	0,81	12,05
35.	β -цедрен	1,51	12,58
36.	элимен	1,90	12,66
37.	изолонгифолен	1,00	12,85
38.	1,4-диметил-3-(2-метил-1-пропен-1-ил)-4-винил-1-циклогептен	0,22	12,97
39.	цис- α -бисаболен	2,11	13,09
40.	цис-11-тетрадецен-1-ол	0,20	13,18
41.	γ -мурролен	0,34	13,33
42.	γ -селинен	0,27	13,52
43.	изоледен	1,89	13,66
44.	β -бисаболен	0,92	13,73
45.	купарен	1,09	13,87
46.	δ -кадинен	1,34	13,93
47.	α -копаен	2,71	14,29
48.	элебол	3,25	14,36
49.	γ -элемен	3,22	14,59
50.	копаен	1,55	14,70
51.	(-)-спатуленол	1,08	14,81
52.	циклододекан	3,64	15,43

53.	δ -селинен	3,83	15,50
54.	α - пачулен	0,87	15,63
55.	(-)-аристолен	0,53	15,71
56.	13-метил- оксациклотетрадекан	1,40	16,14
57.	1-пентадецен	0,79	17,12
58.	экасалтолид	0,14	17,71
59.	2-гидрокси- циклопертадеканон	3,05	20,06
60.	гексадеканаль	0,53	19,75
61.	остол	5,23	21,04

Данные по составу определения эфирных масла из листьев дягиля лекарственного представлены в таблице 35. Всего идентифицировано 40 соединений. Индексы сходства библиотечных и зарегистрированных спектров составляли не ниже 89%.

Таблица 35

Фракционный состав эфирного масла листьев
дягиля лекарственного

№№ п/п	Компоненты	Кол- во, %	Rt,* мин.
1.	β - фелландрен	0,62	8,96
2.	линалол	0,21	10,12
3.	борнеол	0,13	11,39
4.	4- терпенеол	0,21	11,49
5.	α - терпенеол	0,18	11,71
6.	нерол	0,15	12,46
7.	тимол	2,66	13,07
8.	пара- тимол	0,31	13,20

9.	транс- вербенол	0,86	13,64
10.	1,5,5- триметил-6-метилен-циклогексен	0,80	13,74
11.	α - терпинен	0,13	13,89
12.	циклосативен	0,91	14,30
13.	копаен	4,38	14,37
14.	β - элемен	4,67	14,53
15.	α - кубенен	0,13	14,60
16.	1,2,4,5- тетраметилбензол	0,15	14,70
17.	кариофиллен	0,59	14,99
18.	γ - элемен	1,28	15,05
19.	(+)- эпи- бициклосесквифелландрен	1,35	15,11
20.	β - фарнезен	1,19	15,26
21.	α - кариофиллен	7,92	15,48
22.	α - элемен	1,29	15,66
23.	транс- α - бергамотен	3,13	15,74
24.	β - кубенен	4,19	15,78
25.	бициклогермацен	9,68	15,96
26.	эремофилен	1,47	16,02
27.	β - кадинен	3,17	16,20
28.	β - гуайен	0,46	16,27
29.	α - гуайен	0,61	16,38
30.	элеомол	1,35	16,57
31.	δ - неролидол	0,91	16,65
32.	(-) – спатуленол	2,81	16,99
33.	валенсен	1,16	17,55
34.	оксациклотетрадекан-2-он	1,22	17,61
35.	оксациклогексадекан-2-он (мускалактон)	0,88	19,82
36.	бис(2-этилгексил)фталат	0,23	19,88
37.	фарнезилацетон	0,18	20,50

38.	бис(н-октил)фталат	0,47	20,96
39.	фитол	0,89	22,42
40.	эйкозан (н-С ₂₀ H ₄₂)	0,13	24,27

Эфирное масло дягиля содержит 4,19% циклических монотерпенов (пинена, карена, лимонена, фелландрена и др.). В образцах доминируют сесквитерпеновые соединения, содержание которых в 2,6 раза выше, чем монотерпеноидных соединений.

Циклогексановые сесквитерпены представлены в эфирном масле β - и γ -элеменами (**1**, **2**) и элемолом (**3**). В литературе активно обсуждается активность соединений этого ряда при опухолевых заболеваниях мозга и легких [Zhu, T., 2011, Yao, Y.Q., 2008, Wang, G., 2005]. Спатуленол (**4**) представляет интерес как ингибитор Р-гликопротеина — АТФ-зависимого трансмембранного эффлюксного насоса, обеспечивающего выкачивание противоопухолевых препаратов из клеток [70]. Бициклические сесквитерпеноиды ряда селинана представлены λ -и γ -селиненом (**5**, **6**), сесквитерпеноиды кадинана — λ -кадиненом (**7**) и γ -мууроленом (**8**). В составе эфирного масла обнаружены производные бисаболена (**9**), обладающие высокой противовоспалительной активностью (рис23).

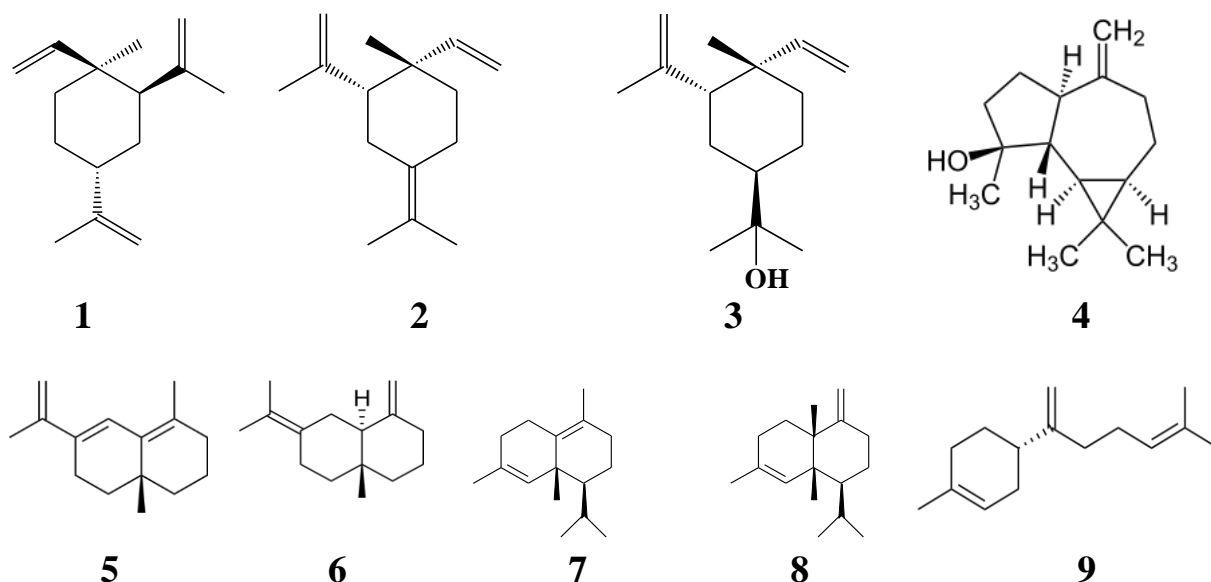


Рисунок 23. Эфирные масла, сесквитерпеноидного ряда

Трициклические сесквитерпены α - и β -копаен (2,71% и 1,55%), оказывают карминативное действие, повышают устойчивость лимфоцитов и нервных

клеток человека к окислительным стрессам.

Обнаружены также макроциклические лактоны, свойственные *A. archangelica* –экзальтолид и 15-гексадеканолд, в количестве, сопоставимом с западноевропейскими образцами. Эти соединения обладают способностью фиксировать и "облагораживать" запахи парфюмерных композиций.

Полученные результаты свидетельствуют о существенном отличии эфирных масел корней дягиля Уральского региона от эфирного масла, получаемого из растений *A. archangelica*, произрастающих в Западной Европе.

Высокое содержание сесквитерпеноидов в эфирном масле башкирских образцов *A. archangelica* позволяет рассматривать их как перспективное сырье для получения парфюмерно-косметических препаратов (одеколонов, зубных паст, кремов и пр.), а также препаратов противовоспалительного и противоопухолевого действия [101].

3.7. Изучение макро- и микроэлементного состава *A. officinalis*

В настоящее время экспериментально и клинически установлено, что развитие многих заболеваний зависит от содержания в организме макро- и микроэлементов. Их недостаток может приводить к нарушению синтеза тех ферментов, для построения которых они необходимы. Одним из путей регуляции нарушенного элементного баланса является применение различных препаратов микроэлементов. Преимущество препаратов растительного происхождения заключается в том, что в отличие от неорганических солей, они содержат естественный комплекс минеральных и биологически активных веществ.

Нами определен микроэлементный состав в листьях 12 элементов, корневищах с корнями дягиля лекарственного было обнаружено 13 элементов. Полученные результаты представлены в таблице 36.

Содержание микроэлементов в сырье дягиля лекарственного, мг/кг

№ п/п	Эле- мент,	Содержание		ПДК для БАД на растительной основе (СанПиН 2.3.2.1078-01)	
		в корневищах с корнями	в листьях	чай	настойки
1.	Hg	0,00010±0,000003	0,00050± 0,00001	0,1	0,01
2.	Fe	316,22±15,42	149,25±7, 45	-	-
3.	Cu	10,51±0,52	5,42±2,34	-	-
4.	Zn	18,00±88	17,00±85	-	-
5.	Mn	133,00±6,65	30,00±1,5	-	-
6.	Ni	9,30±0,46	<0,01	-	-
7.	Pb	0,28±0,01	0,30±0,01	6,0	0,5
8.	Cd	0,033±0,001	0,0138±0, 0006	1,0	0,03
9.	Co	<0,01	<0,01	-	-
10.	Cr	0,36±0,01	0,150±0,0 07	-	-
11.	K	0,078±0,003	0,059±0,0 02	-	-
12.	Na	0,0140±0,0006	0,034±0,0 01	-	-
13.	J	0,031±0,001	-	-	-

Из результатов, представленных в таблице, следует, что подземные органы

дягиля накапливают в высоких количествах железо и марганец. Высокое содержание железа в корнях и корневищах обуславливает его противоанемический эффект, в первую очередь при железодефицитной анемии. Ионы марганца усиливают действие инсулина, повышают поглощение молекулами глюкозы, препятствуют жировой дегенерации печени, содействуют отложению гликогена в печени, синтезу холестерина и поддержанию его определенного уровня в крови.

В корнях отмечено также довольно высокое содержание цинка. Известно, что достаточное количество цинка активизирует Т-клеточный иммунитет. Медь участвует в окислительном фосфорилировании, влияет на функции желез внутренней секреции, оказывает инсулиноподобное действие и обуславливает антиоксидантную активность. Велико значение меди и в процессах кроветворения, при синтезе гемоглобина и фермента цитохрома [43].

При изучении элементного состава особое внимание обращали на содержание токсичных элементов - свинца, ртути, кадмия. По накоплению токсичных элементов исследуемые образцы сырья отвечают требованиям стандарта для БАД (СанПиН 2.3.2.1078-01) [81].

Микро-и макроэлементы растительного сырья более легко усваиваются организмом человека, эффективнее включаются в биохимические процессы, оказывают мягкое, умеренное, но, тем не менее, многостороннее, действие даже при длительном применении. Проведенные исследования элементного состава листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного *показали*, что изучаемый вид является перспективным источником макро- и микроэлементов [103].

3.8. Изучение аминокислотного состава сырья *A. officinalis*

Одной из важнейших функций аминокислот является их участие в синтезе белков, выполняющих каталитические, регуляторные, запасные, структурные, транспортные, защитные и другие функции. В сырье дягиля лекарственного было идентифицировано 14 аминокислот. Полученные результаты представлены в таблице 37.

Аминокислотный состав *A. officinalis*

№	Аминокислота	Содержание в корневищах с корнями, %	Содержание в листьях, %
1.	лизин	0,42±0,02	0,70±0,03
2.	пролин	1,61±0,08	2,49±0,12
3.	метионин	0,040±0,001	0,36±0,01
4.	глицин	0,75±0,03	1,20±0,05
5.	цистеин	0,73±0,03	0,38±0,01
6.	валин	0,72±0,02	1,00±0,05
7.	гистидин	0,120±0,006	0,21±0,01
8.	изолейцин	0,31±0,01	0,070±0,003
9.	аргинин	0,57±0,02	1,09±0,01
10.	лейцин	0,27±0,01	0,38±0,01
11.	треонин	0,22±0,01	0,61±0,03
12.	тирозин	0,110±0,005	0,38±0,01
13.	серин	0,41±0,02	0,76±0,03
14.	фенилаланин	0,35±0,01	0,81±0,04

Из результатов исследования аминокислотного состава, представленного в таблице видно, что для листьев дягиля лекарственного характерно накопление пролина, глицина, валина, аргинина, серина, фенилаланина, для корневищ и корней – пролина, глицина, цистеина, валина, выполняющих специальные функции, обладающих высокой биологической активностью и влияющих на эффективность действия растительного сырья и полученных из него препаратов [50]. Особо следует отметить наличие аргинина. L-аргинин вызывает замедление развития опухолей и раковых образований. Способствует выделению гормона роста, укрепляет иммунную систему, способствует выработке спермы и полезна при лечении расстройств и травм почек. Необходим для синтеза протеина и оптимального роста. Поскольку L-аргинин участвует в системах детокси-

кации он полезен при расстройствах печени, таких, например, как цирроз печени, протекающий с гипераммониемией.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

1. На основании данных фитохимического анализа установлено наличие в надземной и подземной частях *A. officinalis* флавоноидов, дубильных веществ, фенолкарбоновых кислот, аскорбиновой кислоты, органических кислот, кумаринов, полисахаридов, аминокислот, сапонинов, макро- и микроэлементов, эфирных масел.

2. Адаптирована методика количественного определения полисахаридов (гравиметрический метод) для сырья дягиля лекарственного. Проведена валидационная оценка, которая показала соответствие критериям линейности, повторяемости, воспроизводимости.

3. Преобладание в корневищах с корнями и листьях пренилированных форм псоралена, а частности прангенина и изомеров императорина, делает их перспективным для получения лекарственных препаратов, обладающих противовирусной, антиагрегантной и противоишемической активностью, используемых для повышения эффективности ПУВА-терапии: при псориазе, витилиго, красном плоском лишае, грибковидном микозе.

4. В листьях и подземных органах дягиля обнаружено наличие циклогексановых сесквитерпеноидов - элеменов и элеменола, обладающих противовоспалительными и противоопухолевыми свойствами, а также спатуленола, ингибирующего мультрезистентность опухолевых клеток к антибиотикам. В листьях установлено наличие β -элемена, α -кариофиллена (хумулена), усиливающих активность противоопухолевых средств. Высокое содержание сесквитерпеноидов в эфирном масле башкирских образцов *A. archangelica* позволяет рассматривать их как перспективное сырье для получения фармпрепаратов противовоспалительного и противоопухолевого действия.

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА ПАРАМЕТРОВ СТАНДАРТИЗАЦИИ СЫРЬЯ ДЯГИЛЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО

4.1. Морфолого – анатомическое исследование сырья *A. officinalis*

В фармакогностическом анализе лекарственного сырья важное место занимает диагностика, то есть определение подлинности по внешним и микроскопическим признакам. Особое значение это имеет при заготовке лекарственного сырья. Для установления показателей подлинности сырья нами проведены морфометрические исследования.

Корневища с корнями дягиля лекарственного

Цельное сырье. Сырье представляет собой короткие, конические, кольчатые корневища (длина 6-8 см) с отходящими от них многочисленными продольными, морщинистыми, слегка бугристыми придаточными корнями (длина 15-25 см, толщина 0,2 – 0,7 см). Излом корневищ ровный, гладкий. На изломах корневища в толстой коре заметны смоляные ходы в виде блестящих оранжевых точек. Снаружи цвет корневища бурый и красновато-серый, белый и слегка желтоватый внутри. Под лупой на поперечном разрезе корневища и корней видна перидерма наружной коры, широкий пояс внутренней коры с многочисленными блестящими точками перерезанных каналов, темный слой камбия и расходящиеся из центра лучами сосуды ксилемы. В центре корневища имеется отсутствующая в корнях сердцевина. Запах сильный, специфический, ароматный, при измельчении усиливающийся. Вкус пряный, горьковатый, слегка жгучий.

Измельченное сырье. Кусочки корневищ с корнями различной формы, проходящие сквозь сито с отверстиями 7 мм. Цвет желтовато-серый. Запах ароматный, при измельчении пахнет сильнее, имеет пряный, горьковато-жгучий вкус.

Под ультрафиолетовым светом отмечается ярко выраженная флуоресценция (рис. 24)



Рисунок 24. Вид фрагментов сырья под УФ светом

Листья дягиля лекарственного

Цельное сырье. Смесь цельных или частично измельченных листьев. Листья длинные (до 80 см), дважды-, триждыперистые, доли крупные, листочки яйцевидные или продольные, крупно пильчатые. Листовые доли самих верхних листьев яйцевидные или яйцевидноланцетные, длиной 5–8 см, длинно–заостренные, неравно–пильчатые, концевые листочки более менее трёхлопастные, боковые – несимметрично-двухлопастные. Цвет от светло до темно-зеленого. Запах ароматный. Вкус пряный.

Измельченное сырье. Кусочки листьев различной формы, проходящие сквозь сито с отверстиями 7 мм. Запах ароматный. Вкус пряный.

Микродиагностические признаки сырья

При изучении лекарственных растений анатомия играет важную роль. В ходе микродиагностического исследования выявляются диагностические признаки, которые служат показателем подлинности лекарственного сырья и помогают отличить его от морфологически сходных и примесных видов. При составлении нормативной документации обязательным разделом является микроскопия лекарственного растительного сырья. Нами была исследована анатомическая структура листовой пластинки, корневища с корнями дягиля лекарственного для качественной стандартизации

лекарственного сырья.

Микроскопический анализ надземной части *A. officinalis Hoffm*

Микроскопия листовой пластинки. При рассмотрении листа установлено, что клетки верхнего эпидермиса большей частью слабоизвилистые с тонкими стенками и тонкоскладчатой кутикулой (рис. 25). Стенки клеток часто имеют неравномерно-четковидные утолщения. Нижняя сторона листа имеет извилистые клетки эпидермиса (рис. 26). Устьичный аппарат аномоцитного типа (рис. 27, 28). Характерно наличие столбчатого мезофилла (рис. 29).

Были обнаружены волоски двух типов: простые многоклеточные (рис. 30) и одноклеточные сосочковидные (рис. 31). Также были обнаружены простые короткие волоски по краю листа (рис. 32).



Рисунок 25. Фрагмент эпидермиса верхней стороны листа (увел. 20x40)

1 - складчатость кутикулы

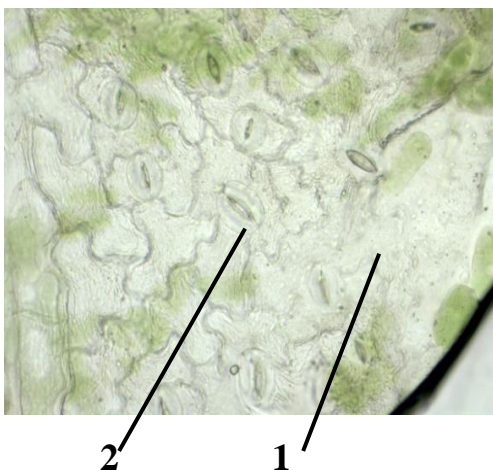
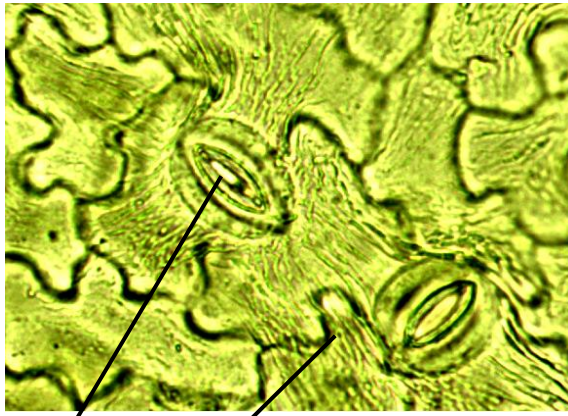


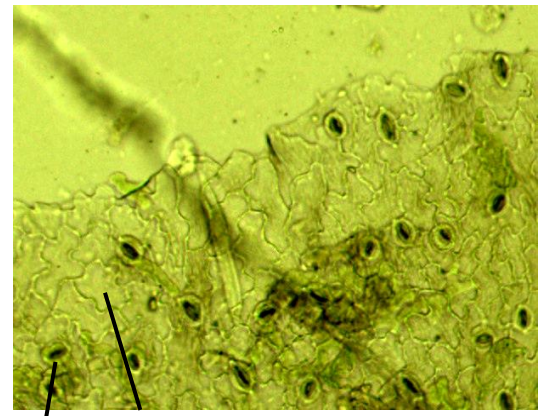
Рисунок 26. Фрагмент эпидермиса нижней стороны листа (увел.20x40)

1 - складчатость кутикулы, 2- устьице



1

2

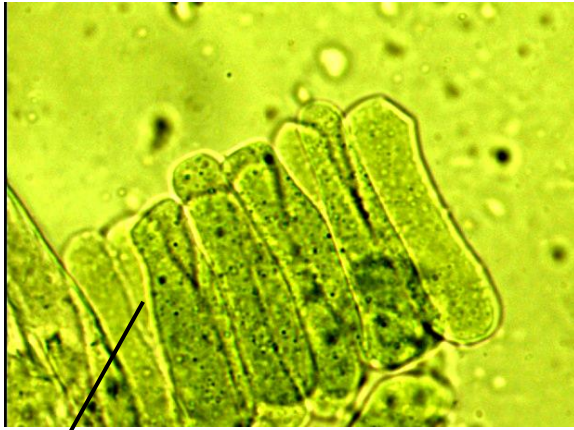


1

2

Рисунок 27, 28 Фрагмент листа (увел.20 x 80, увел. 20 x 10)

1- устьице, 2 - складчатость кутикулы



1

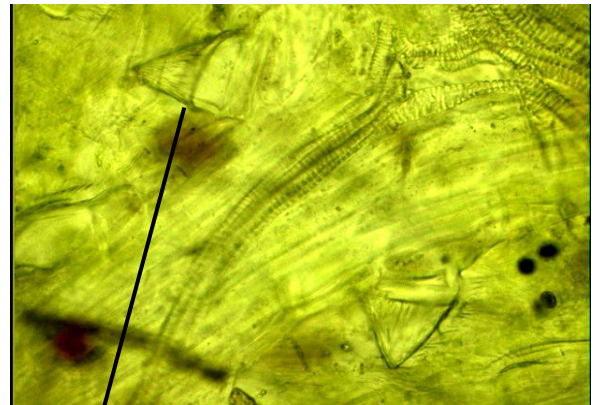


2

Рисунок 29, 30. Фрагмент листа (увел. 20 x 40, увел.20 x 10) 1 - столбчатый мезофилл, 2 – простой многоклеточный волосок



1



2

Рисунок 31, 32. Фрагмент листа (увел. 20 x 10, увел.20 x 40)

1 - простой одноклеточный волосок, 2 - простой одноклеточный сосочко-
видный волосок

Микроскопический анализ подземных органов *A. officinalis* Hoffm

Микроскопия подземных органов. При рассмотрении корней дягиля лекарственного установлено, что корни имеют вторичное беспучковое строение (рис. 33, 34). Покровная ткань – пробка (рис. 36), клетки которой имеют прямоугольную утолщенную форму с прямыми стенками и расположены ровными рядами. В слое ксилемы хорошо заметны паренхимные клетки, составляющие сердцевинные лучи. При окрашивании раствором Люголя в клетках паренхимы обнаруживаются крахмальные зерна темно-фиолетового цвета. В коре отмечено наличие схизогенных вместилищ (рис. 35), содержащих капли эфирного масла, которое окрашивается раствором судана III в красно-оранжевый цвет [2].

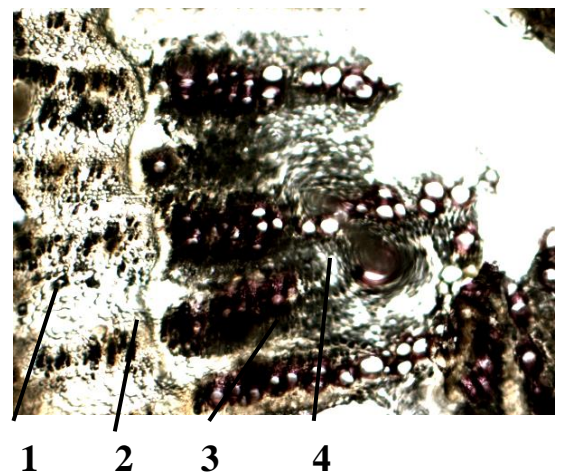
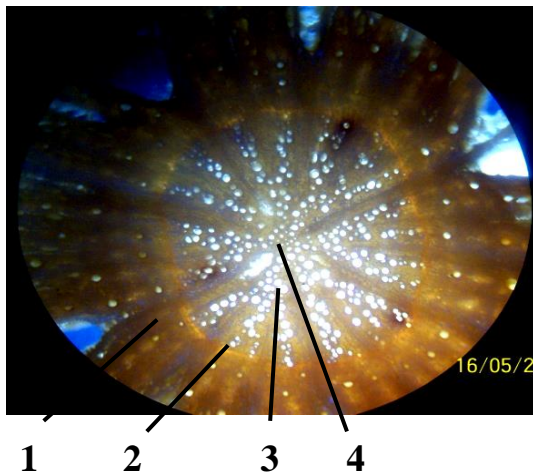


Рисунок 33, 34. Вторичное беспучковое строение корня (увел. 10 x 4, 10 x 10)

1 – паренхима, 2 - камбий, 3- сердцевинные лучи, 4 - ксилема

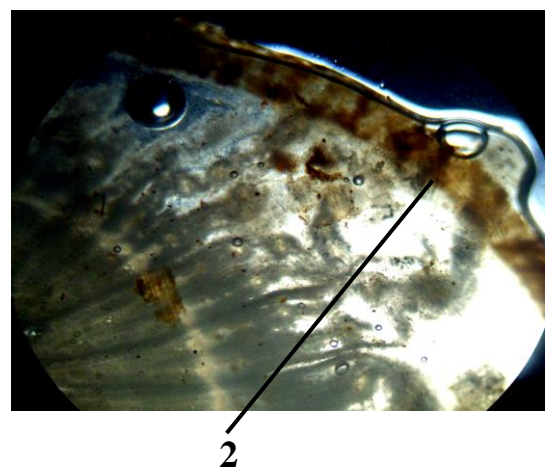
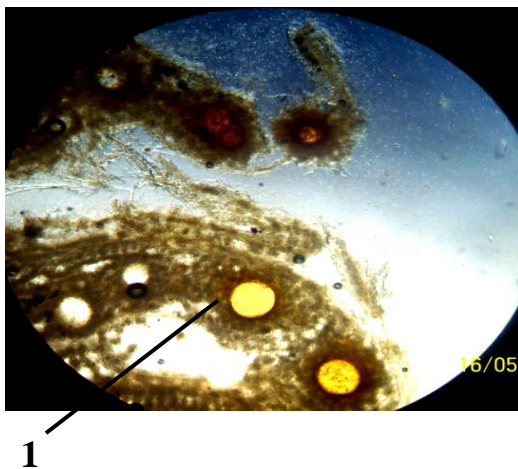


Рисунок 35, 36. Фрагмент корня (увел. 10 x 4, увел.10 x 10)

1 - схизогенные вместилища, 2 - пробка

Диагностические признаки сырья *A. officinalis*

Листья дягиля лекарственного

К диагностическим значимым признакам листьям дягиля лекарственного можно отнести следующие (гл. 2, п. 2.2.1):

- обрывки извилистых, овальных клеток эпидермиса;
- обрывки устьиц, окруженные 2-3, реже 4 клетками эпидермиса (аномоцитный тип);
- обрывки простых волосков.

По результатам приведенных исследований установлено количественное содержание диагностических значимых частиц составило 14,25%. Метрологическая характеристика методики определения диагностически значимых признаков листьев дягиля лекарственного представлена в таблице 38.

Таблица 38

Метрологическая характеристика методики определения диагностически значимых признаков листьев дягиля лекарственного

n	X_{cp}	S_x	E_α	$\epsilon\%$	$X_{cp} \pm \epsilon_\alpha$
15	14,25	0,14	0,30	2,11	14,25±0,30

Как видно из результатов, представленных в таблице, ошибка единичного опыта не превышает 10%.

Корневища с корнями дягиля лекарственного

К диагностическим значимым признакам корневищ с корнями дягиля лекарственного можно отнести следующие:

- обрывки паренхимы, с каплями желто – бурого цвета;
- обрывки сосудов, волокон, расположенных радиально.

По результатам приведенных исследований установлено количественное содержание диагностических значимых частиц составило 34,66%. Метрологическая характеристика методики определения диагностически значимых признаков корневищ с корнями дягиля лекарственного представлена в таблице 39.

Метрологическая характеристика методики определения диагностически значимых признаков корневищ с корнями дягиля лекарственного

n	X_{cp}	S_x	E_α	$\varepsilon\%$	$X_{cp} \pm \varepsilon_\alpha$
15	34,66	0,12	0,26	0,75	34,66±0,26

Как видно из результатов, представленных в таблице, ошибка единичного опыта не превышает 10%.

4.2. Определение подлинности и количественного содержания действующих веществ *A. officinalis*

Как показано ранее, одними из доминирующих веществ, обеспечивающих фармакологическое действие растения в листьях и корневищах с корнями дягиля лекарственного являются кумарины. Поэтому для установления подлинности сырья дягиля лекарственного определение кумаринов проводили методом ТСХ.

Методика качественного определения кумаринов в корневищах с корнями дягиля лекарственного

На линию старта пластинки «Silufol UV 254» капилляром наносят 0,02 мл подготовленного извлечения (раздел 3.3.5) и по 0,02 мл 0,05% растворов РСО бергаптена. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в предварительно насыщенную смесью растворителей камеру и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 12 см, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 5 минут. При просмотре хроматограммы в УФ-свете при длине волны 365 нм обнаруживаются 7 основных пятен, одно соединение из которых с R_f 0,33 - бергаптен (рис. 37).

Примечание:

1. Подготовка пластинок. Пластины «Silufol UV 254» вырезают размером 14×5 см, наносят линию старта на расстоянии 1 см от края и перед использованием активируют в сушильном шкафу при 100-105 °С в течение 1 часа.
2. Приготовление системы растворителей для хроматографирования. Для проведения ТСХ-анализа рекомендуется свежеприготовленная система раствори-

телей: этилацетат – толуол (7:93). Насыщение камеры для хроматографирования системой растворителей в течение 1 часа.

3. Приготовление растворов сравнения.

Раствор бергаптена: около 0,05 г (точная навеска) РСО растворяют в 95% этиловом спирте в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят до метки.

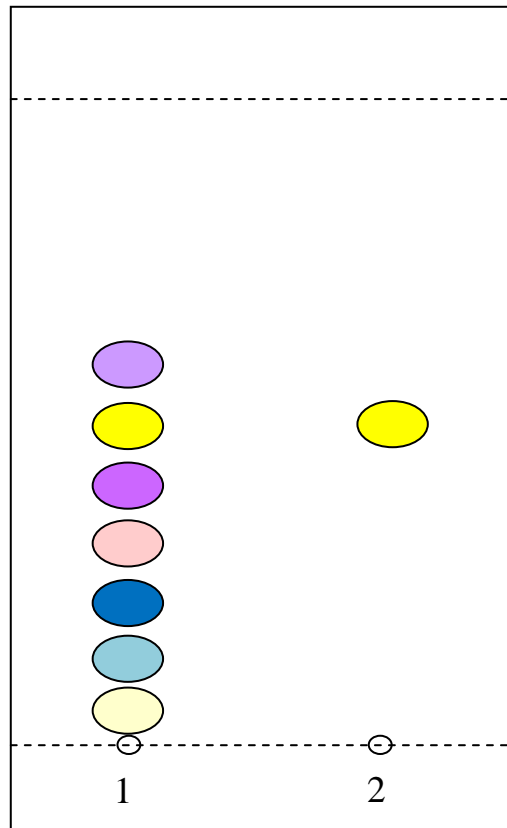


Рисунок 37. Хроматограмма корневища с корнями дягиля лекарственного в системе этилацетат – толуол (7:93) (1- извлечение корневища с корнями дягиля лекарственного, 2 – раствор бергаптена)

Методика качественного определения кумаринов в листьях дягиля лекарственного

На линию старта пластинки «Silufol UV 254» капилляром наносят 0,02 мл подготовленного извлечения (раздел 3.3.5) и по 0,02 мл 0,05% растворов РСО бергаптена. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в предварительно насыщенную смесью растворителей камеру, и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 12 см, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 5 минут. При просмотре хроматограммы в УФ-свете при длине волны 365 нм обна-

руживаются 4 основных пятна, одно соединение из которых с R_f около 0,3 - бергаптен (рис.38).

Примечание:

1. Подготовка пластинок. Пластинки «Silufol UV 254» вырезают размером 14×5 см, наносят линию старта на расстоянии 1 см от края и перед использованием активируют в сушильном шкафу при 100-105°C в течение 1 часа.
2. Приготовление системы растворителей для хроматографирования. Для проведения ТСХ-анализа рекомендуется система растворителей: этилацетат – толуол (7:93). Система используется свежеприготовленная. Насыщение камеры для хроматографирования системой растворителей в течение 1 часа.
3. Приготовление растворов сравнения.

Раствор бергаптена: около 0,05 г (точная навеска) РСО растворяют в 95% этиловом спирте в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят до метки.

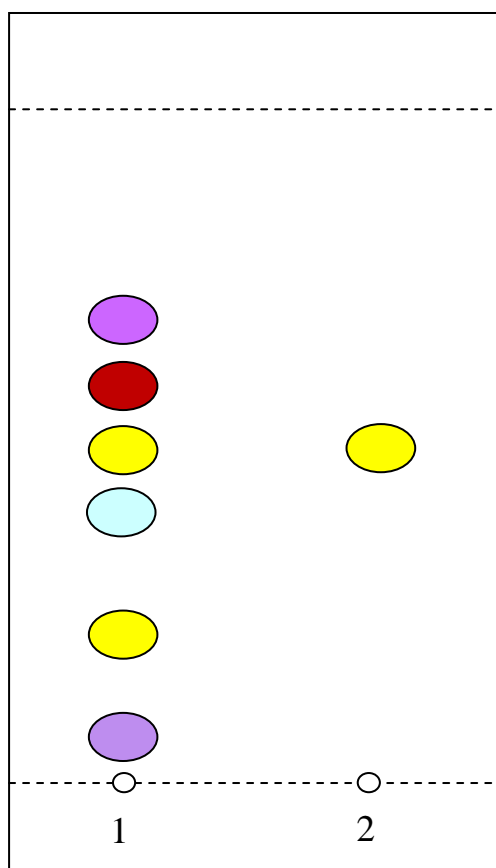


Рисунок 38. Хроматограмма листьев дягиля лекарственного в системе этилацетат – толуол (7:93) (1- извлечение листьев дягиля лекарственного, 2- раствор бергаптена)

**Методика определения содержания водорастворимых полисахаридов
в сырье дягиля лекарственного листа и дягиля лекарственного
корневища с корнями**

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстием для корневищ с корнями 5 мм, для листьев 2 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, соединяют с обратным холодильником и экстрагируют водой очищенной трижды по 30 мин на кипящей водяной бане при соотношении сырье-экстрагент для корневищ с корнями 1:15, для листьев 1:20. Извлечения каждый раз фильтруют через бумажный фильтр и объединяют. Водорастворимые полисахариды (ВРПС) осаждают трехкратным (по отношению к извлечению) объемом спирта этилового 95% при комнатной температуре. Выпавшие плотные осадки отфильтровывают, промывают спиртом этиловым, ацетоном, затем высушивают и взвешивают.

Расчет содержания водорастворимых полисахаридов производят по формуле:

$$X = \frac{m_1 * 100 * 100}{m * (100 - W)},$$

где m – масса сырья, г;

m_1 – масса водорастворимых полисахаридов, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Содержание водорастворимых полисахаридов в листьях дягиля лекарственного листа: не менее 5%, в корневищах с корнями дягиля лекарственного: не менее 5%.

4.3. Определение параметров доброкачественности сырья

Определение влажности сырья и общей золы

Влажность является показателем доброкачественности сырья, необходимым для создания оптимальных условий хранения, при которых в сырье сохраняются все БАВ в количестве, необходимом для оказания фармакологического действия, не подвергается процессам ферментации, гниения и не разрушается

за счет чрезмерного высушивания. Проведенный анализ влажности и общей золы образцов сырья *A.officinalis*, позволил установить, что содержание влаги в листьях дягиля лекарственного составило $5,86 \pm 0,15$, в корневищах с корнями составило $8,14 \pm 0,21$; золы общей в листьях – $13,30 \pm 0,32$, в корневищах с корнями дягиля лекарственного составило $5,40 \pm 0,14$.

Для компонентов сырья, согласно требованиям нормативной документации, допускается влажность в пределах 10 – 14%. Поэтому, предлагается ввести в проект ФС норму потери в массе при высушивании не более 14%. В проект ФС предлагаем включить норму показателя «общая зола» для листьев не более 14%, а в корневищах с корнями не более 14%.

Определение содержания экстрактивных веществ

Для определения содержания экстрактивных веществ в качестве экстрагента использовали вода очищенная, и водно-спиртовые растворы с концентрацией спирта этилового 40%, 70%, 90%. Результаты исследования представлены в таблицах 40 и 41.

Таблица 40

Содержание экстрактивных веществ в листьях дягиля лекарственного, %

№ образца	Экстрагент			
	Вода очищенная	40% спирт этиловый	70% спирт этиловый	90% спирт этиловый
1	$34,09 \pm 1,00$	$36,28 \pm 1,61$	$34,89 \pm 1,12$	$24,52 \pm 0,87$
2	$33,17 \pm 1,05$	$35,07 \pm 1,40$	$29,46 \pm 0,89$	$26,04 \pm 0,93$
3	$35,59 \pm 1,20$	$36,60 \pm 1,50$	$32,46 \pm 1,18$	$27,11 \pm 0,95$

Содержание экстрактивных веществ
в корневищах с корнями дягиля лекарственного, %

№ образца	Экстрагент			
	Вода очищенная	40% спирт этиловый	70% спирт этиловый	90% спирт этиловый
1	36,09±1,33	34,32±1,18	32,34±1,10	32,76±1,11
2	37.35±1,37	25,74±0,91	35,57±1,31	20,99±0,83
3	36,29±1,35	33,73±1,15	31,10±1,01	30,03±1,00

В результате проведенных исследований была установлена общая закономерность извлечения экстрактивных веществ водой и спиртом различной концентрации. Максимальное количество экстрактивных веществ из листьев дягиля лекарственного извлекается 40% спиртом этиловым, из корневищ с корнями – водой очищенной.

Определение степени измельченности и примесей сырья дягиля лекарственного

Определение степени измельченности сырья дягиля лекарственного проводили в соответствии с требованиями ГФ СССР XI. Результаты исследования представлены в таблице 42.

Таблица 42

Результаты определения измельченности сырья
дягиля лекарственного листьев, корневищ с корнями

Образцы	Количество частиц, %	
	не проходящих сквозь сито с d=7 мм	проходящих сквозь сито с d=0,5 мм
Листья	4,48±0,22	3,45±0,13
	5,06±0,25	3,53±0,12
	5,32±0,24	3,55±0,12

	5,02±0,23	2,98±0,14
	5,27±0,22	3,12±0,14
Корневища с корнями	9,41±0,34	8,97±0,33
	9,42±0,32	8,92±0,34
	9,70±0,33	9,52±0,32
	9,49±0,35	9,21±0,42
	9,25±0,28	8,60±0,22

Как видно из результатов, представленных в таблице, частиц корневищ с корнями, не проходящих сквозь сито с отверстием диаметром 7 мм - не более 10%, листьев - не более 10%. Частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 0,5 мм, корневищ с корнями - не более 10%, листьев — не более 10%.

После определения измельченности проход с верхнего и нижнего сит подвергали анализу на присутствие примесей в соответствии со статьей «Определение примесей» ГФ СССР XI. Проведено определение органической и минеральной примесей. Результаты исследования представлены в таблице 43.

Таблица 43

Результаты определения примесей сырья
дягиля лекарственного в листьях и корневищах с корнями

Образцы	Примеси, %	
	органические	минеральные
Листья	0,98±0,04	0,48±0,02
	0,95±0,02	0,46±0,02
	0,97±0,04	0,45±0,015
Корневища с корнями	1,72±0,03	0,73±0,02
	1,74 ±0,02	0,76±0,04
	1,76±0,04	0,74±0,02

На основании проведенных исследований предлагаем ввести в проект ФС следующие значения показателей примесей: норму показателя «органические примеси» - не более 2%, «минеральные примеси» - не более 1%.

Определение сроков годности листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного

Сроки годности листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного устанавливали на основании экспериментального изучения стабильности опытных партий листьев и корней и корневищ дягиля лекарственного в различных видах упаковки и оптимальных условиях хранения в соответствии с рекомендациями нормативной документации (гл.2, п. 2.2.2.).

Стабильность содержания БАВ в сырье изучали путем периодического и систематического контроля показателей качества: влажности сырья, количественного содержания полисахаридов в листьях и корневищах с корнями дягиля лекарственного (табл. 44).

Таблица 44

Определение сроков годности в листьях, корнях и корневищах дягиля лекарственного

№ серии	Год определения показателей качества	Влажность, в листьях %	Влажность в корневищах с корнями, %	Содержание полисахаридов, в листьях %	Содержание полисахаридов, в корневищах с корнями %
1	2010	5,73±0,12	9,95±0,22	8,89±0,25	8,85±0,32
2	2010	5,80±0,13	9,97±0,24	9,20±0,22	8,45±0,23
3	2010	4,98±0,12	9,80±0,25	8,78±0,33	8,80±0,25
1	2011	5,55±0,13	9,5±0,24	8,05±0,25	8,91±0,31
2	2011	6,12±0,10	9,24±0,23	8,67±0,28	8,80±0,34
3	2011	5,86±0,12	8,14±0,25	8,77±0,26	8,48±0,32
1	2012	5,71±0,15	7,24±0,23	7,93±0,27	7,36±0,22
2	2012	5,44±0,20	8,12±0,22	8,02±0,28	7,82±0,21

3	2012	5,28±0,10	7,48±0,25	8,12±0,38	7,35±0,23
1	2013	5,50±0,14	7,14±0,22	6,98±0,22	7,22±0,25
2	2013	4,78±0,13	7,52±0,23	6,64±0,23	7,09±0,22
3	2013	4,85±0,15	7,95±0,25	6,45±0,25	6,73±0,23

Согласно полученным данным (табл. 44) числовые показатели остаются в пределах разработанных норм качества в течение 3 лет.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. Проведено морфолого – анатомические исследование листьев, корней и корневищ дягиля лекарственного. Установлено, что характерными микродиагностическими признаками листьев дягиля лекарственного являются слабоизвилистые клетки верхнего эпидермиса с тонкими стенками и тонкосладчатой кутикулой. Стенки клеток часто имеют неравномерно-четковидные утолщения. Нижняя сторона листа имеет извилистые клетки эпидермиса. Устьичный аппарат аномоцитного типа, характерно наличие столбчатого мезофилла, волоски двух типов: простые многоклеточные и одноклеточные сосочковидные. Установлено, что характерными микродиагностическими признаками корней дягиля лекарственного является вторичное беспучковое строение. Покровная ткань – пробка, клетки которой имеют прямоугольную утолщенную форму с прямыми стенками и расположены ровными рядами. В слое ксилемы хорошо заметны паренхимные клетки, составляющие сердцевинные лучи. При окрашивании раствором Люголя в клетках паренхимы обнаруживаются крахмальные зерна темно-фиолетового цвета. В коре отмечено наличие схизогенных вместилищ, содержащих капли эфирного масла, которое окрашивается раствором судана III в красно-оранжевый цвет.

2. Установлены числовые показатели качества лекарственного растительного сырья «Дягиля лекарственного листа» и нормы их содержания: влажность - не более 14%; зола общая - не более 14%; содержание примесей органических - не более 2% и минеральных - не более 1%; содержание частиц, не проходящих сквозь сито d=7 мм - не более 10% и частиц, проходящих сквозь

сито $d=0,5$ мм - не более 10%; содержание полисахаридов – не менее 5%; рекомендуемый срок годности – 3 года.

4. Установлены числовые показатели качества лекарственного растительного сырья «Дягиля лекарственного корни и корневища» и нормы их содержания: влажность - не более 14%; зола общая - не более 14%; содержание примесей органических - не более 2% и минеральных - не более 1%; содержание частиц, не проходящих сквозь сито $d=7$ мм - не более 10% и частиц, проходящих сквозь сито $d=0,5$ мм - не более 10%; содержание полисахаридов – не менее 5%; рекомендуемый срок годности – 3 года.

ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЛИСТЬЕВ, КОРНЕВИЩ С КОРНЯМИ ДЯГИЛЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО (*ARCHANGELICA OFFICINALIS* HOFFM)

5.1. Определение острой токсичности сырья *A. officinalis*

При создании новых препаратов растительного происхождения одним из обязательных критериев при проведении доклинических испытаний является оценка их безопасности. Целью работы явилось определение острой токсичности новых перспективных видов лекарственного растительного сырья - листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного.

Острую токсичность настоя листьев и отвара корневищ с корнями дягиля изучали на 24 белых беспородных мышах обоего пола массой 18,0-22,0 г при однократном пероральном способе введения, в дозах: 5000, 7500, 10000 мг/ кг в пересчете на сухой вес сырья. Каждую дозу исследовали на 6 животных. О степени токсичности дягиля лекарственного судили по изменению состояния животных (поведенческая реакция, внешний вид, частота дыхания и активность), наблюдение за которыми продолжалось в течение 14 дней. При введении исследуемых доз настоя листьев и отвара корневищ с корнями дягиля не было отмечено никаких признаков интоксикации. Все животные были живы, подвижны, имели хороший аппетит. Максимальная доза введения настоя и отвара составила 10000 мг/кг (табл.45). Дальнейшие токсикологические исследования не проводились из-за явной не токсичности изучаемых видов сырья.

Таблица 45

Определение острой токсичности листьев и корневищ с корнями дягиля

Доза, мг/кг	Путь введения	Наблюд. эффект	Наблюд. эффект, %	Ожид. эффект, %	Разница	Слагаемое для X_2
5000	внутрь	0/6	0	-	-	-
7500	внутрь	0/6	0	-	-	-
10000	внутрь	0/6	0	-	-	-

Таким образом, по классификации ГОСТ 12.1.007.76, листья и корневища с корнями дягиля были отнесены к классу малотоксичных соединений, что

позволяет судить о безопасности данных видов сырья, и дает основания для дальнейших исследований.

5.2. Оценка антимикробной активности листьев, корневищ с корнями

A. officinalis

Противомикробная активность листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного была изучена на тест-микроорганизмах методом двукратных серийных разведений. В качестве препарата сравнения при определении антимикробной активности сырья дягиля нами были взяты почки сосны, т.к. именно данный вид сырья в Государственном реестре рекомендован в качестве антимикробного средства. Водные извлечения из растительного сырья готовили в соответствии с требованиями ГФ XI издания (ст. «Настои и отвары»). Полученные результаты представлены в таблице 46.

Таблица 46

Антимикробная активность листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного

№ п/п	Вид растения	Разведение	Тест–микроорганизмы	
			<i>P. aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>
1	Корневище с корнями дягиля лекарственного	1:10	-	-
		1:20	+	-
		1:40	+	+
2	Листья дягиля лекарственного	1:10	+	-
		1:20	+	-
		1:40	+	-
3	Почки сосны	1:10	-	-
		1:20	+	-
		1:40	+	+

“–” – отсутствие роста тест–микроорганизмов

“+” – рост тест–микроорганизмов

Как видно из результатов, представленных в таблице, корневища с корнями

дягиля лекарственного при сравнительной оценке антимикробной активности по отношению к тест-микроорганизмам *E.coli* и *P. aeruginosa* не уступают почкам сосны.

Абсолютно неактивными оказались растения по отношению к тест-микроорганизмам *E.coli*, *P. aeruginosa* при разведении (1:40).

Нами была изучена также антимикробная активность сырья дягиля методом бумажных дисков на модели опыта. Результаты определения представлены в таблице 47. Критерием оценки эксперимента являлись значения зон подавления роста тест-микроорганизмов в мм на 4 эталонных штаммах, наиболее часто встречающихся при гнойно-воспалительных процессах.

По результатам исследований, приведенных в таблице 47, из исследуемых водных извлечений наилучшие результаты следует отметить у корневищ с корнями дягиля лекарственного.

Таблица 47

Антимикробная активность листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного

№ п/п	Индивидуальное растительное сырье	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Escherichia coli</i>	Контроль
1	Корневище с корнями дягиля лекарственного	- (2 мм)	- (2мм)	-(5 мм)	-(3 мм)	+
2	Листья дягиля лекарственного	+(2мм)	-(2мм)	-(2 мм)	+(2 мм)	+
3	Почки сосны	- (1мм)	-(1мм)	-(1мм)	-(1мм)	+

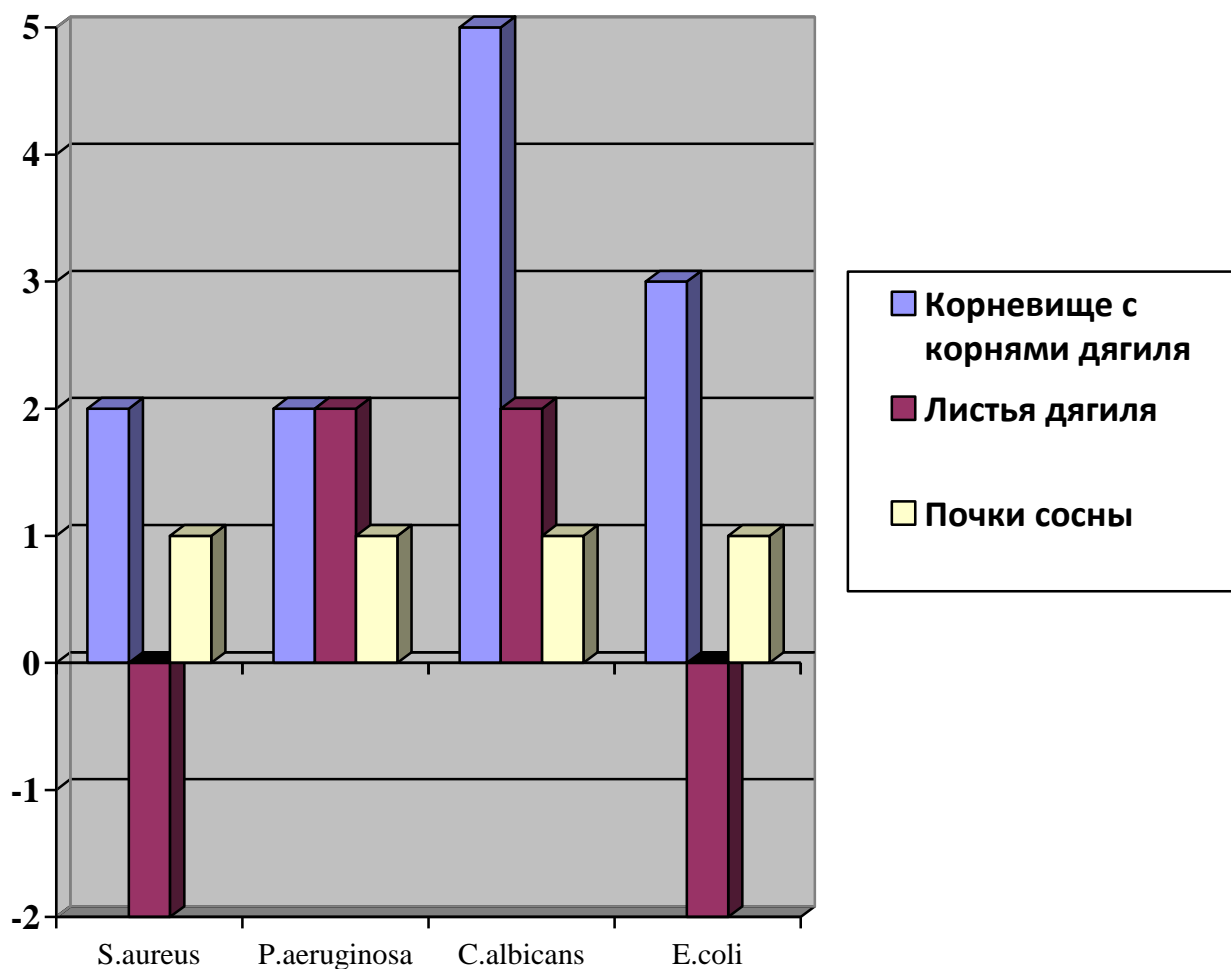


Рисунок 39. Сравнение антимикробной активности индивидуальных растений

После проведенных микробиологических исследований (таблицы 46 и 47) установлено, что наибольшее количество положительных результатов активности наблюдается по отношению к *C. albicans*, что позволяет рекомендовать данные составы водных извлечений для лечения заболеваний, возбудителем которых является штамм исследуемой культуры.

5.3. Определение антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности экстрактов *A. officinalis*

Антиоксидантную активность мы изучали с использованием трех методик.

Определение антиоксидантной активности проводили по методике №1, методике №2 (гл. 2, п. 2.2.5).

Измерение аутоокисления 0,1% раствора адреналина *in vitro* проводили спектрофотометрически на спектрофотометре СФ-46 через 20 минут при комнатной температуре (347 нм, рН=10,65) [97].

Антиоксидантная активность корневища и корней дягиля лекарственного составила 16% в реакции аутоокисления адреналина. Результаты исследования показали, что листья не оказывают антиоксидантного действия. При расчете антиоксидантной активности также учитывалось то, что водные извлечения лекарственного растительного сырья имели свою собственную окраску, которая поглощает определенную длину волны в видимой области спектра.

Измерение изменения хемилюминесцентного свечения проводили на двух Fe^{+2} -индуцированных модельных системах *in vitro* по влиянию на АФК и ПОЛ [75, 106]. Хемилюминесценцию активировали добавлением люминола (50^{-5} М) в фосфатном буфере (20 мМ KH_2PO_4 , 105 мМ КСl) при рН 7,45 (в модельные системы, генерирующие АФК к 10 мл фосфатного буфера, добавляли 50 мМ цитрата натрия). Реакции ПОЛ достигали путем гомогенизации куриного желтка с фосфатным буфером в соотношении 1:5 с последующим его разбавлением в 20 раз. Свечение регистрировали на хемилюминометре ХЛМ-003 в течение 5 мин при постоянном помешивании. Полученные результаты представлены в таблице 48.

Таблица 48

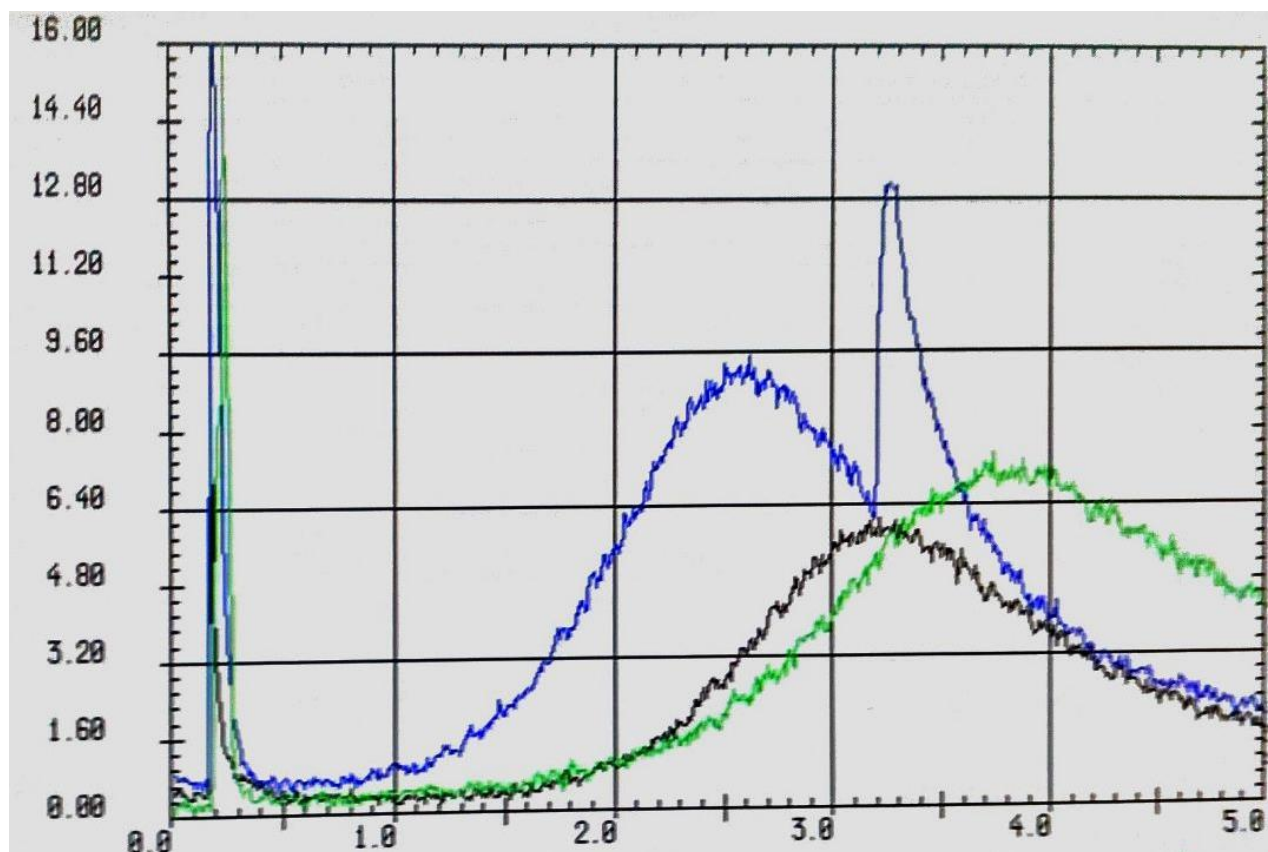
Влияние исследуемых извлечений на светосумму модельных систем

№ п/п	Исследуемые объекты	Концентрация, мг/мл	Светосумма, усл.ед.	АОА, %
Спектрофотометрический метод				
1	Отвар из корневищ и корней дягиля (1:10)	0,1		16±0,5
2	Настой из листьев дягиля (1:10)	0,1		-
Хемилюминесцентный метод / влияние на АФК				
1	Контроль		5,60	
2	Настой из плодов шиповника (1:10)	0,1	3,50	37,5±1,3

3	Отвар из корневищ и корней дягиля (1:10)	0,2	7,10	-26,78±0,9
4	Отвар из корневищ и корней дягиля (1:10)	0,1	7,0	-25±0,9
5	Отвар из корневищ и корней дягиля (1:10)	0,05	7,30	-30,35±1,4
6	Настой из листьев дягиля (1:10)	0,1	7,20	-28,57±1,2
<i>Хемилюминесцентный метод / влияние на ПОЛ</i>				
1	Контроль		25,60	
2	Настой из плодов шиповника (1:10)	0,1	16,50	35±1,7
3	Отвар из корневищ и корней дягиля (1:10)	0,1	22,0	14±0,6
4	Настой из листьев дягиля (1:10)	0,1	27,0	-5,46±0,2

В таблице 48 приведены данные о влиянии изучаемых объектов на хемилюминесценцию модельных систем, генерирующих АФК и инициирующих ПОЛ. При исследовании влияния водных извлечений на модельные системы с АФК наблюдалось изменение светосуммы свечения по сравнению с контролем в сторону увеличения (рис. 40). Угнетение хемилюминесценции зависело от объема извлечения вводимого в модельную систему (наблюдали на отваре из корневищ и корней 0,2 мг/мл, 0,1 мг/мл, 0,05 мг/мл). Однозначно можно сказать, что наблюдается дозозависимый эффект.

Светосумма, усл.ед.



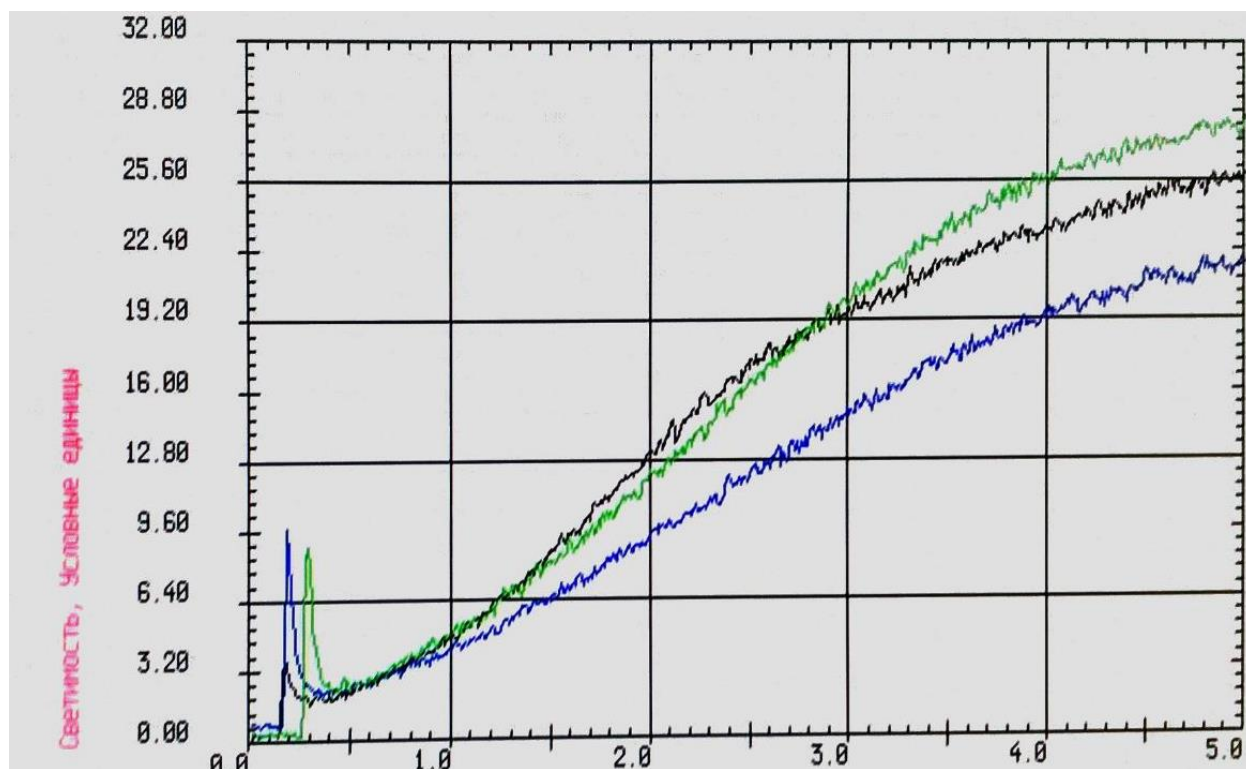
Время, мин

Рисунок 40. Хемилюминесцентное свечение в модельных системах, генерирующих АФК (черное – контроль; синее – отвар из корневищ с корнями дягиля лекарственного; зеленое – настой из листьев дягиля лекарственного)

В модельных системах ПОЛ с желточными липопропротеидами и водными извлечениями из дягиля лекарственного наблюдались изменения уровней свечения (рис.41): в отваре из корневищ с корнями в сторону уменьшения, а в настое из листьев в сторону увеличения.

Таким образом, проведенные исследования показали, что в реакциях аутоокисления адреналина и в модельных системах ПОЛ отвар из корневищ с корнями дягиля лекарственного проявляет себя как антиоксидант, а настой из листьев – как прооксидант. В модельных системах, генерирующих АФК все исследуемые извлечения действовали одинаково: увеличивали процессы образования свободных радикалов, т.е. проявляли себя как активные прооксиданты.

Светосумма, усл.ед.



Время, мин

Рисунок 41. Хемилюминесцентное свечение в модельных системах инициирующих ПОЛ (черное – контроль; синее – отвар из корневищ с корнями дягиля лекарственного; зеленое – настой из листьев дягиля лекарственного)

Определение антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности проводили по методике №3 (гл. 2, п. 2.2.5.).

Антиоксидантную и мембраностабилизирующую активности изучали на модели *in vitro* экспресс-методом на культуре клеток. Критерии оценки антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности представлены в таблице 49, а результаты проведенного исследования – в таблице 50.

Таблица 49

Критерии оценки антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности

Активность	Время остановки, мин		Лизирующая концентрация, %	
	14% C ₂ H ₅ OH	3 % H ₂ O ₂	C ₂ H ₅ OH	H ₂ O ₂
Высоко–	>10	>5	>22	>10

Умеренно–	8–10	3–5	20–22	10–8
Средне–	5–8	1–3	16–20	8–5
Мало–	<5	<1	<16	<5

Таблица 50

Оценка антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности отвара корневищ с корнями дягиля лекарственного

Концентрация отвара корневищ с корнями, %	Время остановки движения парameций, мин		Оценка активности
	14% C ₂ H ₅ OH	3 % H ₂ O ₂	
1	2,6±0,3	0,6±0,1	Мало активный
5	4,4±0,3	1,0±0,1	Мало активный
10	6,2±0,2	1,4±0,2	Средне активный
20	7,1±0,5	2,0±0,1	Средне активный
40	7,9±0,4	2,6±0,1	Средне активный

Примечание: «в» – высокоактивный; «у» – умеренноактивный; «с» – среднеактивный; «м» – малоактивный.

Наиболее распространенным объектом, используемым для ориентировочной оценки антиоксидантного и мембраностабилизирующего действия растительных препаратов, являются инфузории вида *Paramecium caudatum*. На их поверхности находятся реснички, играющие роль хеморецепторов, реагирующих на растворенные химические вещества. По способности фитопрепаратов повышать толерантность парameций к клеточным ядам судят об их адаптогенной активности.

Из приведенных в таблице данных видно, что при низких концентрациях адаптогенные свойства отвара корневищ с корнями дягиля лекарственного выражены незначительно, однако при увеличении концентрации до 20% - 40% отвар из корневищ с корнями дягиля лекарственного проявляет среднюю мембраностабилизирующую и антиоксидантную активность.

Таким образом, на биологической модели доказано наличие адаптогенных и мембраностабилизирующих свойств сырья дягиля лекарственного, причем их выраженность прямо пропорциональна концентрации препарата [47].

Наличие у дягиля мембраностабилизирующих свойств может рассматриваться как один из механизмов, который может реализовывать его противовоспалительное действие, обеспечивая целостность клеточных мембран и мембран субклеточных органелл от повреждающего действия лизосомальных ферментов [9, 45, 46, 48,49].

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. Определена острая токсичность листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного. Установлено, что листья и корневища с корнями дягиля отнесены к классу малотоксичных соединений.
2. Установлена антимикробная активность листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного. Установлено, что наибольшее количество положительных результатов активности наблюдается в отношении *C. albicans*, что позволяет рекомендовать данные составы водных извлечений для лечения заболеваний, возбудителем которых является штамм исследуемой культуры.
3. Установлено, что в реакциях аутоокисления адреналина и в модельных системах ПОЛ отвар из корневищ с корнями дягиля лекарственного проявляет себя как антиоксидант, а настой из листьев – как прооксидант. В модельных системах, генерирующих АФК все исследуемые извлечения действовали одинаково: увеличивали процессы образования свободных радикалов, т.е. проявляли себя как активные прооксиданты.
4. Установлено наличие адоптогенных свойств корневищ с корнями дягиля лекарственного, проявляющих умеренную мембраностабилизирующую и антиоксидантную активность.

ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ КОРНЕВИЩ С КОРНЯМИ ДЯГИЛЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО (*ARCHANGELICA OFFICINALIS* HOFFM)

6.1. Разработка способа получения сухого экстракта из корневищ с корнями *A. officinalis*

Сухие экстракты – это концентрированные вытяжки порошкообразной консистенции с содержанием влаги не выше 5%. Сухие экстракты служат полупродуктами для получения различных форм (таблеток, суппозиторий и т.д.) и комбинированных препаратов.

Для получения сухого экстракта мы использовали методику ГФ XI, ст. «Определение содержания экстрактивных веществ» [28]. В качестве экстрагента использовали воду очищенную, так как она индифферентна и извлекает максимальное количество БАВ из корневищ с корнями дягиля лекарственного (гл. 4, п. 4.3).

Для определения оптимального значения выхода из сырья извлечения, было определено влияние параметра: «соотношение сырья и экстрагента». Были взяты соотношения: 1:5, 1:10, 1:15, 1:20 (таблица 51).

Таблица 51

Выход экстрактивных веществ в зависимости от соотношения
«сырье – растворитель» (%)

Соотношение Экстрагент	1:10	1:15	1:20
Вода очищенная	19,02 ± 0,42	9,74 ± 0,32	6,08 ± 0,25

В результате проводимого эксперимента при соотношении сырья и экстрагента 1:5, сырье полностью поглощало растворитель и дальнейшее определение содержания экстрактивных веществ не представлялось возможным. Как видно из результатов, представленных в таблице 51, наибольший выход экстрактивных веществ наблюдается при использовании воды очищенной в соотношении 1:10.

Поэтому для получения сухого экстракта с максимальным выходом дей-

ствующих веществ, в качестве экстрагента нами была выбрана вода очищенная (1:10) для последовательной экстракции сырья методом ступенчатой дробной мацерации с периодическим перемешиванием.

Для получения сухого экстракта нами была разработана следующая технологическая схема (рис.42).

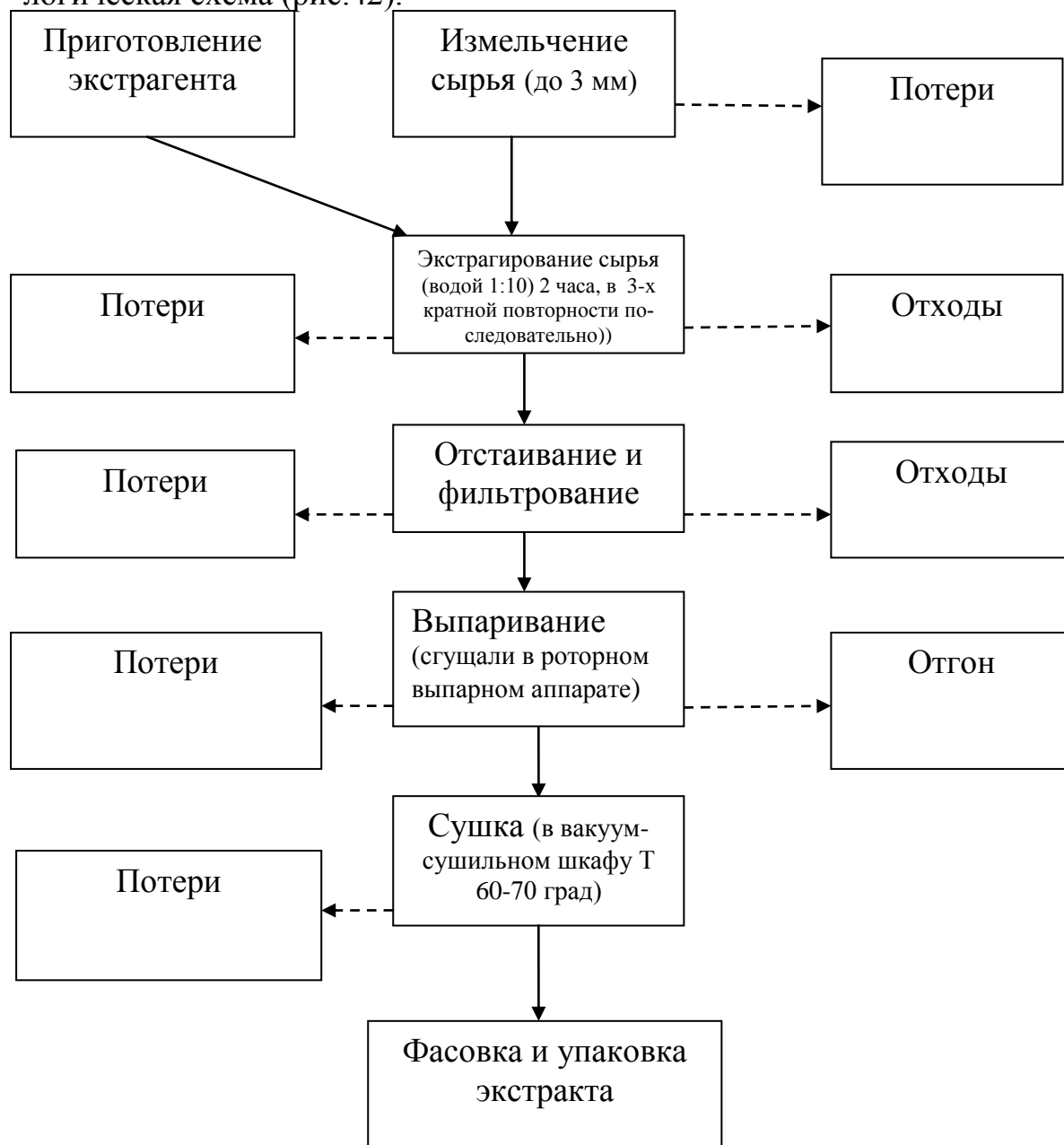


Рисунок 42. Общая технологическая схема получения сухого экстракта из корневищ с корнями дягиля лекарственного

Навеску сырья, проходящую сквозь сито с диаметром отверстий 3 мм, последовательно экстрагировали водой в соотношении 1:10, на кипящей водяной бане, в течение 2 часов, в трехкратной повторности последовательно; по оконча-

нии экстракции и охлаждения колбы вес последней доводили экстрагентом до первоначальной массы. Водные извлечения объединяли, охлаждали, фильтровали, сгущали в роторном выпарном аппарате до остатка густой консистенции, доводили в вакуум – сушильном шкафу при температуре 60-70 °С до остаточной влажности не более 5%. Выход конечного продукта составил 33%.

6.2. Стандартизация экстракта сухого из корневищ с корнями *A. officinalis*

6.2.1. Определение числовых показателей

Определение влажности экстракта проводили согласно известной методике по ГФ XI СССР (ч.1).

Общую золу исследуемого экстракта определяли по ГФ XII (ч. 1) в пересчете на абсолютно сухое сырье, в процентах.

Испытания на содержание тяжелых металлов проводили в соответствии с требованиями ГФ XI СССР.

Полученные данные представлены в таблице 52.

Таблица 52

Содержание влажности, золы и тяжелых металлов в сухом экстракте из корневищ с корнями дягиля лекарственного

№ серии	Влажность экстракта, %	Зола экстракта, %	Содержание тяжелых металлов, %	
			Норма по ГФ XI	найдено
1.	4,05 ± 0,15	2,75 ± 0,13	Не более 0,01 %	Не более 0,01 %
2.	4,03 ± 0,13	2,81 ± 0,11		Не более 0,01 %
3.	4,06 ± 0,12	2,77 ± 0,13		Не более 0,01 %

Как видно из результатов, представленных в таблице, влажность полученного экстракта составляет от 4,03% ± 0,13% до 4,06% ± 0,12%, что удовлетворяет требованиям ГФ-XI СССР (не более 5%); зольность составляет от 2,75% ± 0,13%

до $2,81\% \pm 0,11\%$.

6.2.2. Разработка показателей подлинности и методик количественного определения БАВ в экстракте *A. officinalis*

Описание. Полученный сухой экстракт представляет собой кристаллический гигроскопический порошок темно-коричневого цвета со специфическим запахом и пряным вкусом, растворимый в воде при нагревании и 40% спирте этиловом.

Для определения подлинности экстракта предлагается качественная реакция:

Около 0,1 г сухого экстракта растворяют в 10 мл воды очищенной. К 5 мл полученного извлечения прибавляют 20 мл 95% спирта этилового и перемешивают; появляются хлопьевидные сгустки, выпадающие в осадок при стоянии (полисахариды).

Методика количественного определения содержания полисахаридов в экстракте из корневищ и корней дягиля лекарственного

Аналитическую пробу сырья 1,0 г (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, соединяют с обратным холодильником и экстрагируют водой очищенной трижды по 30 мин на кипящей водяной бане при соотношении сырье-экстрагент 1:15. Извлечения каждый раз фильтруют через бумажный фильтр и объединяют. Водорастворимые полисахариды (ВРПС) осаждают трехкратным (по отношению к извлечению) объемом спирта этилового 95% при комнатной температуре. Выпавшие плотные осадки отфильтровывают, промывают спиртом этиловым, ацетоном, затем высушивают и взвешивают.

Расчет количественного содержания водорастворимых полисахаридов производят по формуле:

$$X = \frac{m_1 * 100 * 100}{m * (100 - W)},$$

где m – масса сырья, г;

m_1 – масса водорастворимых полисахаридов, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Полученные результаты представлены в таблице 53.

Таблица 53

Количественное содержание полисахаридов в сухом экстракте корневищ с корнями дягиля лекарственного

№ пробы	Содержание полисахаридов, %
1.	6,92±0,31
2.	7,57±0,34
3.	7,38±0,33

Из данных, представленных в таблице, видно, что содержание полисахаридов в дягиле лекарственном составляет от 6,92±0,31 до 7,57±0,34.

Статистическая обработка метода представлена в таблице 54. Относительная погрешность результатов количественного определения полисахаридов в сухом экстракте корневищ с корнями дягиля лекарственного составила 4,5%.

Таблица 54

Метрологическая характеристика методики

	f	\bar{x}	Δx^2	S^2_{cp}	S_{cp}	P	T (P,f)	Δx	$\epsilon, \%$
	2	7,29	0,01201	0,00600	0,07749	0,95	4,303	0,33	4,5

Таким образом, ошибка единичного опыта не превышает 5%.

На основании проведенного анализа разработаны числовые показатели и нормы их содержания в сухом экстракте *A. officinalis* [82].

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6

1. На основании ранее проведенных исследований, влияющих на эффективность экстракции, получен сухой экстракт из корневищ с корнями дягиля лекарственного.
2. Определены числовые показатели, показатели подлинности и содержание полисахаридов в экстракте, полученном из корневищ с корнями дягиля лекарственного.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Установлены макро- и микродиагностические признаки листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного. Выявлены диагностически значимые признаки для стандартизации листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного с использованием микроскопического анализа.

2. Исследован химический состав листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного с использованием современных методов анализа. В экстракте листьев идентифицировано 7 кумариновых соединений - производных псоралена, из которых наибольший фармакологический интерес представляют: прангенин (оксиимператорин), изомеры прангенина, бергаптен, метоксален, остол. В экстракте корневищ с корнями идентифицирован ряд кумариновых соединений, из которых преобладают: бергаптен, ангелицин, метоксален, остол, ороселан (кваннин). Изучен компонентный состав эфирного масла в листьях и в корневищах с корнями *A. officinalis*. В корневищах с корнями идентифицировано 61 соединение, в листьях дягиля лекарственного идентифицировано 40 соединений. В листьях и подземных органах дягиля обнаружено наличие циклогексановых сесквитерпеноидов – элеменов, элеменола и спатуленола. В листьях установлено наличие β -элемена, α -кариофиллена (хумулена). В листьях и корневищах с корнями дягиля лекарственного установлено содержание флавоноидов, фенолкарбоновых и органических кислот, кумаринов, суммы дубильных соединений, сапонинов, аскорбиновой кислоты, полисахаридов, эфирных масел, аминокислот, макро- и микроэлементов.

3. Разработаны показатели подлинности и доброкачественности листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного для включения в проекты нормативной документации. Предложена модифицированная методика количественного определения полисахаридов, как доминирующей группы биологически активных веществ, для стандартизации сырья дягиля лекарственного и проведена ее валидация.

4. Проведена оценка биологических свойств листьев и корневищ с корнями дягиля лекарственного: определена острая токсичность, установлена антиоксидантная, мембраностабилизирующая, антимикробная и противогрибковая активность.
5. Обоснован способ получения сухого экстракта и определены числовые показатели, показатели подлинности и содержание полисахаридов в экстракте, полученном из корневищ с корнями дягиля лекарственного.
6. Разработаны проекты ФС «Дягиля лекарственного листа», «Дягиля лекарственного корневища с корнями».

Практические рекомендации. Результаты диссертационной работы позволяют внедрить материалы диссертации в учебный процесс на кафедрах фармакогнозии медицинских и фармацевтических вузов РФ, а также в центрах сертификации и контроля качества ЛС и на фармацевтических предприятиях. Внедрение сырья дягиля лекарственного в официальную медицину может позволить использовать его в качестве нового сырьевого источника с антиоксидантными, антимикробными и противогрибковыми свойствами.

Перспектива дальнейшей разработки темы. На основании проведенных фармакогностических, фитохимических и биологических исследований показана целесообразность разработки и внедрения новых отечественных импортозамещающих лекарственных препаратов из листьев, корневищ с корнями дягиля лекарственного. Полученные данные включены в проект ФС «Дягиля лекарственного листа», «Дягиля лекарственного корневища с корнями».

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анаболическая, антиоксидантная, гепатозащитная, противовоспалительная активности некоторых природных кумаринов и хромонов / Н.Ф. Комиссаренко, С.И. Сальникова, А.Н. Комиссаренко, С.М. Дроговоз // Растительные ресурсы.– Вып. 3.– 1993.– С. 15-21.
2. Анатомическая характеристика листьев и корней дягиля лекарственного из флоры Башкортостана / Ф.А. Шакирова, Р.М. Баширова, Н.В. Кудашкина, Р.Р. Файзуллина // Сборник научных трудов научно-методической конференции «Гаммермановские чтения-2011».– Санкт-Петербург, 2011.– С. 91-92.
3. Андрушин, О.П. Экспериментальное изучение морфофизиологических реакций-ответов *Paramecium caudatum* на воздействие ксенобиотиков / О.П. Андрушин // Инфузории в медицине: тез. междунар. конф.– СПб., 1998.– С. 79-80.
4. Антиокислительная активность экстрактов водяники черной / Е.В. Ермилова, Т.В. Кадырова, Е.А. Краснов, С.И. Писаренко [и др.] // Хим.-фарм. журнал.– 2000.– Т. 34, № 11.– С. 28-30.
5. Арзамасцев, А.П. Фармацевтическая химия: учебное пособие / А.П. Арзамасцев.– М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006.– 640 с.
6. Бакаева, Е.Н. Обоснование использования одноклеточных в биотестировании / Е.Н. Бакаева // Инфузории в медицине: тез. межд. конф.– СПб., 1998.– С. 26.
7. Бакина, Л.А. Исследование эфирного масла из плодов дягиля низбегающего / Л.А. Бакина, Г.Г. Сенченко // Растения семейства зонтичных - источники биологически активных веществ.– Л.: Наука.– 1968.– С. 34-36.
8. Бандюкова, В.А. Методы исследования природных флавоноидов: методические рекомендации / В.А. Бандюкова, А.Л. Шинкаренко.– Пятигорск, 1977.– С. 57.
9. Барабой, В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов / В.А. Барабой // Успехи современной биологии. – 1991.– Т. 3, Вып. 6.– С. 923-931.
10. Баширова, Р.М. Растения рода дягиль: химический состав и фармакологические свойства / Р.М. Баширова, А.Ю. Касьянова, И.В. Галяутдинов // Фармация.– 2004.– № 4.– С. 46-48.

11. Беленький, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта.– Л.: Мед. лит., 1963.– С. 81.
12. Беликов, В.В. Методы анализов флавоноидных соединений / В.В. Беликов, М.С. Шрайбер // Фармация.– 1970.– № 1.– С. 66-72.
13. Беликов, В.В. Способ количественного определения флавоноидов в растительном сырье / В.В. Беликов, Н.Т. Колесник // А.с. 1507394 СССР, МКИ А 61 К 35/78 // Бюлл.– 1989.– № 34.
14. Беликов, В.В. Унифицированная методика определения флавоноидов для стандартизации фитохимических препаратов / В.В. Беликов, Т.В. Точкова, Н.Т. Колесник // Новые лекарственные препараты из растений Сибири и Дальнего Востока: Тез. докл. Всес. науч. конф.– Томск, 1989.– Вып. 2.– С. 21-22.
15. Биргер, М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / М.О. Биргер.– М., 1982.– С. 464.
16. Большакова, И.В. Антиоксидантные свойства групп экстрактов лекарственных растений / И.В. Большакова, Е.Л. Лозовская, И.И. Сапежинская // Биофизика.– 1998.– Т. 43, вып. 2.– С. 186-188.
17. Брехман, И.И. Человек и биологически активные вещества / И.И. Брехман.– М.: Наука, 1981.– С. 119.
18. Влияние некоторых гепатопротекторных лекарственных растений на процессы свободнорадикального окисления в модельных системах и в экспериментах *in vivo* / М.А. Рыжикова, Р.Р. Фархутдинов, Ш.З. Загидуллин, С.В. Сибиряк // Эфферентная терапия.– 1998.– Т. 4, № 2.– С. 39-42.
19. Ворошилов, В.Н. Определитель растений Советского Дальнего Востока / В.Н. Ворошилов.– М.: Наука, 1982.– С. 422-424.
20. Выделение и анализ биологически активных веществ / Е.А. Краснов, Н.В. Березовская, Н.В. Алексюк [и др.]– Томск, 1987.– С. 184.
21. Гаммерман, А.Ф. Дягиль лекарственный / А.Ф. Гаммерман, Г.Н. Кадаев, А.А. Яценко-Хмелевский // Лекарственные растения.– М.: Высш. шк., 1990.– С. 157-158.
22. Георгиевский, В.П. Биологически активные вещества лекарственных расте-

ний / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комиссаренко, С.Е. Дмитрук.– Новосибирск: Наука, 1990.– С. 333.

23. Гинзберг, А. С. Упрощенный способ определения количества эфирного масла в эфирносах// Хим.-фарм. промышленность.– 1932.– № 8–9.– С. 326-329.

24. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц.– М.: Бином, 1999.– 459с.

25. Гордиенко, А.Д. Гепатопротекторный механизм действия флавоноидов / А.Д. Гордиенко // Фармация.– 1990.– № 2.– С. 75-78.

26. ГОСТ 14618.10-78. Масла эфирные, вещества душистые и полупродукты их синтеза.– М., 1991.– С. 6.

27. ГОСТ 21569-76Е. Корневища и корни дягиля лекарственного.– М.: Изд-во стандартов, 1976.– С. 3.

28. Государственная фармакопея СССР: Вып. 1. Общие методы анализа / МЗ СССР. - II-е изд., доп.– М.: Медицина, 1987.– 333 с.

29. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. II-е изд., доп.– М.: Медицина, 1989.– 400 с.

30. Государственная фармакопея Российской Федерации: ГФ. Ч. 1.– 12 изд.– Москва: Науч. центр экспертизы средств мед. применения, 2008.– 704 с.: ил.

31. Гриневич, Н.И. Химический анализ лекарственных растений / Под редакцией Н.И. Гриневич, Л.Н. Сафронич.– М.: Высшая школа, 1983.– С. 17-18.

32. Денисова, М.Н. Определение содержания дубильных веществ в цветках и плодах некоторых представителей рода *Crataegus* L. / М.Н. Денисова, Т.Л. Киселева, И.А. Самылина // Ресурсоведч. и фитохим. изучение лекарственной флоры СССР: Науч. тр. Всесоюз. науч.-иссл. инст-т фармации.– М., 1991.– Т. XXIX.– С. 136-144.

33. Дикорастущие полезные растения России / отв. ред. А.Л. Буданцев, Е.Е. Левиовская.– СПб.: Изд-во СПХФА, 2001.– С. 18-20.

34. Дроговоз, С.М. Влияния полифенольных комплексов из растений на течение экспериментального гепатита / С.М. Дроговоз,

С.М. Николаев // Фармакол. и токсикол.– 1983.– Т. 32, № 4.– С. 74-76.

35. Дубинская, В.А. Использование биотест - систем при поиске фитопрепаратов, обладающих антимикробным действием / В.А. Дубинская, Н.Б. Попова, А.Г. Тадевосян // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: матер. III Межд. съезда.– СПб., 1999.– С. 24-27.

36. Евдокимова, О.В. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в столбиках с рыльцами кукурузы / О.В. Евдокимова // Фармация.– 2008.– № 7.– С. 14-17.

37. Егуткин, Н.Л. Определение содержания йода в ламинарии и бальзаме «Ламинария с травами» производства ООО «Травы Башкирии» / Н.Л. Егуткин, Н.Л. Груздева, Р.Г. Фархутдинов // Здоровоохранение Башкортостана: научно-практический журнал.– 2003.– № 4. Спец. выпуск.– С. 57-64.

38. Жигунова, С.Н. Распространение и сырьевая продуктивность *Angelica archangelica* (APIACEAE) в растительных сообществах Республики Башкортостан / С.Н. Жигунова, Н.И. Федоров, О.И. Михайленко // Известия Уфимского научного центра РАН.– 2013.– № 3.– С. 45-48.

39. Зависимость «концентрация – время» в острых опытах / Д.О. Виноходов, В.О. Виноходов, А.И. Гинак [и др.] // Инфузории в биотестировании: тез. межд. конф.– СПб., 1998.– С. 73-75.

40. Запрометов, М.Н. Основы биохимии фенольных соединений / М.Н. Запрометов.– М.: Высшая школа, 1974.– 214 с.

41. Заркуа, Т.Г. Количественное определение тритерпеновых сапонинов в многокомпонентной растительной композиции / Т.Г. Заркуа, Д.М. Попов, А.Д. Бакуридзе // Научные труды ВНИИФ «Современные аспекты изучения лекарственных растений».– Т. XXXIV.– Москва. 1995.– С. 177.

42. Зацепилова, Т.А. Изучение токсичности безалкогольных напитков на одноклеточном организме *Paramecium caudatum* // Лекарственные растения ботанического сада: тез. науч. конф., посв. 50-летию Бот. сада ММА.– М., 1996.– С. 64.

43. Зинченко, Л.А. Макро- и микроэлементов отходах переработки плодов боярышника кроваво-красного / Л.А. Зинченко // Разработка, исследова-

ние и маркетинг новой фармацевтической продукции: Сборник научных трудов.— Пятигорская гос. фармац. акад.— Пятигорск, 2006.— Вып. 61.— С. 342-343.

44. Изменения № 3 к статье ГФ XI издания «Методы микробиологического контроля лекарственных средств» от 19.06.03.

45. Изучение антиоксидантных свойств пряноароматических растений, интродуцированных в лесостепную зону Башкирского Предуралья / Т.И. Плеханова, Н.В. Кудашкина, К.А. Пупыкина [и др.] // Технология выращивания и использования лекарственных культур: матер. регион. науч.-практ. конф.—Уфа, 2003.— С. 88-91.

46. Изучение биологических свойств настоя из растительного сырья, используемого в комплексном лечении бактериального вагиноза / Н.В. Кудашкина, Р.Ф. Низамутдинов, Д.Т. Гашимова [и др.] // Актуальные вопросы инфекционной патологии человека, клинической и прикладной иммунологии: матер. Всерос. науч. конф. молодых ученых с межд. участием.— Уфа, 2004.— С. 217-218.

47. Изучение биологических свойств дягиля лекарственного (*Archangelica officinalis Hoffm.*) из флоры Башкортостана / Ф.А. Шакирова, Т.Р. Низамутдинов, Н.В. Кудашкина, З.Г. Габидуллин // Медицинский вестник Башкортостана, 2012.

48. Изучение противомикробных свойств лекарственных растений / Т.И. Никитина, Н.В. Кудашкина, З.Г. Габидуллин, Г.М. Ганиуллина // Здравоохран. Башкортостана.— 2000.— № 8.— С. 36-37.

49. Изучение противомикробных свойств лекарственных растений с целью создания лекарственной формы для лечения бактериального вагиноза / Т.И. Никитина, Н.В. Кудашкина, З.Г. Габидуллин, Г.М. Ганиуллина // Актуальные проблемы фармации: сб. науч. статей.— Барнаул, 2000.— С. 216-219.

50. Исследование аминокислотного состава некоторых дикорастущих растений из флоры Республики Башкортостан / С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, С.В. Трофимова, Р.Р. Файзуллина, Т.В. Булгаков, Д.И. Грицаенко, Ф.А. Шакирова // Башкирский химический журнал.— 2013.— Том 20, № 1.— С. 108-110.

51. Использование экспресс-методов оценки биологической активности на культуре клеток при разработке фитопрепаратов адаптогенного действия / Э.Ф.

Степанова, И.Н. Андреева, М.А. Огай [и др.] // Фармация на современном этапе – проблемы и достижения: науч. тр.– М., 2000.– Т. 39, ч. I.– С. 299-302.

52. Касьянова, А.Ю. Методические рекомендации по постановке интродукционных экспериментов с *Angelica archangelica* в Республике Башкортостан / А.Ю. Касьянова, А.М. Мингажева.– Уфа: изд-е Башкирск. ун-та.– 2002.– 20 с.

53. Киселева, А.В. Биологически активные вещества лекарственных растений Южной Сибири / А.В. Киселева, Т.А. Волхонская, В.Е. Киселев.– Новосибирск: Наука, 1991.– С. 116.

54. Клышев, Л.К. Флавоноиды растений / Л.К. Клышев, В.А. Бандюкова, Л.С. Алюкина.– Алма-Ата: Наука, 1978.– С. 220.

55. Колла, В.Э. Возможность применения лекарственных растений для регуляции репаративной регенерации / В.Э.Колла, Г.Л. Билич // Современ. проблемы регенерации: Материалы второй Всесоюзной школы молодых ученых и специалистов по современным проблемам регенерации.– Йошкар-Ола, 1982.– С. 123-126.

56. Комаров, В.Л. Сбор. Сушка. Разведение лекарственных растений в России. Справочник. 3-е изд-е.– Петроград, 1917.– С. 27.

57. Кудрин, А.Н. Оценка эффективности и безопасности кофеин – бензоата натрия и его сочетанного применения с адренергическими и антиадренергическими средствами на одноклеточном организме *Paramecium caudatum* / А.Н. Кудрин, В.Ю. Балабаньян // Лекарственные растения бот. сада: тез. науч. конф., посвященной 50-летию Бот. сада ММА.– М., 1996.– С. 74-75.

58. Кумарины корней и листьев дягиля лекарственного *Angelica archangelica* L. Уральского региона / Р.М. Баширова, Ф.А. Шакирова, Н.В. Кудашкина, Е.Г., Галкин, А.Г. Мустафин // Вестник Башкирского ун-та.- 2013.- Т. 18, № 4.- С. 1078-1080.

59. Кучеров, Е.В. Дягиль лекарственный / Е.В. Кучеров, Д.Н. Лазарева, В.К. Десяткин // Дикорастущие лекарственные растения Башкирии.– Уфа: Башк. кн. изд-во.–1973.– С. 76-78.

60. Кучеров, Е.В. Охрана, рациональное использование и воспроизводство лесных ресурсов Башкирии / Е.В. Кучеров.– Уфа: Башк. кн. изд-во.– 1974.– С. 186-188.

61. Кучеров, Е.В. Памятники природы Башкирии / Е.В. Кучеров.– Уфа: Башк. кн. Издательство.– 1974.– 365 с.
62. Кучеров, Е.В. Дягиль лекарственный / Е.В. Кучеров, Г.К. Байков, И.Б. Гуфранова // Полезные растения Южного Урала.– М.: Наука, 1976.– С. 108-109.
63. Кучеров, Е.В. Дягиль лекарственный / Е.В. Кучеров // Ресурсы и интродукция полезных растений в Башкирии.– М.: Наука.– 1979.– С. 137-138.
64. Кучеров, Е.В. Ресурсы основных видов дикорастущих лекарственных растений в Башкирии / Е.В. Кучеров, А.Х. Галеева А.Х.– Уфа: Башк. кн. изд-во.– 1986.– С. 149.
65. Кучеров, Е.В. Дягиль лекарственный / Е.В. Кучеров // Ботанические экскурсии в Башкирии.– Уфа: Башк. кн. издательство.– 1987.– С. 46.
66. Кучеров, Е.В. Дягиль лекарственный / Е.В. Кучеров, Д.Н. Лазарева, В.К. Десяткин // Лекарственные растения Башкирии, их использование и охрана.– Уфа: Башк. кн. изд-во.– 1989.– С. 272.
67. Кучеров, Е.В. Дягиль лекарственный / Е.В. Кучеров // Дикорастущие пищевые растения Башкирии и их использование.– Уфа, РОИ Госкомиздата БССР.– 1990.– С. 120-121.
68. Кучеров, Е.В. Распространение и запасы *Angelica archangelica* L. в Башкирии / Е.В. Кучеров, Н.В. Маслова // Раст. ресурсы.– 1985.– Т. 21, вып. 2.– С. 169-172.
69. Кучеров, Е.В. Дягиль лекарственный / Е.В. Кучеров, С.М. Сираева // Медоносные растения Башкирии.– М.: Наука, 1980.– С. 62.
70. К вопросу о противоопухолевой активности кумаринов / А.Л. Цетлин, Г.К. Никонов, И.Ф. Шварев, М.Г. Пименов // Раст. ресурсы.– 1965.– Т. 1, вып. 4.– С. 507-511.
71. Ларькина, М.С. Изменение динамики накопления фенолкарбоновых кислот в надземной части василька шероховатого (*Centaurea scabiosa* L.) / М.С. Ларькина, Е.В. Ермилова // Химия растительного сырья.– 2008.– № 3.– С. 71-74.
72. Ленинджер, А. Основы биохимии / А. Ленинджер.– Пер. с англ. П.Д. Решетов.– М., 1985.– Т. 1.– С. 126-127.
73. Лысенко, Е.А. Эколого-биологические особенности *Angelica archangelica* лесо-

- степи Украины / Е.А. Лысенко // Растит. ресурсы.– 1994.– Вып. 3.– С. 34-41.
74. Медведев, Ю.В. Исследование содержания фенолокислот в лекарственном и пищевом растительном сырье методом ВЭЖХ: автореф. дис. ... канд. фармац. наук: 14.04.02: защищена 13.09.2010/ Медведев Юрий Владимирович.– М., 2010.– С. 16.
75. Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения: сборник докладов / Под ред. проф. Бурлаковой Е.Б.– М.: Изд-во РУДН, 2005.– С. 147-154.
76. Минаева, В.Г. Лекарственные растения Сибири / В.Г. Минаева.– Новосибирск: Наука, 1991.– С. 430.
77. МР 2.3.1.1915-04. Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ: Методические рекомендации.– М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.
78. Никитина, Т.И. Фитология / Т.И. Никитина, Х.М. Насыров // Лекарственные растения в научной медицине.– Уфа: Изд-во Башкортостан.– 1993.– С. 33.
79. Николаев, С.М. Растительные лекарственные препараты при повреждениях гепатобилиарной системы.– Новосибирск: ВО «Наука», 1992.– С. 155.
80. Носаль, М.А. Лекарственные растения и способы их применения в народе / М.А. Носаль, И.М. Носаль .– Л.: Научный центр проблем диалога, 1991.– С. 26-28.
81. О введении в действие санитарных правил. СанПиН 2.3.2.1078-01.– 2001.– С. 87-88.
82. О возможности применения лекарственной формы дягиля лекарственного для профилактики и комплексной терапии стоматологических заболеваний у детей с хронической почечной недостаточностью, находящиеся на гемодиализе / Ф.А. Шакирова, А.З. Галимова, С.В. Чуйкин, Н.В. Кудашкина // Сб. материалов Всероссийской молодежной конференции «Фармакологическая коррекция процессов жизнедеятельности. Доклинические и клинические исследования новых лекарственных препаратов».– Уфа, 2012.– С. 159-161.
83. Орловская, Т.В. Дудник обыкновенный (*Angelica Archangelica* L.): химический состав, применение / Т.В. Орловская, Д.А. Лозовицкий, И.А. Беляева // Со-

временные проблемы науки и образования.– 2014.– № 3.

84. Патент N 2004549 Российская Федерация, кл. С 08 В 37/06. Способ получения пектина / Кайшева Н.Ш., Компанцев В.А., Щербак С.Н. [и др.]

85. Пожаров, А.В. Быстрый токсикологический тест с использованием хемотаксиса *Paramecium caudatum* / А.В. Пожаров, Н.И. Папутская, И.С. Захаров // Инфузории в биотестировании: тез. III Междунар. конф. – СПб, 1998. – С. 53-55.

86. Потанина, О.Г. Оценка доброкачественности лекарственного растительного сырья с учетом диагностически значимых признаков / О.Г. Потанина, И.А. Самылина // Фармация.– 2003.– № 4.– С. 12-14.

87. Прокопенко, А.П. Исследование кумаринов некоторых растений семейства Зонтичных / А.П. Прокопенко, Д.Г. Колесников // Терпеноиды и кумарины.– Л., 1965.– С. 66-70.

88. Растения Центральной Азии. По материалам института им. В. Комарова РАН. Вып. 10. Аралиевые, Зонтичные, Кизиловые / Сост. В.М. Виноградова.– СПб., 1994.– 120 с.

89. Растительные ресурсы России и сопредельных государств.– СПб.: Мир и семья, 1996.– Т. 4, № 1-2.– С. 571.

90. Растительные ресурсы СССР.– СПб.: Наука, 1985-1993.– Вып. 1.

91. Румянцева, Ж.Н. Поиски гепатопротекторов среди препаратов растительного происхождения / Ж.Н. Румянцева, Я.С. Гудивок // Растительные ресурсы.– 1993.– Т. 29, вып. 1.– С. 88-97.

92. Рыжикова, М.А. Влияние водных извлечений из некоторых лекарственных растений на процессы свободно-радикального окисления / М.А. Рыжикова [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология.– 1999.– Т.62.– №2.– С. 36-38.

93. Сазонова, В.Е. Биологические основы использования парамеций в качестве тест - объекта / В.Е. Сазонова // Инфузории в биотестировании: тез. III Междунар. конф.– СПб., 1998.– С. 24.

94. Симонян, А.В. Использование нингидриновой реакции для количественного определения α -аминокислот в различных объектах: методические рекомендации / А.В. Симонян [и др.]– Волгоград, 2007.– С. 106.

95. Синюк, Т.Ф. Определение параметра роста тест-модели *Paramecium caudatum* для стандартизации исследований по изучению биологической активности и химических веществ / Т.Ф. Синюк [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.– 1999.– Т. 127, № 6.– С. 717-720.
96. Синяков, А.Ф. Фитотерапия против рака.– М.: Сов. спорт, 2001.– 448 с.
97. Сирота, Т.В. Способ определения антиоксидантной активности супероксиддисмутазы и химических соединений. Заявка №99103192 (003673), приоритет от 24.02.1999.
98. Скрининг биологической активности отваров урологического сбора на тест - модели *Paramecium caudatum* / Т.Ю. Ковалева, Э. Доржбал, Ю.А. Ершов [и др.] // Человек и лекарство: тез. докл. VII Рос. нац. конгр.– М., 2000.– С. 693.
99. Соколов, С.Я. Дягиль лекарственный / С.Я. Соколов, И.П. Замотаев // Справочник по лекарственным растениям: Фитотерапия.– М.: Металлургия.– 1990.– С. 222-224.
100. Соколов, С.Я. Фитотерапия и фитотерапевтика: руководство для врачей / С.Я. Соколов.– М.: Медицинское информационное агентство.– 2000.– С. 976.
101. Состав эфирных масел корней *Angelica archangelica* Уральского региона / Р.М. Баширова, Ф.А. Шакирова, Н.В. Кудашкина, Е.Г. Галкин, Мустафин А.Г. // Известия Уфимского научного центра РАН.– 2014.–
102. Турова, А.Д. Дудник / А.Д. Турова // Лекарственные растения СССР и их применение.– М.: Медицина, 1982.– С. 288.
103. Тяжелые металлы в окружающей среде и их влияние на организм / Р.С. Гильденскиольд, Ю.В. Новиков, Р.С. Хамидулин [и др.] // Гигиена и Санитария.– 1992.– № 5-6.– С. 6-9.
104. Универсальная энциклопедия лекарственных растений.– Минск, 2000.– С. 131-132.
105. Фармакопейная статья предприятия, ФСП 42 0330168301 «Трава донника».
106. Фархутдинов Р.Р., Методика исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилуцинометре ХЛ-003 /Р.Р. Фахрутдинов, С.И. Тевдоразде

/ Определение антиоксидантной активности методом регистрации хемиллюминесценции. – М., 2005. – С. 125–146.

107. Хайс, И.М. Хроматография на бумаге / И.М. Хайс, К.М. Мацек.– М.: Изд-во иностр. лит-ры.– 1962.– С. 851.

108. Харборн, Дж. Б. Фенольные соединения. Хроматография: практическое приложение метода / Дж. Б. Харборн.– М., 1986.– С. 242-276.

109. Химический анализ лекарственных растений / Е.Я. Ладыгина, Л.Н. Сафронич, В.Э. Отряшенкова [и др.].– М.: Высшая школа, 1983.– 176 с.

110. Хомякова, И.М. Лесные травы / И.М. Хомякова.– Воронеж.– 1974.– С. 176.

111. Цвелев, Н.Н. Определитель сосудистых растений Северо-Западной России (Ленинградская, Псковская и Новгородская области) / Н.Н. Цвелев.– СПб.: Изд-во СПХФА.– 2000.– С. 514.

112. Цыганов, Д.Н. Фитоиндикация экологических режимов в подзоне хвойно-широколиственных лесов / Д.Н. Цыганов.– М.: Наука, 1983.– 197 с.

113. Черепнин, В.Л. Пищевые растения Сибири / В.Л. Черепнин.– Новосибирск, 1987.– 28 с.

114. Чернобровкин, М.Г. Определение аминокислот в препарате «Элтацин» / М.Г. Чернобровкин, Н.В. Кольцова, Б.Н. Шепелев // Фармация.– 2004.– Т. 53, № 5. – С. 18-20.

115. Шарыгина, И.С. Дягиль аптечный (*Archangelica officinalis* (Moench) Hoffm.), душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.), иссоп лекарственный (*Hyssopus officinalis* L.), и их биология и эфирномасличность под Ленинградом: автореф. дис... канд. биол. наук / Шарыгина И.С.– Л., 1960.– С. 18.

116. Щеглов, Н. Хозяйственная ботаника / Н. Щеглов.– 1928.– ч. II.– С. 67-70.

117. Щипицына, О.С. Компонентный состав эфирного масла различных вегетативных частей дудника лекарственного Сибирского региона / О.С. Щипицына, А.А. Ефремов // Химия растительного сырья.– 2010.– № 4.– С. 115-119.

118. Шматков, Д.А. Определение инулина в корнях лопуха большого / Д.А. Шматков, К.В. Беляков, Д.М. Попов // Фармация.– 1998.– № 6.– С. 17-20.

119. Яковлева, Г.П. Энциклопедический словарь лекарственных растений и

продуктов животного происхождения / Г.П. Яковлева, К.Ф. Блинова // Дудник (Дягиль).– СПб.: Специальная литература, 1999.– С. 124-125.

120. American Herbal pharmacopoeia // *Angelica sinensis monograph*. АНР.– 2002.
121. Analysis of mineral contents of edible Medicinal Plants in Korea / S.B. Han, E.-H. Choi, H.-W. Chung [et al.] // *Food Sci. Biotechnol.*– 2001.– Vol. 10.– № 3.– P. 225-230.
122. Ayurvedic Pharmacopoeia of India (A.P.I.) // Government of India ministry of health and family welfare department of AYUSH Part-I.– Vol. V.
123. A modern look at folkloric use of anti-infective agents / L.A. Mitscher, S. Drake, S.R. Gollapuci, S.K. Okwute // *J. Nat. Prods.*– 1987.– № 50.– P. 1025-1040.
124. Bae, O.S. Smoking substances for use in therapy by inhalation, based on a mixture of a least five medicinal herbs, ginkgo leaves as base and starch syrup/glycerin binders. 1999: Заявка 2337200 Великобритании. МПК 6 А61 К9/72. А 61 К35/78.– N 9810054.8.– НПК А5В.
125. Bassem, M.R. Using of *Angelica officinalis* roots powder as a chelating agent of lead in rats / M.R. Bassem, M.S. Abd El-Baset, S.R. Amira // *Medical Journal of Cairo University.*– 2005.– Vol. 9, N 3.– P. 149-156.
126. Bhat, Z.A. *Angelica archangelica* Linn is an angel on earth for the treatment of diseases / Z.A. Bhat, Kumar Dinesh, M.Y. Shah // *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases.*– 2011.– Vol. 1, № 1.– P. 36-50.
127. *Biotechnology in agriculture and forestry.*– B.: Heidelberg: Springer.– 1988.– Vol. 4.– 550 p.
128. Budavari, S. *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals.*– 12th ed. Whitehouse Station, N.J.: Merck & Co.– 1996.– Inc. 109.
129. Neuroprotective effect of osthole against acute ischemic stroke on middle cerebral ischemia occlusion in rats / X. Chao, J. Zhou, T. Chen [et al.] // *Brain Res.*– 2010.– Vol. 1363.– P. 206-211.
130. Chen, C.Y. Elemental analysis of the Taiwanese health food *Angelica keiskei* by INAA / C.Y. Chen // *J. of radioanalytical and nuclear chemistry.*– 2002.– Vol. 252.– № 3.– P. 551-558.

131. Cheryll, W. Antidotal properties angelica Medicinal Plants in Australia / W. Cheryll // Rosenberg Publishing Dural Australia.– 2010.– Vol. 4.
132. Comparative effects of STW 5 and STW 5-II in dextran sodium sulfate-induced colitis / M.T. Khayyal, W. Wadie, D. Weiser, H. Abdel-Aziz. // *Planta Med.*– 2013.– Vol. 79.– SL11.
133. Danner-de Mendelssohn, D. Westliche Arzneipflanzen und Traditionelle Chinesische Medizin (1) / D. Danner-de Mendelssohn, C.L. Tan-Bleinroth, K. Krassnig // *Z. Phytother.*– 2012.– Vol. 33.– P24.
134. Dicafeoylquinic acid inhibitors of human immunodeficiency virus integrase: inhibition of the core catalytic domain of human immunodeficiency virus integrase / W.E. Robinson Jr, M. Cordeiro, S. Abdel-Malek, Q. Jia, S.A. Chow, M.G. Reinecke, W.M. Mitchell // *Mol Pharmacol.*– 1996.– Vol. 50, N 4.– P. 846-855.
135. Doneanu, C. Supercritical carbon dioxide extraction of *Angelica archangelica* L. root oil / C. Doneanu, G. Anitescu // *J. Supercrit. Fluid.*– 1998.– № 12.– P. 59-67.
136. Duke, J.A. Medicinal plants of China / J.A. Duke, E.S. Ayensu.– Algonac (Mich.): Reference publ.– 1985.– Vol. 1-2.– 705 p.
137. Eeva, M. Computer – assisted, high – performance liquid chromatography with mass spectrometric detection for the analysis of coumarins in *Peucedanum palustre* and *Angelica archangelica* / M. Eeva [et al.] // *Phytochem. Anal.*– 2004.– Vol. 15, N 3.– P. 167-174.
138. Effect of the Chinese herb extract osthol on IL-4-induced eotaxin expression in BEAS-2B cells / P.R. Chiu, W.T. Lee, Y.T. Chu [et al.] // *Pediatr Neonatol.*– 2008.– Vol. 49, N 4.– P. 135-140.
139. Effect of ferulic acid and *Angelica archangelica* extract on behavioral and psychological symptoms of dementia in frontotemporal lobar degeneration and dementia with Lewy bodies / T. Kimura, H. Hayashida, M. Murata, J. Takamatsu // *Geriatr Gerontol Int.*– 2011.– Vol. 11, N 3.– P. 309-314.
140. Effects of osthol on blood pressure and lipid metabolism in stroke-prone spontaneously hypertensive rats / H. Ogawa, N. Sasai, T. Kamisako, K. Baba // *J. of Ethnopharmacology.*– 2007.– Vol. 112, № 1.– P. 26-31.

141. Escher, S. Neue Phellandren- Derivate aus dem Wurzelöl von *Angelica archangelica* L / S. Escher, U. Keller, B. Willhem // *Helv. Chim. Acta.*– 1979.– Vol. 62, fasc. 7.– P. 2061-2072.
142. European pharmacopoeia. Strassbourg // *Concil of Europe.*– 1996.– XYIII.– P. 1003-1004.
143. Fathey Shadia, A. / A. Fathey Shadia, M.S. Abd El-Baset, F. Fatma // *Int. J. of Pharmaceutical Science and health care.*– 2012.– Vol. 2.– P. 19-28.
144. Furanocoumarins from the root of *Angelica dahurica* / N.I. Baek, E.M. Ahn, H.Y. Kim, Y.D. Park // *Arch Pharm Res.*– 2000.– Vol. 23.– P. 467-470.
145. Gawron, A. Cytostatic activity of coumarins in vitro / A. Gawron, K. Glowniak // *Planta Medica.*– 1987.– Vol. № 53, N 6.– P. 526-529.
146. Glowniak, K. Investigation of the gasoline extracts of some umbelliferous fruits: Sterols and fany acids in *Angelica (Archangelica officinalis)* fruits / K. Glowniak // *Acta Pol. Pharm.*– 1978.– T. 35, N 3.– P. 353-357.
147. Hadacek, F. Analysis, isolation and insecticidal activity of liner furocoumarins and other coumarin derivatives from *Peucedanum (Apiaceae: Apioideae)* / F. Hadacek [et al.] // *J. Chem. Ecol.*– 1994.– Vol. 20.– P. 2035-2054.
148. Hamby, R.K. Ribosomal RNA as a phylogenetic tool in plant systematics. In: P.S. Soltis, D.E. Soltis & J.J. Doyles (Eds.) / R.K. Hamby, E.A. Zimmer // *Molecular Systematics of Plants.*– 1992.– P. 50–91.
149. Han, S.B. Characteristic immunostimulation by angelan isolated from *Angelica gigas* Nakai / S.B. Han [et al.] // *Immunopharmacology.*– 1998.– Vol. 40, № 1.– P. 39-48.
150. Haraldsdottir, J. Recent developments in bioavailability of falcarinol // Health promoting compounds in vegetables and fruit / J. Haraldsdottir [et al.] // *Proceedings of workshop in Karresbaeksminde, Denmark. 6-8 November.*– 2002.– P. 24-29.
151. Harmara, P.A. furocoumarin from *Angelica archangelica* / P.A. Harmara [et al.] // *Planta Med.*– 1992.– Vol. 58, N 3.– P. 287-289.
152. Hawryl M. A. et al. Separation of coumarins from *Archangelica officinalis* in high-performance liquid chromatography and thin-layer chromatography systems / M. Hawryl [et al]

// *Journal of Chromatography A*, 886. – 2000. – Vol. 75–81.

153. Hensel, A. Occurrence of N-phenylpropenoyl-L-amino acid amides in different herbal drugs and their influence on human keratinocytes, on human liver cells and on adhesion of *Helicobacter pylori* to the human stomach / A. Hensel, A.M. Deters [et al.]

// *Planta Med.*– 2007.– Vol. 73, N 2.– P. 142-150.

154. Hethelyi, E.B. Gland GC – MS Determination of variations in the essential oil and chemical nature of seed and roots of species grown in Finland / E.B. Hethelyi, B. Galambosi // *Olaj, Szappan, Kozmetika.*– 2003.– Vol. 52, N 3.– P. 105-114.

155. Human papillomavirus in oral lesions / J.V. González, R.A. Gutiérrez, A. Keszler [et al.] // *Medicina (B. Aires).*– 2007.– Vol. 67, № 4.– P. 1669-9106.

156. Immunostimulating polysaccharide from cell culture of *Angelica gigas* Nakai / K.S. Ahn, W. Sim, H.M. Kim [et al.] // *Biotechnology Letters.*– 1998.– Vol. 20, № 1.– P. 5-7.

157. Inhibitory effects of ostole, psoralen and aconitine on invasive activities of breast cancer MPA-MB-231-BO cell line and the mechanisms / G. Bao-feng, L. Sheng, Yi-yi [et al.] // *J. Chinese Integrative Med.*– 2011.– Vol. 9, № 10.– P. 1110-1117.

158. In vitro GABA-transaminase inhibitory compounds from the root of *Angelica dahurica* / S.Y. Choi, E.M. Ahn, M.C. Song, [et al.] // *Phytother Res.*– 2005.– Vol. 19.– P. 839-845.

159. Kedzia, B. Activity of furanocoumarin from *Archangelica officinalis* Hoffm. And *Heracleum sosnowskyi* Manden fruits on dermatophytes / B. Kedzia [et al.] // *Herba Pol.*– 1996.– Vol. 42, N 1.– P. 47-54.

160. Kerschbaum, M. Über Lactone mit grossen Ringen die Träger des vegetabilischen Moschus-Duftes / M. Kerschbaum // *Ber. Dtsch.Chem. Ges.*– 1927.– Bd 60, H. 4.– S. 902-909.

161. Kiss A.K. Wszelaki N., Paradowska K. Butyrylcholinesterase inhibitors from *Angelica archangelica* L. roots//*Planta Med.* 2009. Vol. 75 - PC17.

162. Kiss, I. Volatile terpenes from the roots of *Angelica archangelica* / I. Kiss, G. Tibori, G. Raez // *Rev. Med.*– T. 26, N 1.– P. 79-82.

163. Lansky, E.P. Phytoestrogen supplement prepared from pomegranate seeds and a

herbal mixture or coconut milk: Пат.589140 США, МПК6 А61 К 35/78, N 777895; опубл.06.04.1999; НПК 424/195,1; РЖ Химия.– 2000.– 00-09-190. 190 П.

164. Lee, K.T. Biologocal screening of 100 plant extracts for cosmetic use (1): inhibitory activities of tyrosinase and DOPA auto-oxidation / K.T. Lee // International Journal of cosmetic Science.– 1997.– № 19.– P. 191-298.

165. Luszczki, J.J. Imperatorin enhances the protective activity of conventional antiepileptic drugs against maximal electroshock-induced seizures in mice / J.J. Luszczki, K. Glowniak, S.J. Czuczwar // European J. Pharmacol.– 2007.– Vol. 574.– P. 133-139.

166. Matsunaga, H. Novel antiproliferative falcarindiol, furanocoumarin ethers from the root of *Angelica japonica* II / H. Matsunaga, [et al.] // Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.– 1998.– № 8.– P. 1-6.

167. Ming, L.G.· Osthol, a Coumarin Isolated from Common *Cnidium* Fruit, Enhances the Differentiation and Maturation of Osteoblasts in vitro / L.G.· Ming, J. Zhou, G.Z. Cheng [et al.] // Pharmacology.– 2011.– Vol. 88.– P. 33-43.

168. Muller, M. 2D NMR – spectroscopic analyses of archangelicin from the seeds of *Angelica archangelica* / M. Muller [et al.] // Acta Pharm. 2004.– Vol. 54, N. 4.– P. 277-285.

169. Nivinskienė, O. Changes in the Chemical Composition of the Essential Oil of *Angelica archangelica* L. roots during storage / O. Nivinskienė, R. Butkienė, D. Mockutė // Chemia (Vilnius).– 2003.– B. 14, N 1.– P.52-56.

170. Nivinskienė, O. The Chemical Composition of the Essential Oil of *Angelica archangelica* L. Roots Growing Wild in Lithuania / O. Nivinskienė, R. Butkienė, D. Mockutė // J. of Essential Oil Research.– 2005.– Vol. 17, N 4.– P. 373-377.

171. Okamoto, T. Chemical aspects of coumarin compounds for the prevention of hepatocellular carcinomas / T. Okamoto, T. Kobayashi, S. Yoshida // Curr. Med. Chem. - Anti-Cancer Agents.– 2005.– Vol. 5.– P. 47-51.

172. Prophylactic effect of *angelica archangelica* against acute toxicity in albino rabbits / A.A. Elgohary, M.W. Shafaa, B.M. Raafat [et al.] // Romanian J. of Biophysics (Bucharest) .– 2009.– Vol. 19, N 4.– P. 259-275.

173. *Radix Angelicae sinensis* II WHO monographs on selected medicinal plants- Ge-

neva: World health organization.– 2001.– Vol. 2.– P. 25-34.

174. Robert, P.C. Influence da la bisabolangalone, un antiappetant sesqiterpenoide, sur le developpement des chenilles de *Mythimna (Pseudaletia) unipuncta* Haw. (Lepidoptera, Noctuidae) / P.C. Robert, P. Blaisinger, Y. Bouchery // *Agronomie.*–1987.– Vol. 7.– № 3.– P. 167-174.

175. Sardari, S. Synthesis and antifungal activity of coumarins and angular furanocoumarins / S. Sardari, Y. Mori, K. Horita [et al.] // *Bioorganic and medicinal chemistry.*– 1999.– № 7.– P. 1933-1940.

176. Sarker, S. D. Natural medicine: The genus *Angelica* / S.D. Sarker, L. Nahar // *Current Medicinal Chemistry.*– 2004.– Vol. 11.– P. 1479-1500.

177. Schönfelder, P. *Angelicae radix* / P. Schönfelder // *Teedrogen und phytopharmaka.* Stuttgart: Wiss. Verl.– 1997.– S. 62-65.

178. Sheu, S.J. Analysis and processing of Chinese herbal drugs; YI. The study of *Angelicae radix* / S.J. Sheu [et al.] // *Planta medica.*– 1987.– № 53.– P. 377-378.

179. Shui-Yin, W. Comparative study of ligustilide in different parts of *radix Angelicae sinensis* by high-performnce liquid chromatography / W. Shui-Yin, T. Man-Ling, C. Foo-Tim.– *ANYL* 66.– 2003.

180. Sigurdsson, S. Antiproliferative effect of *Angelica archangelica* fruits / S. Sigurdsson, H.M. Ogmundsdottir, S. Gudbjarnason // *Z. Naturforsch C.*– 2004.– Vol. 59.– P. 523-527 // *Anticancer Res.*– 2005.– Vol. 25, N 3B.– P. 1877-1880.

181. Sigurdsson, S. The cytotoxic effect of two chemotypes of essential oils from the fruits of *Angelica archangelica* L. / S. Sigurdsson, H.M. Ogmundsdottir, S. Gudbjarnason // *Anticancer Res.*– 2005.–Vol. 25.– P. 1877-1880.

182. Sigurdsson, S. 3 sigmundur gudbjarnason Antitumour Activity of *Angelica archangelica* Leaf Extract / S. Sigurdsson, H.M. Ogmundsdottir, J. Hallgrimsson // *in vivo.*– 2005.– Vol. 19.– P. 191-194.

183. Toguchida, T. Hepatoprotective and nitric oxide production inhibitory activities of coumarin and polyacetylene constituents from the roots oi *Angelica furcijuga* I. / T. Toguchida // *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.*– 1998.– Vol. 8, № 16 (18).– P. 2191-2196.

184. Ultrafine *Angelica gigas* Powder Normalizes Ovarian Hormone Levels and Has Antiosteoporosis Properties in Ovariectomized Rats: Particle Size Effect / Choi Kyeong-Ok, Lee Inae, Paik Sae-Yeol-Rim [et al.] // *J. Med Food.*– 2012.– Vol. 15, N 10.– P. 863–872.
185. Wawrzkiwicz, K. Antifungal properties of the extracts from the' fruits of *Archangelica officinalis* Hoffm / K. Wawrzkiwicz, T. Wolski [et al.] // *Medycyna Weterynaryjna.*– 1990.– Vol. 46, N 8.– P. 289-292.
186. Wedge, D.E. GC-MS Fingerprinting of *Angelica sinensis* and *A. archangelica* Root Components and Mosquito Deterrent Activity / D.E. Wedge, N. Tabanca, B. Demirci [et al.] // *Planta Med.*– 2008.– Vol. 74.– P. 121.
187. Wolski, T. The content and composition of essential oils and fatty acids from the fruits of *Angelica* (*Archangelica officinalis* Hoffm.) / T. Wolski, A. Najda, A. Ludwiczuk // *Herba Pol.*– 2003.– T. 49, N ¾.– S. 151-156.
188. Zschocke, S. A Polyacetylenic acetate and a coumarin from *Angelica pubescens* f. *biserrata* II / S. Zschocke, J.-H. Liu, R. Bauer // *Phytochemistry.*– 1998.– Vol. 49.– № 1 (03) .– P. 211-213.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ
№ 2503458

**СПОСОБ МЕСТНОГО ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ
ОСНОВНЫХ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У
ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ
НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ С ПРИМЕНЕНИЕМ
ЖЕВАТЕЛЬНОГО ФИТОСУБСТРАТА**

Патентообладатель(и): *Чуйкин Сергей Васильевич (RU), Кудашкина Наталья Владимировна (RU), Галимова Альбина Зуфаровна (RU), Егорова Елена Гертрудовна (RU), Шакирова Фирюза Альбиртовна (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2012136623

Приоритет изобретения 27 августа 2012 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 10 января 2014 г.

Срок действия патента истекает 27 августа 2032 г.



Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УВЕРЖДАЮ

_____ Ф.И.О.

«___» _____ г.

Государственный стандарт качества лекарственного сырья

Фармакопейная статья**Башкирский государственный медицинский университет**

Rhizomata cum radicibus

ФС 42-XXX-XXXXXX-XX

Archangelicae officianalis

Вводится впервые

Корневища с корнями

дягиля лекарственного

Срок введения установлен

с «___» _____ 20__ г.

до «___» _____ 20__ г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

ФС 42 _____ с.2

Показатели качества	Методы испытания	Нормы
1	2	3
<i>Внешние признаки</i>	Визуальный (с помощью микроскопа и лупы), органолептический, ГФ XI	Соответствует ФС
<i>Микроскопия</i>	ГФ XI, вып. 1	Соответствует ФС
<i>Качественные реакции</i>	ТСХ	Соответствует ФС
<i>Числовые показатели:</i> Содержание полисахаридов ДЗП Влажность Золы общей Органическая примесь Минеральная примесь Измельченность: частиц, не проходящих сквозь сито d=7 мм частиц, проходящих сквозь сито d=0,5 мм	Гравиметрический метод Микродиагностический ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1	Не менее 5 % не менее 31% не более 14% не более 14% не более 2,0% не более 1% не более 10% не более 10%
Микробиологическая чистота	ГФ XII, ст.32	Соответствует категории 4А
Упаковка		Цельное сырье упаковывается по 15 кг в мешки бумажные многослойные; в мешки полипропиленовые из пропилена окрашенного; по 20 кг в мешки тканевые продуктовые.
Маркировка		Соответствует ФС
Транспортирование		
Хранение		В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 25°C
Срок годности		3 года

Внешние признаки. Цельное сырье. Сырье представляет собой короткие, конические, кольчатые корневища (длина 6-8 см) с отходящими от них многочисленными продольно морщинистыми слегка бугристыми придаточными корнями (длина 15-25 см, толщина 0,2–0,7 см). Излом корневищ ровный, гладкий. На изло-

мах корневища в толстой коре заметно много смоляных ходов в виде блестящих оранжевых точек. Снаружи цвет корневища бурый и красновато-серый, белый и слегка желтоватый внутри. На поперечном разрезе корневища и корней под лупой видна перидерма наружной коры, широкий пояс внутренней коры с многочисленными блестящими точками перерезанных каналов, темный слой камбия и расходящего из центра лучами сосуды ксилемы. В центре корневища имеется сердцевина, отсутствующая в корнях. Запах сильный, специфический, ароматный, при измельчении усиливающийся. Вкус пряный, горьковатый, слегка жгучий.

Измельченное сырье. Кусочки корневищ с корнями различной формы, проходящие сквозь сито с отверстиями 7 мм. Цвет желтовато-серый. Запах ароматный, при измельчении пахнет сильнее, имеет пряный, горьковато-слегка жгучий вкус.

Под ультрафиолетовым светом отмечается ярко выраженная флуоресценция (рис. 1)



Рисунок 1. Вид фрагментов сырья под УФ светом

Микроскопия подземных органов. При рассмотрении корневищ с корнями дягиля лекарственного установлено, что корни имеют вторичное беспучковое строение. Покровная ткань - пробка, клетки которой имеют прямоугольную утолщенную форму с прямыми стенками и расположены ровными рядами. В слое ксилемы хорошо заметны паренхимные клетки, составляющие сердцевинные лучи. При окрашивании раствором

Люголя в клетках паренхимы обнаруживаются крахмальные зерна темно-фиолетового цвета.

В коре отмечено наличие схизогенных вместилищ, содержащих капли эфирного масла, которое окрашивается раствором судана III в красно-оранжевый цвет.

Качественные реакции.

На линию старта пластинки «Silufol UV 254» капилляром наносят 0,02 мл подготовленного извлечения (раздел 3.3.5) и по 0,02 мл 0,05% растворов РСО бергаптена. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в предварительно насыщенную смесью растворителей камеру, и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 12 см, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 5 минут. При просмотре хроматограммы в УФ-свете при длине волны 365 нм обнаруживаются 7 основных пятен, одно соединение из которых с R_f 0,33 - бергаптен (рис.2).

Примечание:

1. Подготовка пластинок. Пластины «Silufol UV 254» вырезают размером 14×5 см, наносят линию старта на расстоянии 1 см от края и перед использованием активируют в сушильном шкафу при 100-105 °С в течение 1 часа.
2. Приготовление системы растворителей для хроматографирования. Для проведения ТСХ-анализа рекомендуется система растворителей: этилацетат – толуол (7:93). Система используется свежеприготовленная. Насыщение камеры для хроматографирования системой растворителей в течение 1 часа.
3. Приготовление растворов сравнения.

Раствор бергаптена: около 0,05 г (точная навеска) РСО растворяют в 95% этиловом спирте в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят до метки.

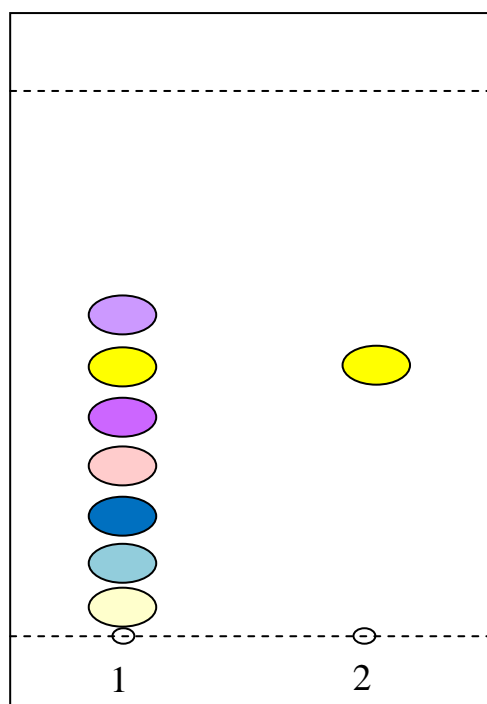


Рисунок 2. Хроматограмма корневищ с корнями дягиля лекарственного в системе этилацетат – толуол (7:93) (1- извлечение корневищ с корнями дягиля лекарственного, 2- раствор бергаптена)

Числовые показатели. Цельное сырье. Содержание полисахаридов – не менее 5%; ДЗП не менее 31%, влажность не более 14%; зола общая не более 14%; содержание примесей органических не более 2% и минеральных не более 1%; содержание частиц, не проходящих сквозь сито $d=7$ мм - не более 10% и частиц, проходящих сквозь сито $d=0,5$ мм - не более 10%.

Измельченное сырье. Содержание полисахаридов – не менее 5%; влажность не более 14%; зола общая не более 14%; содержание примесей органических - не более 2% и минеральных - не более 1%; содержание частиц, не проходящих сквозь сито $d=7$ мм - не более 10% и частиц, проходящих сквозь сито $d=0,5$ мм - не более 10%.

Количественное определение. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстием 5 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, соединяют с обратным холодильником и экстрагируют водой очищенной трижды по 30 мин на кипящей водяной бане при соотношении сырье-экстрагент 1:15. Извлечения каждый раз фильтруют через бумаж-

ный фильтр и объединяют. Водорастворимые полисахариды (ВРПС) осаждают трехкратным (по отношению к извлечению) объемом спирта этилового 95% при комнатной температуре. Выпавшие плотные осадки отфильтровывают, промывают спиртом этиловым, ацетоном, затем высушивают и взвешивают.

Расчет количественного содержания водорастворимых полисахаридов производят по формуле:

$$X = \frac{m_1 * 100 * 100}{m * (100 - W)},$$

где m – масса сырья, г;

m_1 – масса водорастворимых полисахаридов, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Содержание водорастворимых полисахаридов в корневищах с корнями дягиля лекарственного: не менее 5%.

Микробиологическая чистота. Испытания проводят в соответствии со ст.32 ГФ XII «Микробиологическая чистота». Корневища и корни дягиля соответствуют категории 4А.

Упаковка. Цельное сырье упаковывается по 15 кг в мешки бумажные многослойные по ГОСТ 2226-88; в мешки полипропиленовые из пропилена окрашенного по ГОСТ 26 996-86, для лекарственных средств или пищевых продуктов; по 20 кг в мешки тканевые продуктовые по ГОСТ 30 090-93. На мешки наклеивают этикетку из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86, бумаги писчей по ГОСТ 18 510-87.

Транспортирование. В соответствии с требованиями ГОСТ 6077-80, ГОСТ 14 192-96.

Хранение. В соответствии с ГОСТ 6077-80 и ГФ XI, вып. 1, с. 296. В сухом, защищенном от света месте. Не фасованное сырье в хорошо проветриваемом помещении.

Срок хранения. 3 года.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УВЕРЖДАЮ

_____ Ф.И.О.

«__» _____ г.

Государственный стандарт качества лекарственного сырья

Фармакопейная статья**Башкирский государственный медицинский университет**

Folia

ФС 42-XXX-XXXXX-XX

Archangelicae officianalis

Вводится впервые

Листья

дягиля лекарственного

Срок введения установлен

с «__» _____ 20__ г.

до «__» _____ 20__ г.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

Показатели качества	Методы испытания	Нормы
1	2	3
<i>Внешние признаки</i>	Визуальный (с помощью микроскопа и лупы), органолептический, ГФ XI	Соответствует ФС
<i>Микроскопия</i>	ГФ XI, вып. 1	Соответствует ФС
<i>Качественные реакции</i>	ТСХ	Соответствует ФС
<i>Числовые показатели:</i> Содержание полисахаридов ДЗП Влажность Золы общей Органическая примесь Минеральная примесь Измельченность: частиц, не проходящих сквозь сито d=7 мм частиц, проходящих сквозь сито d=0,5 мм	Гравиметрический метод Микродиагностический ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1 ГФ XI, вып. 1	Не менее 5 % не менее 12% не более 14% не более 14% не более 2,0% не более 1% не более 10% не более 10%
Микробиологическая чистота	ГФ XII, ст.32	Соответствует категории 4А
Упаковка		Цельное сырье упаковывается по 15 кг в мешки бумажные многослойные; в мешки полипропиленовые из пропилена окрашенного; по 20 кг в мешки тканевые продуктовые.
Маркировка		Соответствует ФС
Транспортирование		
Хранение		В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 25°C
Срок годности		3 года

Внешние признаки. *Цельное сырье.* Смесь цельных или частично измельченных листьев. Листья длинные (до 80 см), дважды-, трижды перистые, доли крупные, листочки яйцевидные или продолжные, крупно пильчатые. Листовые доли самых верхних листьев яйцевидные или яйцевидноланцетные, длиной 5–8 см, длинно-

заостренные, неравно пильчатые, концевые листочки более - менее трёхлопастные, боковые - несимметричнодвухлопастные. Цвет от темно-зеленоватый до светло - зеленоватого. Запах ароматный. Вкус пряный.

Измельченное сырье. Кусочки листьев различной формы, проходящее сквозь сито с отверстиями 7 мм. Запах ароматный. Вкус пряный.

Микроскопия листовой пластинки. При рассмотрении листа установлено, что клетки верхнего эпидермиса большей частью слабоизвилистые с тонкими стенками и тонкосладчатой кутикулой. Стенки клеток часто имеют неравномерно-четковидные утолщения. Нижняя сторона листа имеет извилистые клетки эпидермиса. Устьичный аппарат аномоцитного типа. Характерно наличие столбчатого мезофилла.

Были обнаружены волоски двух типов: простые многоклеточные и одноклеточные сосочковидные. Так же были обнаружены простые короткие волоски по краю листа.

Качественные реакции.

На линию старта пластинки «Silufol UV 254» капилляром наносят 0,02 мл подготовленного извлечения (раздел 3.3.5) и по 0,02 мл 0,05% растворов РСО бергаптена. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в предварительно насыщенную смесью растворителей камеру, и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 12 см, пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 5 минут. При просмотре хроматограммы в УФ-свете при длине волны 365 нм обнаруживаются 4 основных пятен, одно соединение из которых с R_f 0,3 - бергаптен (рис.1).

Примечание:

1. Подготовка пластинок. Пластинки «Silufol UV 254» вырезают размером 14×5 см, наносят линию старта на расстоянии 1 см от края и перед использованием активируют в сушильном шкафу при 100-105 °С в течение 1 часа.
2. Приготовление системы растворителей для хроматографирования. Для проведения ТСХ-анализа рекомендуется система растворителей: этилацетат – толуол (7:93). Система используется свежеприготовленная. Насыщение камеры для хроматографирования системой растворителей в течение 1 часа.

3. Приготовление растворов сравнения.

Раствор бергаптена: около 0,05 г (точная навеска) РСО растворяют в 95% этиловом спирте в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят до метки.

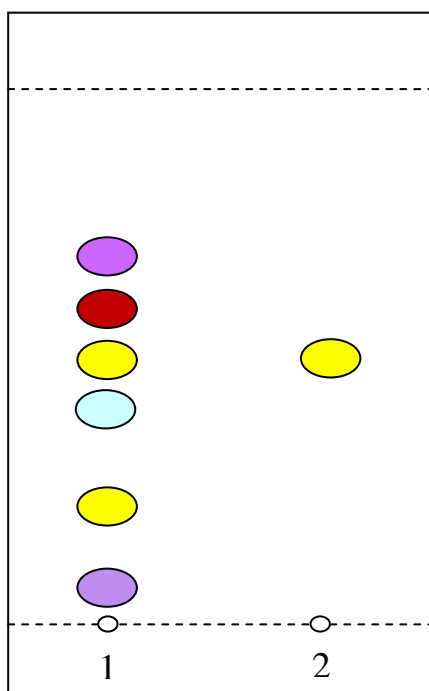


Рисунок 1. Хроматограмма листьев дягиля лекарственного в системе этилацетат–толуол (7:93) (1- извлечение листьев дягиля лекарственного, 2-раствор бергаптена)

Числовые показатели. Цельное сырье. Содержание полисахаридов – не менее 5%; ДЗП - не менее 12%, влажность не более 14%; зола общая - не более 14%; содержание примесей органических - не более 2% и минеральных - не более 1%; содержание частиц, не проходящих сквозь сито $d=7$ мм - не более 10% и частиц, проходящих сквозь сито $d=0,5$ мм - не более 10%.

Измельченное сырье. Содержание полисахаридов – не менее 5%; ДЗП - не менее 12%, влажность - не более 14%; зола общая - не более 14%; содержание примесей органических - не более 2% и минеральных - не более 1%; содержание частиц, не проходящих сквозь сито $d=7$ мм - не более 10% и частиц, проходящих сквозь сито $d=0,5$ мм - не более 10%.

Количественное определение. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстием 2 мм, помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, соединяют с обратным холодильником и экстра-

гируют водой очищенной трижды по 30 мин на кипящей водяной бане при соотношении сырье-экстрагент 1:20. Извлечения каждый раз фильтруют через бумажный фильтр и объединяют. Водорастворимые полисахариды (ВРПС) осаждают трехкратным (по отношению к извлечению) объемом спирта этилового 95% при комнатной температуре. Выпавшие плотные осадки отфильтровывают, промывают спиртом этиловым, ацетоном, затем высушивают и взвешивают.

Расчет количественного содержания водорастворимых полисахаридов производят по формуле:

$$X = \frac{m_1 * 100 * 100}{m * (100 - W)},$$

где m – масса сырья, г;

m_1 – масса водорастворимых полисахаридов, г;

W – потеря в массе при высушивании сырья, %.

Содержание водорастворимых полисахаридов в листьях дягиля лекарственного: не менее 5%.

Микробиологическая чистота. Испытания проводят в соответствии со ст.32 ГФ XII «Микробиологическая чистота». Листья дягиля соответствуют категории 4А.

Упаковка. Цельное сырье упаковывается по 15 кг в мешки бумажные многослойные по ГОСТ 2226-88; в мешки полипропиленовые из пропилена, окрашенного по ГОСТ 26 996-86, для лекарственных средств или пищевых продуктов; по 20 кг в мешки тканевые продуктовые по ГОСТ 30 090-93. На мешки наклеивают этикетку из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86, бумаги писчей по ГОСТ 18 510-87.

Транспортирование. В соответствии с требованиями ГОСТ 6077-80, ГОСТ 14 192-96.

Хранение. В соответствии с ГОСТ 6077-80 и ГФ XI, вып. 1, с. 296. В сухом, защищенном от света месте. Не фасованное сырье в хорошо проветриваемом помещении.

Срок хранения. 3 года.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов кандидатской диссертационной работы Шакировой Фирюзы Альбиртовны на тему: «Фармакогностическое изучение дягиля лекарственного (*Archangelica officinalis Hoffm*)» по специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия в учебную работу кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Комиссия в составе:

председатель - заведующий кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, д.фарм.н., профессор Кудашкина Н.В.,

члены комиссии - профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, д.фарм.н Пупыкина К.А., доцент кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, к.фарм.н. Файзуллина Р.Р.

составили настоящий акт о том, что результаты, диссертационной работы Шакировой Фирюзы Альбиртовны «Фармакогностическое изучение дягиля лекарственного (*Archangelica officinalis Hoffm.*)», внедрены в учебный и научно-исследовательский процесс кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Башкирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. (450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3) и применяются при изучении вопросов качественного и количественного анализа лекарственного растительного сырья и при разработке методов стандартизации лекарственного растительного сырья и средств растительного происхождения.

Председатель комиссии:
заведующий кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники
и основ фитотерапии, д.фарм.н., профессор

Н.В. Кудашкина

Члены комиссии:
профессор кафедры фармакогнозии с курсом ботаники
и основ фитотерапии, д.фарм.н.

К.А. Пупыкина

доцент кафедры фармакогнозии
с курсом ботаники и основ фитотерапии, к.фарм.н.

Р.Р. Файзуллина