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

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ**

**НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ ІМЕНІ П.Л. ШУПИКА**

**ДЬЯКОНОВА ЯНА ВОЛОДИМИРІВНА**

**УДК:615.322:582.998**

**ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ВИВЧЕННЯ ECHINACEA PALLIDA NUTT.**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата фармацевтичних наук

Київ – 2009

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров’я України.

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор

**Кисличенко Вікторія Сергіївна**

Національний фармацевтичний університет,

завідуюча кафедрою хімії природних сполук

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, старший науковий

 співробітник

 **КОНОВАЛОВА ОЛЕНА ЮРІЇВНА**

Медичний інститут Української асоціації народної

медицини, завідуюча кафедрою

фармацевтичної хімії та фармакогнозії

 кандидат фармацевтичних наук, доцент

 **ТОДОРОВА ВІОЛЕТА ІВАНІВНА**

 Національна медична академія післядипломної

 освіти імені П.Л. Шупика, доцент кафедри контролю

 якості і стандартизації лікарських засобів

Захист відбудеться „\_\_\_” \_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2009 р. о \_\_\_\_\_\_\_ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.613.04 при Національній медичній академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика за адресою: 04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика (04112, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9).

Автореферат розісланий „\_\_\_” \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2009 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Л.Б. Пилипчук

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Підвищення ефективності та якості фармацевтичного забезпечення населення є актуальною задачею сучасної фармації. Останнім часом спостерігається тенденція створення нових лікарських препаратів на основі сировини з рослин, які були інтродуковані із дикої флори інших географічних зон. Такий підхід дозволяє забезпечити розширення номенклатури вітчизняних препаратів та раціонально використовувати природні ресурси.

До рослин, які були інтродуковані в Україну з інших географічних зон та з успіхом культивуються в місцевих кліматичних умовах, відносяться види роду Ехінацея. В Україні зареєстровано понад 50 препаратів на основі біологічно активних речовин (БАР) ехінацеї пурпурової, але відомо, що в інших країнах Європи, Канаді та США для створення лікарських препаратів останнім часом все більш використовують ехінацею бліду (*Echinacea pallida Nutt.*). Цей вид ехінацеї має ряд переваг – вертикально потовщений м’ясистий корінь та високу облиствленість, що дозволяють заготовляти більше біомаси з однієї рослини.

Вченими Полтавської аграрної академії доцентами Самородовим В.М. і Поспєловим С.В., шляхом індивідуально-сімейного відбору було отримано сорт ехінацеї блідої «Красуня прерій». У 2005 р. цей сорт занесено до Державного реєстру сортів України. Сорт «Красуня прерій» характеризується високою врожайністю: врожайність сирих коренів на другий рік сягає 35-45 ц/га, на третій – до 60 ц/га. Це свідчить, що при інтродукції ехінацеї блідої в Україну, в сприятливих умовах вид з успіхом розвивається і досягає вищого ступеню акліматизації – натуралізації, включаючись в природні спільноти.

Саме тому виникла необхідність наукового вивчення БАР ехінацеї блідої з метою створення нових лікарських засобів.

 **Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом проблемної комісії «Фармація» МОЗ та АМН України і є фрагментом комплексної науково – дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакогностичне вивчення біологічно активних речовин, створення лікарських засобів рослинного походження» (номер державної реєстрації 0103U000476).

**Мета і завдання дослідження.** Метою роботи було фармакогностичне вивчення *Echinacea pallida Nutt* (ехінацеї блідої)з дослідженням різних груп біологічно активних речовин і визначення можливості отримання лікарської субстанції, встановлення її фармакологічної активності, вивчення можливості створення на її основі лікарських засобів.

Для досягнення цієї мети були поставлені такі завдання:

– проаналізувати та узагальнити сучасні дані літератури з питань ботанічних ознак, географічного розповсюдження, хімічного складу представників роду Ехінацея *(Echinacea Moench.)* і застосування їх в медицині та інших галузях народного господарства;

– провести попереднє дослідження хімічного складу вегетативних та генеративних органів *Echinacea pallida Nutt.*;

– ідентифікувати БАР в вегетативних та генеративних органах *Echinacea pallida Nutt.* і встановити їх структуру;

– визначити кількісний вміст основних груп БАР в вегетативних та генеративних органах *Echinacea pallida Nutt.*;

– розробити технологію отримання сухого екстракту з коренів *Echinacea pallida Nutt.*;

– встановити основні анатомо-діагностичні ознаки трави та коренів ехінацеї блідої;

– провести стандартизацію трави, коренів та сухого екстракту з коренів *Echinacea pallida Nutt.* та розробити проекти аналітичної нормативної документації (АНД) на них;

– підтвердити можливість створення нових лікарських засобів з сировини, що вивчалася, шляхом дослідження фармакологічної активності отриманої субстанції та дієтичної добавки «Імунозахист».

*Об’єкти дослідження:* корені, трава, листя, стебла, квітки та плоди ехінацеї блідої сорту «Красуня прерій», виділені БАР з трави та коренів ехінацеї блідої сорту «Красуня прерій».

*Предмет дослідження:* виявлення, виділення, ідентифікація БАР з коренів та трави ехінацеї блідої сорту «Красуня прерій», створення на їх основі нових лікарських засобів, вивчення їх фармакологічної активності*.*

*Методи дослідження:* якісний склад і кількісний вміст БАР визначали фармакопейними методами: тонкошарова хроматографія (ТШХ), паперова хроматографія (ПХ), газорідинна хроматографія (ГРХ), високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), газова хроматографія/мас-спектрометрія (ГХ/МС), специфічні якісні реакції. Ліпофільні комплекси досліджували за допомогою тривимірної скануючої спектрофлуориметрії в УФ та видимому діапазонах спектра. Елементний склад вивчали атомно-абсорбційною спектроскопією, амінокислотний – за допомогою амінокислотного аналізатора Т339М Mikrotechna-Praha. Для розділення БАР використовували адсорбційну хроматографію на поліаміді, целюлозі, силікагелі, препаративну хроматографію на папері і в тонкому шарі сорбенту. Хімічну будову виділених сполук встановлювали на основі їх хімічних перетворень, даних УФ-, ІЧ-спектрів та температури плавлення. Кількісний вміст БАР визначали титриметричними та спектрофотометричними методами. Анатомічну будову трави та коренів встановлювали на препаратах з поверхні та поперечних зрізах. Фармакологічні дослідження проводили in vivo та in vitro.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше проведено систематичне фармакогностичне вивчення БАР трави та коренів ехінацеї блідої.

Встановлено в них наявність та кількісний вміст вуглеводів, амінокислот, жирних кислот, гідроксикоричних кислот та глікозиду ехінакозиду, кумаринів, флавоноїдів, дубильних речовин, меланіну, хлорофілів, каротиноїдів, макро- та мікроелементів.

З трави та коренів ехінацеї блідої в індивідуальному стані виділено 26 речовин: 5 похідних коричної кислоти, 6 похідних кумарину, 9 флавоноїдів, 2 тритерпеноїди, 1 стерин, 2 хлорофіли, 1 меланін. З них меланін, умбеліферон, скополетин, ескулетин, скополін, ескулін виділені вперше. Визначено наявність і кількісний вміст амінокислот, макро- та мікроелементів, жирних кислот в квітках, стеблах, листі та коренях ехінацеї блідої. Вперше встановлено кількісний вміст ефірної олії у плодах, траві та коренях ехінацеї блідої, а також якісний склад і кількісний вміст її компонентів.

Одержано сухий екстракт з коренів ехінацеї блідої, для якого визначено гостру токсичність, протизапальну, антимікробну, репаративну та адаптогенну активності.

Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель «Спосіб отримання сухого екстракту кореня ехінацеї блідої» №38728.

Вивчено анатомічні ознаки надземних та підземних органів ехінацеї блідої, які були використані для діагностики лікарської рослинної сировини (ЛРС) та створення проекту АНД на сировину.

**Практичне значення одержаних результатів.** Сухий екстракт з коренів ехінацеї блідої, що має протизапальну, антимікробну, репаративну та адаптогенну активності рекомендується для поглиблених фармакологічних досліджень. Розроблено проекти АНД «Трава ехінацеї блідої», «Корені ехінацеї блідої» та «Сухий екстракт коренів ехінацеї блідої». На замовлення ТОВ «Фармацевтична фірма «ВЕРТЕКС» розроблено ТУ У 15.8-31062507-016:2008 на продукт спеціальний харчовий – дієтичну добавку «Імунозахист», до складу якого входить сухий екстракт з коренів ехінацеї блідої.

Результати досліджень впроваджено у навчальний процес кафедри фармацевтичної хімії і фармакогнозії Медичного інституту Української асоціації народної медицини; кафедри фармакогнозії Запорізького державного медичного університету; кафедри якості, стандартизації та сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету; кафедри ботаніки Національного фармацевтичного університету.

Технологію одержання сухого екстракту з коренів ехінацеї блідої та таблеток на його основі апробовано на обладнанні філії ТОВ «ДЗ«ГНЦЛС».

**Особистий внесок здобувача.** Безпосередньо автором здійснено:

– інформаційний пошук та аналіз літературних даних за темою дисертації;

– встановлено наявність та визначено кількісний вміст основних груп БАР: полісахаридів (та їх фракційний склад), амінокислот, гідроксикоричних кислот, кумаринів, флавоноїдів, дубильних речовин, меланіну, хлорофілів, каротиноїдів, макро- та мікроелементів, ефірної олії;

– ідентифіковано та встановлено будову 26 речовин;

– розроблено технологію отримання сухого екстракту з коренів ехінацеї та таблеток на його основі;

– вивчено анатомічну будову трави та коренів ехінацеї блідої;

– розроблено проекти АНД «Трава ехінацеї блідої», «Корені ехінацеї блідої» та «Сухий екстракт коренів ехінацеї блідої»;

– розроблено ТУ У 15.8-31062507-016:2008 на продукт спеціальний харчовий – добавку дієтичну «Імунозахист».

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення роботи викладено та обговорено на ІІ Міжнародній науково-практичній конференції «Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономічні дослідження лікарських засобів та біологічно активних добавок» (Харків, 2006), Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі «Ліки та життя» (Київ, 2007), 7th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (Ташкент, Узбекистан, 2007), VII міжнародній науково-практичній конференції «Студенческая медицинская наука ХХІ века» (Вітебськ, Білорусь, 2007), 6th International Symposium on Chromatography of Natural Products (ISCNP) (Люблін, Польща, 2008).

**Публікації.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 22 наукові праці, у тому числі 11 статей (6 у наукових фахових виданнях), 1 патент України, 10 тез доповідей.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, 4 розділів, висновків, списку літературних джерел та 11 додатків. Загальний обсяг дисертації складає 202 сторінки машинописного тексту. Робота ілюстрована 38 рисунками і 29 таблицями. Обсяг основного тексту дисертації складає 136 сторінок. Список використаних літературних джерел містить 174 найменування, з них 100 кирилицею та 74 латиною.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Коротка ботанічна характеристика, хімічний склад та застосування представників роду Echinacea Moench (огляд літератури)**

В огляді літератури наведено ботанічну характеристику, дані про хімічний склад, застосування в медицині та народному господарстві представників роду Echinacea Moench, що об`єднує 9 видів, з яких на території України культивується три. Ехінацея бліда останнім часом широко культивується в світі, зокрема в Україні вирощують сорт ехінацеї блідої «Красуня прерій», який з 2005 р. зареєстровано в Державному реєстрі сортів України. Сорт характеризується багатою врожайністю та високою посухостійкістю.

Хімічний склад трави та коренів ехінацеї блідої вивчено недостатньо. Тому актуальним є фітохімічне і фармакологічне дослідження рослинної сировини ехінацеї блідої з метою розробки аналітичної нормативної документації для стандартизації сировини, що дасть змогу створення лікувально-профілактичних засобів на її основі, враховуючи біологічну дію і забезпеченність сировинною базою.

**Виділення комплексів біологічно активних речовин з трави та коренів ехінацеї блідої**

Об’єктами наших досліджень були надземні та підземні органи ехінацеї блідої сорту «Красуня прерій». Сировина була заготовлена в 2005-2008 роках у с. Радянське, Кобилякського району, Полтавської області.

За допомогою якісних реакцій, хроматографічних методів аналізу, тривимірної скануючої спектрофлуориметрії в траві та коренях ехінацеї блідої виявлені полісахариди, вільні та зв’язані цукри, амінокислоти, прості феноли, дубильні речовини, гідроксикоричні кислоти, кумарини, флавоноїди, хлорофіли, каротиноїди, жирні кислоти, сапоніни, терпеноїди та меланін.

Для вивчення якісного складу ліпофільних фракцій листя, стебел та квіток було застосовано тривимірну скануючу спектрофлуориметрію в ультрафіолетовому та видимому діапазонах спектра. Аналіз одержаних спектрів дозволив зробити висновок щодо наявності в ліпофільних фракціях простих фенолів та суміші хлорофілів а і b.

Методом газової хроматографії/мас-спектрометрії було проаналізовано ефірні олії з плодів, трави та коренів ехінацеї блідої, в результаті чого ідентифіковано 58 речовин терпенової природи.

За допомогою колонкової адсорбційної хроматографії, рехроматографії на силікагелі і поліамідному сорбенті, гравіметричного методу з трави та коренів в індивідуальному стані виділено 26 сполук: 5 похідних коричної кислоти, 6 похідних кумарину, 9 флавоноїдів, 2 тритерпеноїди, 1 стерин, 2 хлорофіли та 1 меланін. Структуру виділених речовин встановлювали за фізико-хімічними властивостями, за даними УФ-, ІЧ-спектроскопії у порівнянні з достовірними зразками. Умбеліферон, скополетин, ескулетин, скополін, ескулін та меланін виділені вперше. Основні фізико-хімічні властивості виділених речовин наведені в табл. 1.

**Похідні коричної кислоти.** Речовини 2.1-2.5 давали позитивні якісні реакції з заліза (ІІІ) хлоридом, кислотою сульфаніловою діазотованою, що визначало їх фенольну природу. Кислотні властивості цих сполук виявляли за допомогою розчину бромтимолового синього. Блакитне забарвлення речовини 2.4 після обробки хроматограм реактивом кислоти барбітурової вказувало на наявність у її складі кислоти хінної. За результатами хімічних перетворень, даних УФ-спектрів, температур плавлення і порівняння з достовірними зразками гідроксикоричних кислот речовини 2.1-2.5 були ідентифіковані відповідно як кофейна, *п*-кумарова, ферулова, хлорогенова та неохлорогенова кислоти (див. табл. 1).

**Похідні кумарину.** Дана група представлена 6 речовинами, які були виділені з досліджуваної сировини. Речовини 2.6-2.11 розщеплюються йодистоводневою кислотою в середовищі рідкого фенолу та оцтового ангідриду до кумарину, що дозволяє віднести їх до похідних бензо-α-пірону. На підставі молекулярної маси, елементного складу, а також фізико-хімічних властивостей, УФ- та ІЧ-спектрів, а також порівняння з достовірними зразками речовини 2.6-2.11 ідентифіковані відповідно як кумарин, умбеліферон, скополетин, ескулетин, скополін, ескулін (див. табл. 1). З них умбеліферон, скополетин, ескулетин, скополін, ескулін виділені вперше.

**Флавоноїди.** З флавоноїдних сполук було виділено 9 сполук, які представлені агліконами, монозидами та біозидами. Аглікони, виділені нами у вільному стані, відносяться до флавонів. За результатами якісних реакцій, хімічних перетворень, хроматографічної поведінки в різних системах розчинників, даних УФ-, ІЧ-спектроскопії (див. табл.1) речовини 2.12-2.14 є флавоноловими агліконами – лютеолін, кемпферол та кверцетин; речовини 2.15 та 2.16 є глікозидами кемпферолу – астрагалін та нікотифлорин; речовини 2.17-2.20 є глікозидами кверцетину – авікулярин, гіперозид, ізокверцитрин, рутин.

**Тритерпеноїди.** Речовини 2.21 та 2.22 за результатами якісних реакцій і хроматографічного аналізу було віднесено до тритерпеноїдів. В ІЧ-спектрі сполуки 2.21 спостерігалися смуги поглинання при 3300, 2750, 2200 см-1, що свідчить про наявність гідроксильних груп, 1700 см-1 відповідала валентним коливанням –С=О, 1600-1620 см-1 характерні для С=С зв’язків. При ацетилюванні та метилюванні речовини 2.21 отримували ацетати та метилати, які не давали депресії температури плавлення з відповідними ацетатами і метилатами урсолової кислоти. ІЧ- спектр речовини 2.22 мав смуги поглинання, характерні для олеанолової кислоти при 3300, 2720, 2200, 1700, 1620, 1600, 1390, 1340, 1320, 1290, 1260, 1230 см-1. При ацетилюванні речовини 2.22 отримували ацетати, які не давали депресії температури плавлення з відповідними ацетатами олеанолової кислоти. За результатами визначення фізико-хімічних властивостей, молекулярної маси, елементного складу, даних ІЧ-спектроскопії, а також порівняння з достовірними зразками речовини 2.21 та 2.22 було ідентифіковано відповідно як урсолова та олеанолова кислоти.

**Стерини.** Речовину 2.23 за результатами якісних реакцій, хроматографування в різних системах розчинників з наступною обробкою хроматограм відповідними реактивами, у порівнянні з достовірним зразком було віднесено до стероїдів та ідентифіковано як β-ситостерин.

**Хлорофіли.** Рослинні пігменти, виділені з хлороформних фракцій, визначали хроматографічно на підставі природного зеленого забарвлення плям у видимому світлі і змін його на червоний колір під дією УФ-світла. Речовини 2.24 та 2.25 було ідентифіковано як хлорофіл а та хлорофіл b відповідно.

**Меланіни.** Речовина 2.26 за результатами якісних реакцій, даних УФ-, ІЧ-спектроскопії, визначення елементного складу була віднесена до фітомеланіну.

*Таблиця 1*

**Основні фізіко-хімічні властивості речовин виділених з трави та коренів ехінацеї блідої**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Речовина, її структурна характеристика | Тпл 0С | [α],град | УФ-спектр,λ нм | Rf у системах розчинників |
| Система | Rf |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Похідні коричної кислоти |
| 2.1. Кофейна кислота (3,4-дигідроксикорична кислота) | 194-195 | – | 325300235 | 12 | 0,80,5 |
| 2.2. *п*-Кумарова кислота(4-гідроксикорична кислота) | 212-214 | – | 310228217 | 12 | 0,90,6 |
| 2.3. Ферулова кислота (4-гідрокси-5-метоксикорична кислота) | 168-170 | – | 320290234 | 12 | 0,880,55 |
| 2.4. Хлорогенова кислота(5-О-кофеїл-D-хінна кислота) | 203-205 | -32 (метанол) | 325300245 | 12 | 0,620,7 |
| 2.5. Неохлорогенова (3-0-кофеїл-D-хінна кислота) | Аморф. | +2,6 (етанол) | 325300245 | 13 | 0,660,7 |
| Похідні кумарину |
| 2.6. Кумарин (бензо-α-пірон) | 67-69 | – | – | 3 | 0,1 |
| 2.7. Умбеліферон(7-гідроксикумарин) | 228-230 | – | 231258327 | 25 | 0,640,36 |
| 2.8. Скополетин(6-метоки-7-гідроксикумарин) | 202-204 | – | 230255296346 | 25 | 0,500,58 |
| 2.9. Ескулетин (6,7-дигідроксикумарин) | 344-350 | – | 230258270316 | 25 | 0,510,06 |
| 2.10. Скополін(6-метокси-7-0-β-D-глюкопіранозил-кумарин) | 218–220 | -8,5 ДМФА | 231330 | 6 | 0,24 |

*Продовж.* *табл. 1*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 2.11. Ескулін (6-0-β-D-глюкопіранозил-7-гідроксикумарин) | 204-206 | – | –146 (метанол) | 24 | 0,730,49 |
| Флавоноли |
| 2.12. Лютеолін (5,7,3',4'-тетрагідроксифлавон) | 327-328 | – | 255318350410 | 13 | 0,820,11 |
| 2.13. Кемпферол (3,5,7,4'-тетрагідроксифлавон) | 273-274 | – | 366266 | 12 | 0,830,10 |
| 2.14. Кверцетин(3,5,7,3',4'-пентагідроксифлавон) | 310-312 | – | 375268256 | 12 | 0,690,70 |
| Глікозиди кемпферолу |
| 2.15. Астрагалін (кемпферол-3-О-β-D-глюкопіранозид) | 196-198 | -6,8(етанол) | 375270 | 12 | 0,690,37 |
| 2.16. Нікотифлорин (кемпферол-3-О-β-D-рутинозид) | 220-223 | -24(метанол) | 350298266 | 13 | 0,490,58 |
| Глікозиди кверцетину |
| 2.17. Авікулярин (кверцетин-3-О-α-L-арабінофуранозид) | 220-222 | -66(метанол) | 358257 | 1 | 0,58 |
| 2.18. Гіперозид (кверцетин-3-О-β-D-галактопіранозид) | 235-236 | -58,9(етанол) | 350255265 | 13 | 0,530,32 |
| 2.19. Ізокверцитрин (кверцетин-3-О-β-D-глюкопіранозид) | 227-229 | -12,5(метанол) | 355267256 | 13 | 0,520,36 |
| 2.20. Рутин (кверцетин-3-О-β-D-рутинозид) | 189-192 | -32,3(етанол) | 362268258 | 12 | 0,460,54 |
| Тритерпеноїди |
| 2.21. Урсолова кислота | 280-283 | +62,5(хлороф.) | – | 1 | 0,89 |
| 2.22. Олеанолова кислота | 300-303 | +79,0 (хлороф.) | – | 17 | 0,90,44 |
| Стерини |
| 2.23. β-ситостерин | 134-136 | +37,5 (хлороф.) | – | 17 | 0,950,54 |

*Продовж.* *табл. 1*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Хлорофіли |
| 2.24. Хлорофіл а | 117-120 | – | – | 5 | 0,90 |
| 2.25. Хлорофіл b | 120-130 | – | – | 5 | 0,93 |
| Меланіни |
| 2.26. Фітомеланін | – | – | 320 | – | – |

*Примітка.* Системи розчинників: 1 – н-бутанол – кислота оцтова – вода (4:1:2); 2 – 15%- кислота оцтова; 3 – петролейний етер/формамід (25%); 4 – гексан/формамід (25%); 5 – хлороформ/формамід (25%); 6 – толуол – н-бутанол (3:1)/вода (35%); 7 – толуол – етилацетат – кислота оцтова (12:4:0,5).

**Визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин в сировині ехінацеї блідої**

З метою найбільш повного фітохімічного вивчення і стандартизації трави та коренів ехінацеї було проведено визначення кількісного вмісту основних груп БАР.

За допомогою спектральних, титриметричних і гравіметричного методів встановлено кількісний вміст полісахаридів, гідроксикоричних кислот, ехінакозиду, флавоноїдів, окиснювальних поліфенолів, аскорбінової кислоти, меланіну та ефірної олії. Із шроту, який залишився після отримання ліпофільних фракцій, з коренів, листя, стебел та квіток, послідовно виділяли окремі фракції полісахаридів: водорозчинні полісахариди (ВРПС), пектинові речовини (ПР), геміцелюлози (ГЦ) (табл. 2).

*Таблиця 2*

**Результати визначення кількісного вмісту полісахаридних фракцій в стеблах, листі, квітках та коренях ехінацеї блідої**

|  |  |
| --- | --- |
| Об’єкт дослідження | Вміст полісахаридної фракції, % |
| ВРПС | ПР | ГЦ |
| Корені | 21,19±0,07 | 14,90±0,03 | 19,56±0,02 |
| Стебла | 0,01±0,004 | 6,47±0,05 | 38,82±0,08 |
| Листя | 18,05±0,02 | 20,28±0,05 | 14,05±0,06 |
| Квітки | 10,65±0,06 | 0,05±0,03 | 22,87±0,05 |

Спектрофотометричним методом в перерахунку на фруктозу було визначено кількісний вміст суми фруктозанів у траві та коренях ехінацеї блідої, який склав 0,12% та 7,91% відповідно.

Зі сполук фенольного комплексу було визначено кількісний вміст флавоноїдів – 0,35% у траві в перерахунку на рутин, гідроксикоричних кислот – 3,17% у траві та 1,35% у коренях в перерахунку на хлорогенову кислоту (спектрофотометричний метод), фенольного глікозиду ехінакозиду – 0,15% у траві та 0,46% у коренях (ВЕРХ), суми поліфенолів, що окиснюються – 6,33% у траві та 2,61% у коренях (за методом Левенталя), фітомеланіну – 1,8% (гравіметричний метод). Титриметричним методом було встановлено кількісний вміст аскорбінової кислоти.

Методом атомно-абсорбційної спектроскопії визначено вміст у плодах, листах, стеблах, квітках та коренях ехінацеї блідої 19 макро- та мікроелементів.

За допомогою амінокислотного аналізатора Т339М Mikrotechna–Praha було досліджено амінокислотний склад плодів, трави та коренів ехінацеї блідої. У траві та коренях визначено наявність та кількісний вміст 16 амінокислот, в плодах – 17 амінокислот.

В ліпофільних фракціях листя, стебел, квіток та коренів ехінацеї блідої методом ГРХ було визначено кількісний вміст жирних кислот (табл. 3).

*Таблиця 3*

**Кількісний вміст жирних кислот у ліпофільних фракціях коренів, листя, стебел та квіток ехінацеї блідої**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Назва кислоти | Індекс | Вміст жирної кислоти, % в ліпофільній фракції |
| корені | листя | стебла | квітки |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Неідентифікована кислота | С9:0 | 0,97 | - | - | - |
| Неідентифікована кислота | С9:1 | 4,09 | - | - | - |
| Деканова | С10:0 | 0,73 | - | - | - |
| Лауринова кислота | С12:0 | 0,47 | 3,71 | 2,84 | 59,62 |
| Неідентифікована кислота | С12:1 | - | 0,69 | 2,27 | 2,19 |
| Неідентифікована кислота | С13:0 | 0,26 | - | - | - |
| Міристинова кислота | С14:0 | - | 0,90 | - | - |
| Неідентифікована кислота | С14:1 n ? | 1,49 | 1,41 | - | - |
| Пентадеканова кислота | С15:0  | 31,32 | - | - | - |
| Пентодекенова кислота | С15:1 | 1,16 | - | - | - |
| Пальмітинова кислота | С16:0 | 14,16 | 25,72 | 53,88 | 14,70 |
| Пальмітинолеїнова кислота | С16:1 n 9 | - | 1,29 | - | - |
| Неідентифікована кислота | С16:1 n ? | - | 0,62 | - | - |
| Маргаринова кислота | С17:0 | 0,72 | 0,90 | - | - |
| Гептодекенова кислота | С17:1 | 0,25 | - | - | - |
| Стеаринова кислота | С18:0 | 4,67 | 3,21 | 5,61 | 1,56 |
| Олеїнова кислота | С18:1 n 9 | 1,79 | 2,10 | 3,05 | 2,00 |
| Лінолева кислота | С18:2 n 9.12 | 9,24 | 11,27 | 4,18 | 7,86 |

*Продовж.* *табл. 3*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Ліноленова кислота | С18:3 n 9-15 | 1.25 | 39,65 | - | 4,99 |
| Арахідонова кислота | С20:0 | 8,83 | 2,35 | 5,70 | 1,52 |
| Гондолієва кислота | С20:1 n 13 | 2,48 | - | - | 1,44 |
| Ейкозадієнова кислота  | С20:2 | 9,87 | - | - | - |
| Ейкозатриєнова кислота | С20:3 | 0,69 | - | - | - |
| Бегенова кислота | С22:0 | 5,31 | 1,07 | 3,14 | 1,13 |
| Неідентифікована кислота | С23:0 | 0.22 | - | - | - |
| Лігноцеринова кислота | С24:0 | - | 1,62 | 4,28 | 1,49 |
| Нервонова кислота | С24:1 | - | 1,15 | 7,48 | 1,45 |
| Неідентифікована кислота | С26:0 | - | 1,46 | 5,34 | - |

*Примітка.* «-» – сполука не знайдена у досліджуваному об’єкті.

В ліпофільних фракціях листя, стебел та квіток було визначено вміст хлорофілів і каротиноїдів, в ліпофільній фракції плодів – токоферолів.

Кількісний вміст ефірної олії у сировині ехінацеї блідої – коренях, траві та плодах визначали методом гідродистиляції. Найбільша кількість ефірної олії містилася в коренях та складала 0,7 %, вміст ефірної олії в траві та плодах – 0,18 % та 0,28 % відповідно. Кількісний вміст компонентів ефірної олії визначали за допомогою ГХ/МС (табл. 4).

*Таблиця 4*

**Кількісний вміст ідентифікованих компонентів ефірної олії коренів, трави та плодів ехінацеї блідої**

|  |  |
| --- | --- |
| Назва сполуки | Кількісний вміст компоненту ефірної олії, % |
| Корені | Трава | Плоди |
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| α-пінен | - | 0,49 | 4,37 |
| β-пінен | - | 0,60 | 8,01 |
| сабінен | - | - | 1,56 |
| α-феландрен | - | - | 0,13 |
| лімонен | - | 0,49 | 0,84 |
| 1,8-цінеол | - | - | 0,27 |
| γ-терпінен | - | - | 0,18 |
| *n*-цимен | - | - | 6,84 |
| транс-сабіненгідрат | - | - | 0,18 |
| α-копаєн | - | - | 0,54 |
| α-гурьюнєн | - | - | 0,38 |
| пентадецен-1 | 0,56 | - | 2,25 |
| пінокарвон | - | - | 1,19 |

*Продовж.* *табл. 4*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1,8-пентадекадієн | 2,64 | 0,70 | 4,83 |
| борнілацетат | - | 3,14 | 1,10 |
| β-елемен | - | - | 0,22 |
| каріофілен | - | 0,77 | 1,98 |
| терпінен-4-ол | - | - | 0,96 |
| 1,8,10-пентадекатриєн | 0,54 | - | - |
| міртеналь | - | - | 2,49 |
| 4-етил-2-метилгекса-2,3-диєн | - | - | - |
| 4-етил-2-метилгекса-2,3-диєн | 0,62 | 0,44 | - |
| аромадендрен | - | - | 1,28 |
| транс-пінокарвеол | - | - | 2,77 |
| гумулен | - | - | 0,75 |
| транс-вербенол | - | - | 1,86 |
| гермакрен | - | 0,59 | 0,38 |
| β-селінен | - | - | 0.67 |
| α-мууролен | - | - | 0,38 |
| карвон | - | - | 0,31 |
| δ-кадінен | - | 1,35 | 1,36 |
| дигідрокоричний альдегід | - | - | 0,15 |
| міртенол | - | - | 2,01 |
| феландренепоксид | - | - | 0,15 |
| 5-деценілацетат | - | 0,35 | - |
| 1,8,11-гептадекатриєн | 0,61 | - | - |
| карвеол | - | - | 0,46 |
| епі-кубенол | - | 0,55 | - |
| епі-шиобунон | - | - | 1,53 |
| метилдодекадиєноат | - | - | - |
| шиобунон | - | 1,50 | 6,56 |
| 1,5-епоксисальвіаль-4(14)-єн | - | 1,56 | - |
| палюстрол | - | - | 0,35 |
| циклододецилетанон | 0,21 | - | - |
| δ-кадінол | - | 0,46 | - |
| каріофіленоксид | - | 2,91 | 7,14 |
| сальвіаль-4(14)-єн | - | 0,47 | - |
| пентадеканон-2 | 2,66 | 2,75 | - |
| гумуленепоксид | - | 0,73 | - |
| 8-циклопентадецен-2-он | 18,51 | - | - |
| циклопентадеканон | 41,28 | 50,40 | 2,19 |
| транс-октадекадиєналь | - | 0,99 | - |
| цис-октадекадиєналь | - | 9,43 | - |
| спатуленол | - | 0,89 | - |

*Продовж.* *табл. 4*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| гексагідрофарнезилацетон | - | 0,32 | - |
| 6-гексадецен-4-ін | 1,19 | - | - |
| α-кадінол | - | 2,64 | - |
| пальмітинова кислота | - | 1,33 | 1,08 |

*Примітка.* «-» – сполука не знайдена у досліджуваному об’єкті.

**Стандартизація досліджуваної сировини, одержання та стандартизація сухого екстракту, дієтичної добавки «Імунозахист» та дослідження їх фармакологічної активності**

З метою створення нових лікарських субстанцій з достатньою сировинною базою нами було розроблено спосіб одержання сухого екстракту з коренів ехінацеї блідої (новизна розробленого оригінального фітозасобу підтверджена патентом України на корисну модель № 38728).

Оптимальними умовами виділення БАР з коренів ехінацеї є екстракція сировини, подрібненої до розміру часток 10-15 мм, гарячою водою протягом 2-3 годин двічі. Оптимальне співвідношення між сировиною та екстрагентом становило 1:15. Сухий екстракт – це порошок темно-коричневого кольору зі специфічними запахом та смаком.

Вивчення гострої токсичності, протизапальної, репаративної, адаптогенної активності сухого екстракту з коренів ехінацеї блідої та дієтичної добавки (ДД) «Імунозахист» проводили на базі кафедри клінічної фармакології з фармацевтичною опікою Національного фармацевтичного університету під керівництвом доцента Брунь Л.В.

Результати вивчення гострої токсичності сухого екстракту з коренів ехінацеї блідої дозволило віднести його до практично нешкідливих речовин.

Вивчення протизапальної активності сухого екстракту з коренів ехінацеї блідої та ДД «Імунозахист» проводили на моделі карагенінового набряку кінцівки у мишейу відповідності з методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗ України. Результати вивчення свідчать про наявність помірної антиексудативної дії досліджуваних об’єктів. Протизапальний ефект ДД «Імунозахист» незначно перевищує протизапальний ефект таблеток «Ехінацея ратіофарм».

Репаративну активність вивчали на моделі стандартної рани, що скарифікували, у білих нелінійних щурів-самців. Оцінювали ранозагоювальну активність планіметрично. Ефективність препаратів оцінювали за відсотком добового зменшення площі рани, показником швидкості загоєння і відсотком активності зменшення площі рани при застосуванні сухого екстракту та ДД «Імунозахист». В результаті досліджень було виявлено виражену репаративну активність у досліджуваних об’єктах.

Вивчення адаптогенної дії сухого екстракту з коренів ехінацеї блідої та ДД «Імунозахист» проводили на моделі стресової ситуації, яка викликається у нелінійних щурів зниженням температури тіла. Було виявлено помірну адаптогенну активність сухого екстракту та ДД «Імунозахист».

Для розробки АНД на сировину нами було визначено основні анатомічні діагностичні ознаки надземних та підземних органів ехінацеї блідої. Дослідження проводили на кафедрі ботаніки Національного фармацевтичного університету при консультативній допомозі професора Хворост О.П. Встановлено анатомічні діагностичні ознаки трави ехінацеї блідої: черешок листказа формою на поперечному зрізі розширено – підковоподібний багатопучковий. Провідна система розпадається на 3 та більше пучків. Опушення в більшому ступені притаманно нижній епідермі листкової пластинки та представлено двома типами трихом – простими та залозистими. Залозисті трихоми складаються з 6-9-клітин, 3-4 нижні ізодіаметричні за формою та тонкостінні. Верхня частина – з 2-4 клітин, менших за розмірами. Всі складові клітини залозистого волоска епітеліальні, містять коричневий вміст.

Анатомічні ознаки кореневої системи ехінацеї блідої: кореневище на поперечному зрізі безпучкового типу будови. В паренхімі кори зустрічаються великі схизогенні вмістища, овальні за формою, витягнуті в радіальному або тангентальному напрямку. На поздовжньому зрізі ці вмістища яйцеподібної форми, заповнені помаранчевим вмістом. На поперечному зрізі кореня рівномірно по всьому діаметрі зустрічаються склереїди, поодинокі або групами по 2-5 клітин. Склереїди з усіх боків оточені міжклітинниками, невеликими за розмірами та різноманітними за формою. На поздовжньому зрізі ці міжклітинники мають подовжену форму. В них присутній фітомеланін чорного кольору. Отримані результати використані при розробці відповідних розділів АНД на лікарську рослинну сировину «Трава ехінацеї блідої», «Корені ехінацеї блідої».

Встановлено параметри стандартизації сухого екстракту з коренів ехінацеї блідої, які було використано при розробці проекту АНД «Сухий екстракт з коренів ехінацеї блідої». Розроблено ТУ У 15.8-31062507-016:2008 на продукт спеціальний харчовий – дієтичну добавку ТОВ «Фармацевтична фірма «ВЕРТЕКС»: «Імунозахист», до складу якого входить сухий екстракт коренів ехінацеї блідої.

**ВИСНОВКИ**

1. Вперше проведено систематичне фармакогностичне вивчення *Echinacea pallida Nutt.* з дослідженням груп біологічно активних речовин та отриманням комплексів біологічно активних речовин, стандартизацією сировини та отриманого сухого екстракту, встановленням його фармакологічної активності, що дало можливість отримати спеціальний харчовий продукт – добавку дієтичну на його основі, створене теоретичне та практичне підґрунтя для подальшої розробки нових лікарських засобів.
2. За допомогою якісних реакцій, хроматографічних методів аналізу, тривимірної скануючої спектрофлуориметрії встановлено наявність в траві та коренях ехінацеї блідої вільних та зв’язаних цукрів, полісахаридів, пектинових речовин, амінокислот, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, антоціанів, дубильних речовин, кумаринів, сапонінів, хлорофілів, каротиноїдів.
3. З трави та коренів ехінацеї блідої в індивідуальному стані виділено 26 сполук: 5 похідних коричної кислоти, 6 похідних кумарину, 9 флавоноїдів, 2 тритерпеноїди, 1 стерин, 2 хлорофіли та 1 меланін. На основі фізико-хімічних властивостей виділених речовин та продуктів їх хімічних перетворень, даних УФ-, ІЧ -спектроскопії, порівняння з референтними зразками встановлено їх структуру. Умбеліферон, скополетин, ескулетин, скополін, ескулін та фітомеланін виділені вперше.
4. У коренях та траві ехінацеї блідої визначено кількісний вміст вуглеводів: гравіметричним методом – загальний вміст полісахаридів (9,42% та 5,57% відповідно); спектрофотометричним методом – кількість фруктозанів (7,91% та 0,12% відповідно). Вперше з квіток, стебел, листя та коренів одержано фракції полісахаридів (ВРПС, ПР та ГЦ) та визначено їх кількісний вміст. Найбільша кількість ВРПС спостерігалась у коренях (21,19%), вміст ПР переважав у листі (20,28%), в стеблах переважав вміст ГЦ (38,82%).
5. Вперше визначено якісний склад та кількісний вміст вільних та зв’язаних амінокислот. Встановлено наявність 17 амінокислот в плодах і 16 амінокислот в коренях та траві ехінацеї блідої. Серед вільних та зв’язаних амінокислот в плодах та траві переважає глутамінова кислота. В коренях серед вільних амінокислот домінує також глутамінова кислота, серед зв’язаних амінокислот – аспарагінова кислота.
6. Вперше отримані ліпофільні фракції з коренів, стебел, листя, квіток та плодів ехінацеї блідої; встановлений їх якісний склад та кількісний вміст компонентів. У ліпофільній фракції стебел, листя та квіток встановлений кількісний вміст хлорофілів (1,64%, 65,52%, 1,69% відповідно) і каротиноїдів (2%, 27,39%, 0,96% відповідно); у ліпофільних фракціях коренів та плодів визначено кількісний вміст (α+β)-, γ1-, γ2-, δ-токоферолів. У ліпофільних фракціях коренів, листя, стебел та квіток відзначено наявність не менш ніж 28 жирних кислот, вперше визначено їх кількісний вміст.
7. Встановлено кількісний вміст ефірної олії в коренях, траві та плодах ехінацеї блідої. Найбільший вміст ефірної олії спостерігався у коренях та складав 0,7%. В досліджуваних ефірних оліях ідентифіковано не менше ніж 58 компонентів. Маркером ефірної олії коренів та трави є циклопентадеканон, його вміст складав 41,28% та 50,40% відповідно. В ефірній олії плодів за кількісним вмістом переважає β-пінен – 8,01% та каріофіленоксид – 7,14%.
8. Вперше проведено визначення якісного складу та кількісного вмісту макро- та мікроелементів у коренях, листі, стеблах, плодах та квітках

ехінацеї блідої та встановлено наявність 19 елементів.

1. Визначено кількісний вміст основних груп БАР у коренях та траві

ехінацеї блідої: суми гідроксикоричних кислот в перерахунку на хлорогенову кислоту (відповідно 1,35% і 3,17%); фенольного глікозиду ехінакозиду (0,46% і 0,15%); суми окиснювальних поліфенолів (2,61% і 6,33%); фітомеланіну (у коренях – 1,8%); суми флавоноїдів в перерахунку на рутин (у траві – 0,35%); аскорбінової кислоти (у коренях – 0,0208%, квітках – 0,0126%, стеблах – 0,0244%, листі – 0,033%).

1. Визначено основні анатомо-діагностичні ознаки надземних та підземних органів ехінацеї блідої.
2. Проведено фармакологічні дослідження, які підтвердили наявність протизапальної, антимікробної, репаративної та адаптогенної активності сухого екстракту з коренів ехінацеї блідої та ДД «Імунозахист».
3. Розроблено проекти АНД «Трава ехінацеї блідої», «Корені ехінацеї блідої» та «Сухий екстракт з коренів ехінацеї блідої».
4. Розроблено ТУ У 15.8-31062507-016:2008 на продукт спеціальний харчовий – дієтичну добавку ТОВ «Фармацевтична фірма «ВЕРТЕКС»: «Імунозахист».

**Список опублікованих праць за темою дисертації**

1. Кисличенко В. С. Вивчення ліпофільного складу листя, стебел, суцвіть ехінацеї блідої / В. С. Кисличенко, Я. В. Дьяконова // Зб. наук. праць співробітн. НМАПО імені П.Л. Шупика. – К., 2007. – Вип.16. – Кн. 1. – С. 595-600. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Написання статті.)
2. Встановлення амінокислотного та мінерального складу плодів ехінацеї блідої / Я. В. Дьяконова, В. С. Кисличенко, В. М. Самородов, С. В. Поспєлов // Медична хімія. – 2007. – Т. 9, – № 3. – С. 97-99. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень та узагальненні результатів. Написання статі.)
3. Дьяконова Я. В. Амінокислотний склад коренів ехінацеї блідої / Я. В. Дьяконова, В. С. Кисличенко // Фармацевтичний часопис. – 2007. – № 3. С. 77. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Написання статі.)
4. Дьяконова Я. В. Изучение полисахаридного и элементного состава эхинацеи бледной / Я. В. Дьяконова, В. С. Кисличенко // Запорож. мед. журн. – 2007. – № 6 (45). – С. 146-147. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Написання статі.)
5. Вивчення антимікробної активності фітозасобів на основі ехінацеї блідої / В. С. Кисличенко, Я. В. Дьяконова, Т. П. Осолодченко, О. М. Кошовий // Клінічна фармація. – 2008. – Т. 12, – № 2. – С. 53-56. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Написання статті.)
6. Визначення кількісного вмісту ехінакозиду в коренях та траві ехінацеї блідої / В. С. Кисличенко, Я. В. Дьяконова, О. В. Болотова, О. М. Кошовий // Фармацевтичний часопис. – 2008. – № 2(6). – С. 46-48. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Написання статті.)
7. Пат. на корисну модель № 38728, Україна, МПК А61К 36/49. Спосіб отримання сухого екстракту кореня ехінацеї блідої / Кисличенко В. С., Дьяконова Я. В., Брунь Л. В., Дємьохін В. Б., Доровський О. В., Самородов В. М., Поспєлов С. В. – Заявник і патентовласник Кисличенко В. С. № u 2008 06988; заявл. 20.05.2008; опубл. 12.01.09. Бюл. № 1. (Особистий внесок – розробка способу отримання сухого екстракту. Участь в оформленні заявки.)
8. Дьяконова Я. В. Качественное и количественное определение бетаина в корнях эхинацеи бледной / Я. В. Дьяконова, В. С. Кисличенко // Український вісник психоневрології. – 2006. – Т. 14. – Вип. 2 (47), додаток. – С. 100-102. (Особистий внесок – виконання експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Підготовка статті.)
9. Кисличенко В. С. Изучение элементного состава полисахаридного комплекса эхинацеи бледной корней и настойки бузины черной цветков / В. С. Кисличенко, В. В. Вельма, Я. В. Дьяконова // Разроботка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2008. – Вып. 63. – С. 41-42. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Написання статті.)
10. Кисличенко В. С. Эхинацея бледная – Echinacea pallida (Nutt.) Nutt. Аналитический обзор / В. С. Кисличенко, Я. В. Дьяконова, О. Н. Кошевой // Провізор. – 2008. – № 8. – С. 55-58. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Написання статті.)
11. Определение количественного содержания основных групп биологически активных соединений эхинацеи бледной корней экстракта сухого / Я. В. Дьяконова, В. С. Кисличенко, О. В. Болотова, О. Н. Кошевой // Фармация из века в век: науч.-практ. конф., 24-25 апреля 2008 г.: труды науч.-практ. конф. – СПб, 2008. – С. 35-38. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Написання статті.)
12. Gas chromatography with mass-spectrometric detection of the components of the essential oils from Achillea carpatica Blocki ex Dubovik and Echinacea pallida (Nutt.) Nutt. / А. A. Kyslychenko, Ya. V. Dyаkonova, A. N. Alexandrov, R. Yе. Darmogray // Herba Polonica. – 2008. – Vol. 54. – № 4. – P. 62-67. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Написання статті.)
13. Кисличенко В. С. Елементний склад коренів ехінацеї блідої першого та другого року вегетації / В. С. Кисличенко, Я. В. Дьяконова // Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономічні дослідження лікарських засобів та біологічно активних добавок: ІІ Міжнар. наук.– практ. конф., 12-13 жовт. 2006 р.: тези доп. – Х., 2006. – С. 55–56. (Особистий внесок – виконання експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Підготовка тез.)
14. Кисличенко В. С. Липофильный экстракт из листьев ехинацеи бледной как компонент лечебно-косметических кремов / В. С. Кисличенко, Я. В. Дьяконова // Косметичні та парфумерні засоби та технології майбутнього: наук.-практ. конф., 8 груд. 2006 р.: тези доп. – Х., 2006. - С. 18. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Підготовка тез.)
15. Кисличенко В. С. Мінеральний склад листя, стебел та суцвіть ехінацеї блідої / В. С. Кисличенко, Я. В. Дьяконова // Ліки та життя: міжнар. мед.–фарм. конгрес, 6-9 лют. 2007 р.: матеріали конгр. – К., 2007. – С. 97-98. (Особистий внесок – виконання експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Підготовка тез.)
16. Kyslychenko V. S. The quantitative determination of fructosans in Echinacea pallida’s roots / V. S. Kyslychenko, Ya. V. Dyakonova // 50 years anniversary S. Yunusov Institute of the chemistry of plant substances: 7th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds, 16-18 oct. 2007: abstracts. – Tashkent, 2007. – P. 248. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Участь у підготовці тез.)
17. Онтоморфология и фитохимия эхинацеи бледной (ECHINACEA PALLIDA (NUTT.) NUTT.) при ее интродукции в Украину / С. В. Поспелов, В. Н. Самородов, Я. В. Дьяконова, В. С. Кисличенко // Биологическое разнообразие. Интродукция растений: Четвертая междунар. конф., 5-8 июня 2007 г.: материалы конф. – СПб., 2007. – С. 500-501. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Підготовка тез.)
18. Dіakonova Ya. V. The composition of aminoacids in the grass of Echinacea pallida / Ya.V. Dіakonova // Студенческая медицинская наука ХХІ века: VII междунар. научно-практ. конф., 1-2 ноября 2007 г.: матер. конф. – Витебск., 2007, – С. 262-264. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Підготовка тез.)
19. Дьяконова Я. В. Изучение биологически активных соединений сока из травы эхинацеи бледной / Я. В. Дьяконова, В. С. Кисличенко // Клінічна фармація в Україні: VII всеукр. наук.-практ. конф. з міждунар. участю, 2007 г.: матеріали конф. – Х., 2007. – С. 35. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Підготовка тез.)
20. Изучение фенольных соединений эхинацеи бледной (ECHINACEA PALLIDA (NUTT.) NUTT.) / С. В. Поспєлов, В. Н. Самородов, В. С. Кисличенко, Я. В. Дьяконова // Різноманіття: теорія, практика та методичні аспекти вивчення в загальноосвітній та вищій школі: Міжнар. наук.-практ. конф., 2008 р.: матеріали конф. – Полтава, 2008. – С. 242-245. (Особистий внесок – узагальнення результатів. Підготовка тез.)
21. Gas chromatography with mass-spectrometric detection of the components of the essential oils from Achillea carpatica Blocki ex Dubovik and Echinacea pallida (Nutt.) Nutt. / O. A. Kyslychenko, Ya. V. Dyаkonova, V. A. Khanin, R. Ye. Darmogray // The application of chromatographic methods in phytochemical & biomedical analysis: 6th International symposium on chromatography of natural products (ISCNP), 15-18 June 2008: abstracts. – Lublin, 2008. – P. 136. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Підготовка тез.)
22. Кисличенко В. С. Изучение противовоспалительной активности сухого экстракта корней эхинацеи бледной / В. С. Кисличенко, Я. В. Дьяконова, Л. В. Брунь // Актуальні питання репродуктивної фармакології: І міжнар. наук.-практ. конф., 21 листоп. 2008 р.: матеріали конф. – Х., 2008. – С. 60. (Особистий внесок – проведення експериментальних досліджень та узагальнення результатів. Підготовка тез.)

 **Дьяконова Я.В.** Фармакогностичне вивчення Echinacea pallida Nutt. – Рукопис.

 Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, Київ, 2009.

Дисертація присвячена вивченню біологічно активних речовин ехінацеї блідої. Досліджено якісний склад та визначено кількісний вміст основних груп біологічно активних речовин в сировині. Виділено в індивідуальному стані та встановлено структуру 26 сполук. Встановлено наявність та кількісний вміст 17 амінокислот; 28 жирних кислот; 58 терпенів; 19 макро- та мікроелементів.

Розроблено спосіб одержання сухого екстракту з коренів ехінацеї блідої. На основі сухого екстракту розроблено добавку дієтичну «Імунозахист». Встановлено, що за параметрами гострої токсичності екстракт з коренів ехінацеї блідої та дієтична добавка «Імунозахист» відносяться до практично нетоксичних речовин та виявляють протизапальну, репаративну, адаптогену та антимікробну активність.

Розроблено проекти аналітичної нормативної документації на лікарську рослинну сировину «Трава ехінацеї блідої», «Корені ехінацеї блідої» та «Сухий екстракт з коренів ехінацеї блідої». Розроблено ТУ У 15.8-31062507-016:2008 на продукт спеціальний харчовий – дієтичну добавку «Імунозахист», до складу якого входить сухий екстракт з коренів ехінацеї блідої.

 **Ключові слова:** ехінацея бліда, сухий екстракт, біологічно активні речовини, біологічна активність.

 **Дьяконова Я.В.** Фармакогностическое изучение Echinacea pallida Nutt. – Рукопись.

 Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, Киев, 2009.

Диссертация посвящена изучению биологически активных веществ (БАВ) эхинацеи бледной и созданию на основе этого растительного сырья лекарственных средств. Исследован качественный состав и определено количественное содержание основных групп БАВ в надземных и подземных органах эхинацеи бледной.

Установлено наличие свободных и связанных сахаров, полисахаридов, свободных аминокислот, хлорофиллов, каротиноидов, гидроксикоричных кислот, фенольного гликозида эхинакозида, дубильных веществ, кумаринов, флавоноидов, сапонинов.

Были выделены в индивидуальном виде 26 соединений: 5 производных коричной кислоты (кофейная кислота, *п*-кумаровая кислота, феруловая кислота, хлорогеновая кислота, неохлорогеновая кислота), 6 производных кумарина (кумарин, умбелиферон, скополетин, эскулетин, скополин, эскулин), 9 флавоноидов (лютеолин, кемпферол, кверцетин, астрагалин, никотифлорин, авикулярин, гиперозид, изокверцетин, рутин), 2 тритерпеноида, (урсолова и олеанолова кислоты), 1 стерин (β-ситостерин), 2 хлорофилла (хлорофилл а и хлорофилл b) и 1 меланин (фитомеланин). Структуру выделенных соединений устанавливали при помощи физико-химических свойств, данных УФ-, ИК-спектроскопии в сравнении с достоверными образцами. Умбелиферон, скополетин, эскулетин, скополин, эскулин и меланин выделены впервые. Установлено присутствие и количественное содержание 17 аминокислот (9 из которых являются незаменимыми), 28 жирных кислот (14 являются ненасыщенными), 58 терпенов, 19 микро- и макроэлементов.

Гравиметрическим методом в корнях, листьях, стеблях и цветках определено количественное содержание полисахаридов (водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ, гемицеллюлозы); спектрометрическим методом в пересчете на фруктозу в траве и корнях – фруктозанов; спектрометрическим методом в пересчете на лейцин в корнях и траве – аминокислот; методом газожидкостной хроматографии в липофильных фракциях корней, листьев, стеблей, цветков – жирных кислот; методом газовой хроматографии в липофильных фракциях корней и плодов – токоферолов; гравиметрическим методом в корнях – меланина; спектрофотометрическим методом в корнях и траве в пересчете на хлорогеновую кислоту – гидроксикоричных кислот; методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в корнях и траве – эхинакозида; спектрометрическим методом в пересчете на рутин в траве – флавоноидов; титриметрическим методом в корнях и траве – суммы окисляемых фенолов; титриметрическим методом в корнях, цветках, стеблях, листьях – аскорбиновой кислоты; методом гидродистилляции в корнях, траве, плодах – эфирного масла; методом газовой хроматографии/масс-спектрометрии в эфирном масле корней, травы, плодов – компонентов эфирных масел.

Впервые проведено анатомическое изучение надземных и подземных органов эхинацеи бледной и определены их основные отличительные диагностические признаки.

Черешок листка по форме на поперечном срезе расширено-подкововидный многопучковый. Проводящая система распадается на 3 и больше пучков. Опушение в большей степени характерно для нижней эпидермы листовой пластины и представлено простыми и железистыми трихомами. Все составляющие клеток железистого волоска эпителиальные содержат коричневое содержимое.

Корневище на поперечном срезе беспучкового типа строения. В паренхиме коры встречаются большие схизогенные вместилища. На продольном срезе эти вместилища яйцевидной формы, заполнены оранжевым содержимым. На поперечном срезе корневища равномерно по всему диаметру встречаются склереиды. Склереиды со всех сторон окружены межклеточниками, в которых присутствует фитомеланин черного цвета.

Впервые установлены оптимальные условия и разработан способ получения сухого экстракта из корней эхинацеи бледной (новизна разработанного оригинального фитосредства подтверждена патентом Украины №38728 от 12.01.09). На основе сухого экстракта разработан специальный пищевой продукт – добавка диетическая «Иммунозащита». При изучении острой токсичности было установлено, что сухой экстракт из корней эхинацеи бледной и специальный пищевой продукт – диетическая добавка «Иммунозащита» относятся к практически нетоксичным веществам и проявляют противовоспалительное, репаративное, адаптогенное и антимикробное действие.

Разработаны проекты аналитической нормативной документации на лекарственное растительное сырье «Трава эхинацеи бледной», «Корни эхинацеи бледной» и «Сухой екстракт из корней эхинацеи бледной». Разработаны ТУ У 15.8-31062507-016:2008 на продукт специальный пищевой – диетическую добавку «Иммунозащита», в состав которой входит сухой экстракт из корней эхинацеи бледной.

 **Ключевые слова**: эхинацеябледная, сухой экстракт, биологически активные вещества, биологическая активность.

 **Dyakonova Ya. V.** Pharmacognostical study of Echinacea pallida Nutt. – A manuscript.

 The dissertation for the candidate scientific degree in pharmacy 15.00.02 – pharmaceutical chemistry and pharmacognosy. – National Medical Academy of Postgraduate Education named by P.L. Shupik, Kyiv 2009.

 The dissertation is devoted to the study of biologically active substances (BAS) in Echinacea pallida Nutt. The system phytochemical study Echinacea pallida Nutt. The qualitative composition and quantitative contents of the basic groups BAS of Echinacea pallida Nutt. were investigated. 26 substances have been isolated from grass and roots of Echinacea pallida Nutt. and their structures have been determined. Qualitative composition and quantitative content of 17 amynoacids, 19 macro- and microelements, 28 fatty acids, 58 terpens.

**The complex method to obtain the dry extract from grass of Echinacea pallida Nutt. was developed. It was determined that this extract almost hasn’t got any toxicity and can have anti-inflammatory, reparatory, adaptational and anti-microbic activity.**

**The draft of specification U 15.8-31062507-016:2008 on special food substance – dietetic additive** «**Imunozahist» (which have the dry extract from Echinacea pallida Nutt. roots). The draft of Analytical Normative documentation were developed on plant raw material “Echinacea pallida Nutt. grass”, “Echinacea pallida Nutt. roots”, “Dry extract from Echinacea pallida Nutt. roots”.**

Key words**: Echinacea pallida Nutt., dry extract, biologically active substances, biological activity.**

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