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

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ**

**СИДОРА НАТАЛЯ ВЯЧЕСЛАВІВНА**

УДК 615.322:582.734.3:577.213

# ФАРМАКОГНОСТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДІВ РОДУ

**CRATAEGUS L. ФЛОРИ УКРАЇНИ**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2007

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі фармакогнозії Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров’я України

**Науковий керівник:** доктор фармацевтичних наук, професор

**Ковальова Алла Михайлівна**

Національний фармацевтичний університет,

професор кафедри фармакогнозії

**Офіційні опоненти:** доктор фармацевтичних наук, професор

**Сербін Анатолій Гаврилович**

Національний фармацевтичний університет,

завідувач кафедри медичної ботаніки

доктор фармацевтичних наук, професор

**Гриценко Олена Миколаївна**

Національна медична академія післядипломної освіти

імені П.Л. Шупика,

професор кафедри фармацевтичної хімії

і фармакогнозії

Захист відбудеться “14” грудня 2007 р. о 1200 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53

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

Автореферат розісланий “12” листопада 2007 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

доктор біологічних наук, професор Л.М. Малоштан

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Одним із завдань вітчизняної фармації є створення достатньої сировинної бази лікарських рослин для отримання ефективних препаратів. Для комплексного лікування гіпертонічної хвороби I-II стадії широко застосовують фітопрепарати, тому цілеспрямований пошук нових джерел біологічно активних речовин (БАР) та створення на їх основі лікарських препаратів серцево-судинної, зокрема, антигіпертензивної дії є актуальним завданням фармації.

Флора України відрізняється різноманітним видовим складом рослин, багато з яких є джерелами препаратів серцево-судинної дії. Особливої уваги потребують рослини великих родів, з яких лише деякі представники використовуються в медицині. Таким об’єктом є поліморфний рід Глід – Crataegus L., 14 видів якого є фармакопейними (*ГФ* XI видання). Відомо, що на території України росте понад 30 видів глодів, з них 4 є фармакопейними, сировинна база яких недостатня. Особливої уваги заслуговують інтродуковані в Україні північноамериканські види глодів, які відрізняються від європейських крупними плодами, тіньовитривалістю, засухостійкістю та іншими перевагами. Об’єктами нашого дослідження стали неофіцинальні культурні та дикорослі представники роду Crataegus L. флори України, що мають достатню сировинну базу. На цей час хімічний склад та фармакологічні властивості неофіцинальних видів глодів вивчено недостатньо. Такі обставини створюють передумови для всебічного фармакогностичного та біологічного дослідження глодів як джерел БАР.

**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 “Створення нових лікарських препаратів на основі рослинної та природної сировини, зокрема продуктів бджільництва для дорослих і дітей” (номер державної реєстрації №0198U007008).

**Мета і завдання дослідження.** Мета роботи – фармакогностичне дослідження видів роду Crataegus L. флори України для виявлення нових перспективних джерел БАР та створення на їх основі препарату антигіпертензивної дії.

Для здійснення поставленої мети необхідно було виконати такі завдання:

* скласти аналітичний огляд за результатами фармакогностичного і фармакологічного досліджень та застосування препаратів представників роду Глід;
* провести таксономічне вивчення численного роду Crataegus L. на основі сучасних інформаційних технологій, використовуючи методи граф-аналізу в систематизації морфологічних характеристик і фенольного складу;
* встановити корелятивні зв’язки між морфологічними ознаками та хімічним складом таксонів для цілеспрямованого пошуку природних сполук серед глодів для виявлення перспективних видів роду Глід як джерел БАР;
* виділити індивідуальні сполуки, ідентифікувати та встановити їх структуру;
* провести визначення флавоноїдного, поліфенольного, жирнокислотного, амінокислотного та мікроелементного складу сировини досліджуваних видів;
* визначити компонентний склад ефірної олії квіток глодів;
* встановити морфолого-анатомічні діагностичні ознаки сировини видів глодів;
* розробити технологічну схему отримання екстрактів глодів, комплексного препарату на їх основі та встановити їх фармакологічні властивості;
* розробити розділи проектів аналітичної нормативної документації (АНД) на сировину та отриманий комплексний препарат.

*Об’єкти дослідження:* листя, плоди, квітки видів роду Crataegus L. і групи БАР – фенольні сполуки (прості феноли, гідроксикоричні кислоти, кумарини, флавоноїди, дубильні речовини), амінокислоти, жирні кислоти, каротиноїди, органічні кислоти, терпеноїди, сапогеніни, мікроелементи, які обумовлюють фармакологічну активність досліджуваної сировини.

*Предмет дослідження:* морфолого-таксономічне та хемотаксономічне дослідження представників родуCrataegus L.; виявлення корелятивних зв’язків між морфологічною будовою глодів та якісним складом фенольних сполук; виявлення перспективних видів глодів як джерел БАР; виявлення, кількісне визначення, виділення та встановлення структури БАР; розробка технології лікарського препарату на основі сировини досліджуваних видів глодів; стандартизація рослинної сировини та одержаного препарату.

*Методи дослідження:* морфолого-таксономічне та хемотаксономічне дослідження проводили з використанням сучасних інформаційних технологій та програмного забезпечення Microsoft Excel. Якісний склад та кількісний вміст БАР визначали методами хімічного та хроматографічного аналізу на папері, в тонкому шарі сорбенту, за допомогою газорідинної та газової хроматографії з застосуванням приладів Т339 М Mikrotechna-Praha та Хром-5, хромато-мас-спектрометрії на газовому хромато-мас-спектрографі HP6890 GC, атомно-емісійної спектрофотометрії на спектрографі ДФС-8.

Для виділення БАР з рослинної сировини застосовували колонкову хроматографію на поліамідному сорбенті, силікагелі та препаративну паперову хроматографію. Структуру досліджених сполук встановлено з використанням інструментальних методів аналізу УФ-спектрометрії (СФ-46) та ІЧ-спектрометрії (Specord 75IR), методів хроматографічного аналізу, порівняння фізико-хімічних властивостей виділених речовин і вірогідних зразків. Температуру плавлення фенольних сполук визначали на блоці Кофлера – Franz Kustner nqch K:G:Dresden; N.K. 70/3314k.

Фармакологічні дослідження проводили in vivo, оцінюючи ефективність за ступенем антигіпертензивної активності у спонтанно гіпертензованих щурів. Для анатомічного дослідження плодів представників роду Глід використовували мікроскопи МБР-1 і МБР-2, знімки мікропрепаратів виконували цифровим фотоапаратом Nikon 5600 та Kodak Easy Shape 5.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше проведено морфолого-таксономічне дослідження 38 видів та хемотаксономічне дослідження 12 видів роду Crataegus L. флори України; на основі методів граф-аналізу багатофакторних даних характеристики роду проаналізовано 12202 негативних та позитивних станів ознак; виявлено корелятивні зв’язки між морфологічними ознаками та якісним складом фенольних сполук та на основі одержаних даних встановлено перспективні види глодів як джерела БАР.

Вперше у сировині досліджуваних видів глоду ідентифіковано 114 та встановлено структуру 103 сполук: 10 похідних бензолу та 4 похідних фенолу, 4 гідроксикоричні кислоти, 3 гідроксикумарини, 13 флавоноїдів, 16 амінокислот, 14 жирних кислот, 15 мікроелементів, 14 терпеноїдів, 10 аліфатичних сполук. Хроматографічно в плодах ідентифікували хлорофіли, каротиноїди, олеанолову, урсолову кислоти та хедерагенін. Вперше з сировини північноамериканських глодів виділено 20 фенольних сполук. У плодах та екстрактах глодів проведено кількісне визначення флавоноїдів, органічних кислот, амінокислот, жирних кислот, каротиноїдів, мікроелементів; в листі – дубильних речовин.

Встановлено основні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки сировини неофіцинальних видів.

На спосіб одержання рідкої форми лікарського препарату “Фітокардин” антигіпертензивної, антиаритмічної та седативної дії, що містить екстракт глоду, подано заявку на патент України (Заявка а200606158. МПК6 А 61 К 38/00).

**Практичне значення одержаних результатів.** Запропоновано використання плодів трьох видів глоду флори України як джерел БАР для створення комплексних препаратів серцево-судинної дії. Розроблено технологію одержання комплексного препарату “Фітокардин” з антигіпертензивною, антиаритмічною та седативною активністю. Методики хроматографічного дослідження фенольних сполук та кількісного визначення суми флавоноїдів, а також результати морфолого-анатомічного дослідження плодів впроваджено в навчальний процес кафедри фармакогнозії та ботаніки Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького; кафедри фармації Івано-Франківського медичного університету; кафедри фармакогнозії з курсом ботаніки Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачовського; кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця. Розроблено розділи проекту АНД на сировину та одержаний препарат.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Дисертанту належить вирішальна роль у визначенні мети дослідження, шляхів її реалізації, плануванні та проведенні експерименту, інтерпретації та узагальненні одержаних результатів, формуванні основних положень та висновків, що захищаються. Автором проведено літературно-патентний пошук інформаційних джерел про розповсюдження, хімічний склад і використання рослин роду Глід у науковій та народній медицині. На основі морфолого-таксономічного та хемотаксономічного дослідження виявлено корелятивні зв’язки між морфологічними ознаками та якісним складом фенольних сполук глодів та визначено перспективні види глоду як джерела БАР. Досліджено якісний склад сировини глодів, ідентифіковано 114 та встановлено структуру 103 сполук різної хімічної природи, визначено кількісний вміст основних груп БАР в сировині глодів, в отриманих субстанціях та препараті. Розроблено технологію одержання рідких екстрактів з плодів трьох видів глоду. Розроблено розділи проектів АНД на комплексний препарат, який містить екстракт плодів глоду Арнольда.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертації доповідалися на Науково-практичній конференції “Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономіка лікарських засобів та біологічно активних добавок” (Тернопіль, 2004), I Міжнародній науково-практичній конференції “Науковий потенціал світу 2004” (Дніпропетровськ, 2004), науково-практичному семінарі “Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії” (Харків, 2004), VI Національному з’їзді фармацевтів України “Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України” (Харків, 2005), II Międzynarodowej naukowe-praktycznej konferencji “Wykształcenie i nauka bez granic – 2005” (Przemyśl, 2005), Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі “Ліки та життя” (Київ, 2005), Наук.-практ. конф. “Лікувальна косметика: дійсність та майбутнє” (Харків, 2005), XII Російському національному конгресі “Человек и лекарство” (Москва, 2006), X Міжнародному медичному конгресі студентів і молодих учених (Тернопіль, 2006), X Международном съезде “Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения” (СПб, 2006), II Мiжнар. наук.-практ. конф. “Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономiчнi дослiдження нових лiкарських засобiв та бiологiчно активних добавок” (Харків, 2006), Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі “Ліки та життя” (Київ, 2007), 7th International congress of young medical scientists (Poznan, 2007), Всеукраїнській конференції студентів та молодих вчених “Актуальні питання створення нових лікарських засобів” (Харків, 2007), The Regional Conference and Scientific Exhibition on Medicinal, Aromatic, and Poisonous Plants (Sana’a, 2007).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 12 статей у фахових виданнях, 1 патент України, 16 тез доповідей.

**Структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 235 сторінках і складається зі вступу, огляду літератури, 4 розділів експериментальних досліджень, висновків, списку використаних літературних джерел і 9 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 120 сторінок. Робота ілюстрована 28 рисунками, 40 таблицями. Список використаних джерел складає 240 найменувань, з них 82 – іноземні.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**У вступі** обґрунтовані актуальність, наукова новизна та практичне значення теми дисертаційної роботи, сформульовані мета і основні завдання досліджень, зв’язок з науковими програмами і планами.

**Розділ 1** присвячено аналітичному огляду сучасного стану досліджень рослин роду Глід: фармакогностичній характеристиці, використанню в науковій та народній медицині, номенклатурі препаратів з використанням сировини глодів.

**У розділі 2** наведено результати морфолого-таксономічного та хемотаксономічного дослідження роду Crataegus L. та встановлення перспективних видів на основі виявлених корелятивних зв’язків.

Об’єктами хімічного та хемотаксономічного вивчення стали 9 неофіцинальних видів C.Maximowiczii C.K. Schneid, C.mollis (Torr. et Gray) Scheele, C.canadensis Sarg., C.submollis Sarg., C.аrnoldiana Sarg., C.flabellata (Bosc) C.Koch, C.punctata Jacq., C.macracantha Lodd., C.succulenta Schrad. у порівнянні з 3 фармакопейними видами C. sanguinea Pall., C.oxyacantha L. та C.monogyna Jacq.

Об’єктами морфолого-таксономічного дослідження стали 38 видів – це згадані 12 видів та C.pinnatifida Bge., C. chlorosarca Maxim., C.nigra Waldst. Et Kit., C.pentagyna Waldst. et Kit., C.orientalis Pall., C.pontica C. Koch., C.aronia (L.) Bosc., C.Meyeri A. Pojark., C. eriantha A. Pojark., C.taurica A. Pojark., C.ukrainica A. Pojark., C.sphaenophylla A. Pojark., C.ambiguae C. A. M., C.volgensis A. Pojark., C.transcaspica A. Pojark., C.caucasica C. Koch., C.atrosanguinea A. Pojark., C.songarica C. Koch, C.kyrtostyla Fingerh., C.turkestanica A. Pojark., C.azarella Griseb., C.azarolus L., C.rotundifolia Moench., C.cruss-galli L., C.flava Ait., C.aprica Beadle.

Відомо, що систематизація рослин здійснюється на суб’єктивному підході до опису рослини, яка не завжди об’єктивно показує дійсне положення рослини в ієрархії роду, родини тощо. Виходячи з цього, нами вперше здійснені таксономічні дослідження на основі методу граф-аналізу, які проводились з метою виявлення корелятивних зв’язків між морфологічною будовою і хімічним складом рослин та встановлення на основі отриманих результатів перспективних видів як джерел цінних фармакологічних субстанцій.

Для систематичної обробки даних морфологічної будови глодів використано ознаки морфологічної характеристики 38 видів глодів та проаналізовано 11590позитивних та негативних станів ознак. Результати аналізу стали основою для розрахунку коефіцієнтів парної (Кпс) та групової спорідненості (Кгс) видів роду Crataegus L., на основі яких побудовано ієрархічний ряд роду.

Враховуючи Кпс та Кгс, побудовано дендрограми, які характеризують таксономічні відстані між видами роду на основі генеративних, вегетативних та узагальнених морфологічних ознак. Дендрограма на основі загальних морфологічних ознак представлена на рис.1.

|  |  |
| --- | --- |
| Кгс  600 |  |
| 700 |
| 800 |
| 900 |
| 1000 |
| Рис.1. Дендрограма таксономічних відстаней на основі морфологічних ознак  Примітка: Кгс - коефіцієнт групової спорідненості глодів за морфологічними ознаками | |

На дендрограмі по осі ординат таксони розміщені відповідно значенням Кгс та пов’язані між собою відповідно найбільших значень Кпс. Таксони з найбільшою інформаційною вагою, які найбільш споріднені до решти досліджуваних видів, знаходяться в основі дендрограми роду і вважаються найбільш стародавніми: C.ambigua, C.volgensis, C.transcaspica, C.songarica та C.kyrtostyla. Ці види характеризують основні морфологічні ознаки роду. На дендрограмі представлено чітке розділення роду Crataegus L. на декілька великих гілок – східноєвропейську, західноєвропейську, середньоазіатську та північноамериканську, які відповідають географічним ареалам видів.

Східноєвропейську групу утворюють C.ukrainica A. Pojark. та кримські види C.taurica A. Pojark. і C. sphaenophylla A. Pojark., які тісно пов’язані з таксонами Кавказу C.eriantha A. Pojark., C.Meyeri A. Pojark. та Півдня Росії C.ambiguae C. A. M. і C.volgensis A. Pojark. Положення посередника між азіатською та східноєвропейською групами займає пандемік C.kyrtostyla Fingerh.

На досить високому рівні показують зв’язки передньоазійські види: C.orientalis Pall., C.pontica C.Koch та C.aronia (L.) Bosc.; таксон Італії та Франції C.azarolus L. з кримським ендемом C. sphaenophylla A. Pojark. Відокремлена гілка західноєвропейська: C.azarella Griseb. – C.monogyna Jacq. – C. nigra Waldst. еt Kit. Північноамериканські таксони, які в літературі описують як дуже близькі між собою, розділились на три гілки, в основі яких знаходиться C. аrnoldiana Sarg.

Для хемотаксономічного дослідження 12 видів роду Crataegus L. проаналізовано 612 позитивних та негативних станів хімічних ознак, якими служили фенольні сполуки, хроматографічно виявлені нами у видах, що належать до різних морфолого-таксономічних груп.

Сполуки ідентифікували за допомогою хроматографічного методу аналізу, використовуючи паперову хроматографію, хроматографію в тонкому шарі сорбенту та колонкову хроматографію: гідроксикоричні кислоти, гідроксикумарини та флавоноїди. В результаті встановлено хімічний профіль роду, який характеризується такими фенольними сполуками, як хлорогенова та неохлорогенова кислоти, гіперозид, вітексин та ацетилвітексин.

Дендрограма на основі хімічних ознак виявила різну таксономічну спорідненість – від 24% (C.sanguinea Pall. та C.monogyna Jacq.) до 66% (C.oxyacantha L. та C.monogyna Jacq.), що в основному відповідає результатам морфолого-таксономічного дослідження.

Використовуючи елімінуючий аналіз морфологічних і хімічних ознак, виявлено кореляцію хімічного складу таксонів з деякими морфологічними ознаками. Виявлено корелятивні зв’язки між морфологічними ознаками вегетативних та генеративних органів глодів та накопиченням біологічно активних речовин: гіперозиду, вітексину, ацетилвітексину, хлорогенової, неохлорогенової кислот та інших БАР.

Виявлено, що наявність гіперозиду вірогідна, перш за все, для глодів з багатоквітковими суцвіттями, опушеними чашолистками, яскраво-червоними плодами. Відмічено кореляцію гіперозиду з вітексином, ескулетином та неохлорогеновою кислотою (рис. 2.).

|  |
| --- |
| % |
| Рис. 2. Кореляція гіперозиду з морфологічними та хімічними ознаками |

**Ідентифікація, виділення та встановлення структури біологічно активних речовин з досліджуваних видів глоду (Розділ 3).** Якісними хімічними реакціями та хроматографічними методами аналізу в досліджуваних видах ідентифіковано 114 сполук: фенольні та ароматичні сполуки, амінокислоти, жирні кислоти, хлорофіли, каротиноїди, сапогеніни, аліфатичні сполуки, монотерпеноїди, мікроелементи.

На основі результатів аналізу фізико-хімічних властивостей (даних УФ-, ІЧ-спектрального аналізів, хроматографії, порівнянням з вірогідними зразками), даних хромато-мас-спектрометрії та газорідинної хроматографії встановлена структура 103речовин: 16 амінокислот, 14 жирних кислот, 4 гідроксикоричні кислоти, 3 гідроксикумарини, 13 флавоноїдів, 15 мікроелементів, 14 терпеноїдів, 14 сполук ароматичної природи, 10 аліфатичних сполук.

З глодів північноамериканської групи вперше виділено 20 фенольних сполук: 13 флавоноїдів, 4 гідроксикоричні кислоти та3 кумарини.

Для виділення БАР з плодів, квіток та листя глодів в індивідуальному стані застосовували методи рідинної екстракції, рідинного фракціонування, колонкової хроматографії на силікагелі, поліаміді та паперової, тонкошарової та препаративної хроматографії. Фізико-хімічні властивості фенольних сполук, виділених з сировини глодів, представлено на табл. 1.

Таблиця 1

**Фізико-хімічні властивості фенольних сполук, виділених з сировини глодів**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № п/п | Назва сполуки | УФ-спектри,  λ max, етанол | Т пл. ºС | Значення  Rf⋅100 | |
| I | II |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 1. | Хлорогенова кислота (*14*) | 245, 300, 320 | 202–204 | 62 | 65 |
| 2. | Неохлорогенова кислота (*15)* | 245, 300, 325 | аморфн. | 77 | 82 |
| 3. | Кофейна кислота (*37*) | 245, 300, 325 | 194–196 | 82 | 33 |
| 4. | Ферулова кислота (*39*) | 235, 290, 320 | 168–170 | 85 | 70 |
| 5. | Ескулетин (*40*) | 230,260, 271, 350 | 270–272 | 83 | 10 |
| 6. | Умбеліферон (*27*) | 250, 328, 340 | 228–230 | 93 | 30 |
| 7. | Скополетин (*32*) | 230, 256, 290, 348 | 202–204 | 92 | 33 |
| 8. | Апігенін (*28*) | 267, 335 | 345–347 | 93 | 13 |
| 9. | Лютеолін (*8*) | 256, 267, 350 | 330–331 | 85 | 5 |
| 10. | Кемпферол (*51)* | 270, 372 | 279–280 | 90 | 7 |
| 11. | Кверцетин (*35*) | 256, 270, 370 | 316–318 | 80 | 10 |
| 12. | Гіперозид (*4*) | 258, 269, 362 | 235–239 | 51 | 17 |
| 13. | Кверцитрин (*36*) | 256, 265, 356 | 187–190 | 62 | 31 |
| 14. | Ізокверцитрин (*5*) | 258, 270, 360 | 218-220 | 52 | 20 |
| 15. | Рутин (2*4*) | 260, 266, 362 | 189-191 | 35 | 15 |
| 16. | Біокверцетин (*43*) | 257, 270, 365 | 210–213 | 52 | 38 |
| 17. | Антозид (*7*) | 260, 270, 368 | 222–224 | 53 | 43 |
| 18. | Вітексин (*44*) | 270, 335 | 255–257 | 74 | 20 |
| 19. | Ацетилвітексин (*41*) | 270, 334 | 208–211 | 33 | 7 |
| 20. | Орієнтин (*31*) | 258, 269, 350 | 263-265 | 80 | 22 |

Примітка: системи розчинників – I – етилацетат – кислота мурашина – вода (10:2:3), II – 2% кислота оцтова (паперова хроматографія).

Гідроксикоричні кислоти. Речовини *14, 15, 37, 39* за результатами якісних реакцій, даними хроматографічної поведінки, флуоресценції в УФ-світлі, даними УФ- та ІЧ-спектрів були віднесені до гідроксикоричних кислот.

В продуктах лужної деструкції речовини *37* (кофейна кислота), *14* (хлорогенова кислота) і *15* (неохлорогенова кислота) знайдено 3,4-дигідроксибензойну (пірокатехову) кислоту, речовини *39* (ферулова кислота) – п-гідроксибензойну кислоту. Лужний гідроліз речовин *14* і *15* призводить до утворення еквімолекулярних кількостей кофейної і D-хінної кислот. Місце приєднання кофейної кислоти до D-хінної встановлено лактонізацією речовини *14*. При метилуванні речовини *39* отримали похідне з однією ацетильною групою. Порівняння фізико-хімічних властивостей речовини *37* і кофейної кислоти, речовини *39* з феруловою кислотою вказало на їх ідентичність. На підставі проведених досліджень і результатів порівняння з вірогідними зразками речовини *37, 14, 15, 39* відповідно ідентифіковані з 3,4-дигідроксикоричною (кофейною), 5-О-кофеїл-D-хінною (хлорогеновою), 3-О-кофеїл-D-хінною (неохлорогеновою), 3-метокси-4-гідроксикоричною (феруловою) кислотами.

Гідроксикумарини. На підставі якісних реакцій, флуоресценції в УФ-світлі, вивчення продуктів деструкції йодидною кислотою, даних УФ-, ІЧ-спектрів та результатів порівняння з вірогідними зразкамиречовини *27, 32 і 40* були ідентифіковані як умбеліферон (7-гідроксикумарин), ескулетин (6,7-дигідроксикумарин) і скополетин (6-метокси-7-гідроксикумарин).

Флавоноїди. Флавоноїдну природу речовин *4, 5, 7, 8, 24, 28, 31, 41, 35, 36, 43, 44* та *51* доводили на основі результатів фізико-хімічних досліджень: якісними реакціями, хроматографічним аналізом, даними спектрального аналізу, продуктами гідролізу. В ІЧ-спектрах цих сполук присутні смуги поглинання, характерні для флавоноїдів: в області 3400-2900 см-1 (фенольні гідроксили), 1665-1615 см-1 (карбонільна група γ-пірону), 1640-1450 см-1 (валентні коливання ароматичних кілець).

Результати якісних реакцій та УФ-спектроскопії свідчать про належність досліджуваних речовин до похідних бензо-γ-пірону. За рухомістю на хроматограмах в різних системах розчинників, флуоресценції в УФ-світлі, результатами цианідинової реакції за Бріантом речовини *8, 28, 35* і *51* віднесені до агліконів, речовини *4, 5, 7, 24, 31, 36, 41, 43, 44* до глікозидів.

*Аглікони.* Флавоноїди агліконової природи нами було ідентифіковано: речовину *8* як 5,7,3',4'-тетрагідроксифлавон (лютеолін), речовину *28* як 5,7,4'-тригідроксифлавон (апігенін), речовину *51* як 3,5,7,4'-тетрагідроксифлавон (кемпферол), речовину *35* як 3,5,7,3',4'-пентагідроксифлавон (кверцетин).

*Монозиди флавоноїдів.* У результаті ферментного і кислотного гідролізу речовин *4, 5, 36* та *7, 24, 43* утворювались аглікони, які були ідентифіковані з кверцетином, та цукрові компоненти, які хроматографічно ототожнили для речовини *4* – як галактозу, 5 – глюкозу, *36* – рамнозу, *7* – глюкозу та рамнозу, *24* – глюкозу та рамнозу, 43 – галактозу та рамнозу. Співвідношення показників питомого поглинання речовин *4, 5, 36* в УФ-області глікозидів та їх агліконів складає 60 – 65%, що характеризує їх монозидну природу. В ІЧ-спектрах виявляється смуга при 890 см-1, що вказує на β-глікозидний зв’язок, три смуги при 1100 – 1010см-1 характерні для піранозного окисного циклу цукрових залишків. Інтенсивність максимуму поглинання І смуги менша від інтенсивності максимуму поглинання ІІ смуги, що притаманно флавонолам. Дані УФ-спектрів показують заміщення гідроксильної групи в положенні С-3 та вільні в С-5, С-7, С-3', С-4'. Ідентичність агліконів підтверджували хімічними перетвореннями з подальшим встановленням продуктів повного метилування, повного ацетилування, а також за продуктами лужної деструкції, внаслідок якої утворюються флороглюцин та протокатехова кислота. Отже, речовину *4* ідентифіковано як кверцетин-3-О-β-D-галактопіранозид (гіперозид), 5 – як кверцетин-3-О-β-D-глюкопіранозид (ізокверцитрин), *36* – як кверцетин-3-О-α-L-рамнопіранозид (кверцитрин).

*Біозиди та диглікозид.* Співвідношення показників питомого поглинання речовин *4, 5, 36* в УФ-області глікозидів та їх агліконів складає 30%, що вказує на наявність двох цукрів. Ідентичність аглікону та цукрових залишків підтверджували на основі фізико-хімічних властивостей. Речовини *7* ідентифікували як кверцетин-3-О-β-D-глюкозидо-7-О-α-L-рамнопіранозид (антозид), *24* – як кверцетин-3-О-β-D-глюкозидо-7-О-α-L-рамнопіранозид (рутин), *43* – як кверцетин-3-О-β-D-галактопіранозил-О-α-L-рамнопіранозид або кверцетин-3-О-β-робінобіозид (біокверцетин).

*С-глікозиди флавонів.* Речовини *31,* *41* та *44* виявились стійкими до кислотного гідролізу, тому було проведене їх розщеплення до аглікону та вуглеводного залишку за допомогою йодидної кислоти у середовищі рідкого фенолу і оцтового ангідриду, в результаті з речовини *31* отримано лютеолін та D-глюкозу, з речовини *41* – аглікон апігенін та D-глюкозу. При лужному гідролізі сполуки *31* було одержано сполуку, ідентифіковану як лютеолін *8*; при лужному гідролізі сполуки *44* – апігенін *28*. Речовина *31* має максимуми поглинання в УФ-спектрі 258, 350 нм, речовина *44* – 270, 335 нм. На основі отриманих даних та хроматографічним порівнянням з вірогідними зразками речовини ідентифіковано: *31* як лютеолін-С-8-ß-D-глюкозид (орієнтин), *44* як 8-С-глюкозид апігеніну (вітексин). Речовина *41* має два максимуми поглинання в УФ-спектрі 270, 334 нм. При лужному гідролізі сполуки *41* було одержано речовину, ідентифіковану з вітексином *44*. Наявність ацильного радикалу вуглеводного залишку та заміщення аглікону доводилось на основі даних УФ-спектрів. Дані хімічних перетворень, ІЧ- та УФ-спектрального аналізу дозволили охарактеризувати сполуку *41* як 5,7,4'–тригідроксифлавон-8-С-ß-D-глюкозид-(2''-0-ацетил) або ацетилвітексин.

Хромато-мас-спектрометричним методом вперше досліджено компонентний склад ефірних олій квіток глодів, отриманих методом гідродистиляції (ДФУ). Кількісний вміст ефірної олії в глоді м’якуватому складає 0,12%, в глоді Арнольда – 0,20% та глоді канадському – 0,12%. В ефірних оліях визначено 25 сполук, основними з яких є ациклічні, моноциклічні, біциклічні монотерпеноїди, ароматичні сполуки (табл. 2). У складі ефірних олій визначено (%): ізоаміловий спирт – глід м’якуватий, глід Арнольда та глід канадський; 3-пентен-2-он – глід м’якуватий та глід канадський; дигідроедулан – глід м’якуватий та цис-жасмон – глід канадський.

Таблиця 2

**Компонентний склад ефірних олій квіток глодів**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| №  п/п | Назва сполуки | Індекс утримування | Кількісний вміст (%) | | |
| С. submollis | C.arnoldiana | C.canadensis |
| Ациклічні монотерпеноїди | | | | | |
| 1. | Ліналоолоксид | 13,66 | - | 0,70 | - |
| 2. | Цис-ліналоолоксид | 10,24 | 2,09 | 0,99 | 0,49 |
| 3. | Транс-ліналоолоксид | 10,75 – 10,76 | 0,94 | 0,69 | 0,41 |
| 4. | Ліналоол | 11,13 – 11,15 | 4,87 | 3,38 | 0,80 |
| 5. | Гераніол | 16,36 – 16,53 | 4,35 | 17,22 | 0,57 |
| 6. | Гераніаль | 16,87 | - | 0,46 | - |
| 7. | Геранієва кислота | 20,27 | - | 8,23 | - |
| 8. | Неролова кислота | 19,10 | - | 2,19 | - |
| 9. | Нерол | 15,48 – 15,49 | 1,29 | - | 0,31 |
| Моноциклічні монотерпеноїди | | | | | |
| 10. | α-Терпінеол | 14,20 – 14,30 | 4,03 | 3,08 | 4,02 |
| 11. | Ментол | 13,69 | - | - | 3,11 |
| 12. | Терпінен-4-ол | 13,74 – 13,79 | - | 2,54 | 0,87 |
| 13. | d-Дигідрокарвеол | 14,44 | - | - | 0,25 |
| Біциклічні монотерпеноїди | | | | | |
| 14. | Борнеол | 13,36 | - | 1,44 | - |
| Ароматичні сполуки | | | | | |
| 15. | Карвакрол | 18,01 – 18,25 | 3,22 | 6,38 | 25,76 |
| 16. | Евгенол | 19,78 | - | - | 1,07 |
| 17. | Тимол | 17,70 – 17,82 | 1,15 | 1,91 | 13,12 |
| 18. | Пара-цимен-8-ол | 14,05 | - | 1,23 | - |
| 19. | 2-Амінобензальдегід | 15, 08 – 15,13 | 7,06 | - | 2,50 |
| 20. | 4-Метоксибензальдегід | 16,45 | - | - | 0,31 |
| 21. | Бензальдегід | 6,82 – 6,84 | 1,56 | - | 0,44 |
| Інші сполуки | | | | | |
| 22. | Ізоаміловий спирт | 2,58 – 2,62 | 2,75 | 0,99 | 0,41 |
| 23. | 3-Пентен-2-он | 2,65 – 2,67 | 1,05 | - | 0,13 |
| 24. | Дигідроедулан | 22,24 | 1,50 | - | - |
| 25. | Цис-жасмон | 21,08 | - | - | 0,31 |

У квітках глоду Арнольда хромато-мас-спектрометричним методом визначено 13 сполук, які відносяться до жирних кислот та аліфатичних сполук та 7 ароматичних сполук, з них 4 фенольні (%): у хлороформному екстракті – 2-бутанова кислота (масляна) – 0,68; додеканова кислота (лауринова) – 0,52; тетрадеканова кислота (міристинова) – 1,32; гексадеканова кислота (пальмітинова) – 35,50; етиловий ефір міристинової кислоти – 0,58; 9,12-октадеканова кислота – 1,70; октадеканова кислота (стеаринова) – 10,37; 1,2,3-пропантріол-моноацетат; октадекан – 0,47; гексадекан – 0,26; пентадекан – 0,51; 6,10,14-триметил-2-пентадеканон – 1,85; 4,8,12,16-тетраметил-гептадекан – 0,45 та в етилацетатному екстракті – бензиловий спирт – 1,02; 3-метилбензил-амін -3,43; 2-аміно-бензиловий спирт – 1,94; фенол – 0,77; 4-метоксибензойна кислота – 3,28; 4-гідроксибензойна кислота – 0,61; анісовий альдегід – 6,52.

**Жирні кислоти та аліфатичні сполуки плодів глодів.** Методом газової хроматографіївизначено жирні кислоти в плодах глоду канадського, глоду м’якого, глоду м’якуватого, глоду Арнольда, глоду крупноколючкового, серед яких незамінними є лінолева та ліноленова кислоти (табл. 3).

Таблиця 3

**Жирнокислотний склад плодів глодів**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| №  п/п | Назва кислоти | Вміст, мкг/100 мг | | | | |
| C. canadensis | C. mollis | C. arnoldiana | C. submollis | C. macracantha |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 1. | Деканова | 2,5 | - | - | - | - |
| 2. | Лауринова | 5,0 | - | - | - | - |
| 3. | Тридеканова | 6,3 | 9,0 | - | - | сліди |
| 4. | Міристинова | 25,0 | 80,0 | 120,0 | 270,0 | 50,0 |
| 5. | Пентадеканова | 5,0 | - | - | - | 40,0 |
| 6. | Пальмітинова | 182,5 | 1160,0 | 1080,0 | 1735,0 | 500,0 |
| 7. | Гептодецинова | 20,0 | 100,0 | сліди | сліди | сліди |
| 8. | Стеаринова | 75,0 | 240,0 | 360,0 | 667,0 | 20,0 |
| 9. | Олеїнова | 625,0 | 2300,0 | 3780,0 | 6667,0 | 2200,0 |
| 10. | Лінолева | 960,0 | 6600,0 | 9300,0 | 24000,0 | 5600,0 |
| 11. | Ліноленова | 45,0 | 120,0 | сліди | сліди | 140,0 |
| Сума ненасичених  кислот | | 1650,0 | 9120,0 | 13080,0 | 30667,0 | 7940,0 |
| Сума насичених кислот | | 301,3 | 1489,0 | 1560,0 | 2672,0 | 610,0 |

Домінуючими в усіх видах є пальмітинова, олеїнова, стеаринова та лінолева кислоти.

Методом спектрофотометрії визначено кількісний вміст суми каротиноїдів у ліпофільних фракціях плодів: C.canadensis – 9,66 мг%, C.mollis – 9,86 мг%, C.arnoldiana – 8,01 мг мг%, C.submollis – 10,80 мг% та C.flabellatа – 9,29 мг%.

**Визначення амінокислот в плодах та екстрактах глодів.** У плодах та екстрактах глодів, одержаних нами методом перколяції, ідентифіковано 16 вільних та зв’язаних амінокислот, 8 з яких є незамінними.

Особливий інтерес представляють вільні амінокислоти, які позитивно впливають на серцево-судинну систему – метіонін, лейцин, глютамінова, аспарагінова кислоти; мають ліпотропну та гіпоглікемічну дію – метіонін, гістидин; проявляють антиагрегантну активність – лізин; сприяють транспорту міді в організмі – гістидин та треонін. Сума вільних амінокислот у плодах становить (мкг/100 мг, на суху сировину): глід крупноколючковий – 62,1; глід м’який – 13,6; глід м’якуватий – 11,7; глід Арнольда – 49,2; глід канадський – 19,5. Вміст амінокислот в екстрактах наведено в табл. 4.

Таблиця 4

**Вміст вільних амінокислот в екстрактах плодів глодів, мкг/100 мг**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| №  п/п | Назва  амінокислоти | Вид глоду | | | | |
| C.canadensis | C.mollis | C.submollis | C.arnoldiana | C.macracantha |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 1. | Аспарагін | 2,7 | 4,0 | 9,5 | - | 7,7 |
| 2. | Треонін | - | 1,7 | 0,7 | 0,2 | 9,8 |
| 3. | Серин | 5,8 | 0,5 | 2,0 | - | 0,1 |
| 4. | Глютамінова кислота | 2,0 | 2,0 | 10,5 | 28,5 | 35,8 |
| 5. | Пролін | - | 2,0 | 5,5 | 5,0 | 41,5 |
| 6. | Глютамін | 1,6 | 3,5 | 5,2 | 26,0 | 17,0 |
| 7. | Аланін | 2,2 | 3,0 | - | 50,0 | 7,2 |
| 8. | Валін | - | 0,5 | 1,5 | 2,0 | 10,0 |
| 9. | Метіонін | 6,5 | 1,5 | 4,2 | 11,7 | 34,5 |
| 10. | Ізолейцин | 11,0 | 0,9 | 1,9 | 21,0 | 48,0 |
| 11. | Лейцин | 2,0 | 3,5 | 0,7 | 26,2 | 36,0 |
| 12. | Тирозин | 3,5 | 14,0 | 7,0 | 20,2 | 10,0 |
| 13. | Фенілаланін | 4,2 | 13,5 | 6,5 | 33,2 | 9,5 |
| 14. | Гістидин | 3,0 | 6,0 | 13,5 | 12,2 | 15,0 |
| 15. | Лізин | 21,5 | 0, 5 | 2,2 | 18,0 | 63,0 |
| 16. | Аргінін | 7,9 | 2,8 | 0,1 | 20,0 | - |

Сума вільних амінокислот у екстрактах складає (мкг/100 мг, на сухий залишок): глід крупноколючковий – 345,1; глід м’який – 59,4; глід м’якуватий – 71,0; глід Арнольда – 274,2 та глід канадський – 73,9.

**Мікроелементи.** У плодах та екстрактах глодів C.punctata, C.canadensis, C.arnoldiana, C.submollis, С.mollis, C.succulenta, C.macracantha, C.flabellata визначено вміст 15 макро- та мікроелементів. У плодах переважно накопичуються макроелементи та мікроелементи: калій, кальцій, магній, фосфор, кремній та мідь, марганець, алюміній. До екстрактів переходять макроелементи та мікроелементи: калій, натрій, кальцій, магній, фосфор та мідь, марганець, алюміній та кремній. В плодах та екстрактах глодів знаходяться за межами можливостей визначення методом емісійної спектрометрії мікроелементи: кобальт (<0,03), кадмій (<0,01), миш’як (<0,01) та сурма ( <0,01).

**Розробка технології комплексного препарату на основі отриманих субстанцій глоду та вивчення його фармакологічної активності (розділ 4).** Вибір способу одержання препарату обґрунтовано тим, що ефективність фармакотерапії артеріальної гіпертензії (АГ) вища при використанні комбінацій антигіпертензивних, спазмолітичних, седативних та антиаритмічних препаратів, що забезпечує покращення співвідношення результативності та перенесення терапії. Однією з найбільш раціональних та широко застосовуваних у терапії АГ вважають комбінацію інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ) та діуретиків. Виходячи з цього, наш підхід до створення комбінованого препарату полягав у тому, що поєднання рослинних компонентів з синтетичними субстанціями дозволить зменшити дози синтетичних препаратів, що усуне ризик можливої побічної дії, проте збереже ступінь його активності.

Нами отримано рідкі екстракти плодів глоду Арнольда, глоду канадського, глоду м’якуватого та досліджено їх фармакологічну активність. Рідкі екстракти отримували методом перколяції, як екстрагент використовували 70% етанол. Вибір розчинника обумовлено максимальною екстракцією біологічно активних речовин флавоноїдної природи із сировини.

Нами розроблено спосіб одержання рідкої лікарської форми, до складу якої уведено рідкий екстракт плодів глоду Арнольда, еналаприлу малеат та індапамід, який було названо “Фітокардин”. До одержаних екстрактів додавали еналаприлу малеат та індапамід при перемішуванні.

На спосіб одержання рідкої форми лікарського препарату “Фітокардин”, який виявляє антигіпертензивну, антиаритмічну та седативну дію подано заявку на патент України (заявка а200606158, МПК6 А 61 К 38/00).

Дослідження антигіпертензивної активності комплексу на основі екстракту глодупроводили під керівництвом завідувача лабораторією загальної фармакології ДНЦЛЗ, канд. мед. наук, ст. н. с. Чайки Л.А. Встановлено, що через 1 годину після введення препарату та протягом наступних 24-28 годин спостерігається дозозалежний антигіпертензивний ефект, який проявляється у нижчих дозах, ніж ефект монопрепарату еналаприлу: дози еналаприлу та індапаміду у комбінованому препараті у чотири рази нижчі їх середньотерапевтичних доз.

**Розробка проектів аналітичної нормативної документації на сировину та лікарський препарат (розділ 5).** З метою стандартизації сировини проведено дослідження макро- та мікроскопічних ознак плодів глодів у порівнянні з фармакопейними видами: виявлено діагностичні ознаки анатомічної будови; визначено числові показники доброякісності сировини: вологість, загальна зола, важкі метали, ідентифікація флавоноїдів методом тонкошарової хроматографії. Проведено кількісне визначення БАР у плодах та одержаних екстрактах: суми гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, поліфенолів, вільних та зв’язаних амінокислот, жирних кислот, органічних кислот, аскорбінової кислоти та каротиноїдів.

Розроблено розділи до проекту АНД на “Фітокардин”: опис, ідентифікація, кількісне визначення флавоноїдів.

### ВИСНОВКИ

1. Проведено фармакогностичне дослідження видів роду Crataegus L. флори України; виявлено перспективні види C.аrnoldiana Sarg., C.submollis Sarg., та C.canadensis Sarg. як джерела БАР; на основі екстракту плодів глоду Арнольда створено комплексну лікарську форму антигіпертензивної, антиаритмічної та седативної дії.
2. Вперше проведено морфолого-таксономічне дослідження 38 видів глоду, в результаті якого виявлено групу таксонів, що показує найбільшу спорідненість з рештою видів та визначає морфологічну характеристику роду. Виявлено розділення роду на декілька груп (гілок), сукупність ознак яких корелює з природними ареалами розповсюдження цих видів.
3. Вперше проведено хемотаксономічне дослідження 12 видів глоду: 9 нефармакопейних культурних видів північноамериканської групи та 3 фармакопейних видів; визначено хімічний профіль роду Глід.
4. Виявлено корелятивні зв’язки між морфологічними ознаками та хімічним складом таксонів, що створює передумови для цілеспрямованого пошуку БАР та виявлення перспективних видів. Встановлено, що види С. macracantha Lodd. та C.mollis Sarg. потребують поглибленого вивчення.
5. На основі результатів аналізу фізико-хімічних властивостей, даних хромато-мас-спектрометрії та газорідинної хроматографії встановлено структуру 103речовин; серед яких похідні бензолу та фенолу, фенілпропаноїди, флавоноїди, терпеноїди, амінокислоти, жирні кислоти, мікро- та макроелементи.
6. Вперше виділено 20 фенольних сполук з глодів північноамериканської групи: флавоноїдів – 13, гідроксикоричних кислот – 4,кумаринів – 3. Сполуки ідентифіковані як: кофейна кислота; ферулова кислота; хлорогенова кислота; неохлорогенова кислота; умбеліферон; ескулетин; скополетин; апігенін; лютеолін; кемпферол; кверцетин; гіперозид; ізокверцитрин; кверцитрин; рутин; біокверцетин; антозид; вітексин; орієнтин; ацетилвітексин.
7. В плодах та екстрактах глодів визначено кількісний вміст суми гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, поліфенолів, вільних та зв’язаних амінокислот, жирних кислот, органічних кислот, аскорбінової кислоти та каротиноїдів.
8. Розроблено склад та технологічну схему отримання екстрактів плодів глодів: глоду Арнольда, глоду канадського та глоду м’якуватого.
9. Розроблено комплексний препарат “Фітокардин” на основі екстракту глоду Арнольда та встановлено його антигіпертензивну активність. Розроблено розділи проектів АНД на плоди глодів та на препарат “Фітокардин”.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Сучасний стан вивчення флавоноїдів видів роду Сrataegus L. / Н.В. Сидора, А.М. Ковальова, С.В. Ковальов, А.М. Комісаренко, Т.В. Жукова, Т.В. Ільїна // Вісник фармації. – 2004. – № 3. – С. 22 – 27. (Особистий внесок – проведення досліджень та узагальнення одержаних результатів, участь у написанні статті).
2. Фармакогностичне дослідження деяких північноамериканських видів Crataegus L. / А.М. Ковальова, Н.В. Сидора, С.В. Ковальов, А.М. Комісаренко, А.Л. Вількер // Вісник фармації. – 2005. – №2. – С. 16 – 20. (Особистий внесок – експериментальні дослідження, участь у написанні статті).
3. Изучение фенольных соединений плодов североамериканских видов боярышников / Гончаров Н.Ф., Сидора Н.В., Ковалева А.М., Комиссаренко А.Н. // Прикладные информационные аспекты фармации. – Т. 9. – 2006. – № 2. – С. 47 – 51. (Особистий внесок – вивчення складу фенольних сполук, участь у написанні статті).
4. Фармакогностичне дослідження плодів глодів північноамериканської групи / А.М. Ковальова, Н.В. Сидора, С.В. Ковальов, А.М. Комісаренко // Вісник фармації. – 2006. – №1. – С. 17 – 21. (Особистий внесок – експериментальні дослідження, статистична обробка одержаних результатів, участь у написанні статті).
5. Ковальова А.М., Сидора Н.В. Хiмiчне дослiдження лiпофiльних фракцiй плодiв видiв роду Crataegus L. // Вiсник фармацiї.– 2006. – № 4. – С. 8 – 12. (Особистий внесок – одержання ліпофільних фракцій, хроматографічне дослідження, участь в оформленні статті).
6. Сидора Н.В., Ковальова А.М., Ковальов С.В. Макро- i мiкроскопiчне дослiдження Crataegus flabellata (Bosc.) Koch. // Вiсник фармацiї. – 2006. – № 2. – С. 12 – 14. (Особистий внесок – експериментальні дослідження, оформлення статті).
7. Обґрунтування перспективностi використання глоду в медицинi / Н.В. Сидора, А.М. Ковальова, А.М. Комiсаренко, С.В. Ковальов // Фiтотерапiя. Часопис. – 2006. – № 2. – С. 45 – 48. (Особистий внесок –, участь у написанні статті).
8. Сидора Н.В., Ковальова А.М. Амінокислотний склад плодів та екстрактів нефармакопейних видів глоду // Фітотерапія. Часопис. – 2006. – № 4. – С. 61 – 66. (Особистий внесок – експериментальні дослідження, участь у написанні статті).
9. Сидора Н.В., Ковальова А.М. Дослiдження елементного складу плодів та екстрактів видів глоду // Медична хімія. – 2007. – № 1. – С. 49 – 52. (Особистий внесок – експериментальні дослідження, написання статті).
10. Стандартизація плодів нефармакопейних видів глоду / А.М. Ковальова, Н.В. Сидора, М.Ф. Гончаров, А.Л. Вількер // Фітотерапія. Часопис. – 2007. – № 2. – С. 54 – 56. (Особистий внесок – визначення числових показників сировини, участь у написанні статті).
11. Хромато-мас-спектрометричне вивчення компонентів етилацетатної фракції квіток Сrataegus arnoldiana Sarg. / А.М. Ковальова, Н.В. Сидора, О.М. Александров, А.Л. Вількер // Фармаком. – 2007. – № 2. – С. 54 – 60. (Особистий внесок – експериментальні дослідження, участь у написанні статті).
12. Хромато-мас-спектрометричне дослідження ліпофільної фракції квіток Сrataegus arnoldiana Sarg. / А.М. Ковальова, Н.В. Сидора, О.М. Александров, А.Л. Вількер // Вісник фармації. – 2007. – № 2. – С.19 – 23. (Особистий внесок – експериментальні дослідження, участь у написанні статті).
13. Спосіб одержання рідкої форми лікарського препарату антигіпертензивної, антиаритмічної та седативної дії. Заявка а200606158. Україна, МПК6 А 61 К 38/00 / Сидора Н.В., Ковальов С.В., Авідзба Ю.Н., Комісаренко С.М., Георгіївський Г.В., Ковальчук Н.І., Комісаренко А.М., Ковальова А.М., Чайка Л.О., Гомон О.М. – Заявл. 02.06.2006; опубл. 10.07.2007., – Бюл. № 10. – С. 2.7. (Особистий внесок – розробка розділів АНД на одержаний препарат: опис, ідентифікація, кількісне визначення флавоноїдів, участь в оформленні патенту).
14. Фенольні сполуки видів роду Crataegus L. / С.В. Ковальов, А.М. Ковальова, Н.В. Сидора, Т.В. Ільїна, А.М. Комісаренко // Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії: Матеріали Всеукр. наук.-практ. семінару, м. Харків, 26 лист. 2004 р. – Х., 2004. – С. 259 – 263.
15. Морфолого-анатомічне дослідження деяких представників видів роду Crataegus L. / Н.В. Сидора, А.М. Ковальова, С.В. Ковальов, А.М. Комісаренко // “Науковий потенціал світу ‘2004”: Матеріали I Міжнар. наук.-практ. конф. – Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2004. – С. 12 – 13.
16. Фенольні сполуки видів роду Crataegus L. / А.М. Ковальова, С.В Ковальов, Н.В. Сидора, А.М. Комісаренко, В.М. Ковальов // Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономіка лікарських засобів та біологічно активних добавок: Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю. – Тернопіль, 2004. – С. 107 – 109.
17. Фармакогностичне дослідження видів роду Crataegus L. / Н.В. Сидора, А.М. Ковальова, С.В. Ковальов, А.М. Комісаренко, А.Л. Вількер, А.В. Ісаков // “Ліки та життя”: Міжнар. медико-фармац. конгр. – К., 2005. – С. 145 – 146.
18. Амінокислотний склад екстракту Сrataegus monogina Jacg. / Н.В. Сидора, А.М. Ковальова, С.В. Ковальов, А.М. Комісаренко // Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України: Матеріали VI Нац. з’їзду фармац. України, м. Харків, 28 – 30 верес. 2005 р. – Х., 2005. – С. 775 – 776.
19. Дослідження мікроелементного складу екстракту Crataegus nigra L. / С.В. Ковальов, Н.В. Сидора, А.М. Ковальова, А.М. Комісаренко // Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України: Матеріали VI Нац. з’їзду фармац. України, м. Харків, 28 – 30 верес. 2005 р. – Х., 2005. – С. 722.
20. Сидора Н.В. Crataegus pseudokyrtostyla перспективне джерело біологічно активних речовин // Materialy II Międzynarodowej naukowe-praktycznej konferencji “Wykształcenie i nauka bez granic – ’2005”. Tom 2. Nauk biologicznych, weterynaria. – Przemyśl: Sp. Z o.o. “Nauka i studia”, 2005. – S. 21 – 23.
21. Перспективи використання видів глоду в косметології / Н.В. Сидора, С.В. Ковальов, А.М. Ковальова, А.Л. Вількер, О.А. Іщенко // Лікувальна косметика: дійсність та майбутнє: Зб.матеріалів наук.-практ.конф., м. Харків, 18 берез. 2005р. – Х., 2005. – С. 42 – 43.
22. Изучение фенольных соединений плодов североамериканских видов рода боярышник / Гончаров Н.Ф., Ковалева А.М., Комиссаренко А.Н., Сидора Н.В., Авидзба Ю.Н. // Человек и лекарство: Тез. докл. XII Рос. нац. конгр., 3 – 7 апр. 2006г. – М., 2006. – С. 12.
23. Элементный состав плодов и экстрактов нефармакопейных видов боярышников / А.М. Ковалева, Н.В. Сидора, С.В. Ковалев, А.Н. Комиссаренко, Н.Ф. Гончаров // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения: X Международный съезд, 27 – 30 июня 2006 г. – СПб, 2006. – С. 176 – 179.
24. Ковальова А.М., Сидора Н.В., Ковальов С.В. Морфолого-таксономiчне дослідження видів роду Crataegus L. // Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономiчнi дослідження нових лікарських засобів та бiологiчно активних добавок: Тез. доп. II Мiжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 12 – 13 жовт. 2006 р. – Х., 2006. – С. 61 – 62.
25. Сидора Н.В. Хімічне дослідження плодів нефармакопейних видів глодів // X Міжнар. мед. конгр. студ. і молодих вчен., 11 – 13 трав. 2006р. – Тернопіль, 2006. – С. 236.
26. Сидора Н.В., Ковальова А.М., Ковальов С.В. Дослідження лiпофiльної фракції плодів глодів // Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономiчнi дослідження нових лікарських засобів та бiологiчно активних добавок: Тез. доп. II Мiжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 12 – 13 жовт. 2006 р. – Х., 2006. – С. 67 – 69.
27. Хемотаксономічне дослідження роду Crataegus L. / Н.В. Сидора, А.М. Ковальова, С.В. Ковальов, А.Л. Вількер // “Ліки та життя”: Міжнар. медико-фармац. конгр. – К., 2007. – С. 108 – 109.
28. Contemporary approaches to the search for plant biological active substances and to determination of the plants place in the phylogenetic system on the basis of multidimensional taxonomy analysis techniques /A.M. Kovalyova, V.N. Kovalyov, N.V.Sidora, A.N. Komissarenko // The Regional Conference and Scientific Exhibition on Medicinal, Aromatic and Poisonous Plants, 16 – 18 April 2007. – Sana’a, 2007. – P. 77 – 78.
29. Sidora N., Tretyacova A. Pharmacognostic investigation of species of hawthorn from Ukrainian flora // 7th International congress of young medical scientists, 20 – 22 May 2007. – Poznan, 2007. – P. 199.

**Сидора Н.В. Фармакогностичне дослідження видів роду Crataegus L. флори України** – Рукопис. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Національний фармацевтичний університет, Харків, 2007.

На основі граф-аналізу проведено морфолого-таксономічне (38 видів) та хемотаксономічне (12 видів) дослідження глодів флори України. Вивчено фенольні сполуки 9 північноамериканських глодів у порівнянні з фармакопейними видами; виявлено корелятивні зв’язки між морфологічними ознаками та хімічним складом таксонів. Види Crataegus аrnoldiana, C.submollis, C.canadensis визначено перспективними джерелами біологічно активних речовин (БАР). Встановлено структуру 103сполук: похідні фенолу та бензолу, гідроксикоричні кислоти, гідроксикумарини, флавоноїди, терпеноїди, жирні кислоти, амінокислоти та мікроелементи; виділено 20 фенольних сполук; визначено кількісний вміст БАР. Розроблено: спосіб одержання рідкого екстракту з плодів, комплексний препарат “Фітокардин”, проекти АНД на плоди та препарат. Виявлено антигіпертензивну активність препарату.

**Ключові слова:** Crataegus L., фармакогностичне дослідження, морфолого-таксономічне та хемотаксономічне дослідження, біологічно активні речовини, рідкий екстракт, антигіпертензивна активність.

**Сидора Н.В. Фармакогностическое исследование видов рода Crataegus L. флоры Украины** – Рукопись. Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2007.

Диссертация посвящена фармакогностическому исследованию видов рода Crataegus L. флоры Украины с целью выявления новых перспективных источников БАВ и созданию на их основе препарата антигипертензивного действия.

Впервые проведено сравнительное изучение фенольных соединений 12 видов боярышников флоры Украины, определен химический профиль рода, который характеризуется наличием гиперозида, хлорогеновой и неохлорогеновой кислот, витексина, ацетилвитексина. Системное таксономическое исследование видов рода Боярышник проводилось на основе современных информационных технологий и граф-анализа, который включает в себя стандартные процедуры кластерного, корреляционного и факторного анализов, использовалась вычислительная среда Microsoft Excel. Впервые проведено морфолого-таксономическое (11590 положительных и отрицательных состояний признаков 38 видов) и хемотаксономическое (612 положительных и отрицательных состояний признаков 12 видов) исследование фармакопейных и нефармакопейных видов боярышников, относящихся в основном к северо-американской группе, которые произрастают и культивируются на территории Украины. Построены иерархические ряды, дендрограммы рода на основе морфологических и химических признаков, показывающие таксономические расстояния между боярышниками; выявлена основная группа таксонов, характеризующая род. На основе результатов таксономического исследования выявлено, что род разделяется на группы (ветви) с определенным набором признаков, отмечается корреляция групп с ареалами произрастания видов в дикорастущем состоянии. Выявлены коррелятивные связи между морфологическими и химическими признаками, что было применено нами для целенаправленного поиска фармакологических соединений. Установлено, что перспективными видами являются C.аrnoldiana Sarg., C.submollis Sarg., C.canadensis Sarg. На основе результатов хемотаксономического исследования обосновано их использование как источников биологически активных соединений.

С помощью химических и физико-химических методов в сырье боярышников идентифицировано 114 и установлена структура 103 соединений: 4 гидроксикоричные кислоты, 3 кумарина, 13 флавоноидов, 14 терпеноидов, 14 ароматических и 10 алифатических соединений, 14 жирных кислот, 16 аминокислот, 15 микроэлементов. Методами колоночной и препаративной хроматографии в индивидуальном состоянии выделены 20 веществ фенольной природы: кофейная, феруловая, хлорогеновая и неохлорогеновая кислоты, умбеллиферон, эскулетин, скополетин, апигенин, лютеолин, кемпферол, кверцетин, гиперозид, кверцитрин, изокверцитрин, биокверцетин, рутин, антозид, витексин, ацетилвитексин, ориентин.

Жирные кислоты, а также биологически активные вещества эфирного масла определяли хромато-масс-спектрометрическим методом с использованием встроенной программы обработки масс-спектров. Масс-спектры хроматографических пиков веществ были идентифицированы в результате сравнения с масс-спектрами эталонных соединений. В цветках боярышников Арнольда, мягковатого, канадского определено содержание ароматических соединений, терпеноидов, фенилпропаноидов: фенол, *п*-гидроксибензойная кислота, гераниол, линалоол, нерол, терпинеол, ментол, борнеол, анисовый альдегид, тимол, карвакрол.

В плодах и экстрактах определено количественное содержание органических кислот, аскорбиновой кислоты, гидроксикоричных кислот, флавоноидов, дубильных веществ, свободных и связанных аминокислот, жирных кислот, каротиноидов, макро- и микроэлементов.

Подобраны технологические параметры получения жидких экстрактов из плодов боярышника, при этом использовали химические реакции идентификации, методы хроматографического анализа и количественного определения суммы флавоноидов. Разработаны технологические схемы получения жидких экстрактов плодов боярышников Арнольда, мягковатого и канадского, а также комплексного препарата “Фитокардин”, включающего в себя эналаприла малеат, индапамид, растительные экстракты, в том числе жидкий экстракт боярышника Арнольда. На способ получения препарата подана заявка на патент Украины. Фармакологическая активность изучена в лаборатории общей фармакологии ГНЦЛС под руководством зав. лабораторией, канд. мед. наук, ст. н .с. Чайки Л.А. Установлено, что через 1 час после введения и последующих 24 – 28 часов препарат оказывает дозозависимый антигипертензивный эффект в дозах более низких, чем монопрепарат эналаприл. Антигипертензивный эффект комплекса обусловлен синергизмом действия эналаприла и экстракта боярышника, что способствует более раннему и значительному проявлению действия в сравнении с монопрепаратом. Особенностью механизма действия препарата является то, что каждый компонент воздействует на разные рецепторные структуры, ответственные за гипертензивный тонус сосудов, что обеспечивает синергизм их суммарного эффекта и пролонгацию до 25 – 28 часов после однократного приема препарата. Разработаны разделы проекта АНД на препарат “Фитокардин”: описание, идентификация, количественное определение флавоноидов. В плодах боярышников определены влажность, зола общая; проведено макро- и микроскопическое изучение боярышников, установлены диагностические признаки сырья.

**Ключевые слова:** Crataegus L., фармакогностическое исследование, морфолого-таксономическое и хемотаксономическое исследование, биологически активные вещества, жидкий экстракт, антигипертензивная активность.

**Sidora N.V. Pharmacognostic research of Crataegus L. genus species from Ukrainian flora** –A manuscript. Dissertation for the candidate of pharmaceutical science Degree in specialty 15.00.02 – pharmaceutical chemistry and pharmacognosy. – National University of Pharmacy, Kharkiv, 2007.

On the base of graph-analysis morphologic-taxonomic (38 species) and chemotaxonomic research (12 species) of hawthorns from Ukrainian flora was carried out. A phenols compounds from 9 species of North-American hawthorns in comparison with pharmacopoeia species was investigated; correlation links between morphological signs and chemical composition of taxons was revealed. Species Crataegus аrnoldiana, C.submollis, C.canadensis was defined as perspective sources of biological active compounds (BAC). The structure of 103 compounds: derivatives of phenol and benzol, hydroxycinnamomic acids, hydroxyl cumarins, flavonoids, terpenoids, fatty acids, amino acids, microelements was determined; 20 phenolic compounds was educed; quantitative content of BAC was established. The method of fluids extracts from hawthorns fruits obtained, the complex preparation “Fitocardin”, projects AND in fruits and to the preparation were worked. The antihypertensive activity of preparation was defined.

**Key words:** Crataegus L., pharmacognostic investigation, morphologic-taxonomic and chemotaxonomic research, biological active compounds, fluid extract, antihypertensive activity.

|  |
| --- |
|  |
|  |
| Підписано до друку 05.11.2007 р. Формат 60×84/16.  Папір офсетний. Гарнітура Times ET. Друк ризографія.  Умов. друк. арк. 1,0. Тираж 100 прим. Замов. № 123 |
| Надруковано ФОП “Азамаєва В.П.”  Свідоцтво про державну реєстрацію В02 № 229277 від 06.06.2001 р.  Свідоцтво про внесення суб’єкта видавничої справи до державного реєстру  видавців, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції.  Серія ХЛ № 134 від 23.02.05 р.  м. Харків, вул. Познанська 6, к. 84 тел. 362-01-52 |

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