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

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ**

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**КУЗНЄЦОВА ВІКТОРІЯ ЮРІЇВНА**

УДК:582:783:547.56:663.252.6

**ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН VITIS VINIFERA ТА СТВОРЕННЯ НА ЇХ ОСНОВІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

**Автореферат**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата фармацевтичних наук

**Харків-2006**

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,  завідувач кафедри хімії природних сполук |
|  |  |
| **Офіційні опоненти:** | доктор фармацевтичних наук, професор  **Сербін Анатолій Гаврилович**  Національний фармацевтичний університет,  завідувач кафедри ботаніки; |
|  |  |
|  | доктор фармацевтичних наук, старший науковий співробітник  **Мартинов Артур Вікторович**  Інститут мікробіології та імунології  ім. І.І. Мечникова АМН України, вчений секретар |
|  |  |
| **Провідна установа:** | Запорізький державний медичний університет,  кафедра фармакогнозії |

Захист відбудеться "\_\_\_\_" \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2006 року 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 ознайомитися у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4).

Автореферат розісланий "\_\_\_\_" \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2006 року.

Вчений секретар

спеціалізованої Вченої ради

професор Л.М.Малоштан

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Пошук рослин з достатньою сировинною базою, комплексне використання сировини з метою створення нових лікарських засобів пояснює інтерес до вивчення плодово-ягідних культур. До яких належить виноград культурний - Vitis vinifera, родини Vitaceae, плоди якого широко використовуються в харчовій промисловості, виноробстві. Відходом виробництва є виноградна вичавка, яка складається на 43-45 % зі шкірочки виноградних ягід, 22-32 % насіння, 24-26 % гребенів, незначної кількості м’якоті та містить значну кількість біологічно активних речовин (БАР).

На практиці потенціал БАР та природний ресурс виноградної вичавки використовуються недостатньо. Більш ніж 80 % вичавок застосовуються як добриво і лише незначна кількість входить до складу біологічно активних добавок. Інтерес до вичавки винограду, як вторинного виду сировини, обумовлений рядом факторів, серед яких: до складу вичавки входить комплекс БАР, якісний склад і кількісний вміст яких, дозволяє розглядати її як джерело для виробництва лікарських засобів, біологічно активних добавок та косметичних засобів; потенційні об’єми виноградної вичавки дозволяють класифікувати її як промислову сировину; зростаючі об’єми виноградної вичавки, які щорічно утворюються при переробці виноградних ягід, можуть складати серйозну загрозу для довкілля і тому потребують розробки ефективних шляхів її утилізації.

Крім виноградної вичавки ще одним відходом при чеканці виноградної лози є листя винограду.

Наявність достатньої сировинної бази, вміст великої кількості різних груп БАР, що мають різноманітну фармакологічну дію і розробка на їх основі нових лікарських засобів є актуальною проблемою сучасної фармації.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами**. Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом проблемної комісії "Фармація" МОЗ України і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи „Створення нових лікарських препаратів на основі рослинної та природної сировини, зокрема продуктів бджільництва, для дорослих і дітей” Національного фармацевтичного університету (номер державної реєстрації 0198U007008).

**Мета і задачі дослідження.** Метоюроботи було вивчення різних груп БАР листя та вичавок винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньйон та визначення можливості створення лікарських засобів на їх основі.

Для досягнення цієї мети були поставлені наступні задачі:

* провести інформаційний пошук, критичний аналіз сучасного стану досліджень за темою дисертаційної роботи;
* провести попередні фітохімічні дослідження якісного складу листя та вичавок винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньйон;
* виділити в індивідуальному стані БАР і встановити їх структуру;
* визначити кількісний вміст основних груп БАР в листі та вичавках винограду обох сортів;
* розробити спосіб одержання і стандартизації екстракту з листя винограду культурного сорту Ізабелла;
* встановити основні анатомо-діагностичні ознаки листя винограду сорту Ізабелла;
* провести стандартизацію сировини та густого екстракту та розробити проекти АНД;
* підтвердити можливість створення нових лікарських засобів з сировини, що вивчалася шляхом вивчення фармакологічної активності отриманих субстанцій.

*Об’єкти дослідження:* біологічно активні речовини, що містяться в листі та вичавках винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньйон.

*Предмет дослідження:* виявлення, виділення, ідентифікація БАР вичавок та листя винограду культурного, створення на їх основі нових лікарських засобів, вивчення їх фармакологічної активності.

*Методи дослідження:* Якісний і кількісний вміст БАР визначали фармакопейними методами, а також використовували тонкошарову (ТШХ), паперову (ПХ) та газорідинну хроматографію (ГРХ). Ліпофільні комплекси досліджували за допомогою тривимірної скануючої спектрофлуориметрії в ультрафіолетовому та видимому діапазонах спектру. Для розділення БАР використовували колонкову хроматографію на поліаміді та силікагелі, а також препаративну хроматографію на папері і в тонкому шарі сорбенту. Хімічну будову виділених сполук встановлювали за допомогою УФ-, ІЧ-, ПМР-спектрів, температури плавлення та їх хімічних перетворень. Анатомічну будову листя вивчали на препаратах з поверхні та поперечних зрізах. Фармакологічні дослідження проводили in vitro та in vivo.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше проведено систематичне фітохімічне вивчення БАР листя та вичавок деяких сортів винограду культурного, що культивуються на території України.

Встановлено в них наявність та кількісний вміст вуглеводів, амінокислот, флавоноїдів, антоціанів, гідроксикоричних кислот, дубильних речовин, щавлевої кислоти, хлорофілів, каротиноїдів, жирних кислот, макро- і мікроелементів.

З листя та вичавок винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньйон в індивідуальному стані виділено 35 речовин: 2 похідні бензойної кислоти, 4 гідроксикоричні кислоти, 3 похідні кумарину, 18 флавоноїдів, 5 антоціанів, 1 стільбен, 2 органічні кислоти. З них елагова кислота, апігенін, ізорамнетин, нікотифлорин, ізорамнетин-3-О-β-D-глюкопіранозид, таксифолін виділені вперше. Визначено наявність 16 амінокислот, 18 макро- і мікроелементів, ідентифіковано 11 вільних жирних кислот.

Розроблено спосіб одержання густого екстракту з листя винограду культурного сорту Ізабелла, для якого визначена гостра токсичність і гепатопротекторна активність.

Новизна досліджень підтверджена та захищена деклараційним патентом України на винахід № 59681А та деклараційним патентом України на корисну модель № 15745.

Вперше вивчена імуностимулююча активність подрібнених вичавок винограду культурного сорту Каберне-Совіньйон, а також вивчені анатомічні ознаки листя винограду культурного сорту Ізабелла, які можуть бути використані для діагностики лікарської рослинної сировини.

**Практичне значення отриманих результатів.** Розроблено спосіб одержання густого екстракту з листя винограду культурного сорту Ізабелла з гепатопротекторною активністю. Розроблені проекти аналітичної нормативної документації (АНД) на „Листя винограду культурного сорту Ізабелла”, „Густий екстракт з листя винограду культурного сорту Ізабелла” та „Вичавки винограду культурного сорту Каберне-Совіньйон”.

Результати досліджень впроваджені в навчальний процес кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету, кафедри якості, стандартизації та сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації, кафедри фармакогнозії і ботаніки Львівського державного медичного університету ім. Д.Галицького, кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету

ім. І.Я. Горбачевського.

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

* інформаційний пошук за темою дисертаційної роботи, синтез і аналіз отриманих даних, аналіз сучасних досліджень за проблематикою, що вивчалася, результати яких стали підгрунтям до вибору об’єктів дослідження;
* встановлено наявність і визначено кількісний вміст полісахаридів (та їх фракційний склад), амінокислот, флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, антоціанів, дубильних речовин, жирних кислот, хлорофілів, каротиноїдів, щавлевої кислоти, макро-та мікроелементів;
* виділено та ідентифіковано 35 сполук;
* розроблено спосіб одержання густого екстракту з листя винограду культурного сорту Ізабелла;
* вивчено анатомічну будову листя винограду культурного сорту Ізабелла;
* розроблено проекти АНД на сировину „Листя винограду культурного сорту Ізабелла”, „Вичавки винограду культурного сорту Каберне-Совіньйон” та „Густий екстракт з листя винограду культурного сорту Ізабелла”.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення роботи викладені та обговорені на науковій конференції „Биологически активные природные соединения винограда: применение в медицине продуктов с высоким содержанием полифенолов винограда” (Сімферополь,2003), III Міжнародній науково-практичній конференції „Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія” (Харків,2003), науково-практичній конференції „Фітотерапія в реабілітації хворих” (Київ,2003), Всеукраїнському науково-практичному семінарі „Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії” (Харків,2004), науково-практичній конференції з міжнародною участтю „Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономіка лікарських засобів та біологічно активних добавок” (Тернопіль, 2004), 6 міжнародному симпозіумі з хімії природних сполук „6th International Symposium on the chemistry of natural compounds (SCNC), (Анкара-Туреччина,2005), науково-практичній конференції „Актуальные проблемы образования, науки и производства в фармации” (Ташкент,2005), VI Національному з‘їзді фармацевтів України „Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України” (Харків,2005), Другому міжнародному симпозіумі „Методи хімічного аналізу” (Ужгород, 2005).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових робіт, в тому числі 8 статей у фахових наукових виданнях, 10 тез доповідей, 2 патенти України.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, чотирьох розділів, загальних висновків, списку літературних джерел та додатків. Дисертація викладена на 181 сторінці машинописного тексту, ілюстрована 33 рисунками та 28 таблицями. Список літератури включає 197 джерел, з них 165 кирилицею та 32 латиницею.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Ботанічна характеристика, хімічний склад,**

**застосування в медицині винограду культурного**

В огляді літератури наведено ботанічну характеристику, дані про хімічний склад і застосування винограду культурного. Дані літератури свідчать, що виноград культурний широко культивується в південних областях України та використовується в харчовій промисловості і в виноробстві, відходом якого є виноградна вичавка, а при чеканці виноградної лози залишаються ще й листя винограду. Хімічний склад виноградної вичавки та листя, їх щорічні запаси дають змогу говорити про перспективність їх фітохімічного та фармакологічного дослідження.

**Дослідження хімічного складу листя та вичавок винограду культурного з виділенням і встановленням структури біологічно активнх сполук**

Об’єктами наших досліджень були вичавки винограду культурного двох сортів Каберне-Совіньйон та Ізабелла і листя винограду сорту Ізабелла.

Вичавки винограду сорту Каберне-Совіньйон були надані Інститутом винограду і вина “Магарач” (м.Ялта). Листя винограду сорту Ізабелла були зібрані в Харківській області в 2003-2004 роках в період чеканки виноградної лози. Вичавки винограду сорту Ізабелла, були отримані з винограду даного сорту (після вичавлювання соку), також зібраного в Харківській області.

За допомогою якісних реакцій, ТШХ та ПХ в листі та вичавках винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньйон було виявлено амінокислоти, полісахариди, вільні цукри, дубильні речовини, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, антоціани, стільбени, щавлева кислота.

Для вивчення якісного складу ліпофільних фракцій методом тривимірної скануючої спектрофлуориметрії в ультрафіолетовому та видимому діапазонах спектру отримали тривимірні спектри флуоресценції.

Аналіз одержаних спектрів дозволив зробити висновок щодо наявності хлорофілів А і Б, ліпідів та фосфоліпідів і агліконів деяких флавоноїдів.

Методом колонкової адсобційної хроматографії, рехроматографії на поліаміді і силікагелі, препаративної хроматографії на папері та в тонкому шарі з листя та вичавок винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньйон було виділено та ідентифіковано 35 речовин: з них 2 похідні бензойної кислоти, 4 гідроксикоричні кислоти, 3 гідроксикумарини, 2 флавони, 4 флавоноли, 3 С-глікозиди флавонів, 2 глікозиди кемпферолу, 5 глікозидів кверцетину, 1 глікозид ізорамнетину, 1 флаван, 5 антоціанів, 1 стільбен, 2 органічні кислоти. Основні фізико-хімічні властивості речовин, виділених з листя та вичавок винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньйон наведені в таблиці 1. Речовини 2.2, 2.10, 2.15, 2.20, 2.26, 2.27 були виділені з об’єктів, що досліджувалися вперше.

Структуру виділених речовин встановлювали за допомогою фізичних, хімічних та фізико-хімічних методів аналізу.

**Похідні бензойної кислоти.** Речовини 2.1 і 2.2 утворювали з 1 % розчином хлориду заліза (ІІІ) синє і сіре забарвлення відповідно, що свідчило про їх фенольну природу. Крім того, при обробці речовини 2.1 лугом утворювалося червоно-фіолетове забарвлення, яке переходило в буре, що дозволило припустити наявність галоїльного угруповування. Речовина 2.2 давала позитивну реакцію на вільну елагову кислоту - червоно-фіолетове забарвлення з нітритом натрію в оцтовокислому середовищі. На підставі проведених досліджень і порівняння з вірогідними зразками речовини 2.1 і 2.2 ідентифіковані відповідно як галова та елагова кислоти (таблиця 1).

**Похідні коричної кислоти.** Речовини 2.3-2.6 - давали позитивні реакції на фенольний гідроксил (з заліза (ІІІ) хлоридом, діазотованою сульфаніловою кислотою). Кислотні властивості виявлені на підставі утворення синіх плям на паперовій хроматограмі з бромтимоловим синім. При обробці хроматограм реактивом барбітурової кислоти плями речовин 2.4, 2.5 давали блакитне забарвлення, що свідчило про наявність у їх складі хінної кислоти.

На підставі проведених досліджень і порівняння з вірогідними зразками речовини 2.3-2.6 відповідно ідентифіковані як кавова, хлорогенова, неохлорогенова та *n*-кумарова кислоти (таблиця 1).

**Гідроксикумарини.** Дана група представлена 3 речовинами, які були виділені з листя винограду культурного сорту Ізабелла.

Речовини 2.7-2.9 на підставі якісних реакцій, флуоресценції в УФ-світлі були віднесені до гідроксикумаринів. Для речовин 2.7, 2.8, 2.9 характерна яскраво-блакитна флуоресценція, яка підсилюється при обробці лугом.

Речовини 2.7-2.9 розщеплювалися в середовищі рідкого фенолу та оцтового ангідриду до кумарину, що дозволило віднести їх до похідних бензо-α-пірону. На підставі фізико-хімічних властивостей, УФ- та ІЧ-спектрів, а також порівняння з вірогідними зразками речовини 2.7-2.9 ідентифіковані відповідно як умбеліферон, скополетин, ескулетин (таблиця 1).

### Таблиця 1

# Основні фізико-хімічні властивості речовин, виділених з листя та вичавок винограду культурного

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Речовина,її структурна характеристика | Джерело отримання сполуки | Т пл. 0С | | [α],  град | | | УФ-спектр, λ нм | Rf у системах розчинників• | | | | |
| Система | | | Rf | |
| 1 | 2 | 3 | | 4 | | | 5 | 6 | | | 7 | |
| **Похідні бензойної кислоти** | | | | | | | | | | | | |
| **2.1 Галова кислота** (3,4,5-тригідроксибензойна кислота) | листя винограду сорту Ізабелла, вичавки винограду сорту Ізабелла та Каберне-Совіньйон | 226-228 | | - | | 272 | | 1 | | 0,65 | | |
| **2.2 Елагова кислота** (дилактон гексагідрокси-  дифенової кислоти) | -“- | 360 розк. | | - | | 366 | | 1  3 | | 0,33  0,82 | | |
| **Похідні коричної кислоти** | | | | | | | | | | | | |
| **2.3 Кавова кислота** (3,4-дигідроксикорична кисло-  та) | -“- | | 194-195 | | - | 325  300  245 | | | 1  3 | | | 0,81  0,32 |
| **2.4 Хлорогенова кислота** (5-О-кофеїл-D-хінна кис-  лота) | -“- | | 203-205 | | -32 (метанол) | 325  300  245 | | | 1  3 | | | 0,62  0,66 |
| **2.5. Неохлорогенова** (3-О-кофеїл-D-хінна кислота) | -“- | | аморф. | | +2,6 (етанол) | 325  300  245 | | | 1  3 | | | 0,66  0,7 |
| **2.6 *n*-кумарова кислота** (4-гідроксикорична кисло-  та) | -“- | | 212-214 | | - | 310  228 | | | 1  3 | | | 0,89  0,48 |

Продовження таблиці 1

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | | 3 | | 4 | 5 | 6 | | | 7 |
| **Гідроксикумарини** | | | | | | | | | | |
| **2.7 Умбеліферон**  (7-гідроксикумарин) | листя винограду культурного сорту Ізабелла | 228-230 | | | - | 218  251  323 | 3  4 | | 0,64  0,36 | |
| **2.8 Скополетин**  (6-метокси-7-гідрокси-  кумарин) | -“- | 202-204 | | | - | 228  340 | 3  4 | | 0,5  0,58 | |
| **2.9 Ескулетин** (6,7-дигідроксикумарин) | -“- | 344-350 | | | - | 230  258  270  316 | 3  4 | | 0,51  0,08 | |
| **Флавони** | | | | | | | | | | |
| **2.10 Апігенін**  (5,7,4’ – тригідрокси-  флавон) | листя винограду сорту Ізабелла, вичавки винограду сорту Ізабелла та Каберне-Совіньйон | 345-346 | | | - | 275  321  401 | 1  3 | | | 0,9  0,1 |
| **2.11 Лютеолін**  (5,7,3′, 4′ - тетрагідрокси-  флавон) | -“- | 327-328 | | | - | 255  318  350  410 | 1  3 | | | 0,82  0,11 |
| **Флавоноли** | | | | | | | | | | |
| **2.12 Кверцетин**  (3,5,7,3′,4′-пентагідрокси-  флавон) | -“- | | 310-312 | | - | 375  268  256 | 1  3 | | | 0,69  0,7 |
| **2.13 Кемпферол**  (3,5,7,4′-тетрагідрокси-  флавон) | -“- | | 276-278 | | - | 366  266 | 1  3 | | | 0,83  0,1 |
| **2.14 Мірицетин**  (3,5,7,3′,4′,5′-гексагідроксифлавон) | -“- | | 352-354 | | - | 374  272  254 | 5 | | | 0,24 |
| **2.15 Ізорамнетин**  (3,5,7,4′-тетрагідрокси - 3′ - метоксифлавон) | | -“- | | 167-170 | | - | 370  265  254 | 1  3 | | | 0,85  0,11 |
| **С-глікозиди флавонів** | | | | | | | | | | | |
| **2.16 Вітексін**  (апігенін-8-С-β-D-глюкопіранозид) | | листя винограду культурного сорту Ізабелла | 263-265 | | -14,2 (етанол) | | 280  300  389 | | 1  3 | | 0,58  0,36 |
| **2.17 Сапонаретин**  (лютеолін-6-С-β-D-глюкопіранозид) | | -“- | 259-261 | | +48  (етанол) | | 280  300  405 | | 1  3 | | 0,72  0,61 |

Продовження таблиці 1

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | | | | 3 | | | | 4 | | 5 | | | 6 | | 7 |
| **2.18 Гомоорієнтин**  (апігенін-6-С-β- D-глюкопіранозид) | | -“- | | | | 220-222 | | | | +21  (етанол) | | 284  307  322  350 | | | 1  3 | | 0,38  0,44 |
| **Глікозиди кемпферолу** | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| **2.19 Астрагалін**  (кемпферол-3-О-β-D-глюкопіранозид) | | листя винограду сорту Ізабелла, вичавки винограду сорту Ізабелла та Каберне-Совіньйон | | | 175-176 | | | | -12  (етанол) | | | 375  270 | | | 1  3 | | 0,69  0,37 |
| **2.20 Нікотифлорин**  (кемпферол-3-О-β-D-рутинозид) | | -“- | | | 220-223 | | | | -24  (метанол) | | | 350  298  266 | | | 1  3 | | 0,49  0,58 |
| **Глікозиди кверцетину** | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| **2.21 Авікулярин**  (кверцетин-3-α-L-арабінофуранозид) | | | листя винограду культурного сорту Ізабелла | | | | 220-222 | | | | -66  (метанол) | | | 358  257 | 1 | 0,58 | |
| **2.22 Гіперозид**  (кверцетин-3-О-β-D-галактопіранозид) | | | листя винограду сорту Ізабелла, вичавки винограду сорту Ізабелла та Каберне-Совіньйон | | | | 235-236 | | | | -58,9  (етанол) | | | 350  255  265 | 1  3 | 0,53  0,32 | |
| **2.23 Ізокверцитрин**  (кверцетин-3-О-β-D-глюкопіранозид) | | | -“- | | | | 227-229 | | | | -12,5  (метанол) | | | 355  267  256 | 1  3 | 0,52  0,36 | |
| **2.24 Кверцитрин**  (кверцетин-3-О-α-L-рамнопіранозид) | | | -“- | | | | 182-185 | | | | - | | | 355  257 | 1  3 | 0,63  0,49 | |
| **2.25 Рутин**  (кверцетин-3-О-β-D-рутинозид) | | | -“- | | | | 189-192 | | | | -32,3  (метанол) | | | 362  268  258 | 1  3 | 0,46  0,54 | |
| **Глікозиди ізорамнетину** | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| **2.26 Ізорамнетин-3-О-β-D-глюкопіранозид** | | | | -“- | | | | 244-246 | | | -59  (ДМФА) | | 357  302  255 | | 1  3 | 0,46  0,59 | |

Продовження таблиці 1

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | | 2 | | | | | 3 | | 4 | | | | | | 5 | 6 | | | | | 7 |
| **Флавани** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| **2.27 Таксифолін**  (3,5,7,3′,4′-пентагідроксифлаван) | | | | | | листя винограду культурного сорту Ізабелла | | | 232-234 | | +63,8  (піридин) | | | | 288  322 | | | | 1  3 | | | 0,88  0,04 |
| **Антоціани** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| **2.28 Дельфінідин-3-О-глікозид** | | | | вичавки винограду сорту Ізабелла та Каберне-Совіньйон | | | | | 182-183 | | | | - | | 276  535 | | | 1 | | | | 0,16 |
| **2.29 Мальвідин-3-О-глікозид** | | | | -“- | | | | | 174-176 | | | | - | 270  530 | | | | 6 | | | | 0,48 |
| **2.30 Ціанідин-3-О-глікозид** | | | | -“- | | | | | 215-217 | | | | - | 533  282 | | | | 6 | | | | 0,4 |
| **2.31 Мальвідин-3,5-диглікозид** | | | | -“- | | | | | 162-163 | | | | - | 515  278 | | | | 1 | | | | 0,18 |
| **2.32 Ціанідин-3,5-диглікозид** | | | | -“- | | | | | 203-204 | | | | - | 275  525 | | | | 1 | | | | 0,15 |
| **Стільбени** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| **2.33 Ресвератрол**  (3,5,4′-тригідроксистільбен) | | | | | -“- | | | | 246-247 | | | | - | 285  295  305  330 | | | | 1 | | | | 0,73 |
| **Органічні кислоти** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| **2.34 Щавлева кислота** | листя винограду сорту Ізабелла | | | | | 189-190 | | | | | - | | - | | | | | | 7 | 0,9\* | |
| **2.35 Винна кислота** | листя винограду сорту Ізабелла, вичавки винограду сорту Ізабелла та Каберне-Совіньйон | | | | | 170-171 | | | | | +11,9 | | - | | | | | | 7 | 0,48\* | |

Примітки: “\*” - плями з’являлися на хроматограмі після обробки їх реактивом бромфеноловим синім.

“-” – визначення данного показника не проводили;

“•“ - системи розчинників при паперовій та тонкошаровій хроматографії

|  |  |
| --- | --- |
| Системи розчинників: | |
| 1 - н-бутанол-оцтова кислота-вода (4:1:2);  2 - 2 % оцтова кислота; | 6 - етилацетат-оцтова кислота-мурашина кислота-вода (100:11:11:25); |
| 3 - 15 % оцтова кислота;  4 – хлороформ (формамід 25 %); | 7 – етилацетат-мурашина кислота-вода (3:1:1). |
| 5 - хлороформ - оцтова кислота - вода (13:6:2); |  |

**Флавоноїди.** З флавоноїдних сполук нами було виділено 23 речовини, які представлені агліконами, монозидами та біозидами. Серед агліконів, виділених нами у вільному стані є речовини, які можна віднести до різних груп флавоноїдів (флавони, флавоноли, флавани). Глікозиди флавоноїдів, які були виділені з об’єктів, що досліджувалися, представлені монозидами, біозидами та диглікозидами. Речовини 2.10, 2.11 є флавоновими агліконами – апігенін та лютеолін; речовини 2.12-2.15 є флавоноловими агліконами - кверцетин, кемпферол, мірицетин, ізорамнетин; речовини 2.16-2.18 є С-глікозидами флавонів - вітексин, сапонаретин, гомоорієнтин; речовини 2.19 та 2.20 є глікозидами кемпферолу - астрагалін, нікотифлорин; речовини 2.21-2.25 є глікозидами кверцетину - авікулярин, гіперозид, ізокверцитрин, кверцитрин, рутин; речовина 2.26 є глікозидом ізорамнетину - ізорамнетин-3-О-β-D-глюкопіранозид; речовина 2.27 є флаваном – таксифолін; речовини 2.28-2.32 є антоціанами - дельфінідин-3-О-глікозид, мальвідин-3-О-глікозид, ціанідин-3-О-глікозид, мальвідин-3,5-диглікозид, ціанідин-3,5-диглікозид про що свідчать якісні реакції, хроматографічна поведінка в різних системах розчинників, дані УФ-, ІЧ-, ПМР спектрів та результати хімічних перетворень.

**Стільбени.** В УФ-спектрі речовини 2.33 виявлені наступні максимуми: 285 нм, 295 нм, 305 нм, 330 нм. Характер замісників в ароматичній частині молекули речовини 2.33, виявлений за ПМР спектром показав вільні протони в положенні 2,4,6,2′,3′,5′,6′. Змішана проба з вірогідним зразком не давала депресії температури плавлення. За рухливістю на хроматограмі та УФ і ПМР-спектральними даними, температурі плавлення, виділена сполука ідентифікована з ресвератролом (3,5,4′-триоксистільбеном).

**Органічні кислоти.** На підставі фізико-хімічних властивостей та хроматографічного аналізу з вірогідними зразками речовини 2.34 та 2.35 були ідентифіковані як щавлева та винна кислоти.

**Визначення кількісного вмісту різних груп біологічно активних речовинв листі та вичавках винограду культурного**

З метою стандартизації, раціонального викоритання листя та вичавок винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньйон проведено вивчення кількісного вмісту основних груп БАР.

Визначення полісахаридів проводили за фракціями: водорозчинні полісахариди (ВРПС), пектинові речовини (ПР), геміцелюлози А і Б. Результати представлені в таблиці 2.

Після кислотного гідролізу було визначено мономерний склад полісахаридних фракцій за допомогою ПХ. Фракції ВРПС містили глюкозу, галактозу, ксилозу і арабінозу; фракції ПР містили глюкозу, ксилозу, арабінозу, кислоту галактуронову та глюкуронову; фракції ГЦ містили глюкозу, галактозу, арабінозу, ксилозу та рамнозу.

Таблиця 2

**Кількісний вміст полісахаридів за фракціями в листі та вичавках винограду культурного**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Об’єкт дослідження | Кількісний вміст, % | | | |
| ВРПС | ПР | ГЦ А | ГЦ Б |
| Листя винограду сорту Ізабелла | 4,03±0,02 | 4,78±0,07 | 15,23±0,09 | 6,52±0,05 |
| Вичавки винограду сорту Ізабелла | 3,46 ±0,05 | 1,77 ±0,02 | 8,03±0,06 | 3,0±0,06 |
| Вичавки винограду сорту Каберне-Совіньйон | 2,16±0,05 | 1,9±0,08 | 10,5 ±0,09 | 4,47 ±0,07 |

В об’єктах, що досліджувалися, виявлено та визначено кількісний вміст 16 зв’язаних амінокислот. Методом атомно-абсорбційної спектроскопії було визначено елементний склад об’єктів, що досліджувалися. Встановлено наявність та кількісний вміст 18 макро- та мікроелементів. В значній кількості листя винограду культурного сорту Ізабелла накопичували фосфор, магній та марганець. Вичавки обох сортів не відрізнялися високим вмістом макро- та мікроелементів у зв’язку з тим, що більшість їх залишається у соці при його вичавлюванні.

Якісними реакціями було підтверджено присутність у вільному стані та у вигляді розчинних і нерозчинних солей щавлевої кислоти як у листі, так і у вичавках винограду, тому наступним етапом роботи було визначення її кількісного вмісту (таблиця 3). Встановлено, що найбільша кількість щавлевої кислоти міститься у вичавках винограду сорту Каберне-Совіньйон.

Таблиця 3

**Кількісний вміст щавлевої кислоти в листі та вичавках винограду культурного**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Назва сировини | Вміст вільної та зв′язаної щавлевої кислоти, % | Вміст вільної щавлевої кислоти, % |
| Листя винограду культурного сорту Ізабелла | 2,10±0,04 | 1,79±0,02 |
| Вичавки винограду культурного сорту Ізабелла | 1,49±0,11 | 1,29±0,07 |
| Вичавки винограду культурного сорту Каберне-Совіньйон | 2,51±0,06 | 2,11±0,04 |

Зі сполук фенольного комплексу було визначено кількісний вміст дубильних речовин (за методом Левенталя та комплексонометричним методом), вміст гідроксикоричних кислот (спектрофотометричний метод у перерахунку на хлорогенову кислоту), флавоноїдів (спектрофотометричним методом у перерахунку на рутин), суми поліфенольних сполук (спектрофотометричним методом у перерахунку на галову кислоту) (таблиця 4). Основною групою біологічно активних сполук фенольної природи у вичавках винограду є антоціани, що й обумовлюють їх забарвлення у червоний колір. Для кількісного визначення суми антоціанів був використаний спектрофотометричний метод. Цей метод заснований на тому, що антоціани мають абсорбційний максимум в області 510-550 нм. Ця область досить віддалена від спектрів поглинання інших фенольних сполук, що містяться у вичавках (фенолкарбонові кислоти, катехіни, флавоноїди), що не може впливати на кількісне визначення антоціанів. Для визначення умов, які дають змогу вилучити найбільшу кількість антоціанів було проведено ряд досліджень. Перш за все було визначено вплив екстрагентів, що містять різну кількість хлоридної кислоти, а також температуру, при якій проводили екстракцію. Найбільш ефективною концентрацією екстрагенту був 50% етанол з додаванням 1 % хлоридної кислоти.

З метою комплексного вивчення були отримані ліпофільні фракції та вивчено їх якісний склад та кількісний вміст БАР. Методом газорідинної хроматографії було визначено кількісний вміст вільних жирних кислот. У всіх об’єктах, що досліджувалися переважають ненасичені жирні кислоти: олеїнова, лінолева та ліноленова. У ліпофільній фракції з вичавкок винограду сорту Каберне-Совіньйон сумарний вміст ненасичених жирних кислот склав 88,17%, в ліпофільній фракції з листя винограду культурного сорту Ізабелла 72,33%. В об’єктах, що досліджувалися, також визначено кількісний вміст хлорофілів та каротиноїдів.

Таблиця 4

**Кількісний вміст основних груп БАР у листі та вичавках винограду культурного**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Об’єкт дослідження | Кількісний вміст, % | | | | | |
| Флавоноїди | Гідроксикоричні кислоти | Антоціани | Дубильні речовини | | Сума поліфенольних сполук у перерахун-ку на галову кислоту |
| Пермангана-  тометричний  метод | Комплексо-  нометрич  ний метод |
| Листя винограду сорту Ізабелла | 3,10±0,03 | 5,10±0,09 | - | 7,48±0,05 | 2,21±0,02 | 3,97±0,05 |
| Вичавки винограду сорту Ізабелла | 0,23±0,03 | 1,54±0,07 | 1,76±0,03 | 4,84±0,05 | 2,92±0,02 | 1,05±0,06 |
| Вичавки винограду сорту Каберне-Совіньйон | 0,55±0,08 | 7,68±0,10 | 5,38±0,04 | 13,38±0,14 | 5,53±0,06 | 5,24±0,03 |

**Одержання екстракту з листя винограду культурного, стандартизація сировини, субстанцій на їх основі та вивчення їх фармакологічних властивостей**

З метою створення нових лікарських засобів з достатньою сировинною базою був розроблений спосіб одержання густого екстракту з листя винограду культурного сорту Ізабелла, підтверджений деклараційним патентом України на корисну модель № 15745.

Оптимальними умовами виділення БАР з сировини є екстракція подрібненої сировини 40 % етанолом при кімнатній температурі протягом 18 годин. Оптимальне співвідношення між сировиною та екстрагентом – 1:12. Вихід екстракту склав 19,6 %. Густий екстракт з листя винограду культурного – це в’язка маса темно-коричневого кольору однорідної густої консистенції з характерним запахом та кислувата за смаком.

Вивчення гострої токсичності та гепатопротекторної активності густого екстракту з листя винограду культурного сорту Ізабелла проводили на базі кафедри біологічної хімії Національного фармацевтичного університету (НФаУ) при консультативній допомозі професора Л.М. Вороніної.

При дослідженні гострої токсичності густого екстракту з листя винограду культурного встановлено, що він є практично нетоксичним при внутрішньошлунковому введенні.

Вивчення гепатопротекторної активності густого екстракту з листя винограду культурного проводили на скринінговій моделі ушкодження печінки на моделі тетрахлорметанового гепатиту. В якості препарату порівняння використовували силібор. Введення дослідним тваринам на тлі гострого токсичного гепатиту екстракту з листя винограду супроводжувалося помітним зменшенням патологічних проявів, що позначалося нормалізацією МКП, зниженням вмісту ТБК-реактантів на 19,78% порівняно з контрольною патологією, нормалізацією рівня ВГ та активності каталази. Введення екстракту з листя винограду культурного супроводжувалося також достовірним, на відміну від ефекту силібору, зменшенням активності АлАТ на 30% порівняно із значенням цього показника у нелікованих тварин.

Для подрібнених вичавок винограду культурного сорту Каберне-Совіньйон проведені фармакологічні дослідження імуностимулюючих властивостей. Дослідження проводилися на базі кафедри мікробіології НФаУ при консультативній допомозі професора І.Л. Дикого. Було виявлено здатність подрібнених вичавок винограду сорту Каберне-Совіньйон моделювати фагоцитарну активність нейтрофілів периферичної крові.

Для розробки АНД на сировину нами були визначені основні мікродіагностичні ознаки листя винограду культурного сорту Ізабелла. Дослідження проводили на базі кафедри ботаніки НФаУ при консультативній допомозі професора А.Г. Сербіна. Визначені мікродіагностичні ознаки листя винограду культурного сорту Ізабелла використані при розробці відповідного розділу АНД на лікарську рослинну сировину “Листя винограду культурного сорту Ізабелла”. Також були розроблені проекти АНД на “Вичавки винограду культурного сорту Каберне-Совіньйон” та “Густий екстракт з листя винограду культурного сорту Ізабелла”

**ВИСНОВКИ**

1. Вперше проведено комплексне вивчення біологічно активних речовин Vitis vinifera, сортів, що є промисловими в Україні.
2. За допомогою якісних реакцій, хроматографічних методів аналізу, тривимірної скануючої спектрофлуоріметрії в листі та вичавках винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньйон виявлені полісахариди, вільні та зв’язані цукри, дубильні речовини, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, антоціани, стільбени, щавлева кислота, хлорофіли та каротиноїди.
3. З листя та вичавок винограду сорту Ізабелла та вичавок винограду сорту Каберне-Совіньйон виділено в індивідуальному стані 35 речовин. На основі фізико-хімічних властивостей вихідних речовин та продуктів їх хімічних перетворень, даних УФ-, ІЧ-, ПМР спектроскопії, порівнянні з вірогідними зразками встановлено їх структуру: похідні бензойної кислоти **-** галова та елагова кислоти; гідроксикоричні кислоти – кавова, хлорогенова, неохлорогенова, n-кумарова кислоти; гідроксикумарини – умбеліферон, скополетин, ескулетин; флавони – апігенін, лютеолін; флавоноли –кверцетин, кемпферол, мірицетин, ізорамнетин; С-глікозиди флавонів – вітексін, сапонаретин, гомоорієнтин; глікозиди кемпферолу – астрагалін, нікотифлорин; глікозиди кверцетину – авікулярин, гіперозид, ізокверцитрин, кверцитрин, рутин; глікозид ізорамнетину – ізорамнетин-3-О-β-D-глюкопіранозид; флаван – таксифолін; антоціани – дельфінідин-3-О-глікозид, мальвідин-3-О-глікозид, ціанідин-3-О-глікозид, мальвідин-3,5-диглікозид, ціанідин-3,5-диглікозид; стільбен – ресвератрол; органічні кислоти – щавлева та винна кислоти. З них елагова кислота, апігенін, ізорамнетин, нікотифлорин, ізорамнетин-3-О-β-D-глюкопіранозид, таксифолін виділені вперше.
4. Одержані фракції полісахаридів з листя та вичавок винограду: водорозчинні полісахариди, пектинові речовини, геміцелюлози А і Б; вперше методом хроматографії на папері вивчено їх мономерний склад.
5. Визначено кількісний вміст зв’язаних амінокислот, вміст макро- і мікроелементів, вільної і зв’язаної щавлевої кислоти. З речовин фенольної природи визначено кількісний вміст флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, дубильних речовин (перманганатометричний та комплексонометричний метод), суми поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту.
6. Вперше запропоновані оптимальні умови для максимального вилучення антоціанів з вичавок винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньйон та визначено їх кількісний вміст.
7. Отримані ліпофільні фракції та визначено в них кількісний вміст вільних жирних кислот, хлорофілів та каротиноїдів.
8. Розроблено спосіб одержання густого екстракту з листя винограду культурного сорту Ізабелла.
9. Проведено стандартизацію отриманого густого екстракту та визначена його гостра токсичність і гепатопротекторна активність. На спосіб одержання екстракту з листя винограду культурного отримано патент України на корисну модель № 15746.
10. Вперше проведені фармакологічні дослідження на здатність подрібнених вичавок винограду культурного сорту Каберне-Совіньйон впливати на імунні процеси.
11. Розроблені проекти АНД на “Листя винограду культурного сорту Ізабелла”, “Вичавки винограду культурного сорту Каберне-Совіньйон”, “Густий екстракт з листя винограду культурного сорту Ізабелла”.

**Список опублікованих праць за темою дисертації**

1. Кузнєцова В.Ю., Кисличенко В.С. Вивчення ліпофільного складу червоноплодих сортів винограду культурного // Збірн. Наук. Праць співроб. КМАПО ім. П.Л. Шупіка. - 2003. - вип. 12, кн.2. - С. 784-788. (Особистий внесок - отримання експериментальних даних, узагальнення даних, написання статті).
2. Вплив екстракту з листя винограду на показники перекисного окислення ліпідів у мишей та щурів на фоні дії хлориду кадмію / Загайко А.Л., Вороніна Л.М., Набока О.І., Кисличенко В.С., Кузнєцова В.Ю. // Клінічна фармація - 2003. - Т. 7, № 1. - С. 45-49. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних дослідженнь та написанні статті).
3. Кузнєцова В.Ю., Кисличенко В.С. Поліфенольні сполуки винограду культурного // Медична хімія. - 2004. - Т. 6, № 1. - С. 54-63. (Особистий внесок - виконання експерименту, узагальнення даних, написання статті).
4. Вивчення антиокиснювальної активності фенольних комплексів винограду культурного in vitro / Вороніна Л.М., Файзуллін О.В., Кузнєцова В.Ю., Загайко А.Л., Стрельченко К.В. // Медична хімія. - 2005. - Т. 7, № 2. - С. 89-91. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних дослідженнь та написанні статті).
5. Кузнєцова В.Ю., Кисличенко В.С. Вибір оптимальних умов екстракції антоціанів з вичавок винограду культурного // Медична хімія. - 2005. - Т. 7, № 4. - С. 56-57. (Особистий внесок - отримання експериментальних даних, узагальнення даних, написання статті).
6. Кузнєцова В.Ю., Кисличенко В.С. Вивчення полісахаридного та елементного складу вичавок винограду культурного // Фармацевтичний журнал - 2005. - № 3. - С. 95-97. (Особистий внесок - отримання експериментальних даних, узагальнення даних, написання статті).
7. Кузнєцова В.Ю., Кисличенко В.С. Амінокислотний склад вичавок винограду культурного // Фітотерапія. Часопис. - 2005. - № 1. - С. 55-57. (Особистий внесок - отримання експериментальних даних, узагальнення даних, написання статті).
8. Липиды и липофильные компоненты некоторых лекарственных растений / Кисличенко В.С., Новосел Е.Н., Кузнецова В.Ю., Вельма В.В., Болоховец А.С. // Химия природных соединений. - № 2. – 2006. - С. 182-183. (Особистий внесок - узагальнення даних, написання статті).
9. Патент України на винахід № 59681А А 61К35/78. Спосіб одержання поліфенольного комплексу "Флавітин" з протизапальною, анальгетичною, противиразковою та антиоксидантною активністю / Кисличенко В.Ю., Адель Ахмад Халіль Абуюсеф (JO), Кузнєцова В.Ю., Вороніна Л.М., Король В.В., Набока О.І. Заявл. 15.11.2002; Опубл. 15.09.2003 Бюл. № 9. (Особистий внесок – участь у патентному пошуку, проведення досліджень, узагальнення результатів, участь у підготовці матеріалів патенту).
10. Патент України на корисну модель № 15745 А61К 36/00. Спосіб одержання засобу з гепатопротекторною активністю / Кузнєцова В.Ю., Кисличенко В.С., Яремчук О.О., Башура О.Г., Файзуллін О.В. Заявл. 16.01.2006; Опубл. 17.07.2006 Бюл. № 7. (Особистий внесок – участь у патентному пошуку, проведення досліджень, узагальнення результатів, участь у оформленні матеріалів патенту).
11. Выделение биологически активных комплексов из лекарственного растительного сырья и изучение их связи "структура - биологическая активность" / Кисличенко В.С., Ковалев В.Н., Комисаренко А.Н., Дроговоз С.М., Новосел Е.Н., Кузнецова В.Ю., Борисенко Е.И. // Связь "структура - свойства" биологически активных веществ: Материалы научно-практического семинара (20-22 мая, 2002 г.). - Гурзуф, 2002. - С.10-14.
12. Кузнєцова В.Ю., Кисличенко В.С. Вивчення якісного складу генеративних органів винограду культурного сорту "Ізабелла" // Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія: Тези доповідей III Міжнародної науково-практичної конференції (21-23 травн., 2003 р.). - Х., 2003. - С. 174.
13. Распределение флавоноидов в органах и тканях крыс после введения суммарного комплекса из листьев винограда / Воронина Л.Н., Загайко А.Л., Набока О.И., Чумак Е.И., Кисличенко В.С., Кузнецова В.Ю. // Биологически активные природные соединения винограда: применение в медицине продуктов с высоким содержанием полифенолов винограда: Материалы научной конференции (19 февр., 2003 г.). - Симферополь, 2003. - С. 194-197.
14. Кисличенко В.С., Кузнєцова В.Ю. Перспективи використання винограду культурного в фітотерапії // Фітотерапія в реабілітації хворих: Збірник тез науково-практичної конференції. – К., 2003. – С. 92-93.
15. Кузнєцова В.Ю., Кисличенко В.С. Перспективи використання вичавок винограду для створення нових лікарських засобів // Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії: Матеріали Всеукраїнського науково-практичного семінару (26 лист., 2004 р.). - Х., 2004. - С. 248-251.
16. Кузнєцова В.Ю., Кисличенко В.С. Вичавка винограду культурного як перспективне джерело отримання біологічно активних добавок // Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономіка лікарських засобів та біологічно активних добавок: Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю. - Тернопіль, 2004. - С. 113-115.
17. Получение и изучение пектинов из различных видов ЛРС / Кисличенко В. С., Новосел Е.Н., Кузнецова В.Ю., Болоховец А.С. // Актуальные проблемы образования, науки и производства в фармации: Материалы научно-практической конференции (18-19 окт., 2005 г.). - Ташкент, 2005. - С. 108-109.
18. Кузнєцова В.Ю., Кисличенко В. С. Вивчення кількісного вмісту щавлевої кислоти в листі та вичавках винограду культурного // Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України: Матеріали VI Національного з‘їзду фармацевтів України (28-30 вер., 2005 р.). - Х., 2005. - С. 739.
19. Кузнєцова В.Ю., Бурд Н.Б., Кисличенко В. С. Використання тривимірної спектроскопії для якісного аналізу ліпофільних екстрактів // Методи хімічного аналізу: Тези доповідей Другого міжнародного симпозіуму (14-17 черв., 2005 р.). - Ужгород, 2005. - С. 24-25.
20. Kislichenko V. S., Kuznetsova V.Yu., Juravel I.A. The phytochemical studies of grape leaves // 6th International Symposium on the chemistry of natural compounds (SCNC) (28-29 Jun. 2005). - Ankara-Turkey, 2005. - P. 54.

**Кузнєцова В.Ю**. “Вивчення біологічно активних речовин Vitis vinifera та створення на їх основі лікарських засобів”. – Рукопис.

Дисертація на здобуття вченого ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. Національний фармацевтичний університет, Харків, 2006.

Дисертація присвячена вивченню біологічно активних речовин листя та вичавок винограду культурного сортів Ізабелла та Каберне-Совіньйон. Проведені системні фітохімічні та фармакологічні дослідження винограду культурного. Досліджено якісний склад та кількісний вміст різних груп біологічно активних речовин у листі та вичавках винограду сортів Ізабелла та Каберне-Совіньйон.

З листя та вичавок винограду виділено в індивідуальному стані та встановлено структуру 35 речовин: 2 похідних бензойної кислоти, 4 гідроксикоричних кислоти, 3 похідних кумарину, 18 флавоноїдів, 5 антоціанів, 1 стільбену, 2 органічних кислот.

Розроблено спосіб отримання густого екстракту з листя винограду культурного сорту Ізабелла, для якого визначена гостра токсичність та гепатопротекторна активність. Для подрібнених вичавок винограду сорту Каберне-Совіньйон проведені фармакологічні дослідження на здатність їх впливати на імунні процеси.

Розроблені проекти АНД на лікарську рослинну сировину “Листя винограду культурного сорту Ізабелла”, “Вичавки винограду культурного сорту Каберне-Совіньйон” та “Густий екстракт з листя винограду культурного сорту Ізабелла”

**Ключові слова:** виноград культурний (Vitis vinifera), біологічно активні речовини, вичавки, екстракт, гепатопротекторна та імуностимулююча активність.

**Кузнецова В.Ю.** “Изучение биологически активных веществ Vitis vinifera и создание на их основе лекарственных средств ”. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2006.

Диссертация посвящена изучению биологически активных веществ листьев и выжимок винограда культурного сортов Изабелла и Каберне-Совиньйон. Виноградная выжимка является отходом производства винодельческих предприятий, а листья винограда остаются после обрезания виноградной лозы. Достаточная сырьевая база, наличие различных групп биологически активных веществ, стали фундаментом дальнейших исследований.

В листьях и выжимках винограда культурного сортов Изабелла и Каберне-Совиньйон качественными реакциями, хроматографическими методами исследований, трехмерной флуоресцентной спектроскопией обнаружены свободные сахара, полисахариды, аминокислоты, флавоноиды, гидроксикоричные кислоты, антоцианы, стильбены, дубильные вещества, хлорофиллы, каротиноиды, свободные жирные кислоты.

Из листьев и выжимок винограда двух сортов выделено в индивидуальном состоянии и установлена структура 35 веществ: 2 производных бензойной кислоты, 4 гидроксикоричных, 3 производных, 18 флавоноидов, 5 антоцианов,

1 стильбена, 2 органических кислот. Эллаговая кислота, апигенин, изорамнетин, никотифлорин, изорамнетин-3-О-β-D-глюкопиранозид, таксифолин выделены впервые из исследуемых объектов.

Из листьев и выжимок винограда получены фракции водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ, гемицеллюлоз и методом бумажной хроматографии в сравнении с достоверными образцами моносахаридов установлен их мономерный состав. Фракции водорастворимых полисахаридов содержали глюкозу, ксилозу, галактозу и арабинозу; фракции пектиновых веществ - глюкозу, ксилозу, арабинозу, а также галактуроновую и глюкуроновую кислоты; фракции гемицеллюлоз - глюкозу, ксилозу, галактозу, арабинозу и рамнозу.

Методом атомно-абсорбционной спектроскопии установлено количественное содержание макро- и микроэлементов. Листья винограда культурного сорта Изабелла в значительном количестве накапливают фосфор, магний и марганец. Выжимки винограда изучаемых сортов не отличаются высоким содержанием макро- и микроэлементов в связи с тем, что в основном они остаются в соке винограда.

Впервые в листьях и выжимках винограда культурного обоих изучаемых сортов определено количественное содержание щавелевой кислоты, как в свободном состоянии, так и в виде растворимых и нерастворимых солей.

Из соединений фенольного комплекса было определено количественное содержание дубильных веществ (метод Левенталя и комплексонометрический метод), гидроксикоричных кислот (в пересчете на хлорогеновую кислоту), флавоноидов (в пересчете на рутин), суммы полифенольных соединений (в пересчете на галловую кислоту), антоцианов (в пересчете на цианидина хлорид). Для определения условий, которые дают возможность извлечь максимальное количество антоцианов, был проведен комплекс исследований. Установлено влияние природы экстрагентов, процентного содержания соляной кислоты в них и температурного режима. Навеска сырья, степень ее измельчения и время экстракции были одинаковыми. Экстрагентом, который максимально извлекал антоцианы, был определен 50 % этанол с добавлением 1 % соляной кислоты.

Получены липофильные фракции, изучен их жирнокислотный состав и количественное содержание хлорофиллов и каротиноидов. Во всех исследуемых объектах преобладают ненасыщенные жирные кислоты: олеиновая, линолевая и линоленовая. В липофильной фракции из выжимок винограда культурного сорта Каберне-Совиньйон суммарное содержание ненасыщенных жирных кислот составляет 88,17%, в липофильной фракции из листьев винограда культурного сорта Изабелла 72,33%.

Разработан способ получения густого экстракта из листьев винограда культурного сорта Изабелла с учетом степени измельченности сырья, природы экстрагента, соотношения сырья и экстрагента, времени и кратности экстракции. В результате проведенных фармакологических исследований установлено, что полученный экстракт является нетоксичным и проявляет гепатопротекторную активность.

Для измельченных выжимок винограда культурного сорта Каберне-Совиньйон впервые проведены предварительные фармакологические исследования по изучению их иммуностимулирующих свойств и показана перспективность дальнейших углубленных исследований.

Впервые проведено анатомическое изучение листьев винограда культурного сорта Изабелла и определены их диагностические признаки.

По результатам исследований разработано 3 проекта АНД на “Листья винограда культурного сорта Изабелла”, “Выжимки винограда культурного сорта Каберне-Совиньйон”, “Густой экстракт из листьев винограда культурного сорта Изабелла”.

**Ключевые слова:** виноград культурный (Vitis vinifera), биологически активные вещества, выжимки, экстракт, гепатопротекторная, иммуностимулирующая активность.

**Kuznetsova V.Yu.** “The study of Vitis vinifera biologically active substances and creation of drugs on their basis”- Manuscript

The thesis to obtain a degree of the candidate of pharmaceutical science, speciality 15.00.02- pharmaceutical chemistry and pharmacognosy, National Pharmaceutical University, Kharkiv, 2006.

The thesis is devoted to the study of biologically active substances in Vitis vinifera leaves and husks, Isabella and Kaberne-Sovinion species. The grape was systematically, phytochemically and pharmacologically researched. The quantitative composition and qualitative content of different groups of biologically active substances in Vitis vinifera leaves and husks, Isabella and Kaberne -Sovinion species, were studied.

Thirty five substances including two derivatives of benzoic acid, four hydroxicinnamine acids, three derivatives of coumarins, eighteen flavonoids, five antocyans, one stilbene and two organic acids were isolated and their structure was determined.

The method of obtaining of Vitis vinifera leaves thick extract, species Isabella was developed, its acute toxicity and hepatoprotective activity were determined.

Preliminary pharmacological research was made to determine their ability to influence the immune system.

The following draft sets of AND for the medicinal herb raw materials: “The leaves of the Isabella grapes”, “The husks of the Kaberne-Sovinion grapes” and “Thick Extracts made from the Isabella grapes leaves”.

**Key words:** The grapes (Vitis vinifera), biologically active substances, husks, extract, hepatoprotective and immunostimulative activity.

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