Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**Муін Фуад Салман Дабабне**

**УДК 582.783.2:577.151.02:577.152.32:542.3:613.24**

**ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ВИВЧЕННЯ ТРАВИ**

**ЧИНИ НУТОВОЇ ТА ЧИНИ ВЕСНЯНОЇ**

**15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**дисертації на здобуття наукового ступеня**

**кандидата фармацевтичних наук**

**Харків – 2004**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармакогнозії Національного фармацевтичного університету (м. Харків), Міністерство охорони здоров'я України.

|  |  |
| --- | --- |
| **Науковий керівник:** | доктор фармацевтичних наук, професор  **ПАВЛІЙ ОЛЕКСАНДР ІВАНОВИЧ**  Національний фармацевтичний університет, професор кафедри фармакогнозії |
| **Офіційні опоненти:** | доктор фармацевтичних наук, професор  **СЕРБІН АНАТОЛІЙ ГАВРИЛОВИЧ**  Національний фармацевтичний університет, завідувач кафедри ботаніки;  кандидат фармацевтичних наук, старший науковий співробітник  **ДЕРКАЧ АНАТОЛІЙ ІВАНОВИЧ**  Державне підприємство “Державний науковий центр лікарських засобів”, завідувач сектором природних гетероциклічних сполук |
| **Провідна установа:** | Київська медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика МОЗ України, кафедра фармацевтичної хімії та фармакогнозії |

Захист відбудеться "\_\_\_\_"\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2004 р. о \_\_\_\_\_\_\_ годині на засіданні спеціалізованої Вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4).

Автореферат розісланий "\_\_\_\_\_"\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2004 року

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Л.М. Малоштан

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

***Актуальність теми***. Разом із значними успіхами, досягнутими у області синтезу, препарати рослинного походження і до теперішнього часу займають значне місце в лікуванні ряду захворювань.

Фармакологічна дія фітопрепаратів зумовлена комплексом природних біологічно активних речовин, серед яких пильної уваги заслуговують фенольні сполуки. Тому актуальним є пошук нових джерел фенольних сполук для створення ефективних нетоксичних лікарських засобів.

В багатьох країнах світу особливу увагу дослідників привертають багаті поліфенолами рослини родини бобових (Fabaceae), серед яких значний інтерес викликають представники роду чина (Lathyrus). Ці рослини здавна використовують з харчовими, кормовими та лікувальними цілями, але деякі з них вивчені недостатньо. До таких видів відноситься чина весняна (Lathyrus vernus L.) флори України і чина нутова (Lathyrus cicera L.) флори Йорданії. Недостатнє хімічне та фармакологічне вивчення цих видів стали підставою для нашого дослідження для вирішення актуальної проблеми.

***Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами***: Дисертаційна робота виконана відповідно до планів науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету з проблем МОЗ України “Створення нових лікарських препаратів на основі рослинної та природної сировини, зокрема продуктів бджільництва для дорослих і дітей” № державної реєстрації 0198U007008.

***Мета та задачі дослідження***. Метою дисертаційної роботи є порівняльне вивчення біологічно активних речовин трави чини весняної флори України і чини нутової флори Йорданії, виділення комплексів фенольних сполук, створення на їх основі нових лікарських засобів, та розробка аналітичної нормативної документації на лікарську рослинну сировину.

Для досягнення цієї мети необхідно було вирішити наступні задачі:

- провести попереднє дослідження на наявність основних груп БАР в траві чини нутової і весняної;

- виділити в індивідуальному стані БАР і встановити їх будову;

- розробити технологію одержання фармакологічних засобів з чини нутової флори Йорданії і чини весняної флори України;

- вивчити динаміку накопичення основних груп біологічно активних речовин;

- провести біологічні дослідження виділених комплексів біологічно активних речовин;

- встановити основні анатомо-діагностичні ознаки трави чини нутової і весняної;

- розробити аналітичну нормативну документацію (АНД) на лікарську рослинну сировину.

*Об'єктом дослідження* були фенольні сполуки, що зумовлюють фармакологічну активність багатьох лікарських засобів природного походження, які накопичуються в досліджуваних видах чини.

*Предметом дослідження* з'явилося виявлення, виділення і встановлення структури похідних кверцетину, кемпферолу, ізофлавоноїдів, кумаринів, оксикоричних кислот, вивчення фармакологічної активності сумарних поліфенольних комплексів видів чини, що вивчаються, визначення морфолого-анатомічних ознак трави чини нутової флори Йорданії і трави чини весняної флори України.

*Методи дослідження*. Якісний і кількісний зміст БАР визначали фармакопейними методами, використовуючи хроматографію в тонкому шарі сорбенту. Для розділення біологічно активних речовин використовували колоночну хроматографію на поліамідному сорбенті і препаративну хроматографію на папері. Хімічну будову виділених сполук встановлювали на основі їх хімічних перетворень, а також з використанням УФ- та ІЧ-спектроскопії. Фармакологічні дослідження проводили «in vivo» та «in vitro».

Анатомічне вивчення діагностичних ознак і фотографування мікропрепаратів з поверхні і зрізів досліджуваних рослин проводили за допомогою мікроскопів МБИ-1 та МБИ-6, фотоапарату «Зеніт-С» на плівці «Кодак-200».

***Наукова новизна******отриманих результатів***. Вперше проведено комплексне фітохімічне вивчення БАР трави чини нутової флори Йорданії і трави чини весняної флори України. Встановлено наявність в них дубильних речовин, вільних органічних кислот, флавоноїдів, ізофлавоноїдів, макро- і мікроелементів, амінокислот і жирних кислот.

У індивідуальному стані з трави чини нутової вперше виділено 9 речовин: 6 флавоноїдів, які є похідними кемпферолу, кверцетину, лютеоліну, формононетину і ороболу; 3 оксикоричні кислоти. З трави чини весняної виділено 11 речовин: 7 флавоноїдів, представлених похідними лютеоліну, кверцетину, кемпферолу і формононетину; 2 оксикумарина і 2 оксикоричні кислоти.

Розроблена технологія одержання поліфенольних комплексів чини весняної і чини нутової, вивчена їх фармакологічна активність і встановлена седативна, протизапальна, кардіопротекторна і антиоксидантна дія поліфенольного комплексу чини нутової і седативна, антиоксидантна, протизапальна, гепатопротекторна і кардіопротекторна дія сухого екстракту чини весняної. Відправлена заявка на видачу патенту України на винахід (пріоритетне рішення № 2003109473 від 21.10.03) «Спосіб одержання комплексу поліфенольних сполук з протизапальною, кардіопротекторною та антиоксидантною дією» з трави чини весняної. Вперше був визначений якісний і кількісний вміст макро- і мікроелементів, амінокислот і жирних кислот у видах чини, що вивчаються. Вперше вивчена динаміка накопичення БАР в траві чини весняної і чини нутової. Вперше вивчені морфолого-анатомічні ознаки трави чини нутової і весняної, які можуть бути використані для діагностики лікарської сировини.

***Практичне значення роботи*.** Показана можливість використовування трави чини нутової флори Йорданії та трави чини весняної флори України як джерел фенольних сполук для отримання фармакологічних засобів.

Розроблено технологію отримання нових поліфенольних комплексів з трави чини весняної і трави чини нутової, які мають різні види фармакологічної активності. Визначено термін заготівлі видів чини, що вивчаються.

Розроблено проекти аналітичної нормативної документації (АНД) на сировину «Трава чини нутової» та “Трава чини весняної”. Результати фітохімічних та морфолого-анатомічних досліджень трави чини нутової і весняної впроваджені в навчальний процес кафедри фармакогнозії і ботаніки НФаУ та кафедри фармакогнозії з курсом ботаніки Запорізького державного медичного університету.

***Особистий внесок здобувача*:**

- проведений аналіз джерел літератури по ботанічній характеристиці, хімічному складу і використанню рослин роду чина в медичній практиці;

- узагальнені на основі даних літератури сучасні методи вивчення структури флавоноїдних сполук і їх фармакологічна активність;

- виділено і ідентифіковано з трави чини нутової флори Йорданії 9 речовин фенольної природи, а з трави чини весняної 11 фенольних сполук;

- вивчені морфолого-анатомічні ознаки трави чини нутової і весняної;

- обгрунтовано і розроблено технологію одержання поліфенольних комплексів з видів чини, що вивчаються;

- вивчено динаміку накопичення основних біологічно активних речовин;

- розроблено проекти АНД на сировину „Трава чини нутової” та „Трава чини весняної”.

Наведений в дисертації аналіз даних літератури, експериментальні фітохімічні та морфолого-анатомічні дослідження, обробка та оформлення їх результатів, узагальнення фармакологічних випробувань, розробка проектів АНД на сировину проведені безпосередньо дисертантом.

***Апробація результатів дисертації.*** Матеріали дисертаційної роботи доповідалися на науково-практичній конференції «Лекарства-человеку» (Харків, 2001); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Фармація XXI століття» (Харків, 2002), III Міжнародній науково-практичній конференції «Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія» (Харків, 2003).

***Публікації* –** за темою дисертації опубліковано 7 наукових робіт, з них 3 статті у журналах, 1 заявка на патент України про винахід і 3 тез доповідей.

***Обсяг і структура дисертації*.** Дисертаційна робота складається зі вступу, п'яти розділів, загальних висновків, списку літературних джерел.

Дисертація викладена на 164 сторінках машинописного тексту, ілюстрована 40 таблицями, 35 рисунками. Перелік використаних літературних джерел вміщує 179 найменувань, з них 61 іноземних.

# ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі дається загальна характеристика роботи, обгрунтовується актуальність теми визначаються мета і задачі об´єкт, предмет і методи дослідження, а також вказується ступінь наукової новизни, відображається особистий внесок здобувача, формулюється практичне значення результатів дисертації, наводяться дані про їх апробацію та публікації з проблем дисертаційного дослідження.

**Розділ 1. Короткі відомості про рослини роду чина, хімічний склад, застосування в медицині. Методи вивчення структури флавоноїдних сполук та їх фармакологічна активність**

Матеріали пошуку літератури свідчать про те, що поліфенольні сполуки все ширше застосовуються при різних захворюваннях. Широкий спектр дії і висока біологічна активність флавоноїдних сполук заслуговують уваги дослідників з метою пошуку серед них нових речовин, що мають цінну терапевтичну дію. В цьому відношенні перспективні рослини роду чина, серед яких особливий інтерес викликають види чина весняна (Lathyrus vernus L.) і чина нутова (Lathyrus cicera L.).

**Розділ** **2. Вивчення динаміки накопичення, виділення і фітохімічне вивчення біологічно активних речовин чини весняної та чини нутової**

Об’єктами наших досліджень були зразки трави чини нутової, яка була заготовлена в різні фази вегетації в 2001-2002 рр в Йорданії, і трави чини весняної, які були зібрані в Харківській області в травні-червні 2001-2002 рр в різні фази вегетації.

За результатами якісних реакції і хроматографічного аналізу в траві чини нутової та чини весняної встановлено наявність флавоноїдів, ізофлавоноїдів, оксикоричних кислот, дубильних речовин, амінокислот та жирних кислот. Визначено якісний склад та кількісний вміст амінокислот, жирних кислот та мінеральних елементів.

Вивчено динаміку накопичення біологічно активних речовин в досліджуваних видах чини. Виявлено, що максимальна кількість біологічно активних речовин накопичується в фазу цвітіння (таблиця 1).

Таблиця 1.

***Вміст деяких біологічно активних речовин чини весняної та чини нутової***

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № п/п | Фазавегетації | Вміст, % | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| органичні кислоти | | | | аскорбінова кислота | | | | оксикоричні кислоти | | | | флавоноїди | | | | дубильні речовини | | | |
| чинавесняна | | чинанутова | | чинавесняна | | чинанутова | | чинавесняна | | чинанутова | | чинавесняна | | чинанутова | | чинавесняна | | чинанутова | |
| трава | корені | трава | корені | трава | корені | трава | корені | трава | корені | трава | корені | трава | корені | трава | корені | трава | корені | трава | корені |
|  | Цвітіння | 5,13±0,01 | - | 5,22±0,01 | - | 2,34±0,01 | - | 2,54±0,01 | - | 1,51±0,01 | - | 1,63±0,01 | - | 1,16±0,01 | - | 1,25±0,01 | - | 2,34±0,01 | - | 2,54±0,01 | - |
|  | Молочна стиглість плодів | 5,00±0,01 | 1,55±0,01 | 5,13±0,01 | - | 2,40±0,01 | 1,20±0,01 | 2,62±0,01 | - | 1,87±0,01 | 0,49±0,01 | 1,91±0,01 | - | 0,98±0,01 | 0,43±0,01 | 1,11±0,01 | - | 2,40±0,01 | 1,20±0,01 | 2,62±0,01 | - |
|  | Молочно-воскова стиглість плодів | 4,91±0,01 | 2,32±0,01 | 5,00±0,01 | - | 2,34±0,01 | 1,67±0,01 | 2,56±0,01 | - | 1,26±0,01 | 0,47±0,01 | 1,34±0,01 | - | 0,88±0,01 | 0,06±0,01 | 0,95±0,01 | - | 2,34±0,01 | 1,67±0,01 | 2,56±0,01 | - |
|  | Воскова стиглість плодів | 4,88±0,01 | 0,77±0,01 | 4,97±0,01 | - | 2,53±0,01 | 0,96±0,01 | 2,75±0,01 | - | 1,25±0,01 | 0,43±0,01 | 1,31±0,01 | - | 0,97±0,01 | 0,28±0,01 | 0,98±0,01 | - | 2,53±0,01 | 0,96±0,01 | 2,75±0,01 | - |
|  | Відмира-ння надземної частини рослини | - | 1,55±0,01 | - | 1,65±0,001 | - | 1,82±0,01 | - | 2,12± 0,01 | - | 0,27±0,01 | - | 0,25±0,01 | - | 0,05±0,01 | - | 0,07±0,01 | - | 1,82±0,01 | - | 2,12±0,01 |

Для виділення БАР і розділення їх на індивідуальні компоненти використовували методи рідинно-рідинної екстракції, колонкової хроматографії на силікагелі та поліаміді, препаративної хроматографії на папері і в тонкому шарі сорбенту, дробної кристалізації.

У результаті з трави чини нутової вперше виділено 9 сполук: 6 флавоноїдів та 3 фенолкарбонові кислоти, з трави чини весняної виділено 11 сполук: 7 флавоноїдів, 2 кумарина і 2 фенолкарбонові кислоти (таблиця 2).

Таблиця 2.

***Деякі фізико-хімічні властивості речовин, які виділені з трави чини весняної***

***та чини нутової***

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № п/п | Речовина, його шифр і структурна характеристика | Загальна формула | Тпл., 0С | [α]20D, град | Rf в системах розчинників | | Джерело сполуки |
| БУВ (4:1:2) | 15% CH3COOH |
| Флавоноїди | | | | | | | |
|  | Кемпферол-7-О-α-L-рамнофуранозид (I) | C21H19O10 | 232 – 234 | -138 | 0,61 | 0,48 | чинанутова |
|  | Кемпферол-3-О-α-L-рамнофуранозид(*афзелін*) (А) | C21H19O10 | 170 - 172 | -172 | 0,71 | 0,52 | чинавесняна |
|  | Кверцетин-7-О-α-L-рамнофуранозид (II) | C21H20O11 | 210 - 212 | -44,2 | 0,74 | 0,56 | чинанутова |
|  | Кверцетин-3-О-β-D-глюкопіранозид-6´´-О-α-L-рамнофуранозид (*рутин*) (IV, С) | C27H30O16 | 188 – 190 | -32,0 | 0,45 | 0,59 | чинанутова,чинавесняна |
|  | 3,5,7,3´,4´-пентаоксифлавон (*кверцетин*) (G) | C15H10O7 | 310 – 312 | - | 0,69 | 0,07 | чинавесняна |
|  | Кверцетин-3-О-α-L-рамнофуранозид (Е) | C21H20O11 | 204 - 206 |  | 0,78 | 0,46 | чина весняна |
|  | 5,7,3´,4´-тетраоксифлавон (*лютеолін*) (И) | C15H10O6 | 327 – 328 | - | 0,82 | 0,11 | чинавесняна |
|  | Лютеолін-3-О-β-D-глюкопіранозид (III) | C21H20O11 | 189 – 191 |  | 0,69 | 0,47 | чинанутова |
|  | Лютеолін-4´-О-β-D-глюкопіранозид (D) | C21H20O11 | 184 - 186 |  | 0,51 | 0,42 | чинавесняна |
|  | Формононетин-7-О-β-D-глюкопіранозид (*ононін*)(V, В) | C22H22O9 | 211 – 213 | -26,1 | 0,56 | 0,68 | чинанутова, чинавесняна |
|  | Оробол-7-О-β-D-глюкопіранозид (*оробозид*) (VI) | C21H20O11 | 219 - 221 | -60,2 | 0,54 | 0,46 | чинанутова |

Продовження таблиці 2.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Оксикумарини | | | | | | | |
|  | 7-оксикумарин (*умбеліферон*) (16) | C9H6O3 | 228 – 230 | - | 0,90 | 0,64 | чина весняна |
|  | 6-метокси-7-оксикумарин (*скополетин*) (17) | C10H8O4 | 202 – 204 | - | 0,85 | 0,50 | чинавесняна |
| Оксикоричні кислоти | | | | | | | |
|  | 3,4-діоксикорична (*кофейна*) кислота(9, 14) | C9H8O4 | 194 – 196 | - | 0,80 | 0,50 | чинанутова, чинавесняна |
|  | 3-окси-4-метокси-корична (*ферулова*) кислота (10, 15) | C10H10O4 | 168 – 170 | - | 0,88 | 0,55 | чинанутова, чинавесняна |
|  | 5-О-кофеїл-D-хінна (*хлорогенова*) кислота (8) | C16H18O9 | 202 - 204 | -32,1 | 0,62 | 0,70 | чинанутова |

**Розділ 3. Хімічне вивчення виділених сполук**

Структуру виділених речовин встановлено на підставі спектральних, фізичних і хімічних методів аналізу та порівнянням з достовірними зразками.

**Флавоноїди.** Речовини I-VI, А, В, С, Д, Е, G, И на підставі якісних реакцій і фізико-хімічних властивостей віднесені до флавоноїдів. Флавоноїдну природу цих речовин підтверджують результати спектрального аналізу. В їх ІЧ-спектрах присутні смуги поглинання, характерні для флавоноїдів: в області 3000-3500 см-1 (фенольні гідроксили), 1540-1660 см-1 (карбонільна група γ-пірону), 1440-1620 см-1 (валентні коливання кілець), 1940-2985 см-1 (метоксигрупи речовин В, V), 1070-1098, 1040-1060 см-1 (фуранозна форма вуглеводу).

За характером хроматографічної поведінки, даними УФ- та ІЧ-спектроскопії, фізичними і хімічними дослідженнями та порівнянням з достовірними зразками речовини I-VI, А, В, С, Д, Е віднесено до глікозидів, речовин G, И – до агліконів флавоноїдів. Схема хімічних перетворень флавонолів на прикладі сполук I, А представлена на рисунку 1.

Речовини I, А являють собою голчаті кристали жовтого кольору з температурою плавлення 234-235 °С та 172-174 °С відповідно. Відносна легкість кислотного гідролізу речовини А (1% розчин сірчаної кислоти, 2 години ) дозволяє припустити, що вуглеводний компонент знаходиться у С-3 флавоноїдного ядра.

Для гідролізу сполуки I були потрібні більш жорсткі умови (5% розчин сірчаної кислоти, 3 години), що дає підставу віднести глікозид I до похідних флавонолу з заміщенням фенольної групи у С-7 бензо-γ-пірону.



Рис.1. Схема хімічних перетворень глікозидів групи кемпферолу

В гідролізатах сполук I, А знайдені кемпферол і L-рамноза. При кількісному гідролізі отримали еквімолекулярні кількості аглікону та цукрового компоненту, що вказує на монозидну природу виділених сполук I, А. Будову аглікону підтверджували метилуванням, ацетилуванням і лужною деструкцією. Місце приєднання вуглеводного компоненту встановлювали порівнянням УФ-спектрів глікозидів та аглікону.

В УФ-спектрі глікозиду I, на відміну від УФ-спектру його аглікону, не відбувалось батохромного зсуву першої смуги поглинання в присутності ацетату натрію, що дозволяє припустити знаходження вуглеводу у С-7. В УФ-спектрах глікозиду А батохромний зсув під впливом хлориду цирконілу та лимонної кислоти зникав, що свідчить про заміщення рамнози при С-3.

Таким чином, глікозид I охарактеризовано як кемпферол-7-О-α-L-рамнофуранозид, глікозид А – як кемпферол-3-О-α-L-рамнофуранозид (афзелін). Структуру виділених речовин II, III, IV, C, D,E,G, И встановлювали аналогічно.

Схема їх хімічних перетворень представлена на рисунку 2.



***Рис. 2. Схема хімічних перетворень глікозидів кверцетину***

Речовини V, VI, В виділені у вигляді жовтуватих кристалів з температурою плавлення 211-213 °С, 219-221 °С, 212-213 °С відповідно. Кислотний гідроліз сполук V, В приводив до утворення еквімолекулярних кількостей формононетину і D-глюкози. В гідролізаті сполуки VI знайдено 5,7,3**´,**4**´ -** тетраоксифлавон (оробол) і D-глюкозу. В ІЧ-спектрах глікозидів присутні три максимума в області 1100-1000 см-1 (піранозна форма вуглеводу) і 890-895 см-1 (β-конфігурація глікозидного зв’язку). В речовинах V, B відмічаються смуги при 840 см-1, що дозволяє припустити наявність метоксильної групи при С-4´. УФ-спектри речовин V, В мають один максимум поглинання в області 249-262 нм і „плече” в області 338-343 нм для сполуки VI та при 302 нм для речовин V, B, що підтверджує їх ізофлавонову природу.

Для визначення локалізації гідроксильних груп використовували УФ-спектроскопію з діагностичними реактивами. Відсутність батохромного зсуву максимуму короткохвильової смуги в присутності ацетату натрію у виділених сполук передбачає заміщення водороду гідроксильної групи при С-7 вуглеводним компонентом. В УФ-спектрах сполуки VI під впливом хлориду цирконілу відбувається батохромний зсув II смуги поглинання на 45 нм, що характеризує присутність гідроксильної групи у С-5.

Батохромний зсув в присутності етилату натрію, а також утворення комплексу з борною кислотою і ацетатом натрію дозволяє припустити присутність орто-діоксигрупи в боковому фенільному радікалі.

В продуктах лужного розщеплення аглікону сполук V, В знайдено гомоанісову кислоту і резорцин. М´яка лужна деструкція аглікону сполуки VI приводить до утворення 2, 4, 6 – триокси-3´, 4´ -діоксибензоїну.

Схема хімічних перетворень ізофлавоноїдів на прикладі оробозиду представлена на рисунку 3.



***Рис. 3. Схема хімічних перетворень ізофлавоноїдів на прикладі оробол-7-О-β-Д-глюкопіранозиду (оробозиду)***

На підставі проведених досліджень сполуки V, В ідентифіковані з 7-окси-4´-метоксиізофлавоном (формононетином), речовина VI – з оробол-7-β-D-глюкопіранозидом (оробозидом).

**Кумарини.** Сполуки 16, 17 (таблиця 2) на підставі якісних реакцій з лугом і діазотованою сульфаніловою кислотою і результатів хроматографічних досліджень віднесені до похідних кумарину. Кумаринова природа виділених сполук підтверджена результатами реакції розщеплення їх йодистоводневою кислотою в середовищі рідкого фенолу і даними УФ - та ІЧ – спектроскопії. УФ – спектри сполук 16, 17 мають максимуми поглинання в області 340-220 нм. В ІЧ – спектрах при 1730 см-1 виявлено смуги поглинання гідроксильних груп в області 3340 – 3250 см-1, а також метоксигрупи – в області 2970 – 2830 для речовини 17.

На підставі результатів дослідження виділені речовині ідентифіковані як: сполука 16 – 7-оксикумарин (умбеліферон), сполука 17 – 6-метокси-7-оксикумарин (скополетин).

**Оксикоричні кислоти**. Речовини 8, 9, 10, 14, 15 на підставі якісних реакцій, флуоресценції на хроматограмах і спектральної характеристики віднесені до оксикоричних кислот. В продуктах лужної деструкції сполук 10, 15 знайдено ванілінову кислоту, речовин 8, 9, 14 – 3,4-діоксибензойну (протокатехову) кислоту. Лужний гідроліз речовини 8 приводить до утворення еквімолекулярних кількостей кофейної та D-хінної кислот.

За результатами лактонізації цих сполук встановлено місце приєднання кофейної кислоти до хінної. На основі проведенних досліджень і результатів порівняння з вірогідними зразками виділені речовини ідентифіковані з 3,4-діоксикоричною (кофейною) кислотою (9, 14), 3-окси-4-метоксикоричною (феруловою) кислотою (10, 15) і 5-О-кофеїл-D-хінною (хлорогеновою) кислотою (8).

**Розділ 4. Розробка технології одержання поліфенольних комплексів досліджуваних видів чини і вивчення їх фармакологічної активності**

З метою створення нових лікарських засобів нами розроблено технологію одержання суми поліфенольних сполук з трави чини нутової та трави чини весняної (рисунок 4).

Експериментально визначені оптимальні фактори екстрагування суми біологічно активних речовин: екстрагент – 50% етанол, ступінь подрібнення сировини 1-2 мм, співвідношення сировина-екстрагент 1:7, температурний режим – 20-22 0С. Вихід сухого екстракту з трави чини весняної склав 11,2%, з трави чини нутової – 11,8%.

Фармакологічні дослідження проводили на базі центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора Яковлєвої Л.В. В результаті експерименту встановлено, що поліфенольний комплекс чини нутової має седативну, протизапальну, кардіопротекторну та антиоксидантну дію, сума поліфенольних сполук чини весняної виявляє седативну, антиоксидантну, протизапальну, гепатопротекторну та кардіопротекторну активність.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| ДР1 | Підготовка виробництва | | | | | | | | |
|  |  | | | |  |  | |  |  |
| ДР2 | Підготовка  упаковки | | | |  | Мийка та сушка банок і кришок | |  |  |
|  |  | |  | |  |  |  |  |  |
| ДР3 | Підготовка  сировини | | | |  | ДР3.1 | Подрібнення  сировини |  | Вальці  РМ-1 |
|  |  | | | |  |  |  |  |  |
|  |  | | | |  |  |  |  | Мірник спирту  М-2 |
|  |  | | |  |  |  |  |  |  |
| Втрати | | | |  |  | ДР3.2 | Приготування  50 % спирту |  | Мірник води М-3 |
|  | | | |  |  |  |  |  |  |
|  | | | |  |  |  |  |  | Реактор  Р-4 |
|  |  | | |  |  |  |  |  |  |
| ТП4 | Одержання готового продукту | | | |  | ТП4.1 | Екстракція  сировини |  | Екстрактор  Р-5 |
|  |  | | |  |  |  |  |  |  |
| Конденсат  спирту на ДР3 | | | |  |  | ТП4.2 | Упарювання  витягу |  | Вакуум-випарювальний апарат Р-6 |
|  |  | | |  |  |  |  |  |  |
| Шрот у відвал | | | |  |  | ТП4.3 | Очистка водного  витягу |  | Реактор  Р-7 |
|  | | | |  |  |  |  |  |  |
|  | | | |  |  | ТП4.4 | Фільтрування водного  витягу |  | Фільтр  Ф-8 |
|  |  | | |  |  |  |  |  |  |
| Втрати | | | |  |  | ТП4.5 | Упарювання і сушіння  екстракту |  | Вакуум-випарювальний апарат Р-9 |
|  |  | | |  |  |  |  |  |  |
| ПМВ | | Фасування, пакування, маркування сухого  экстракту | | |  |  |  |  |  |
|  | |  | |  |  |  |  |  |  |
| Втрати | | | |  |  |  |  |  |  |
|  |  | | |  |  |  |
|  |  | | | |  |  |  |  |  |
|  | Склад готової продукції | | | | |  |  |  |  |

***Рис. 4. Технологічна схема одержання сухих екстрактів чини нутової***

***та чини весняної***

Але найбільшої уваги заслуговує антиексудативна активність поліфенольних комплексів чини нутової та чини весняної (рисунок 5). Антиексудативна активність сухого екстракту чини нутової в дозах 5 і 10 мг/кг зумовлює перспективність його подальшого вивчення з метою створення ефективного протизапального засобу.

***Рис. 5. Антиексудативна активність сухих екстрактів чини весняної та чини нутової***

**Розділ 5. Порівняльне морфолого-анатомічне дослідження трави чини нутової та чини весняної**

Вперше проведено анатомічне вивчення трави чини весняної і трави чини нутової. Визначені особливості анатомічної будови стебла, листової пластинки, елементів віночка та плода обох видів чини. Встановлені мікродіагностичні ознаки включені до проектів АНД на лікарську рослинну сировину “Трава чини нутової” та “Трава чини весняної”, а також впроваджені в навчальний процес Національного фармацевтичного університету та Запорізького державного медичного університету.

**ВИСНОВКИ**

1. Вперше вивчений якісний склад трави чини нутової флори Йорданії і чини весняної флори України. Встановлено наявність флавоноїдів, ізофлавоноїдів, оксикоричних кислот, кумарінів, сапонінів, азотистих сполук, органічних кислот, дубильних речовин, амінокислот і жирних кислот.

2. Вперше вивчено динаміку накопичення біологічно активних речовин в досліджуваних видах чини. Встановлено переважне накопичення флавоноїдів в траві - у фазі цвітіння, а в корінні – у фазі молочної стиглості плодів, ізофлавоноїдов - в корінні, заготовленому у фазі молочно-воскової стиглості плодів, чини весняної і чини нутової. Виявлено, що найбільша кількість аскорбінової кислоти містить трава обох видів чини у фазу цвітіння, а коріння - у фазі молочної стиглості плодів. Максимальна кількість дубильних речовин міститься в траві обох видів чини у фазі воскової стиглості плодів, а в підземних органах - при відмиранні надземної частини рослини. Органічні кислоти накопичуються максимально у фазі цвітіння, а в корінні – у фазі молочно-воскової стиглості плодів обох видів чини. У фазу молочної стиглості плодів встановлений найбільший вміст оксикоричних кислот в траві і корінні чини весняної і чини нутової.

Виходячи з одержаних результатів встановлено, що заготівлю трави чини весняної і чини нутової доцільно проводити у фазі цвітіння.

3. Вперше в траві і корінні чини весняної і чини нутової визначений якісний склад і кількісний вміст амінокислот, а также мікро- і макроелементів.

4. Вперше методом газорідинної хроматографії вивчений жирнокислотний склад плодів і трави чини нутової. У плодах чини нутової знайдені такі жирні кислоти (у %): пальмітинова 34,87; гептадеканова 1,71; стеаринова 10,62; олеїнова 8,94; лінольова 22,32; γ-ліноленова 3,15; ліноленова 3,74; арахінова 4,81; бегенова 1,75; ерукова 1,95; у траві знайдені (у %) пальмітинова 21,40; пальмітолеїнова 1,53; стеаринова 7,69; олеїнова 3,57; лінольова 14,74; ліноленова 32,13; арахінова 3,21; ерукова 13,60.

5. Вперше в індивідуальному стані з трави чини нутової виділено 9 речовин, які віднесені: I-VI до флавоноїдних сполук, 8, 9, 10 - до фенолкарбонових кислот. З трави чини весняної вперше виділено 11 речовин, які віднесені до флавоноїдів (И,G,D,C,E,A,B), кумаринів (16,17) і фенолкарбонових кислот (14, 15).

6. Вивчено хімічну структуру 20 індивідуальних речовин, виділених з трави чини весняної флори України і чини нутової флори Йорданії. На підставі физико-хімічних властивостей виділених речовин і продуктів їх хімічних перетворень, даних УФ-, ІЧ- спектроскопії, порівняння з достовірними зразками ідентифіковані фенольні сполуки чини весняної: флавоноїди – А – кемпферол-3-О-α-L-рамнофуранозид (афзелін), С – кверцетин-3-О-β-D-глюкопіранозид-6''-О-α-L-рамнофуранозид (рутин), G – 3,5,7,3',4'-пентаоксифлавон (кверцетин), E – кверцетин-3-О-α-L-рамнофуранозид, И – 5,7,3',4'-тетраоксифлавон (лютеолін), D - лютеолін-4'-О-β-D-глюкопіранозид, B – формононетін-7-О-β-D-глюкопіранозид (ононін); оксикумарини – 16 – 7-оксикумарин (умбеліферон), 17 – 6-метокси-7-оксикумарин (скополетин); оксикоричні кислоти – 14 – 3,4-діоксикорична (кофейна) кислота, 15 – 3-окси-4-метоксикорична (ферулова) кислота.

Фенольні сполуки чини нутової охарактеризовані як: флавоноїди – I – кемпферол-7-О-α-L-рамнофуранозид, II – кверцетин-7-О-α-L-рамнофуранозид, III – лютеолін-3-О-β-D-глюкопіранозид, IV – кверцетин-3-О-β-D-глюкопіранозид-6''-О-α-L-рамнофуранозид (рутин), V – формононетін-7-О-β-D-глюкопіранозид (ононін), VI – оробол-7-О-β-D-глюкопіранозид (оробозид); оксикоричні кислоти – 8 – 5-О-кофеїл-D-хінна (хлорогенова) кислота,

9 – 3,4-діоксикорична (кофейна) кислота, 10 – 3-окси-4-метоксикорична (ферулова) кислота. Всі ідентифіковані речовини вперше виділені з трави чини весняної і чини нутової.

7. Вперше розроблено технологію одержання сухих екстрактів з трави чини весняної і трави чини нутової.

8. Вивчено фармакологічну активність сухих екстрактів чини весняної і чини нутової. Встановлено, що сухий екстракт чини нутової має седативну, протизапальну, кардіопротекторну і антиоксидантну активність. Сухий екстракт трави чини весняної виявляє седативну, антиоксидантну, протизапальну, гепатопротекторну і кардіопротекторну активність.

9. Вперше проведено анатомічне дослідження трави чини весняної і трави чини нутової. Визначені анатомічні діагностичні ознаки надземних органів рослини, що було використано при розробці проектів АНД на сировину «Трава чини нутової» та «Трава чини весняної».

1. Розроблено проекти АНД на сировину «Трава чини нутової» та «Трава чини весняної». Результати роботи впроваджені в навчальний процес кафедр фармакогнозії і медичної ботаніки Національного фармацевтичного університету та кафедри фармакогнозії з курсом ботаніки Запорізького державного медичного університету.

#### Список опублікованих робіт за темою дисертації

1. Дабабніє Муїн Фуад, Журавель І.О., Павлій О.І.. Фармакогностичне вивчення трави чини вісняної (Lathyrus vernus L.) // Вісник фармації. – 2003. - №3 (35). – с.37-41. (Особистий внесок – виділення фенольних сполук і встановлення їх структури, одержання поліфенольного комплексу, вивчення його біологічної активності та морфолого-анатомічне вивчення сировини, участь у написанні статті).
2. Дабабніє Муїн Фуад, Павлій О.І.. Фармакогностичне вивчення трави чини нутової флори Йорданії // Вісник фармації. – 2003.- №2 (34). – с.44-49. (Особистий внесок – виділення фенольних сполук і встановлення їх структури, вивчення жирних кислот, морфолого-анатомічне вивчення сировини, участь у написанні статті.).
3. Дабабніє Муїн Фуад, Павлій О.І.. Фармакогностичне вивчення трави чини нутової флори Йорданії // Тез. доп. Всеукраїнської наук. – практ. конф. „Фармація XXI століття”. – Харків: Вид-во НФаУ., „Золоті сторінки”, 2002. - С.77-78. (Особистий внесок – проведення фітохімічного аналізу, участь у написанні тез).
4. Дабабныэ Муин Фуад, Павлий А.И. Флавоноиды травы чины весенней// Тез. доп. III Міжнародної наук. – практ.конф. „Наука і соціальні проблеми суспільства: Медицина, фармація, біотехнологія”. – Харків: Вид-во НФаУ, 2003. – Ч.I. – с.96. (Особистий внесок - виділення та встановлення структури флавоноїдів. Участь у написанні тез).
5. Динамика накопления биологически активных веществ в траве и корнях чины весенней (Lathyrus vernus) / А.И. Павлий, Дабабныэ Муин, И.Э. Шмараева, С.В. Ковалев, И.А. Масс // Фізіологічно активні речовини. – 2001. - №1 (31). – С.64-69. (Особистий внесок – визначення кількісного вмісту БАР, мінеральних речовин, амінокислот, участь у написанні статті)
6. Изучение некоторых фармакологических свойств сухого экстракта чины весенней / Л.В. Яковлева, А.И. Павлий, Ф.В. Федорчук, Дабабниэ Муин Фуад // Тез. докл. науч. – практ.конф. «Лекарства - человеку». – Харьков: Изд-во НФаУ, 2001. С.574-582. (Особистий внесок – одержання поліфенольного комплексу та вивчення його біологічної активності, участь у написанні тез).
7. Рішення про встановлення дати подання заявки на патент України на винахід МПК7А61К35/78 „Спосіб одержання комплексу поліфенольних сполук з протизапальною, кардіопротекторною та антиоксидантною дією” / Черних В.П., Павлій О.І, Яковлєва Л.В., Дабабніе Муін, Беркало Н.М. – Заявка № 2003109473 від 21.10.03.

**Муин Фуад Салман Дабабныэ**. “Фармакогностическое изучение травы чины нутовой и чины весенней”. – Рукопись. Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2004.

Впервые изучен качественный состав травы чины нутовой флоры Иордании и чины весенней флоры Украины. Установлено наличие флавоноидов, изофлавоноидов, оксикоричных кислот, кумаринов, сапонинов, азотсодержащих веществ, органических кислот, дубильных веществ, аминокислот и жирных кислот.

Впервые изучена динамика накопления биологически активных веществ в исследуемых видах чины. Исходя из полученных результатов установлено, что заготовку травы чины весенней и чины нутовой целесообразно проводить в фазе цветения.

Впервые в траве и корнях чины весенней и чины нутовой определен качественный состав и количественное содержание аминокислот, микро- и макроэлементов.

Впервые методом газожидкостной хроматографии изучен жирнокислотный состав плодов и травы чины нутовой. В плодах чины нутовой найдены следующие кислоты (в %) пальмитиновая 34,87; гептадекановая 1,71; стеариновая 10,62; олеиновая 8,94; линолевая 22,32; γ-линоленовая 3,15; линоленовая 3,74; арахиновая 4,81; бегеновая 1,75; эруковая 1,95; в траве обнаружены (в %) пальмитиновая 21,40; пальмитолеиновая 1,53; стеариновая 7,69; олеиновая 3,57; линолевая 14,74; линоленовая 32,13; арахиновая 3,21; эруковая 13,60.

Впервые в индивидуальном состоянии выделено 9 соединений, которые предварительно отнесены: I-VI к флавоноидным соединениям, 8, 9, 10 - к фенолкарбоновым кислотам. Из травы чины весенней впервые выделено 11 соединений, которые отнесены к флавоноидам, (И,G,D,C,E,A,B), кумаринам (16,17) и фенолкарбоновым кислотам (14, 15).

Изучена химическая структура 20 индивидуальных соединений, выделенных из травы чины весенней флоры Украины и чины нутовой флоры Иордании. На основании физико-химических свойств исходных веществ и продуктов их химических превращений, данных УФ-, ИК-спектроскопии, сравнения с достоверными образцами идентифицированы фенольные соединения чины весенней: флавоноиды:А – кемпферол-3-О-α-L-рамнофуранозид (афзелин); С – кверцетин-3-О-β-D-глюкопиранозид-6''-О-α-L-рамнофуранозид (*рутин*); G – 3,5,7,3',4'-пентаоксифлавон (*кверцетин*); E – кверцетин-3-О-α-L-рамнофуранозид; И – 5,7,3',4'-тетраоксифлавон (*лютеолин*); Д – лютеолин-4'-О-β-D-глюкопиранозид; В – формононетин-7-О-β-D-глюкопиранозид (*ононин*); оксикумарины: 16 – 7-оксикумарин (*умбеллиферон*); 17 – 6-метокси-7-оксикумарин (*скополетин*); оксикоричные кислоты: 14 – 3,4-диоксикоричная (*кофейная*) кислота; 15 – 3-окси-4-метоксикоричная (*феруловая*) кислота; фенольные соединения чины нутовой охарактеризованы как флавоноиды: I – кемпферол-7-О-α-L- рамнофуранозид, II – кверцетин-7-О-α-L-рамнофуранозид, IV – кверцетин-3-О-β-D-глюкопиранозид-6''-О-α-L-рамнофуранозид (*рутин*), III – лютеолин-3-О-β-D-глюкопиранозид, V – формононетин-7-О-β-D-глюкопиранозид (*ононин*), VI – оробол-7-О-β-D-глюкопиранозид (*оробозид*); оксикоричные кислоты 9 – 3, 4 – диоксикоричная *(кофейная)* кислота, 10 – 3-окси-4-метоксикоричная *(феруловая)* кислота, 8 – 5-О-кофеил-D-хинная *(хлорогеновая)* кислота.

**Все идентифицированные вещества впервые выделены из травы чины весенней и чины нутовой.**

Впервые разработана технология получения сухих экстрактов из травы чины весенней и травы чины нутовой. Изучена фармакологическая активность сухих экстрактов чины весенней и чины нутовой. Установлено, что сухой экстракт чины нутовой обладает седативной, противовоспалительной, кардиопротекторной и антиоксидантной активностью. Сухой экстракт травы чины весенней обладает седативной, антиоксидантной, противовоспалительной, гепатопротекторной и кардиопротекторной активностью.

Впервые проведено анатомическое исследование травы чины весенней и травы чины нутовой. Определены анатомические диагностические признаки надземных органов растения, что использовано при разработке проектов АНД на лекарственное растительное сырье «Трава чины нутовой»

Разработаны проекты АНД на сырье «Трава чины нутовой» и «Трава чины весенней». Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедр фармакогнозии и медицинской ботаники Национального фармацевтического университета и кафедры фармакогнозии с курсом ботаники Запорожского государственного медицинского университета.

Ключевые слова: чина нутовая (Lathyrus cicera L.), чина весенняя (Lathyrus vernus L.), фармакогностическое изучение, биологически активные вещества, технология, седативная, противовоспалительная, кардиопротекторная, антиоксидантная, гепатопротекторная активность.

**Муін Фуад** **Салман** **Дабабне** "Фармакогностичне вивчення трави чини нутової та чини весняної". - Рукопис. Дисертація на здобуття вченого ступеня кандидата фармацевтичних наук за фахом 15.00.02 - фармацевтична хімія і фармакогнозія. Національний фармацевтичний університет, Харків, 2004.

За результатами якісних реакції і хроматографічного аналізу в траві чини нутової та чини весняної встановлено наявність флавоноїдів, ізофлавоноїдів, оксикоричних кислот, дубильних речовин, амінокислот та жирних кислот. Визначено якісний склад та кількісний вміст амінокислот, жирних кислот та мінеральних елементів. Вивчено динаміку накопичення біологічно активних речовин в досліджуваних видах чини. Виявлено, що максимальна кількість біологічно активних речовін накопичуєтся в фазу цвітіння.

З трави чини нутової вперше виділено 9 сполук: 6 флавоноїдів та 3 фенолкарбонові кислоти, з трави чини весняної виділено 11 сполук: 7 флавоноїдів, 2 кумарина і 2 фенолкарбонові кислоти. Вперше розроблено технологію одержання сухих екстрактів з трави чини нутової та чини весняної, вивчена їх фармакологічна активність. Виявлена седативна, протизапальна, кардіопротекторна і антиоксидантна дія поліфенольного комплексу чини нутової та седативна, антиоксидантна, протизапальна, гепатопротекторна і кардіопротекторна активність сухого екстракту трави чини весняної. Вперше вивчено анатомічну будову трави чини нутової та чини весняної, встановлено основні діагностичні ознаки сировини. Розроблено проекти АНД на лікарську рослинну сировину “Трава чини нутової ” та “Трава чини весняної ”. Ключові слова: чина нутова (Lathyrus cicera L.), чина весняна (Lathyrus vernus L.), фармакогностичне вивчення, біологічно активні речовини, технологія, седативна, протизапальна, кардіопротекторна, антиоксидантна, гепатопротекторна активність.

Мoeen Fuad Salman Dababneh "Pharmacognostic study of Lathyrus cіcera L. and Lathyrus vernus L. herb” – A manuscript.

A thesis for the Candidate Degree in Pharmacy in speciality 15.00.02 Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. National University of Pharmacy, Kharkov, 2004.

As a result of the gualitative reactions and chromatographic analysis the presence of flavonoids, isoflavonoids, oxycinnamic acids, tannins, amino acids and fatty acids has been proven in Lathyrus cicera and Lathyrus vernus herb. The qualitative composition and the quantitative content of amino acids, fatty acids and mineral elements have been determined.

A accumulation dynamics for biologically active substances in Lathyrus species investigated have been studied. At has been found that the maximum amount of BAS is accumulated in the phase of flowering.

For the first time 9 compounds: 6 flavonoids and 3 phenolcarboxylic acids – have been isolated from Lathyrus cicera herb and 11 compounds - 7 flavonoids, 2 coumarins and 2 phenolcarboxylic acids – have been isolated from Lathyrus vernus herb. For the first time the method for obtaining of dry extracts from Lathyrus cicera and Lathyrus vernus herb has been developed and their pharmacological activity has been studied. The polyphenolic complex of Lathyrus cicera revealed a sedative, anti-inflammatory, cardioprotective and antioxidant action and the dry extract of Lathyrus vernus has a sedative, antioxidant, anti-inflammatory, hepatoprotective and cardioprotective activity. For the first time anatomic structure of Lathyrus cicera and Lathyrus vernus herb has been studied, the main diagnostic features of the raw material have been established. The projects of analytical normative documentation for the raw material “Lathyrus cicera herb” and “Lathyrus vernus herb” have been elaborated.

Key words: (Lathyrus cicera L.), (Lathyrus vernus L.), pharmacognostic study, biologically active substances, technology, sedative, anti-inflammatory, cardioprotective, antioxidant, hepatoprotective activity.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>