

**Кемертелидзе Э.П., Алания М.Д.,
Шалашвили К.Г., Сагарейшвили Т.Г.,
Кавтарадзе Н.Ш.**

**ОРИГИНАЛЬНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ
ПРЕПАРАТЫ ФЛАВОНОИДНОСНЫХ
РАСТЕНИЙ ГРУЗИИ**

**Тбилиси
2016**

UDC (უკ) 615.322

O-658

В книге представлены результаты собственных исследований авторов по созданию оригинальных лекарственных препаратов из растений, произрастающих в Грузии, разрешенные к медицинскому применению. В частности, обращено внимание на гипозотемический препарат «Фларонин» на основе индивидуального флавоноидного гликозида робинин из листьев и цветков *Astragalus falcatus* Lam.; Гепатопротекторное и желчегонное средство «Царубол», представляющее собой липидорастворимые фенольные соединения плодов *Paliurus spina-christi* Mill.; «Родопес» противогерпесный препарат на основе флавоноидов листьев *Rhododendron ungerii* Trautv.; «Гингко-бати» из листьев произрастающей в Грузии *Ginkgo biloba* L., улучшающий функцию кровеносных сосудов; «Сатурин» - препарат для лечения и профилактики диабета типа 2 из *Saturaja hortensis* L.

Установлена возможность применения в медицине против уремии натурального препарата из листьев *Puereria hirsuta* Matsum. произрастающего в Грузии. Описаны биологически активные флавоноиды из видов *Trifolium* L. и шишек *Alnus barbata* С.А.Мей.

Книга предназначена для работников, занимающихся биологически активными соединениями растительного происхождения.

Печатается по постановлению редакционно-издательского
совета Национальной Академии наук Грузии

ISBN 978-9941-0-8619-9

ВВЕДЕНИЕ

Среди растительных вторичных метаболитов – фенольных соединений, особое место занимают флавоноиды, весьма широко распространенные в растительном мире.

Флавоноидоносные растения, проявляющие разностороннюю биологическую активность, издавна применяются в лечебных целях. Интерес к ним постоянно растет и значительно усилился за последние десятилетия из-за их антиоксидантных свойств и связанных с ними заболеваний свободнорадикальных процессов.

Изучение биологии, биосинтеза, химии, фармакологических свойств флавоноидов развернуто почти по всему миру. В бывшем Советском Союзе, а затем в странах СНГ в данном направлении солидные работы ведутся в Институте биохимии им. А.Н. Баха РАН, в Новосибирском институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, в Харьковском научно-исследовательском институте химии и технологии лекарственных средств, Казахском национальном университете им. Аль-Фараби, Институте химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова АН РУз, Институте биохимии им. С.В. Дурмишидзе АН Грузии.

Совершенно естественно, что обследование произрастающих в Грузии растений, для выявления флавоноидоносных видов представляет определенный интерес.

Многообразная флора Грузии, насчитывающая 4600 растений, отличающаяся большим эндемизмом, до 20% которой эндемы Грузии или Кавказа, является неиссякаемым источником биологически активных соединений.

Именно поэтому фармакохимическая наука и химико-фармацевтическая промышленность республики развивались на базе изучения и использования богатых местных природных ресурсов. Этому способствовала, в основном, деятельность Института фармакохимии, колоссальный творческий и научно-организаторский труд основателя и до конца жизни директора

института, академика Кутателадзе Иовела Григорьевича и его соратников.

Результаты Института фармакохимии прошлых лет легли в основу организации Тбилисского и Батумского химико-фармацевтических заводов. Созданные институтом до 70 лечебных средств в разное время применялись в медицинской практике. В институте функционирует комплексная система для создания лекарственных средств - от поиска биологически активных веществ, их химического, фармакологического изучения, разработки технологии и анализа до выпуска предложенных препаратов. В 1960 году в Институте фармакохимии был организован отдел фитохимии (руководитель Э.П. Кемертелидзе), где развернулось целенаправленное изучение растений по отдельным химическим классам: сердечные гликозиды, стероидные и тритерпеновые сапонины, циклоартаны, липиды, флавоноиды, кумарины, лигнаны, таниды, антрахиноны, полисахариды.

Тем самым в Грузии были заложены основы значительного научного направления – изучения химии отдельных классов биологически активных растительных соединений. За прошедший период проанализировано несколько тысяч растений, выявлено и изучено много новых интересных по химическому составу и фармакологической эффективности видов.

По полученным результатам опубликовано свыше тысячи статей, получено до 200 авторских свидетельств и патентов. Итоги исследования карденолидов и буфадиенолидов, трансформированных сердечных гликозидов и агликонов, стероидных гликозидов, биологически активных липидов включены в изданные монографии.

Представленная небольшого объема книга охватывает собственные исследования авторов по флавоноидоносным растениям, на основе которых созданы лекарственные препараты, уже применяемые на практике. Приведен как опубликованный в

прошлые годы в различных периодических журналах, так и неопубликованный материал. Но мы сочли целесообразным сконцентрировать их и дать интерпретацию полученных данных.

В книге заострено внимание на предложенных препаратах, описаны выделенные из их растительных источников флавоноиды, не вдаваясь в изложение экспериментальной части.

В данной книге лишь весьма кратко затронуты вопросы химической характеристики флавоноидов, так как они приведены в огромной массе статей, обобщены в фундаментальных монографиях видных ученых, где можно получить нужную информацию.

Э.П. КЕМЕРТЕЛИДЗЕ

ГЛАВА 1. КРАТКИЕ СВЕДЕНИЯ О ФЛАВОНОИДАХ

Флавоноиды, объединяющие различные, генетически связанные между собой соединения общей формулой углеродного скелета $C_6-H_3-C_6$ и их производные, рассматривают как 2(3)(4)-фенольные продукты хромона: флавоны, изофлавоны, неофлавоны или 1,1-1,2 и 1,3 дифенил производные пропана, за исключением открыто-цепных соединений халконов и дигидрохалконов.

Флавоноиды, весьма широко распространенные в растительном мире, характеризуются широким спектром биологической активности. Богатые резервы таят в себе флавоноидные препараты в борьбе за продление жизни человека, так как укрепляют кровеносные сосуды, защищают печень, стимулируют работу мозга и сердца; обладают противосклеротическими свойствами, замедляющими старение организма. Флавоноиды проявляют радиопротекторное, анаболическое, гонадонотропное, антикоагулянтное, лейкостимулирующее и др. свойства. Большой диапазон терапевтических возможностей и безвредность флавоноидов позволяют считать их источником средств общего действия.

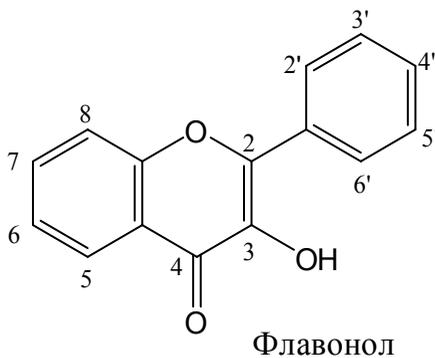
Привлекает особое внимание доступность сырьевых ресурсов и необычайно высокое их содержание в растениях, иногда достигающее до 30%, а также простота выделения из растения. Изолирование индивидуальных флавоноидов для использования в медицине не всегда обязательно.

К настоящему времени описаны физико-химические характеристики до 8000 природных флавоноидов с установленной структурой.

Разносторонние биологические действия флавоноидов, естественно, связаны с физико-химическими свойствами различных структур, в том числе с конформациями молекул. Ниже приводятся краткие сведения о некоторых основных группах флавоноидов.

Флавоны - самая многочисленная группа, в которую, наряду с незаменимым флавоном, входят структуры с семью заместителями, в том числе необычными, такими как алкильные и хлоралкильные фрагменты от C₁ до C₅ нормального и изостроения.

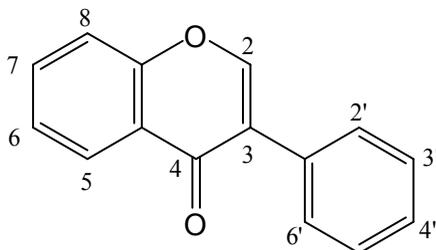
Флавонолы - относятся к многочисленной группе соединений, причем более чем в 50% растений агликонами являются кемпферол и кверцетин. Растения продуцируют большое разнообразие (от моно- до окта) метоксилированных (C₁-C₅) алкил-моно- и диметилендиокси и гликозилированных производных.



Изофлавоны - являются многочисленной группой природных соединений, описанных чаще в растениях сем. *Fabaceae*, *Iridaceae*, *Rosaceae*. Наиболее распространены 7,4' - диокси - 5,7,4' триоксипроизводные, либо 4' метоксизамещенные. Углеводные

заместители чаще присоединены С-О-С-связью в 7 и 4'-положениях.

Флаваноны - продуцируются в коре и древесине. Бесцветные соединения с одним асимметрическим атомом углерода C_2 , поэтому каждому флаванону соответствуют два изомера и рацемет.



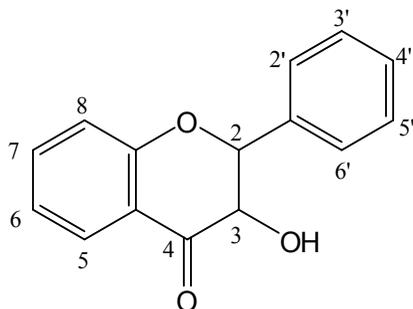
Изофлаванон



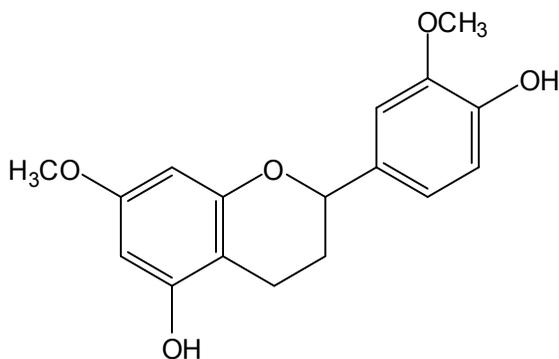
Флаванон

Флаванололы (дигидрофлаванололы) содержат два асимметрических атома углерода (C_2 и C_3) и могут существовать в виде четырех изомеров и двух рацематов. Углеродные фрагменты чаще находятся в 3-положении, окси- и метоксигруппы – в 7,5, а диокси (метокси) – в 5,6,7-положениях.

Флаваны - незамещенные в пирановом кольце - наиболее восстановленная группа соединений. Описана в надземной части 11 семейств растений, причем больше всего встречаются 5,7,4' – замещенные структуры.

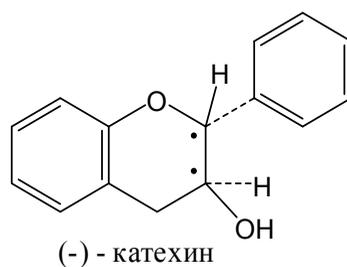
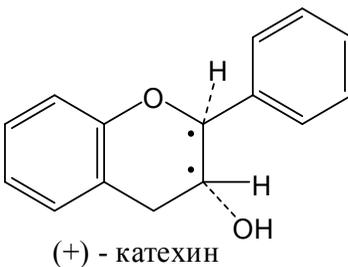


Флаванонол

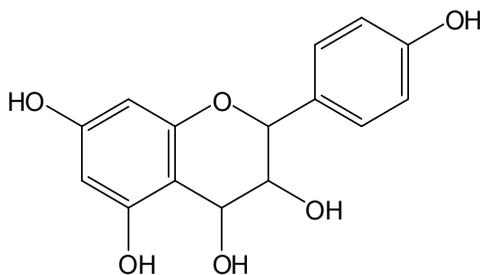


5,4'-дигидрокси-7,3'-диметоксифлаван

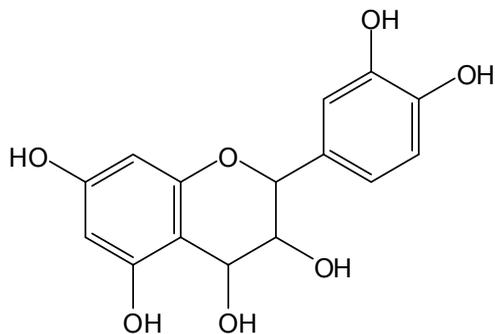
Флаван-3-олы (катехины) – содержатся во многих съедобных плодах и ягодах, древесных растениях, чайных листьях и пр. Их отличает наличие двух асимметрических атомов углерода C_2 и C_3 , поэтому каждый катехин существует в виде четырех изомеров и двух рацематов. R и S формы катехинов имеют транс-расположенные кольца B и C_3 -OH⁻ группы, а цис-расположение колец обуславливает существование R и S – эпиформ катехинов.



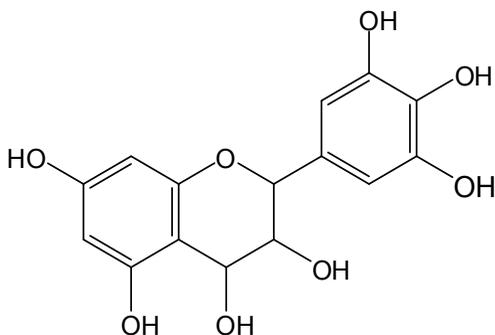
Лейкоантоцианидины – флаван-3,4-диолы, с различной степенью конденсации; мономерные, димерные и более высоко олигомерные производные, называемые проантоцианидинами. В их структуре три асимметрических атома углерода (C_2 , C_3 , C_4) и возможно существование восьми изомеров и четырех рацематов.



Лейкопеларгонидин

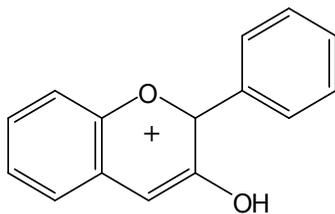


Лейкоцианидин



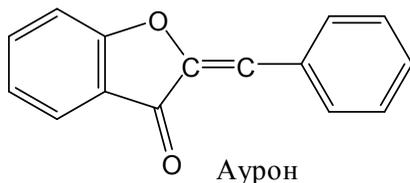
Лейкодельфинидин

Антоцианидины и их гликозиды антоцианы – производные катиона флавилия (2-фенилбензопирилия) – основные красящие вещества растений. Из всех агликонов в растениях преобладают цианидин, дельфинидин, пеларгонидин и их гликозиды.

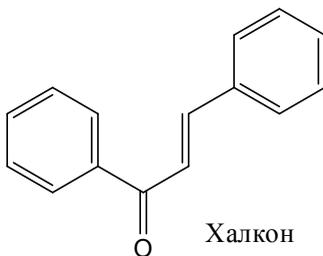


Антоцианидин

Ауроны – отличаются локализацией в цветках, реже в коре, древесине и листьях. В растениях доминируют в виде 6, 3', 4' – триокси- 4, 6, 3', 4'–, и 6, 7, 3', 4' – тетраокси производных, с углеводным заместителем чаще в 6–положении, причем абсолютное большинство гликозидов относится к О-гликозидам, существуют также в виде димеров C₅-C₅ типом связи.



Халконы – открытоцепные флавоноиды широкого распространения во всех органах растений в виде агликонов и гликозидов; их отличает число заместителей в кольце В. Однако известны халконовые структуры с незамещенным кольцом В.



Таким образом, в настоящее время все флавоноиды поделены на восемь подгрупп, внутри которых выделяются типы, классы (более 70) и виды. Данная классификация и описание группы флавоноидов нами приведены по фундаментальным монографиям Д.Ю. Корулькина, Ж.А. Абилова, Р.А. Музычкиной и Г.А. Толстикова. Существуют альтернативные варианты классификации флавоноидов, в том числе основанные на единстве химических свойств и биологического родства, но наиболее характерным нам

представляется именно вариант, предложенный вышеуказанными учеными.

1.1. Выделение флавоноидов из растительного сырья

Флавоноиды как полиоксипроизводные соединения извлекаются из растения спиртами, ацетоном и их водными растворами, чаще всего из обезжиренного сырья и отделением терпеноидов, липидов экстракцией бензолом, гексаном, петролейным эфиром.

Выделение флавоноидов в каждом конкретном случае осуществляется с учетом химического состава исходного материала, в зависимости от содержания в них липофильных и других сопутствующих веществ, их принадлежности к химическим группам, степени гликозидирования. Обычно используется воздушно-сухое сырье. Так как в свежесобранных растениях возможен ферментативный гидролиз, их экстракцию проводят кипящими растворителями. Из 70-80%-ного спиртового экстракта растения спирт отгоняют, водную фазу при необходимости, для удаления липофильных веществ, вновь обрабатывают неполярными растворителями, чаще всего хлороформом, и из очищенной водной фазы флавоноиды извлекают жидкость-жидкостной экстракцией, последовательно этилацетат-этанололом, этилацетатом и н-бутанолом. Органический растворитель отгоняют. Таким образом получают агликаны, моно-, ди- и тридесмозиды. Сильнополярные олигомерные формы остаются в водной фазе.

Разделение обогащенных фракций на отдельные компоненты осуществляют колоночным хроматографированием на силикагеле, полиамидном сорбенте, сефадексе LH-20, при подборе оптимальных соотношений сорбента и элюентов. Полученные узкие фракции рехроматографируют.

Наиболее совершенные разделения на отдельные соединения достигаются с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии – ВЭЖХ. При подборе рациональных условий разделения ВЭЖХ позволяет осуществить также качественный и

количественный анализ всех видов флавоноидов и дубильных веществ, даже при их одновременном присутствии.

1.2. Качественные реакции

Флавоноиды, являющиеся полифенолами, дают все реакции фенольных соединений. Но их интенсивность и окрашивание специфичны в зависимости от расположения и количества заместителей, степени гликозидирования и т.п. Ниже приведены лишь некоторые, наиболее специфичные реакции флавоноидов.

Цианидиновая проба: (реакция Shinoda). Конц. соляная кислота и порошок магния. От оранжевого до красного окрашивания: флавоны, флавонолы, флавононы. Изофлавоны, халконы и ауруны цианидиновую реакцию не дают.

Конц. соляная кислота, цинк: красный, ярко-оранжевый: флавонолы, флаванололы, 3-гликозиды флавонов.

Реакция Запрометова. 1% раствор ванилина в конц. соляной кислоте. Красно-фиолетовое окрашивание: катехины, конденсированные дубильные вещества; малиновые – флавоно-3, 4-диолы; ярко-желтый – флавоны, флавонолы; ярко-красный – галлокатехины.

5% водный раствор Na_2CO_3 или пары аммиака. Желтый – флавоны, флаваноны; оранжевый или красный – халконы, ауруны; бледно-синий – катехины.

1-3% раствор AlCl_3 в спирте. Желтые – флавоны, флавонолы, халконы, ауруны; в УФ-свете при 254 нм коричнево-желтый, оранжевый – изофлавоны.

5% AlCl_3 и пары аммиака. УФ, 254 нм. Красный – халконы, коричнево-желтый – изофлавоны, оранжевый – ауруны.

Диазотированные п-нитроанилины или сульфаниловая кислота. Желтый, коричневый или красный – флавоноиды и большинство фенольных соединений *орто*-, *пара*-положениями, относительно ОН-групп.

Реакция Мартин-Беттоло – насыщенный – раствор $SbCl_3$ в четыреххлористом углероде. Желтое или оранжевое окрашивание – флавоны, флавонолы, флаваноны, изофлавоны.

1-3 мл 10% раствора щавелевой кислоты в смеси ацетон-вода (1:1).

Яркие окраски – антоцианы и антоцианидины.

Реакция Brgant (Модифицированная реакция Shinoda). Конц. HCl , порошок магния, октанол. Дает возможность дифференцировать флавоноидные агликоны и гликозиды.

1.3. Идентификация флавоноидов

Идентификация и установление структуры новых соединений осуществляется классическими химическими методами: определением элементного состава, температуры плавления, оптическим вращением, характерными качественными реакциями, хроматографическим анализом (бумажная и тонкослойная хроматография), с применением современных спектральных методов как для самих веществ, так и для продуктов их кислотного, щелочного, ферментативного гидролиза и полученных производных ацетилирования, силилирования, конденсации, восстановления и т.п.

УФ-спектроскопия с ионизирующими и комплексообразующими реагентами позволяет выявить положение функциональных групп, заместителей, их относительное расположение.

ИК-спектроскопия в анализе флавоноидов дает возможность идентифицировать все функциональные группы, степень замещенности кольца С, наличие углеродных заместителей, тип связи с агликоном, размер окисных циклов, причем ароматическая система (кольца А и В) и мостик С-О-С чаще всего прописываются без отклонений, в своих характеристичных областях поглощения.

Достоверность указанных результатов достигается, и более того, получаются наиболее точные результаты по структуре флавоноидов, как и других природных соединений – современными, прогрессивными спектральными методами, данными: 1H и ^{13}C ЯМР, DEPT, 1D-TOCSY, COSY, HSQC, HMBC, ROESY.

Литература

1. Harborne J.B. Comparative biochemistry of flavonoids. 1967, London; New York; Acad. Press. 383 p.
2. Семенов А.А., Карцев В.Г. Биологическая активность природных соединений. М.: ICSPF, 2012, 513 с.
3. Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А., Музыкакина Р.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды, Новосибирск, «ГЕО», 2007, 340 с.
4. Музыкакина Р.А. Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А. Основы химии природных соединений. Алматы: «Казах университеті», 2010, 564 с.

ГЛАВА 2. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАСТЕНИЙ ГРУЗИИ НА СОДЕРЖАНИЕ ФЛАВОНОИДОВ

Растения, произрастающие в Грузии, для исследования на содержание флавоноидов заготавливались фармакоботаническими экспедициями Института фармакохимии АН Грузии под руководством проф. Н.А. Анели, Г.С. Татишвили, Т.А. Ментешашвили, Т.К. Мардалеишвили, Дж. Н. Анели в различные регионы республики в основном в июле-сентябре. Ими же определялись растения и подготавливался гербарный материал. Всего проанализировано 1125 видов, 3546 образцов отдельных частей растений, принадлежащих к 138 семействам. Опыты проводились следующим образом. По 10 г в/с измельченных, просеянных сквозь сито № 3 сырья экстрагировали по 100 мл 70-80% этанолом или метанолом при нагревании на водяной бане. Экстракт отделяли от сырья, фильтровали, помещали на взвешенную фарфоровую чашку, упаривали, высушивали, взвешивали. Таким образом определяли количество экстрактивных веществ. Для качественной оценки остаток растворяли в небольшом количестве разбавленного водой спирта, из них на ТСХ или Б/Х наносили несколько точек. До проявления хроматограмм наблюдали визуально, также в УФ-свете при 254 и 300 нм. Б/Х и ТСХ проводили параллельно с достоверными образцами в соответствующих системах растворителей, обрабатывали специфическим реактивом и рассматривали в УФ-свете. Уже на данном этапе определяли групповую принадлежность флавоноидов.

Предварительное исследование показало, что подавляющее большинство растений являются флавоноидоносными; 80% видов содержат флавоноиды в более или менее значительных количествах. Флавоноиды накапливаются во всех органах растений, но в наибольшем количестве в листьях, цветках, затем плодах, стеблях, коре, а в подземных частях весьма редко. Одни и те же виды из разных географических зон по качественному составу мало

отличаются друг от друга. Встречались свободные агликоны, флавоноиды различной степени гликозидирования – от монозидов до олигозидов. Доминирующими являются производные кемпферола, кверцетина и изорамнетина; гликозиды апигенина, лютеолина, нарингенина характерны лишь для определенных родов. В основном встречаются: флавоны, флавонолы, изофлавоны, таниды; сравнительно реже катехины, ауруны, куместаны. Флавоноидами более богатыми оказались представители семейств: *Leguminosae*, *Compositae*, *Umbelliferae*, *Polygonaceae*. Из семейств *Leguminosae* по богатому составу обращают на себя внимание роды: *Astragalus*, *Trifolium*, *Onobrychis*.

Изучен состав флавоноидов отдельных видов *Astragalus*, *Onobrychis*, *Trifolium*, *Leucanthemum*, *Verbascum*, *Salix*, *Ononis*, *Salvia*, *Digitalis*, *Achillea*, *Polygonatum*, *Hamamelis*, *Urtica*, *Melilotus*, *Delphinium*, *Akebia*, *Vupleurum* и некоторые другие. Результаты опубликованы в периодических журналах.

В данной книге мы ограничимся итогами изучения флавоноидоносных растений, из которых созданы новые лекарственные препараты, уже применяемые в медицинской практике: *Astragalus falcatus* L., *Pueraria hirsuta* Matsum., *Paliurus spina-christi* Mill., *Satureja hortensis* L., *Rhododendron ungerii* Trautv., *Ginkgo biloba* L. Приводим также результаты исследования видов *Trifolium* L. и *Alnus barbata* С.А.Меу., являющихся продуцентами фармакологически эффективных веществ, перспективных для дальнейшего изучения.

Исследование выявленных богатых источников фенольных соединений растений, и в частности флавоноидов флоры Грузии, предмет нашей постоянной научной деятельности с целью создания принципиально новых лекарственных средств с интересным механизмом действия.

ГЛАВА 3. ФЛАВОНОИДЫ РОДА *ASTRAGALUS* L. И ГИПОАЗОТЕМИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ ФЛАРОНИН

Установлено, что флавоноидами особенно богаты растения семейства бобовых (*Leguminosae*) флоры Грузии, в том числе роды *Astragalus*, *Trifolium*, *Onobrychis* [1].

Род *Astragalus* объединяет свыше 2 200 видов, распространенных по всему земному шару. Во флоре Грузии описаны 72 вида, из них 19 эндемы Грузии, а 8 – Кавказа. Растения *Astragalus* – астрагал в основном многолетние, реже однолетние травы, полукустарники или кустарники; пастбищные, декоративные, пищевые, кормовые растения [2, 3]. Астрагалы издавна применяются в народной медицине при разных заболеваниях. Интерес к изучению химического состава астрагалов был связан с содержанием в них трагакантовых камедей, ценнейших продуктов для текстильной, лакокрасочной, фармацевтической промышленности [4,5]. Селен-содержащие аминокислоты астрагалов считали причиной падения скота. Этим еще больше обострилось внимание к изучению их состава [6-8].

Из различных видов астрагала выделены: β -ситостерин, токоферол, фенолкарбоновые кислоты, каротиноиды, кумарины, алкалоиды, производные соясапогенина. Примечательно обнаружение стероидных сапонинов фураностанолового ряда в *A. alexandrinus*, произрастающем в Египте [9-18]. Особенный интерес вызывает высокое содержание циклоартанов в видах рода астрагала, являющегося одним из основных их источников. Астрагалы богаты флавоноидами; из 60 видов астрагалов выделены и к 2002 году описаны до 246 флавоноидов [8].

Изучению астрагалов, произрастающих на территории Грузии, посвящена многолетняя, целеустремленная, плодотворная деятельность доктора фармацевтических наук, проф. Мери Дуруевны Алания, ныне заведующей лабораторией фенольных соединений

Института фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе и успешно руководящей это направление. Приводимые в данной главе работы выполнены при ее непосредственном участии [8, 19, 20].

3.1. Предварительный анализ астрагалов

Нами проанализирован 31 вид астрагалов, относящихся к 24 секциям [8, 20]. Материалы для исследования предоставляли фармакоботанические экспедиции Института фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе. Все исследованные виды астрагалов содержат в основном флавоноидные гликозиды (отрицательная реакция по *Bryant*) [21]. Наиболее интересных по качественному составу, проявленных на Б/Х пятен, подвергали количественному анализу хромато-колориметрическим методом по *Horac* [22]. Для углубленного изучения было отобрано богатых по содержанию 11 видов, имеющих более или менее широкое распространение или возможности введения их в культуру, в частности: *Astragalus brachycarpus* M.B. – астрагал короткоплодный, *A. bungeanus* Boiss. – а. бунговский, *A. falcatus* Lam. – а. серпоплодный, *A. galegiformis* L. – а. галеговидный, *A. caucasicus* Pall. – а. кавказский, *A. cicer* L. – а. нутовый, *A. glycyphylloides* D.C. – а. ложносладколистный, *A. glycyphyllus* L. – а. сладколистный, *A. kadschorensis* Bunge. – а. каджорский, *A. maximus* Willd. – а. наибольший, *A. meskheticus* Manden. – а. месхетский.

3.2. Выделение и химическое изучение флавоноидов

Флавоноиды из астрагалов выделяли по общей схеме. В/с измельченные листья, цветки, стебли, подземные части экстрагировали 80% спиртом, три раза при комнатной температуре, а четвертый – нагреванием на водяной бане. Из объединенных экстрактов спирт отгоняли, водную фазу очищали хлороформом, фильтровали и фенольные соединения экстрагировали этила-

цетатом. Органический растворитель отгоняли, остаток обрабатывали горячей водой, отфильтровывали, концентрировали и хроматографировали на колонках силикагеля, полиамидного сорбента или сефадекса LH-20. Таким образом из отдельных частей 11 видов выделено и охарактеризовано 48 индивидуальных компонентов, относящихся к 26 различным флавоноидам, среди них 12 новых, не описанных в литературе соединений. В процессе выделения флавоноидов были получены сахароспирты, кумарины, аминокислоты, стерины, тритерпеноиды и циклоартаны [8].

Идентификацию и установление структур новых соединений осуществляли классическими химическими методами, в частности определением элементного состава, т. пл., оптической активности, а также с применением современных прогрессивных спектральных методов как для самих веществ, так и для продуктов их расщепления и химического превращения: кислотного, щелочного, ферментативного гидролиза, получением ацетил- и метил-производных; данными УФ-, ИК-спектров, ^1H и ^{13}C ЯМР, HSQC, HMBC, COSY, ROESY, масс-спектральным анализом [23-28].

Ниже описаны некоторые физико-химические константы отдельных групп флавоноидов, выделенных из астрагалов. Детальная их характеристика, данные УФ- и ЯМР-спектров сведены в монографии [8].

Флавоны

Флавонами оказались три вещества, характеризующиеся коричневым свечением в УФ-лучах, золотистой флуоресценцией под влиянием паров аммиака; диазотированной сульфаниловой кислотой окрашиваются в оранжевый цвет; цианидиновая реакция положительная; желтое окрашивание, образующееся с 2% раствором нитрата циркония, исчезает при добавлении лимонной кислоты. УФ-спектр ($\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$, нм): 335-325, 267-268. В ИК-спектре ($\nu_{\text{max}}^{\text{вазелин}}$, см^{-1}): 3300-3400 (-OH), 1650-1610 (=C=O); ^1H ПМР в

области 6.72-7.10 м.д., характерный для протона при C_3 , тоже подтверждает их принадлежность к флавонам.

Флавоноид 1 – Апигенин – бледно-желтые игольчатые кристаллы состава $C_{15}H_{10}O_5$, т. пл. 340-345°C, при 230°C сублимируется; смешанная проба с достоверным апигенином депрессии т.пл. не дает и на Б/Х проявляется одним неразделимым пятном. В ИК-спектре ($\nu_{\max}^{\text{вазелин}}$, см^{-1}): 3300-3400 (-ОН), 1650, 1610 (=C=O), 1510, 1570, (>C=C<) [24]. Щелочным расщеплением образуются два вещества со значениями R_f 0.72 и 0.92 (система н-бутанол-уксусная кислота-вода 4:1:2) флороглюцин и п-гидроксибензойная кислота. Из 50 мг вещества получено 59 мг ацетат апигенина с т.пл. 128-130°C. Восстановлением 15 мг апигенина получен апигенининидин со значением R_f 0.74 (н-бутанол-уксусная кислота-вода 4:1:2). Установлено наличие трех гидроксильных групп при C_7 , C_5 , C_4 и его отсутствие при C_3 . Структура подтверждена ПМР спектром.

Таким образом флавоноид 1 идентифицирован как 5,7, 4' – тетрагидрокси-флавонон – апигенин [8].

Флавоноид 2 – Космосиин – бледно-желтые игольчатые кристаллы состава $C_{15}H_{10}O_5$, т. пл. 239-241°C; $[\alpha]_D^{20} - 50^\circ$ (с 0.1, EtOH-ДМФА; 99:1). Соответствующим образом идентифицирован как 5,4'-дигидрокси-7-О-β-D-глюкопиранозил-флавонон или космосиин [8].

Флавоноид 3 – Апиин – бледно-желтые кристаллы с т. пл. 188-190°C; $[\alpha]_D^{20} - 129^\circ$ (с 0.4, 0.01н NaOH). В ИК-спектре ($\nu_{\max}^{\text{вазелин}}$, см^{-1}): 3400-3100 (-ОН), 1650-1620, аналогичным образом идентифицирован как 5,4'-дигидрокси-7-О-β-D-апиозил-флавонон или апиин [8].

Флавонолы

Флавонолами оказались вещества 4-26, желтоватая флуоресценция в УФ-лучах под действием 5% раствора $AlCl_3$ в спирте и ярко желтая парами аммиака. Азотнокислым цирконилом окрашивается в желтый цвет, а лимонная кислота вызывает уменьшение

интенсивности окраски. В УФ-спектре ($\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$, нм): 370-350 и 275-255. Отсутствие сигнала в спектре ^1H ЯМР в области 6.72-7.10 м.д. специфично для протона C_3 .

Флавоноид 4 – Кемпферол – желтые игольчатые кристаллы, т. пл. 275-278°C; смешанная проба депрессии т.пл. не дает и на Б/Х проявляется одним пятном на уровне с достоверным кемпферолом. ИК-спектр ($\nu_{\text{max}}^{\text{вазелин}}$, cm^{-1}): 3410, 3300 (-ОН), 1650 (=C=O), 1540, 1560, 1590 (>C=C<); М – 286 (масс-спектрометрически).

Из 2 мг вещества получено 2.8 мг ацетилпроизводного с т.пл. 181-184°C. Продукты щелочного расщепления идентифицированы как флороглюцин и п-гидроксibenзойная кислота. Данные УФ-, ПМР, масс-спектров подтверждают идентичность данного вещества с кемпферолом [8].

Флавоноид 5 – Астрагалин – желтые игольчатые кристаллы, т. пл. 196-198°C; проба смешанная с достоверным астрагалином депрессии т.пл. не вызывает и на Б/Х дает одно неразделимое пятно; $[\alpha]_D^{20}$ - 10° (с 0.1, EtOH). ИК-спектр ($\nu_{\text{max}}^{\text{вазелин}}$, cm^{-1}): 3400 – 3000 (-ОН); 1670, 1660 (=C=O); 1550, 1519 (>C=C<). Цианидиновая проба по *Bryant* отрицательна. В УФ-свете имеет коричневое свечение, с 5% AlCl_3 дает зелено-желтую флуоресценцию. Количественным кислотным гидролизом 5 мг вещества образовалось 3 мг агликон–кемпферола, а в углеводной части обнаружена *D*-глюкоза. Такой же результат был получен при ферментативном гидролизе. Щелочное расщепление 1 мг агликона вещества 5 привело к образованию флороглюцина и п-гидроксibenзойной кислоты.

По результатам анализа флавоноид 5 охарактеризован как кемпферол-3-О-β-*D*-глюкопиранозид – астрагалин [8].

Флавоноид 6 – Трифолин – т. пл. 192-193°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 33.3° (с 0.1, EtOH). ИК-спектр ($\nu_{\text{max}}^{\text{вазелин}}$, cm^{-1}): 3400-3000 (-ОН); 1640 (=C=O); 1580, 1550, 1513 (>C=C<). Кислотой расщепляется на 60% агликон–кемпферол и *D*-галактозу. Данные, полученные анало-

гично предыдущим флавоноидам, дают основание охарактеризовать соединения как кемпферол-3-О-β-D-галактопиранозид или трифолин [8].

Флавоноид 7 – Кемпферол-ксилозид – желтого цвета игольчатые кристаллы, т. пл. 198-201°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 8.0° (с 0.1, EtOH). Вещество 7 идентифицировано аналогично предыдущему флавоноиду как кемпферол-3-О-β-D-ксилопиранозид [8].

Флавоноид 8 – Никотифлорин – т. пл. 204-208°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 142.5° (с 0.1, EtOH-ДМФА; 99:1). ИК-спектр ($\nu_{\max}^{\text{вазелин}}$, см⁻¹): 3400, 3020 (-ОН); 1640 (=C=O); 1570-1540 (>C=C<). Отождествлен с кемпферол-3-О-β-D-рутинозидом [8].

Флавоноид 9 – Бледно-желтые игольчатые кристаллы с т. пл. 180-182°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 84° (с 0.1, EtOH). Ранее еще не описанное соединение нами выделено из *A. caucasicus* Pall. и охарактеризовано как кемпферол-3-О-β-D-галактопиранозил-3", 4"-О-α-L-дирамнопиранозид – назван АСКАЗИДОМ [8].

Флавоноид 10 – Робинин – желтого цвета игольчатые кристаллы, т. пл. 197-199°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 83.5° (с 0.1, EtOH-ДМФА; 99:1). В результате изучения физико-химических свойств продуктов щелочного, кислотного, ферментативного гидролизом, УФ-, ИК-, ПМР спектров, сравнением величин молекулярного вращения гликозида и его производных, вещество представляет собой кемпферол-7-О-α-L-рамнопиранозил-3-О-робинобиозид или робинин [8].

Флавоноид 11 – кемпферол-3-рутинозил-7-рамнозид; т. пл. 190-194°C; 3-О-β-D-рутинозил-7-О-α-L-рамнопиранозид кемпферола. Выделен из *A. cicer* L. В роде *Astragalus* описан впервые [8].

Флавоноид 12 – Кверцетин – т. пл. 310-313°C. 3,5,7,3',4'-пентагидрокси-флавоон, выделен из *A. brachycarpus* M.B. [8].

Флавоноид 13 – Изокверцитрин – т. пл. 221-224°C. Кверцетин-3-О-β-D-глюкопиранозид. Изолирован из *A. brachycarpus* M.B., *A. bungeanus* Boiss. и *A. kadschorensis* Bunge. [8].

Флавоноид 14 – Гиперин – бледно-желтого цвета игольчатые кристаллы, т. пл. 232-235 °С, $[\alpha]_D^{20}$ - 71.5° (с 0.5, пиридин-ЕтОН, 1:1). Кверцетин-3-О-β-D-галактопиранозид – гиперин [30] изолирован из *A. brachycarpus* Vieb., из рода *Astragalus* выделен впервые.

Флавоноид 15 – Желтого цвета игольчатые кристаллы с т. пл. 164-167°С, $[\alpha]_D^{20}$ - 28.7° (с 0.1, ЕтОН). 3,5,7-тригидрокси-3'-метокси-4'-О-β-D-глюкопиранозид-флаван. Новое химическое соединение названо нами АСГАЛЕЗИДОМ, получено из *A. galegiformis* L. и *A. meskheticus* Manden. [8].

Флавоноид 16 – Изорамнетин-3-глюкозид – желтые кристаллы, т. пл. 265-268 °С; $[\alpha]_D^{20}$ - 59.7° (с 0.1, ЕтОН). Изорамнетин-3-О-β-D-глюкопиранозид. Изолирован из *A. galegiformis* и *A. meskheticus* [8, 29].

Флавоноиды 17, 18, 19 оказались дигликозидами и биозидами изорамнетина, поэтому их рассмотрим совместно.

Флавоноид 17 – Астрагалегозид – т. пл. 278-280°С; $[\alpha]_D^{20}$ - 30.9° (с 0.1, ЕтОН-ДМФА, 99:1). Изорамнетин-3-О-β-D-глюкопиранозил-4'-О-β-D-глюкопиранозид [8].

Флавоноид 18 – Изаоастралегозид – т. пл. 205-206°С; $[\alpha]_D^{20}$ – 42° (с 0.1, ЕтОН-ДМФА, 1:1). Изорамнетин-3-О-β-D-глюкопиранозил-7-О-β-D-глюкопиранозид [8, 29].

Флавоноид 19 – Изорамнетин-3-О-β-D-глюкопиранозил-(6→1)-О-α-L-рамнопиранозид или нарциссин [8].

Как видно, флавоноиды 17 и 18 являются изомерными формами. Астрагалегозид и изаоастралегозид из рода *Astragalus* выделены впервые.

Все гликозиды, производные изорамнетина, получены из цветков *A. galegiformis* L., в зависимости от места произрастания в цветках накапливается один из них. Так, астрагалегозид изолирован из популяции, собранной в окрестностях Тбилиси на высоте 1000-1200 м над у.м. (с. Ахалдаба) в условиях континентального климата,

а изоастралагезид – в Боржомском ущелье (с. Чобисхеви) на высоте 900-1200 м над у.м., характеризующемся в основном влажным климатом. Нарциссин – из популяции, собранной в окрестностях г. Кисловодска, также – среднегорного пояса на высоте 900-1200 м над у.м. с более сухим континентальным климатом.

По всей вероятности подобное явление связано с различными экологическими условиями. Не исключено также, что продуцирующие эти гликозиды растения являются тремя морфологически близкими, трудно различимыми видами.

Флавоноид 20 – Кемпферол–галакто-дирамнозид – т. пл. 189-192 °С. Кислотный гидролиз 50 мг гликозида дает 19 мг (38 %) кемпферола, в углеводной части обнаружены *D*-галактоза и *L*-рамноза. Изолирован из *A. caucasicus* [8].

Флавоноид 21 – Кемпферол-глюко-галакто-рамнозид. Выделен из *A. glycyphyllus* и *A. glycyphylloides* [8].

Реакция по *Bryant* гликозидов 20, 21 отрицательна. На основе количественного гидролиза они отнесены к триозидам кемпферола.

Флавоноид 22 – Кемпферол-глюко-галакто-ксило-рамнозид. Кислотным гидролизом образуется 28% кемпферола, *D*-галактоза, *D*-глюкоза, *D*-ксилоза и *L*-рамноза, и по всей вероятности гликозид этот является тетраозидом, выделен из *A. falcatus*, *A. glycyphyllus*, *A. glycyphylloides* [8].

Флавоноид 23 – Кемпферол-глюко-галакто-арабо-рамнозид, т. пл. 200-205°С. 2% H₂SO₄ гидролизует за 15 мин. и дает 23% кемпферола, в углеводной части содержатся *D*-глюкоза, *D*-галактоза, *L*-арабиноза и *L*-рамноза. Обнаружен в 12 видах, а выделен лишь из *A. falcatus*, *A. glycyphyllus*, *A. glycyphylloides* [8].

Флавоноид 24 – Кемпферол-пентаозид – в моносахаридной части найдены *D*-галактоза, *D*-глюкоза, *D*-ксилоза, *L*-арабиноза и *L*-рамноза. Выделен из *A. falcatus*, *A. glycyphyllus*, *A. glycyphylloides* [8]. Гликозид кемпферола с аналогичным набором моносахаридов в литературе не описан.

Флавоноид 25 – Желтого цвета кристаллы с т. пл. 188-192°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 161.7° (с 0.27, EtOH). Кислотным гидролизом получено 23% кверцетина, в гидролизате содержатся *D*-глюкоза, *D*-галактоза, *L*-арабиноза и *L*-рамноза. Сахарные компоненты присоединены при C₃ и C₇ агликона. Флавоноид 25 представляет собой кверцетин-3,7-О- [глюко-галакто-арабо-рамнозид] [29].

Флавоноид 26 – Желтые кристаллы с т. пл. 202-205°C; $[\alpha]_D^{20}$ +55° (с 0.68, EtOH). Кислотным гидролизом образует 20% кверцетина, а в углеводной части найдены: *D*-глюкоза, *D*-галактоза, *L*-рамноза, *L*-арабиноза, *D*-ксилоза. Углеводные остатки присоединены по C₃ агликона.

Во флавоноидах 25 и 26 пока не установлен порядок и характер связи сахарных остатков. Гликозиды кверцетина с четырьмя и пятью моносахаридами в литературе не описаны, они вероятнее всего являются новыми соединениями и условно названы нами ФЛАГАЛОЗИДАМИ А и В, соответственно.

3.3. Лекарственный препарат – ФЛАРОНИН

Со времен Диоскорида растения рода *Astragalus* L. широко применяются в народной медицине. Еще древние скифы называли астрагал «травой бессмертия», а затем средством «общего действия». Исследование по установлению биологической активности выделенных нами флавоноидов из астрагалов проводилось в сотрудничестве с профессорами Д.Г.Колесниковым, Н.Ф.Комиссаренко, В.Е.Соколовой, Е.А.Васильченко, Л.Я.Сыренко Всесоюзного научно-исследовательского института химии и технологии лекарственных средств (ВНИИХТЛС).

Скажем с самого начала, что флавоноидный гликозид из *Astragalus falcatus* – робинин проявил гипоазотемическую активность. Аналогичной эффективностью характеризуется изоастрагалегозид и астрагалегозид из *Astragalus galegiformis*. Суммарные препараты из *A. bungeanus*, *A. falcatus*, *A. galegiformis*

стимулируют кроветворение при лейкопении, вызванной радиационным поражением или медикаментозной интоксикацией.

В данной части мы заострим внимание на создании гипозотемического препарата «Фларонин» на основе флавоноидного гликозида робинина из *A. falcatus* – астрагала серпоплодного.

Почки, как органы мочеобразования, играют важнейшую роль в жизнедеятельности организма. Недостаточностью почек развивается интоксикация – уремия или азотемия. В организме накапливаются метаболиты азота и другие токсические вещества, нарушается баланс воды, кислотно-щелочное равновесие и осмотический гемостаз. Этому сопутствует нарушение гормональной системы, дистрофия ткани, деструкция органов и систем. Создание средств для профилактики и лечения нормального функционирования почек – актуальная проблема современной фармакологии и, в частности, урологии. Особенное внимание привлекают средства растительного происхождения. Единственными гипозотемическими растительными препаратами являются «Хапитол» и «Леспенефрил», представляющие собой очищенные экстракты, соответственно, листьев *Cinara scolymus* – артишока и *Lespedeza capitata* – леспедезы головчатой. Хапитол выпускается в виде ампул, капсул и свечей, а Леспенефрил – в ампулах и каплях [30].

В 60-х годах прошлого столетия во ВНИИХТЛС был установлен гипозотемический и диуретический эффект флавоноидного гликозида – робинина из соцветий *Robinia pseudoacacia* – акации белой и приготовлен препарат «Фларонин». Однако он не нашел продолжения из-за трудностей, связанных с сырьевой базой, с весьма коротким периодом цветения акации, трудоемкостью сбора и сушки соцветий. Через несколько часов после сбора происходит гниение соцветий и порча сырья. Кроме того, технология выделения робинина из цветков акации сложна и многостадийна. По существующей технологии совместно с робинином выделяются находящиеся в сырье другие флавоноиды, которых можно отделить

только колоночным хроматографированием. Все это ограничивает получение робинина из акации белой.

Стал необходимым поиск другого растительного источника робинина. Проведенные нами исследования флавоноидного состава *A. falcatus* – астрагала серпоплодного показали, что доминирующим его флавоноидом является робинин. Сравнительное фармакологическое изучение гипоазотемической эффективности робинина из акации белой и астрагала серпоплодного подтвердило их полную идентичность.

Созданная нами оптимальная технология робинина из листьев и цветков астрагала серпоплодного состоит в следующем: 12 кг измельченного до 0.22 мм листьев (с цветками) астрагала серпоплодного извлекают 80% спиртом трехкратно при комнатной температуре с периодическим перемешиванием. Соотношение твердое тело – жидкость на первой экстракции 1:5, а затем 1:2,5. Из объединенных экстрактов спирт упаривают, водную жидкость после охлаждения фильтруют, обрабатывают хлороформом; к ней добавляют небольшой объем хлороформа и оставляют на 24 ч. Выпавшие на границе двух слоев кристаллы отфильтровывают, промывают водой и сушат на воздухе. Технический продукт перекристаллизовывают из разбавленного спирта и сушат под вакуумом при 70-80°C. Выход чистого робинина составляет 100-180 г или 0.8 – 1%.

Полученный робинин представляет собой зеленовато-желтый мелкокристаллический порошок с т.пл. 190-205 °C; $[\alpha]_D^{20}$ - 123° (с 0.1; ДМФА), без запаха и вкуса. Не растворим в воде, хлороформе, мало растворим в 70% и 95% спирте. УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH, нм}}$): 353, 267. ИК-спектр (ν_{\max}^{KBr} , см^{-1}): 3350, 2900, 1650, 1600-1490. Гидролизом образует кемпферол, *D*-галактозу и *L*-рамнозу.

Из робинина приготовлена готовая лекарственная форма препарата Фларонина в виде таблеток с содержанием: робинин 0.03 г, крахмал 0.385 г, стеариновая кислота 0.005 г, тальк 0.01 г. Таблетки выдерживают все нормативные требования Гос.

Фармакопеи СССР XI издания. Разработан метод количественного определения робинина, основанный на измерении оптической плотности окрашенного продукта с $AlCl_3$, имеющей прямолинейную зависимость от концентрации вещества в пределах 0.005-0.009%. Для количественного анализа создан робинин-стандарт (содержание робинина не менее 99%). Содержание робинина в субстанции должно быть 95%, в лекарственном сырье не менее 2%. Составлена и утверждена нормативно-техническая документация на лекарственное сырье, активную субстанцию - робинин, робинин-стандарт и готовую лекарственную форму - Фларонин.

Фларонин из цветков и листьев астрагала серпоплодного прошел клинические наблюдения на кафедре урологии и оперативной нефрологии II Московского медицинского института им. Пирогова (МОЛГМИ) и на кафедре урологии I Московского государственного медицинского института им. Сеченова. В клиниках Фларонин применяли для лечения больных с хронической почечной недостаточностью (ХПН) разной степени выраженности, обусловленной главным образом хроническим диффузным гломерулонефритом, обостренным пиелонефритом, оперативными вмешательствами и некоторыми другими заболеваниями почек.

В результате применения Фларонина достигнут гипозотемический эффект, который проявлялся в снижении уровня мочевины, креатинина и остаточного азота в крови; отмечалось увеличение диуреза в 1.5-2 раза, а также увеличение клиренса эндогенного креатинина, что свидетельствовало об улучшении фильтрационной функции аппарата почек. При этом количество лейкоцитов снижается до нормы. Нежелательные побочные эффекты не наблюдались. Клиники пришли к заключению, что Фларонин является эффективным средством для лечения больных с ХПН I и II степени и рекомендовали его к медицинскому применению при ХПН с явлениями гиперозотемии.

Приказом Минздрава СССР № 1520 от 26.11.1985 г. разрешено широкое применение Фларонина в качестве гипозотемического и диуретического средства. Государственная регистрация № 85/1520/11; регистрационный номер субстанции - 85/1520/5; Фларонина-стандарта - 85/1520/13; лекарственного сырья - 85/1520/3. Фларонин зарегистрирован в Минздраве Российской Федерации за № 011757/01-2000 и Минздраве Грузии 29.12.1998, №002440.

Производство субстанции, стандарта и лекарственной формы Фларонина организовано на экспериментально-производственной базе Института фармакохимии им. И.Г.Кутателадзе и налажен его серийный выпуск. Реализация продукции осуществлялась через аптечную сеть СССР, а затем СНГ и по сей день с успехом применяется в медицине.

За последние годы фармакологическим исследованием показано, что робинин, кроме гипозотемической активности, характеризуется гипогликемической эффективностью [31]. В настоящее время проводятся эксперименты для увеличения биодоступности робинина с использованием нанотехнологии [32].

3.4. Биологическая активность других флавоноидов астрагалов

Изоастрагалегозид – изорамнетин-3,7-ди-3-О-β-D-глюкопиранозид, выделенный из цветков *Astragalus galegiformis* – астрагала галеговидного, произрастающего в Боржомском ущелье в виде лимонно-желтых микрокристаллов с т. пл. 204-206°C, по заключению лаборатории экспериментальной фармакологии ВНИИХТЛС проявляет гипозотемическую активность; в значительной степени снижает содержание остаточного азота и мочевины в крови интактных кроликов. ЭД₅₀ гипозотемического действия для изоастрагалегозида составляет 3.7 мг/кг, тогда как для робинина этот показатель равен 11.5 мг/кг. Следовательно, изоастрагалегозид по гипозотемическому действию в 3.1 раза активнее

робинина. Изоастралагезид из цветков астрагала галеговидного выделяется по технологической схеме робинина из а. серпоплодного с выходом 0.5% при его содержании в исходном сырье 1.5%. Технология изоастралагезида освоена на экспериментально-производственной базе Института фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе [33]. Следовательно, изоастралагезид можно рекомендовать в качестве дополнительной активной субстанции препарата Фларонин наряду с Робинином.

Астрагалагезид, выделенный из того же растения, произрастающего в окрестностях Тбилиси, в виде желтого цвета мелкокристаллического порошка, с т. пл. 276-278°C, по фармакологическим экспериментальным данным характеризуется ярко выраженным диуретическим действием. В основе способа получения астрагалагезида положен принцип технологии робинина из астрагала серпоплодного с некоторыми изменениями, с выходом 0.5 % [8, 34].

Для установления диуретической эффективности астрагалагезида, превосходящего существующие препараты аналогичного действия, предстоит его дополнительное исследование.

A. bungeanus Boiss. – астрагале бунговском в значительном количестве содержатся флавоноиды, циклоартаны и полисахариды. В отделе биологических исследований Института фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе АН Грузии под руководством проф. М.Д. Гедеванишвили было установлено, что очищенный экстракт надземной части а. бунговского стимулирует кроветворение у животных при лейкопениях, вызванных лучевыми поражениями или медикаментозной интоксикацией. Этому суммарному препарату дано название АСТРАГРАНУЛОЗИД.

Для получения астрагранулозида 1 кг в/с измельченного сырья экстрагируют 80% этанолом при 60-70°C; экстракт отфильтровывают и упаривают до небольшого объема, обрабатывают хлороформом и сгущают под вакуумом. Получают 220 г (22 %) готового продукта. Астрагранулозид бурого цвета густая, вязкая масса со специфическим запахом и горьковатым вкусом. Очень

легко растворим в воде, 20% спирте, мало - в 50-95% спирте, ацетоне и хлороформе. В нем содержатся флавоноидные гликозиды (2%), циклоартаны, аминокислоты, полисахариды, незначительное количество кумаринов и свободные сахара. Необходимо углубленное химическое и фармакологическое изучение астрагранулозида для подтверждения его лейкостимулирующей эффективности.

Способы получения робинина, изоастрагалегозида, астрагалегозида и астрагранулозида признаны изобретениями и выданы авторские свидетельства [33-36].

3.5. Растительный источник робинина

Astragalus falcatus Lam. – астрагал серпоплодный многолетнее травянистое растение высотой 50-60 см. От общей массы растения надземная часть составляет 65%, из них 40-45% листья и цветки. Флавоноиды накапливаются в основном в цветках и листьях (1.5 %) в период бутонизации и полного цветения [37]. Природные ресурсы астрагала серпоплодного ограничены. В Институте фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе АН Грузии А.М. Джорбенадзе, А.Я. Штромберг, Б.А. Григолава были изучены биологические особенности роста и развития растения; по составленным агрорекомендациям оно введено в культуру на Ширакской опытной станции лекарственных растений Института фармакохимии и созданы его плантации на 5 га [38].

Растение хорошо развивается в Восточной Грузии в условиях водного дефицита и плодотворной почвы. Цветет на второй год жизни в мае и июне. Урожайность товарной продукции, в/с листьев и цветков 15 ц/га. Собирается вся надземная часть; после высушивания сырье обмалачивается, отбираются листья и цветки.

Получается высококачественное лекарственное сырье, представляющее собой смесь цельных и частично измельченных листьев, черешков, соцветий и стеблей, отдельных бутонов и незрелых плодов. Эксплуатационный период растений 10-15 лет. Таким образом создана сырьевая база препарата Фларонин.



FIG. 3.1. *Astragalus falcatus* Lam.

Литература

1. Кемертелидзе Э.П. Флавоноиды растений семейства *Leguminosae*. Тезисы докладов III Всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям, 1976, 21-23 апреля, Тбилиси, 87-88.
2. Флора Грузии. 1981, т.V, изд-во «Мецниереба», Тбилиси, 514 с.
3. Флора СССР. М.- Л., изд-во АН СССР, 1942, т.XII, 915 с.
4. Маркова Л.П. Камеди и камедоносные растения и их хозяйственное значение. Растительное сырье. Камедоносные растения (Трагакантовые астрагалы). Часть 1, 1961, вып. 10, 7-35.
5. Астварцатрян М.А., Ярошенко Г.К. К биологии трагакантовых астрагалов Армении. Изв. Армянского филиала АН СССР, 1941, 1, 130-140.
6. James L.F., Yan Kampen K.V., Hartly W.J. *Astragalus bisulcatus* a cause of selenium or locoweed poisoning. Vet. Hun. toxicol., 1983, 25, 2, 86-89.
7. Арутинян Л.С., Ерибемян М.И., Мнацаканян В.А. О составе полярных фракций *Astragalus aureus* и *Astragalus microcephalus*. Арм. хим. журнал, 1979, 32, 3, 235-238.
8. Алалия М.Д., Кемертелидзе Э.П., Комиссаренко Н.Ф. Флавоноиды некоторых видов *Astragalus* L. флоры Грузии, 2002, «Мецниереба», 151 с.
9. Fung Shengding, Chen Yan, Xu Xiaoyi et al. Studies of the active principles of *Astragalus mongholicus* Bunge. I. Isolation, characterization and biological effect of its polysaccharides. Youyii, 1982, 1, 26-31.
10. Stermitz F.R., Lowry W.T., Torris F.A. et al. Aliphatic nitro compounds from *Astragalus* species. Phytochemistry, 1972, 11, 3, 1117-1124.
11. Williams M.C., Davis A.M. Nitro compounds in introduced *Astragalus* species. J. Range manage, 1982, 35, 1, 113-115.
12. Xu Y., Wei L. Chemical constituents of *Astragalus sinensis*. Chung Kuo Chung Yao Tsa Chin, 1995, 20, 5, 296-297.
13. Гужва Н.Н., Джумырко С.Ф., Казаков А.Л. Флавоноиды *Astragalus torrentus*. Химия природ. соедин., 1984, 4, 522-523.
14. Гужва Н.Н., Лукьянчиков М.С., Драник Л.И. Фенолкарбоновые кислоты секции *Onobrychium* рода *Astragalus*. Химия природ. соедин., 1987, 1, 137-138.

15. Алалия М.Д., Мониава И.И., Комиссаренко Н.Ф., Кемертелидзе Э.П. Гликозиды оксикумаринов из *Astragalus falcatus*. Химия природ. соедин., 1972, 2, 239.
16. Брутко Л.И., Масагетов П.С., Уткин Л.М. Алкалоид смировин из *Astragalus tibetanus*. Химия природ. соедин., 1966, 6, 444.
17. Nikolov S.D., Ionkova I.I., Panova D.I. et al. Soyasapogenol B from *Astragalus angustifolia* Lam. Доклады Болгарской АН, 1985, 38, 7, 875-877
18. Khafagi S.M., MazmiSabry N., El-Sebakhy et al. Isolation of a new saponin glycoside from *Astragalus alexandrinus* Boiss. Egypt. J. Pharm. Sci., 1982, 20, 1/ 4, 7-14 -1979
19. Алалия М.Д. Фитохимическое изучение некоторых представителей рода *Astragalus*, произрастающих в Грузии. Автореф. дисс. канд. фарм. наук, Харьков, 1974, 21 с.
20. Алалия М.Д., Флавоноиды и циклоартаны рода *Astragalus* флоры Грузии. Автореф. дисс. докт. фарм. наук, Харьков, 1990, 45с.
21. Bryant E.F. A note on the differentiation between flavonoid glycosides and their aglycones. J. Amer. Pharm. Ass. Sci., 1950, 39, 8, 480-482.
22. Borkowski B., Cziszewska S. Fotolorimetrickzne oznaczenie flavonoidiw, porownanie metod naprikladzie Rutyny, Robininy. Bull. Inst. Rosl. Leczn., 1958, 4, 4, 340-357.
23. Алалия М.Д. Спектральный анализ флавоноидов и циклоартанов (на грузинском языке), 2005, Тбилиси, из-во «Кори», 208 с.
24. Ковалев И.П., Титов Е.В. Инфракрасные спектры поглощения некоторых групп природных соединений (Атлас спектров), Харьков, из-во Харьковского Гос. университета им. А.М. Горького, 1966, 203 с.
25. Литвиненко В.И., Максютин Н.П. Спектральное исследование флавоноидов. Обнаружение фенольных оксигрупп в различных положениях. Химия природ. соедин., 1965, 6, 420-424.
26. Mabry T.J., Markham K.R., Thomas M.B. The Systematic identification of flavonoids. New-York, Acad. Press, 1970, 354 p.
27. Agraval P.K., Rastogi R.P. 13 C NMR-Spectroscopy of flavonoids. Heterocycles, 1981, 16, 12, 2181-2236.
28. Smidt R.D., Verenne P., Paris R. Mass-spectroscopy of flavonoid trisaccharides: The structure of xanthorhamnin, alaternin and catharticin. Tetrahedron, 1972, 19, 5037-5048.

29. Алания М.Д. К изучению флавоноидов некоторых видов астрагалов (сем. *Fabaceae*) флоры Грузии. Тезисы докладов V всесоюзного симпозиума по фенольным соединениям. 22-24 сентября, 1987, Таллин, С-3 (Б-1).
30. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М., «Новая Волна», 2005, 1206 с.
31. Алания М.Д., Кавтарадзе Н.Ш., Шалашвили К.Г., Сагаришвили Т.Г., Дадешидзе И.А. Вторичные метаболиты растений флоры Грузии и их биологическая активность. Аллергология и иммунология, 2010, 11, 2, 175-177.
32. Tsiklauri L., Guohua A., Ruszaj D.M., Alaniya M., Kemertelidze E., Morris M.E. Simultaneous determination of the flavonoids robinin and kaempferol in human breast cancer cells by liquid chromatography-tandem Mass spectroscopy. J. of Pharmaceutical and Biomedical analysis, 2011, 55, 109-113.
33. Алания М.Д., Кемертелидзе Э.П., Комиссаренко Н.Ф., Соколова В.Е., Васильченко Е.А.. Способ получения средства, обладающего гипозотемическим действием. А.С. СССР №1288963, 1986.
34. Алания М.Д., Кемертелидзе Э.П., Комиссаренко Н.Ф., Колесников Д.Г., Соколова В.Е., Васильченко Е.А.. Способ получения дактилина. А.С. СССР №1342904, 1987.
35. Алания М.Д., Комиссаренко Н.Ф., Кемертелидзе Э.П., Колесников Д.Г., Соколова В.Е., Васильченко Е.А. Способ получения робинина. А.С. СССР №1484875, 1975.
36. Алания М.Д., Кемертелидзе Э.П., Гедеванишвили М.Г., Сихарулидзе И.С. Способ получения средства, стимулирующего лейкопоз. А.С. СССР №1367195, 1987.
37. Алания М.Д., Иосебидзе Н.И., Кемертелидзе Э.П. Динамика содержания робинина в *Astragalus falcatus* Lam. Растит. ресурсы, 1976, 12, 2, 242-243.
38. Алания М.Д., Григолова Б.Л. Содержание робинина в культивируемом растении *Astragalus falcatus* Lam. Изв. АН ГССР, сер. биол., 1980, 6, 2, 138-140.

ГЛАВА 4. ФЛАВОНОИДЫ *PUERARIA HIRSUTA* (THUNB.) MATSUM., ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В ГРУЗИИ, И ИХ ГИПОАЗОТЕМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ

Pueraria hirsuta (Thunb.) Matsum. – пуерария шерстистая (сем. *Leguminosae*) родом из Китая, растет в Японии, во Вьетнаме, Корее, на Филиппинах. Успешно возделывается в Австралии, Африке, на юге США, в других субтропических областях. Пуерария шерстистая (ПШ) - многолетняя травянистая агрессивная лиана с лазящими ветвями, хорошее кормовое растение, используется для создания зеленого пейзажа [1,2].

В 1900 г. ПШ была завезена из Китая в Батумский ботанический сад, откуда быстро распространилась на прилегающие территории и одичала. Почвенные и климатические условия влажных субтропиков Западной Грузии оказались весьма благоприятными для растения, благодаря чему произошла ее быстрая натурализация в местной флоре. ПШ растет в узкой зоне Аджарии, на высоте 100-200 м над у.м., на открытых склонах и равнинах, откуда она вытеснила другие растения; поднимается на стволы деревьев, образует зеленый лиственный покров, часто непроходимые массивы. Создает угрозу для местной растительности на довольно обширной территории [2,3].

Как показали наблюдения А.Ш. Баджелидзе, А.С. Баджелидзе, А.С. Накаидзе, Л.С. Ковтун [3], в субтропической части Грузии ПШ размножается вегетативно. Выросшие из корневой шейки кроны быстро укореняются. Если побеги находят опору в виде кустов или деревьев, тогда они развиваются в основном разветвлением стеблей, создавая обширную крону, а корень остается один. Корни мощные, у 10-15 летнего растения 80-100 см длины, 10-20 см толщины и 25-30 кг веса. Стебли деревянистые, опушенные, сильно волокнистые. Главные побеги за один год

вырастают до 25-30 м. Листья тройчатые длиной 35-40 см. Цветение не интенсивное, соответственно плодоношение незначительное.

Большие массивы ПШ встречаются вдоль морского побережья в Цихидзири, Махинджаури, на Зеленом мысу. Значительные заросли отмечены в окрестностях с. Зенита-Аламбари – Кобулетский район; в Сарфи, Махвилаури, Гонио – Хелвачаурский район; в Натанеби, Цвермагара, Уреки, Шрома – Озургетский район. В обследованных местах ежегодно можно собрать 15-17 тонн в/с зеленых побегов с листьями, заготовка которых не повлияет на продуктивность. Эксплуатационные ресурсы ПШ намного больше. Высокая энергия роста дает возможность за один вегетационный период получить 3 укоса травы [3].

Pueraria hirsuta и другие виды данного рода издавна применяются в китайской традиционной медицине и в странах тропической Азии при многих заболеваниях.

Пуэрарин и даидзин - изофлавоноид-гликозиды из корней пуэрарии интенсивно изучаются на различную фармакологическую активность [4-10]. Есть указания, что пуэрарин – 8 (β-D-глюкопиранозил – 7 гидроксигруппы – 3 – (4 гидроксифенил) – 4 Н -1-бензопиран – 4 – он, проявляет эффективность при сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваниях, диабете, остеохондрозе, паркинсонизме, в иверсионной терапии, как противовоспалительное и болеутоляющее средство, и т.п. [4-10].

Предварительным анализом нами показано, что листья и корни ПШ, произрастающих в Грузии, богаты флавоноидными соединениями [13]. Проведены работы для их изучения.

4.1. Выделение и идентификация флавоноидов пуэрарии шерстистой

Объектами для изучения состава флавоноидов *Pueraria hirsuta* – Пуэрарии шерстистой служили листья и корни, заготовленные в стадии цветения в Кобулетском районе. В/с измельченные листья экстрагировали 80% этанолом при комнатной

температуре. Водную жидкость, оставшуюся после отгонки спирта, обрабатывали хлороформом и с последней порцией хлороформа оставляли на 12 часов. Выкристаллизовавшееся на границе двух слоев флавоноидное вещество отделяли, перекристаллизовывали, которое было охарактеризовано как Робинин. Водный маточник извлекали этилацетатом, растворитель отгоняли, остаток высушивали.

В/с измельченные корни экстрагировали последовательно ацетоном и 80% этанолом. Растворители отгоняли, остатки высушивали.

Полученные суммы фенольных веществ хроматографировали на колонках силикагеля. Сумму листьев элюировали хлороформом и смесью хлороформ-этанол-вода (30:23,5:2), колонку с ацетоновой суммой корней гексаном, а с этаноловой – хлороформом и смесью хлороформ-этанол с возрастающей концентрацией последнего. Полученные при этом двухкомпонентные фракции рехроматографировали.

В результате из листьев изолированы три флавоноида и один изофлавоон, из корней - четыре изофлавоона и один куместан. Их идентифицировали по известным методам физико-химических анализов самих веществ, продуктов кислотного, ферментативного (рамнодиастазой) гидролиза.

Вещества из ПШ охарактеризованы как:

Робинин – кемпферол-3-0-β-D-робинобиозил-7-0-α-L-рамнопиранозид; бледно-желтые игольчатые кристаллы, т. пл. 192-194°C; $[\alpha]_D^{20}$ – 128°C (с 0,1, ДМФА). Уф-спектр (λ_{\max}^{EtOH} нм): 354,262.

Никотифлорин – кемпферол-3-0-β-D-рутинозид; бледно-желтые кристаллы, т. пл. 204-208°C; $[\alpha]_D^{20}$ – 32,5° (с 0,5, ДМСО); Уф-спектр (λ_{\max}^{EtOH} нм): 352,266.

Рутин – кверцетин-3-0-β-D-рутинозид; ярко-желтые кристаллы, т. пл. 182-186°C; $[\alpha]_D^{20} - 32,5^\circ$ (с 0,5; ДМСО); Уф-спектр (λ_{\max}^{EtOH} нм): 360,270.

Даидзин – даидзеин – 7-0-β-D-глюкопиранозид; бесцветные игольчатые кристаллы; т. пл. 216-218°C; $[\alpha]_D^{20} - 29,3^\circ$ (с 0,1, пиридин); Уф-спектр (λ_{\max}^{EtOH} нм): 310,258.

Даидзеин – 7-4'-диоксиизофлавонон; бесцветные игольчатые кристаллы; т. пл. 230-232°C; оптически неактивен. Уф-спектр (λ_{\max}^{EtOH} нм): 305, 260 (плечо) 250.

Формонетин – 7-окси-4'-метоксиизофлавонон; белые игольчатые кристаллы; т. пл. 254-257°C; оптически неактивен; Уф-спектр (λ_{\max}^{EtOH} нм): 300 (плечо) 250.

Ононин – формонетин – 0-β-D-глюкопиранозид, белые игольчатые кристаллы; т. пл. 210-213°C; $[\alpha]_D^{20} - 16,5^\circ$ (с 0,1, пиридин); Уф-спектр (λ_{\max}^{EtOH} нм): 260, 250, 303, 322 (плечо).

Мирификуместан – 3,9 – дигидрокси-8-метокси-7- (3'-диметилазин) куместан; бесцветные кристаллы; т. пл. 210-215°C (с разложением); оптически неактивен; Уф-спектр (λ_{\max}^{EtOH} нм): 354 (плечо), 343, 330, 303, 354 (плечо), 252 (плечо), 246, 204 (плечо).

Флавоноиды: робинин, никотифолин, рутин, изофлавонон – гликозид даидзеин получены из листьев, а изофлавононы даидзеин, даидзин, формонетин, ононин и куместан – мирификуместан из корней ПШ.

Нами показано, что доминирующим флавоноидом листьев ПШ является гликозид робинин – кемпферол – 3-робинобиозил – 7 – 0 – α – L рамнопиранозид, количество которого в фазе цветения в листьях составляет 1,62-1,72%. Разработана оптимальная технология выделения робинина из листьев ПШ, аналогичная таковой робинина из *Astragalus falcatus*. Принцип метода получения

робинина из ПШ состоит в следующем. В/с измельченное сырье экстрагируется 80% этанолом при комнатной температуре, после отгонки спирта водная фаза обрабатывается хлороформом. В очищенной водной жидкости при стоянии выкристаллизовывается робинин, его отделяют и перекристаллизовывают. Таким образом получается гликозид в количестве 0,7-0,8%, который по своим физико-химическим свойствам полностью идентичен робинину из *Astragalus falcatus*.

В предыдущей главе было показано, что на основе флавоноид-гликозида Робинина, в Институте фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе АН ГССР создан высокоэффективный гипотензивный препарат фларонин, с успехом применяемый в медицинской практике. Активная субстанция данного препарата робинин производится из листьев и цветков культивированного растения *Astragalus falcatus* - астрагала серпоплодного [15]. Колоссальные природные ресурсы *Pueraria hirsuta* – ПШ в Грузии, высокое содержание в листьях робинина, позволяет рекомендовать ПШ в качестве нового источника активной субстанции препарата фларонина. Этим разрешается вопрос гарантированного обеспечения производства фларонина дешевым, доступным сырьем робинина.

В изучении флавоноидного состава *Pueraria hirsuta* (Thunb.) Matsum. принимала активное участие кандидат фармацевтических наук Чкадуа Нанули Фридриховна, что составило предмет ее квалификационного труда, выполненного под нашим руководством [12].

4.2. *Натуральный препарат листьев пуэрарии шерстистой с антиуремической эффективностью*

Как уже было показано, произрастающая в Грузии *Pueraria hirsuta* (Thunb.) Matsum. – пуэрария шерстистая (ПШ) богата флавоноидами, основной компонент которых – робинин рекомендован в качестве активной субстанции антиуремического

препарата фларонина. Следующей нашей задачей явилась разработка натурального суммарного средства из данного растения с аналогичным действием.

В/с измельченные листья ПШ извлекаются бисмацерацией 70% этанолом при комнатной температуре. Из экстракта растворитель упаривают, остаток сушат и измельчают. Получается коричневого цвета гигроскопический порошок в количестве 25%, со слабым специфическим запахом и вкусом, содержащий почти весь набор соединений исходного сырья. Общая сумма флавоноидов в нем составляет 24%, включая робинин, рутин, никотилолин, даидзин; количество робинина составляет 12%, рутина с никотилолином (вместе) – 10%.

В сухом экстракте обнаружены аминокислоты: аргинин, валин, пролин, α -аланин, β -аланин, β -фенилаланин, метионин, серин, среди которых в наибольшем количестве α -аланин. По данным атомно-адсорбционного анализа, в сухом экстракте содержатся микроэлементы (%): Na – 0,23; K – 3,5; Li - < 0,0013; Ca – 0,24; Mg – 0,36; Co – < 0,003; Ni – 0,009; Cd – < 0,001; Fe – 0,02; Mn – 0,005; Cr – 0,005; Zn – < 0,005; Cu – 0,004 [13].

Гипоазотемическая активность экстракта ПШ изучена в лаборатории фармакологии Института химии растительных веществ им. С.Ю. Юнусова АН РУз (Ташкент), профессорами В.Н. Сыровым и З.А. Хушбаковой. В биологических экспериментах препаратом сравнения служил известный гипоазотемический препарат «Леспенефрил» [13]. Гипоазотемическая активность в экспериментах проходила под условными знаками: препарат I – экстракт листьев ПШ, препарат II – леспенефрил.

В ходе проведенных экспериментов установлено, что исследуемый экстракт дает заметный гипоазотемический эффект как у интактных животных, так и у животных с почечной патологией. В опытах на интактных крысах после однократного его введения уже через 1 ч наблюдалось снижение в сыворотке крови содержания мочевины на 23,2%, а остаточного азота – на 16,5%

($p < 0,05$). Через 2 ч (пик действия) уровень мочевины в крови был снижен по отношению к исходному на 29,8 %, а остаточного азота – на 21,6% ($p < 0,05$).

Препарат сравнения – леспенефрил (препарат II) у интактных крыс на пике действия вызывал снижение уровня мочевины в сыворотке крови на 21,1%, а остаточного азота – на 18,2% ($p < 0,05$).

Таблица 4.1. Влияние экстракта листьев пуерарии шерстистой (препарат I) и леспенефрила (препарат II) на уровень мочевины, остаточного азота и креатинина в сыворотке крови крыс
($M \pm m$, $n = 8 - 10$)

Условия эксперимента	Исследуемые показатели, мг %		
	Мочевина	Остаточный азот	Креатинин
Интактные животные	32,2 ± 2,8	44,2 ± 4,2	1,2 ± 0,12
Препарат I	22,4 ± 1,8*	31,4 ± 3,0*	0,8 ± 0,06
Препарат II	23,4 ± 2,2*	32,2 ± 3,2*	0,9 ± 0,08*
Контроль (ОПН)	167,4 ± 24,6*	212,6 ± 32,4*	2,8 ± 0,24*
ОПН + препарат I	61,2 ± 5,6**	78,4 ± 8,2**	1,6 ± 0,14**
ОПН + препарат II	65,6 ± 6,4**	80,6 ± 9,4**	1,9 ± 0,16**

Примечание: Здесь и в табл. 2:

* - достоверно к показателям интактных животных;

** - достоверно к контролю (ОПН). Уровень достоверности принят $p < 0,05$

Схожая картина наблюдалась и при многократном введении препарата (табл. 4.1). Значительно более выраженный гипоазотемический эффект препарата I проявлялся при моделировании патологического процесса в почках, сопровождающегося явлениями гиперазотемии. Так, из таблицы 4.1. видно, что у крыс контрольной группы после инъекции двухлористой ртути концентрация мочевины в сыворотке крови повышается в 5,2 раза, что однозначно свидетельствовало об ингибировании элиминации продуктов

азотистого обмена почками. В почках обнаруживалось также довольно выраженное угнетение функционирования монооксигеназной системы (МОС). Содержание цитохрома P450 – основного элемента монооксигеназной системы микросом пораженных органов, осуществляющей биотрансформацию ксенобиотиков [17], снижалось на 72,4 %, содержание цитохрома b₅, участвующего в генерировании супероксидных радикалов, необходимых для процесса гидроксирования [18], снижалось на 41,3%. Активность фермента НАДФН-цитохром с-редуктазы снижалась на 37,2%, N-деметилазы – на 27,5%, а анилингидроксилазы (окисляющей субстраты II типа) – на 50% (табл. 4.2).

У животных, которым вводили препараты I и II, отмечена выраженная тенденция к нормализации в условиях развивающейся нефротоксемии нарушенного азотистого обмена. Под влиянием обоих препаратов концентрация мочевины в сыворотке крови снижалась (по отношению к контролю) на 63,4 – 60,9%, остаточного азота – на 63,1-62,1% и креатинина - на 42,9-32,2%. При этом было выявлено выраженное увеличение содержания микросомальных цитохромов и повышалась активность исследуемых ферментов монооксигеназной системы (МОС) почек. Этот процесс (табл. 4.2) протекал даже интенсивнее, чем нормализация азотистого обмена. В результате через 4 дня после введения суммы у крыс, получавших экстракт листьев ПШ и леспенефрил, содержание цитохрома P450 было только на 17,1-22,4%, а b₅ – на 4,8-7,9% ниже, чем у интактных животных. Достоверно в обоих случаях не отличались от показателей интактных животных содержание НАДФН-цитохром с-редуктазы, N-деметилазы амидопирин и анилингидроксилазы. Полученные данные указывают на значительную гипозотемическую активность препарата из листьев ПШ, аналогично леспенефрилу, что в определенной степени может быть связано с его способностью нормализовывать функциональную активность МОС почек и способствовать усилению их экскреторной функции.

Таблица 4.2. Влияние экстракта листьев пуэрарии шерстистой (препарат I) и леспенефрила (препарат II) на активность монооксигеназной системы почек крыс при острой почечной недостаточности ($M \pm m$, $n = 8 - 10$)

Условия эксперимента	цитохром P450, нмоль/мг белка	цитохром b ₅ нмоль/мг белка	НАДФН-цитохром с-редуктаза, нмоль/мин/мг белка	N-деметилаза амидопиррина, нмоль HCOH, мин/мг белка	анилингидроксилаза, нмоль P-ами-
Интактные животные	0,152±0,014	0,126±0,012	22,6 ± 2,4	0,038±0,002	1,02 ± 0,07
Контроль(ОПН)	0,042±0,004*	0,074±0,008*	14,2 ± 1,6*	0,019±0,001*	0,74 ± 0,04*
ОПН + препарат I	0,126±0,012**	0,120±0,010**	20,6 ± 1,8**	0,032±0,003**	1,10 ± 0,08**
ОПН + препарат II	0,118±0,008**	0,116±0,008**	19,8 ± 1,6**	0,030 ± 0,002**	1,04 ± 0,08**

Таким образом, проведенные исследования экстракта листьев *Pueraria hirsuta* показывают, что он обладает существенным гипозотемическим действием, проявляющимся в понижении содержания мочевины, остаточного азота и креатинина в крови как у интактных, так и у животных с ОПН, сопровождающейся гиперазотемией. По своей активности в этом плане он не уступает известному лекарственному средству – леспенефрилу [13].

Полученные результаты послужили основанием для разработки из экстракта листьев ПШ, содержащего весь комплекс исходного растения и фактически являющегося натуральным продуктом, готовой лекарственной формы в виде капсул. В состав капсулы входят 0,24 г активной субстанции (сухой экстракт), вспомогательные вещества: лактоза – 0,24 г и магний углекислый

основной – 0,01 г. Содержание робинина в одной капсуле составляет 26-30 мг [13].

В отделе фармакологии Института фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе АН Грузии установлено, что LD₅₀ готовой лекарственной формы сухого экстракта ПШ превосходит 2000 мг/кг и по классификации химических соединений (GHS) относится к 5-му классу практически нетоксичных веществ. В условиях трехмесячного хронического эксперимента препарат не вызывал местно-раздражающего действия на желудочно-кишечную оболочку, аллергических реакций, не проявлял каких-либо системных побочных явлений.

Описаны морфологические и структурные характерные особенности листа и черешка ПШ, произрастающей в Грузии. Клетки верхнего и нижнего эпидермиса криволинейные. В нижнем эпидермисе обнаружены чечевицевидные устицы. Мезофилл листа дорзовентрального типа. Твердость черешка определяет пластическая колленхима, занимающая в паренхиме коры массовый ареал. В центре черешка расположен закрытоконцентрический пучок проводящей системы [29].

Полученные данные могут служить диагностическим признаком ПШ как лекарственного сырья.

Создана нормативно-техническая документация в виде фармакопейных статей на: *Folia Pueraria hirsutae*; *Extractum siccum ex foliorum Pueraria hirsutae in capsulis gelatinosis durae*.

Предстоит клиническая апробация предложенного натурального препарата листьев ПШ – под условным названием «Puroflan» - «Пурофлан».

Однако возможности использования ПШ, произрастающей в Грузии, имеющей колоссальные сырьевые ресурсы, этим не ограничиваются. Из ежегодно воспроизводимых органов растения - листьев можно получить ряд препаратов различного назначения.



Рис. 4.1. *Pueraria hirsuta* (Thunb.) Matsum.

Рис. 4.2. *Pueraria hirsuta* (Thunb.) Matsum.



Рис. 4.3. Массивы *Pueraria hirsuta* (Thunb.) Matsum. в окрестностях Сарфи

Рациональная эксплуатация ПШ положительно должна повлиять на рост и развитие растительности на территориях, полностью покрытых этой агрессивно размножающейся культурой.

Литература

1. Флора Грузии. 1981, т. VII, изд-во «Мецниереба», Тбилиси, 515 с.
2. Димитриева А.А. Определитель растений Аджарии, 1982, «Мецниереба», Тбилиси, 328 с.
3. Баджелидзе А.Ш., Накаидзе А.С, Баджелидзе А.С., Ковтун Л.С. Рациональное использование природных ресурсов *Pueraria* Сб. *тр. Проблемы аграрной науки*, 1999, VII, 74-81.
4. Zhou Y.X., Zhang H., Peng C. Puerarin: a review of pharmacological effects. *Phytotherapy Research*, 2014, 28, 7, 961-975.
5. Meezan E., Meezan E.M., Jones K., Moore R., Barnes S., Prasain J.K. Contrasting effects of puerarin and daidzin on glucose homeostasis in mice. *J. Agricultural and food chemistry*, 2005, 53, 22, 8760-8767.
6. Malaivijitnond S., Tungmunnithum D., Gittarasanee S., Kawin K., Limjunyawong N. Puerarin exhibits weak estrogenic activity in female rats. *Fitoterapia*, 2010, 81, 569-576.
7. Wong. R., Rabie B. Effect of puerarin on bone formation. *Osteoarthritis and Cartilage*, 2007, 15, 894-899.
8. Zhang. Y., Chen Y., Shan Y., Wang D., Zhu C., Xu Y. Effects of puerarin on cholinergic enzymes in the brain of ovariectomized guinea pigs. *International Journal of Neuroscience*, 2013, 123, 11, 783-791.
9. Нужный В.И., Ефремов А.Н., Романец В.В., *Наркология*, 2002, 11, 46-48.
10. Чкадуа Н.Ф., Алалия М.Д., Кемертелидзе Э.П. Флавоноидные гликозиды листьев *Pueraria hirsuta*. *Химия природ. соедин.*, 1996, 6, 947-948.
11. Чкадуа Н.Ф., Алалия М.Д., Кемертелидзе Э.П. Флавоноиды корневищ *Pueraria hirsuta*. *Химия природ. соедин.*, 1996, 6, 945-946.
12. Чкадуа Н.Ф. Флавоноидные соединения *Pueraria hirsuta* L. - пуэрарии шерстистой, произрастающей в Грузии. *Автореф. канд. диссертации*, 1999, Тб., 47 с.
13. Кемертелидзе Э.П., Сыров В.Н., Алалия М.Д., Кавтарадзе Н.Ш., Хушбактова З.А. Химический состав и фармакологическая активность

- листьев *Pueraria hirsuta* L., произрастающей в Грузии. Хим. Фарм. Журнал, 2008, 42, 6, 28-31.
14. Алания М.Д., Кемертелидзе Э.П., Комиссаренко Н.Ф., Соколова В.Е., Васильченко Е.А. Способ получения средства, обладающего гипозотемическим действием. А.С. СССР № 1288963, 1986.
 15. Алания М.Д., Кемертелидзе Э.П., Комиссаренко Н.Ф. Флавоноиды некоторых видов *Astragalus* L. флоры Грузии, 2002, «*Мецниереба*», 151 с.
 16. Кемертелидзе Э.П., Алания М.Д., Кавтарадзе Н.Ш. Средство гипозотемического действия из листьев *Pueraria hirsuta* Matsum. Патент на изобретение Р 6199, 2014.
 17. Осиненко Б.Г. Сибирский мед. журнал, 1994, 31, 2, 16-18.
 18. Тиунов А.А. Проблемы охраны здоровья населения и защиты окружающей среды от химически вредных факторов. Тезисы докл. I Всесоюзного съезда токсикологов, Ростов на Дону, 1986, 29-31.
 19. Кемертелидзе Э., Алания М., Мchedлидзе К., Накаидзе А. Анатомическая структура листа и черешка пуэрарии волосистой - *Pueraria hirsuta* L. Сб. трудов Грузинского Аграрного Университета «Проблемы аграрной науки», 2008, 1, 42, 36-39.

ГЛАВА 5. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПЛОДОВ *PALIURUS SPINA-CHRISTI* MILL. И ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЙ ПРЕПАРАТ ЦАРУБОЛ

Paliurus spina-christi Miller (сем. *Rhamnaceae*) – держи-дерево – Христовы терни – силно колючий, жесткий, мало олиственный кустарник, до 2(3) м высоты; плод 1,3-2,8 см в диаметре, сухой, дисковидный, от светло-желтой до красно-коричневой окраски; обильно цветет и плодоносит. Распространено во всех регионах Кавказа, Центральной Азии [1]. Хороший медонос, применяется при многих заболеваниях, в том числе как мочегонное, отсюда и название *Paliurus*: *Palius* – двигать, *urion* – моча (греческое).

Появились сведения об антимикробном, фунгицидном, антиоксидантном, бронхоспазмолитическом действии держи-дерева; отмечено его ингибирующая эффективность на уровень холестерина и триглицеридов в организме животных. В отдельных частях держи-дерева (ДД) найдены флавоноиды, катехины, алкалоиды [2-7].

Настоящая глава посвящена изучению липофильного и гидрофильного состава плодов ДД и их фармакологической эффективности. Сырье для исследования было заготовлено в период полной зрелости семян на территории опытного поля лекарственных растений Института фармакохимии в Тбилиси.

5.1. Флавоноиды плодов держи-дерева

Из плодов выделена сумма флавоноидов по общей схеме в количестве 2,5%, хроматографированием которых на колонке полиамидного сербента изолированы три соединения.

Вещество 1 – светло-желтые кристаллы состава $C_{27}H_{30}O_{16}$, т. пл. 190-191°C; $[\alpha]_D^{20}$ – 11,4 (с 0,5, MeOH); Кислотным гидролизом образует агликон с т. пл. 315-316°C, идентифицированный как кверцетин; углеводная часть гидролизата представлена D-глюкозой и L-

рамной. Вещество 1 охарактеризовано как 5,7,3',4'-тетрагидрокси-3-0-β-D-глюкопиранозил-(6→1)-рамнопиранозид или рутин.

Вещество 2 – темно-желтые игольчатые кристаллы, состава C₂₁H₂₀O₁₂, т. пл. 216-218°C; [α]_D²⁰ – 55,2° (с 0,1, ДМФА); кислотным гидролизом расщепляется на кверцетин и D-глюкозу и, следовательно, представляет собой 5,7,3',4' - тетрагидрокси - 3 - 0 - β - D - глюкопиранозид или изокверцитрин.

Вещество 3 – желтые игольчатые кристаллы, состава C₂₁H₂₀O₁₂, т. пл. 235-237°C; [α]_D²⁰ – 60,0° (с 0,1, EtOH); кислотным гидролизом дает кверцетин и D-галактозу и таким образом оказался 5,7,3',4'- тетрагидрокси - 3 - 0 - β - D - галактопиранозидом или гиперозидом [9,10].

5.2. Нейтральные липиды семян держи-дерева

Из в/с измельченных семян держи-дерева (ДД) нейтральные липиды извлекали петролейным эфиром (т. кип. 40-60°C) трехкратным настаиванием при комнатной температуре. После отгонки растворителя получали 20% нейтральных липидов (НЛ) в виде желтой прозрачной жидкости со следующими показателями: d₄²⁰ 0,9277; n_D²⁰ – 1,4778; иодное число 102,6% I; кислотное число 4,5 мг/кон; неомыляемые вещества 1,2%. Хроматографированием на колонке силикагеля с последующим рехроматографированием узких фракций получали отдельные химические классы НЛ-ов. Выявлен следующий набор классов (% от массы): углеводороды (УГ), сложные эфиры жирных кислот (ЖК) и стеролы – 2,3; триацилглицериды (ТАГ) – 2,2; диацилглицериды (ДАГ) – 0,5; свободные стеролы – 0,8; моноацилглицериды – 0,3; неидентифицированные компоненты - 1,9 [8,10].

Из основных ацилсодержащих липидов щелочным гидролизом выделены ЖК в виде метиловых эфиров; их состав определяли методом ГЖХ на полярной и среднеполярной фазах.

Уф-спектр гексанового раствора был прозрачен и в ИК-спектре отсутствовали полосы колебания трансолефиновых связей.

Как видно из таблицы 5.1, во всех классах НЛ доминируют ненасыщенные кислоты 18:1 и 18:2, а наиболее насыщены СЖК. Разница в содержании 18:0, 18:2 и 18:3 в НЛ, снятых на полярной и среднеполярной фазах, указывает на наличие изомеров ненасыщенных ЖК. Метилловые эфиры ЖК фракционировали по степени ненасыщенности методом препаративной ТСХ на силикагеле, импрегнированном 15% AgNO_3 , с последующим деструктивным окислением выделенных фракций периодатперманганатным реактивом. МЭ диеновых и триеновых ЖК частично разделены на две подфракции изомеров, их десорбировали совместно. В результате изучены структуры ЖК и получены (%): МЭ насыщенных ЖК – 19,2; моноеновых – 36,4; диеновых – 38,0; триеновых – 2,3 и неидентифицированных компонентов – 1,6.

Таблица 5.1. Состав жирных кислот липидов семян *Paliurus spina-christi* (%)

Жирная кислота	Сумма нейтральных липидов		ТАГ	СЖК	ДАГ
	I	II*			
12 : 0	0,8	0,4	1,0	-	0,8
14 : 0	0,2	0,4	0,5	-	0,8
16 : 1(9)**	0,8	0,7	0,8	-	следы
16 : 0	8,0	7,7	11,2	22,5	12,4
18 : 0	10,3	3,5	11,0	14,3	8,3
18 : 1(9)**	35,3	36,5	30,4	32,2	32,7
18 : 2	38,2	43,9	40,2	29,2	42,6
18 : 3	2,6	3,4	1,7	0,8	2,4
20 : 0	следы	следы	следы	1,0	следы
20 : I(II)**	0,9	1,9	1,1	-	следы
X	2,9	1,6	2,1	-	-
Σ насыщ.	19,5	12,0	23,7	37,8	22,3
Σ ненасыщ.	77,8	86,4	74,2	62,2	77,7

* Сняты на полярной, остальные – на среднеполярной фазах

** Положение C=C, считая от COOH

Насыщенные ЖК состояли из (% ГЖХ): 12:0(3,4); 14:0(2,9); 16:2(62,0); 18:0(29,3) и 20:0(2,4). Во фракции моноенов обнаружены: 16:1-2,3; 18:1 -94,1 и 20:1 – 3,5%. При окислительной деструкции этой фракции получены диметилловые эфиры дикарбоновых 9:0 – 94,4, 11:0 – 5,6 и МЭ монокарбоновых кислот 9:0 – 98,2 и 7:0 – 1,8%. По этим данным моноеновые ЖК имели структуру 16:1(9), 18:1(9) и 20:1(11) (табл. 5.1.).

МЭ диеновых ЖК представлены только кислотой 18:2 (полярная фаза ГЖХ). В продуктах окисления идентифицированы диметилловые эфиры 9:0 – 97,9; 7:0 – 1,1; 5:0 – 1,1% и МЭ 6:0. Следовательно, основная диеновая ЖК – 18:2(9,12), минорная изомерная имеет вероятную структуру 18:2(5,12).

Фракция МЭ триеновых кислот содержала структуру 18:3, при окислении которой получены диметилловые эфиры 9:0 – 91,6; 7:0 – 5,1 и 5:0 – 3,3%. Из монокарбоновых фрагментов в продуктах деструкции методом ТСХ на целлюлозе обнаружена только пропановая кислота - 3:0.

В общих ЖК одновременно с ненасыщенными кислотами ряда Δ^9 18 атомами углерода содержится кислота с первой двойной связью у Δ^{11} и длиной цепи 20 атомов углерода – 20:1 – эйкозановая кислота, впервые обнаруженная в липидах растений сем. *Rhamnaceae*.

Сумму НЛ семян ДД подвергали жесткому щелочному гидролизу. Неомыляемую часть отделяли и из метанолового раствора при низкой температуре осаждали стеролы, очищали от примесей препаративной ТСХ силикагеля и анализировали на ГЖХ. Состав стеролов (% ГЖХ): β – ситостерин – 66, стигмастерин – 13, кампестерин – 11 и неидентифицированных компонентов – 10 [10,11].

5.2.1. Биологическая активность нейтральных липидов семян держи-дерева

На кафедре патологии Харьковского государственного фармацевтического университета проф. А.И. Березняковой были

изучены противовоспалительная и регенеративная эффективность нейтральных липидов (НЛ) семян держи-дерева (ДД).

Опыты выполнены на моделях ожоговой раны и экспериментального проктита на 36 беспородных белых крысах обоего пола. Препаратом сравнения служило облепиховое масло, в жидкой лекарственной форме. Лечение начиналось сразу после воспроизведения патологии. О регенеративных свойствах нейтральных липидов судили по изменению площади раневой поверхности и скорости заживления ожоговых ран.

Установлено (табл. 5.2.), что нейтральные липиды ДД достоверно уменьшают поверхность ран к 6 суткам опыта на $27,2 \text{ мм}^2$ (облепиховое масло на $21,6 \text{ мм}^2$) и ускоряют процессы регенерации. К этому моменту скорость заживления ран при применении липидов ДД составляла $4,3 \text{ мм}^2/\text{сутки}$, а облепихового масла $4,1 \text{ мм}^2/\text{сутки}$.

Таблица 5.2. Изменение площади экспериментальных ран под действием нейтральных липидов держи-дерева

Сроки исследования, дни	Площадь ран, мм^2		
	Контроль	Лечение нейтральными липидами держи-дерева	Лечение облепиховым маслом
0	$47,1 \pm 2,1$	$52,6 \pm 2,8$	$50,4 \pm 4,2$
3	$40,9 \pm 3,1$	$40,2 \pm 2,33^*)$	$40,0 \pm 3,8$
6	$30,3 \pm 2,08^*)$	$27,2 \pm 2,1^*)$	$21,6 \pm 3,1^*)$
9	$18,0 \pm 4,3^*)$	$20,4 \pm 1,9^*)$	$22,5 \pm 2,1^*)$

*) Достоверно по отношению к исходным данным

Таким образом, под влиянием липидов держи-дерева регенеративные процессы при ожоговой ране протекали быстрее, чем в случае облепихового масла. Кроме того, репарация при лечении липидами ДД сопровождалась формированием более нежного рубца.

Критерием эффективности действия препарата при экспериментальном проктите (вызванном 40% водным раствором формальдегида) служили: ректальная температура, клинические проявления воспаления.

Местный воспалительный процесс и тяжелая интоксикация привели к гибели 20% контрольных животных. Лечившиеся липидами ДД животные лучше переносили повреждающее действие формалина. На 5-9 день общее состояние улучшалось. Крысы проявляли обычную для них активность. Температура реакции была сглаженной и непродолжительной, пик ее не превышал 0,2-0,6°C. Слизистые выделения из ануса не были гнойными и носили непродолжительный характер.

Следовательно лечение нейтральными липидами держидерева оказало благоприятное действие на течение экспериментального проктита. Высказано мнение, что их можно рекомендовать для клинической апробации, как ранозаживляющее и противовоспалительное средство при лечении проктитов.

Наряду с противовоспалительной активностью, по заключению Московского института косметологии, НЛ ДД являются высококачественными питательными средствами и рекомендованы для включения в композиции косметических кремов.

5.3. Полярная фракция семян держидерева

Полярную фракцию получали из семян ДД, оставшихся после выделения нейтральных липидов экстракцией петролейным эфиром. Обезжиренное сырье извлекали смесью хлороформ-метанол (2:1). Получали коричневого цвета смолистую массу в количестве 2,5% от в/с сырья, содержащую фосфолипиды и наряду с ними значительное количество углеводов, НЛ, стеринов. Освобождение фосфолипидов от сопутствующих веществ проводили многоступенчатым технологическим процессом [10]. Во фракции фосфолипидов ТСХ анализом в присутствии достоверных образцов

обнаружены: фосфатидилхолин, фосфатидилинозит, фосфатидилэтаноламин, N-ацил-фосфатидилэтаноламин, фосфатидилглицерид, лизофосфатидилхолин, лизофосфатидилинозит, N-ацил-лизофосфатидилэтаноламин, фосфатидная кислота, лизофосфатидная кислота. Доминирующим соединением суммы фосфолипидов является фосфатидилхолин [10,11].

5.4. ЦАРУБОЛ - гепатопротекторный и желчегонный препарат плодов держи-дерева

Для выявления фармакологической эффективности плодов держи-дерева исследовался суммарный – натуральный препарат растения.

В/с измельченные плоды ДД экстрагировали 80% этанолом 4-хкратно при комнатной температуре. Из объединенных извлечений спирт отгоняли, водную часть сгущали до сиропообразной концентрации, смешивали с равным количеством молочного сахара и высушивали. Полученный желтовато-коричневый порошок со своеобразным запахом и вкусом содержит почти все компоненты веществ исходного сырья. В нем содержатся: 2% флавоноидов, включающих в себе: изокверцетин, рутин, гиперозид; 13-15% танидов; 60 мг % проантоцианидинов; 7-8% нейтральных липидов; 4-5% фосфолипидов, состоящих из фосфатидилхолина, фосфатидилинозита, фосфатидной кислоты, фосфатидилэтаноламина, лизофосфатидилхолина.

В суммарном препарате ДД обнаружены аминокислоты: аргинин, аспарагиновая кислота, аланин, изоаланин, лейцин, фенилаланин, треолин. По данным атомно-абсорбционного анализа содержание микроэлементов в порошке следующее (%): К – 2,3; Na – 0,075; Ca – 0,14; Mg – 0,22; Fe – 0,018; Cu – 0,003; Mn – 0,002; Zn – 0,012; SiO₂ – 0,20; Al₂O₃ – 0,11.

На кафедре патологии Харьковского фармацевтического университета проф. А.И. Березняковой установлена желчегонная и гепатопротекторная эффективность суммарного препарата плодов

ДД. Была изучена сравнительная активность препаратов из цельных плодов, семян, околоплодника. Все они проявляли более или менее выраженную эффективность, но наиболее активным оказался препарат из плодов [10].

Из оптимальной дозы (33 мг) суммарного препарата плодов приготовлена готовая лекарственная форма препарата в виде 0,25 г таблеток и капсул, состоящая из 0,07 г активной субстанции, 0,1764 г молочного сахара и 0,0036 г стеарата магния.

Предполагаемому препарату дано название “Tsarubol” – «ЦАРУБОЛ» в честь заведующей лабораторией растительных липидов Института фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе АН Грузии, доктора фармацевтических наук, известного специалиста по биологически активным растительным липидам, ныне покойной Цару Михайловны Далакишвили.

В продолжение фармакологического изучения царубола, когда препаратами сравнения были «фламин» и «силибор», получены нижеследующие результаты.

На моделях токсического гепатита царубол оказывает нормализующее действие на желчевыделительную и, в особенности, на желчеобразовательную (холеретическую) функции, подавляет процессы перекисного окисления липидов в печеночных клетках и понижает уровень трансаминаз в крови, обеспечивая тем самым защитный эффект и сохранение биосинтетической активности печени.

Эффективная «терапевтическая» доза (ЭД₅₀) царубола была установлена по холеретическому действию при остром тетрахлорметановом гепатите и составила 33 мг/кг. В условиях СС₁₄ этанольного гепатита в результате введения царубола четко проявилась тенденция нормализации функций печеночных клеток – активность маркерных ферментов в крови (т.е. их утечка из гепатоцитов) оказалась ниже, чем у нелеченых животных, в том числе активность аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспаратаминотрансферазы (АсАТ) в среднем, в 1,2 раза, активность

Гамма-глутаминаминотрансферазы (γ-ГТФ) – в 1,3 раза; содержание малонового диальдегида (МДА) в гомогенате достоверно снижалось с $204,4 \pm 14,4$ ммоль/г до $186 \pm 13,9$ ммоль/г. Улучшение биосинтетической функции отразилось и на содержании как общего белка, так и общих липидов в сыворотке. Скорость секреции желчи увеличилась, приближаясь к исходному значению, а содержание холатов и холестеринагенез нормализовалось (табл. 5.3).

В условиях тетрациклинового гепатита в результате 10-дневного введения царубола показатели желчеобразовательной функции приблизились к значению исходных, а явления повреждения гепатоцитов существенно уменьшились, т.е. проявилось гепатопротекторное действие препарата.

Таблица 5.3. Влияние царубола (33 мг/кг) и фламина 20 мг на желчеобразовательную функцию печени при экспериментальном гепатите, вызванном сочетанием CCl_4 и C_2H_5OH

Группа животных	Срок наблюдения, дней	Показатели		
		Скорость секреции, мг/мин 100	Желчные кислоты, мг %	Холестерин, мг %
Исходные данные		$5,6 \pm 0,3$	$1510 \pm 133,6$	$18,8 \pm 1,1$
Нелеченые животные (контроль)	7	$3,2 \pm 0,7^*$	$1024 \pm 167,1$	$10,6 \pm 2,5$
	14	$4,3 \pm 0,3$	$1180 \pm 101,4$	$12,3 \pm 1,2^*$
Царубол	7	$4,0 \pm 0,3^*$	$1228 \pm 96,6$	$14,5 \pm 1,5$
	14	$4,7 \pm 0,4$	$1360 \pm 61,6$	$17,1 \pm 0,5^{**}$
Фламин	7	$3,8 \pm 0,6^*$	$1196 \pm 89,7$	$13,6 \pm 2,4$
	14	$4,8 \pm 0,4$	$1368 \pm 80,8$	$16,6 \pm 0,9^{**}$

* Разность статистически достоверна по сравнению с исходными данными, $p < 0,5$.

к Разность статистически достоверна по сравнению с аналогичным показателем у нелеченых животных в соответствующий срок наблюдения

При сравнении эффектов силибора, фламина и царубола становится очевидным, что по холеретическому действию

последний сходен с фламином, но активнее силибора; гепатопротекторный эффект также лучше выражен у царубола, чем у силибора, особенно в начальном периоде лечения [10].

Гепатопротекторное и холеретическое действие царубола обусловлено, по-видимому, благодаря своеобразному химическому составу; он соединяет в себе свойства флавоноидсодержащих (фламин, силибор, легалон и т.п.) и липидных (эссенциале) препаратов [10-13].

Одним из механизмов, обуславливающих действие царубола, по всей вероятности, является высокая антиоксидантная активность (АОА). Относительная АОА царубола составляет 189% при АОА известных антиоксидантов ЭДГА – 90% и α -токоферола – 97%. Количество МДА в сыворотке крови человека, при фоновой концентрации 8,12 мк/мол/л и инициированной двухвалентным ионом железа 11,96 мк/мол/л под влиянием царубола снижается до 4,7 мк/мол/л [14].

Терапевтическая эффективность царубола подтверждена клиническими наблюдениями на кафедре терапии Харьковского института усовершенствования врачей, в гастроэнтерологическом отделении 2-ой тбилисской больницы и на кафедре госпитальной терапии Тбилисского гос. медицинского университета.

В результате лечения царуболом у больных уменьшались или вовсе исчезали боли, диспепсические явления; улучшались пальпаторные данные; нормализовалось состояние кожных покровов и видимых слизистых оболочек; уменьшалась неоднородная очаговость ткани печени и ее размеры (при гепатитах), а также значительно уменьшалась экзогенность печени; улучшались показатели функции печени; увеличивалась сократительная способность желчного пузыря и следовательно скорость секреции желчи (у больных с хроническим холециститом). Улучшались инструментальные и лабораторные показатели. В процессе лечения препаратом побочные эффекты не выявлены [10].



Рис. 5.1. *Paliurus spina-christi* Mill.

Клиники пришли к заключению, что царубол с успехом может быть применен при хронических гепатохолециститах, дискинезии желчного пузыря и хронических гепатитах. Показания применения царубола таковы: хронический гепатохолецистит различного генеза, повреждение (патология) печени, вызванное хронической инфекцией, алкоголем или другими токсическими веществами, профилактика токсико-метаболических поражений печени.

Министерством труда, здравоохранения и социального обеспечения Грузии Tsarubol (Царубол) зарегистрирован (удостоверение № 0002879) в качестве гепатопротекторного и желчегонного лекарственного средства (в капсулах 0,07 г №90) и разрешено его широкое применение в медицинской практике. Разрешены все научные и технические вопросы, связанные с производством царубола и его выпуск осуществлен на экспериментально-производственной базе Института фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе.

Широкое распространение в Грузии *Paliurus spina-christi* Mill., обильное плодоношение создают прочную сырьевую базу для препарата царубол и нейтральных липидов семян. Имеются предпосылки для продолжения фармакологического и химического изучения данного растения и расширения области его использования.

Литература

1. Флора СССР, XIV, изд. АН СССР, 1949, М.-Л., 787 с.
2. Zuma T. Ahmed Nabeel K., Al-Ani Khulood W., Smatill. Chemical Analysis and Antifugal Activity of *Paliurus spina-christi*. Egypt. J. Exp. Biol. (Bot.) 2012, 8(1), 99-102.
3. Zuma T. Ahmed, Khulood W., AZ. Sammarie, Nabel Kh. Al-Ani, Basim M. Jabes. The Inhibition effect of *Paliurus spina-christi* Methanolic Extract on Trichophyton Mentagrophytes Growth and Tri MY Gene Diyala. J. of Medicine, 2013, 4, 1, 101.
4. Zuma Taba Ahmed, Khulood W., Abood, Qutuba Ghanim, Nabil Khalaf Ibrahim, et all. Antioxidant activity of *Paliurus spina-christi* Methanolic

- Extract. International J. of Bio. Technology and Research (IJBTB), 2013, 2, 3, 1-4.
5. Mahmoud Mossaddegha, Mohammad Javod Khorhnoodb, Mohammad Kamalinejada, Elham Alizadehd. Study on the effect of *Paliurus spina-christi* on Cholesterol, Triglyceride and HDZ levels in Diabetic Male Rats Fed a High Cholesterol Diet. Iranian J. of Pharmaceutical Research, 2004, 3, 51-54.
 6. Kustrak D., Males Z., Brantner A., Pitarevic I. Flavonoids of the leaves of Christi thorn (*Paliurus spina-christi* Mill.). Acta Pharm. Jugos. 1990, 40, 551-554.
 7. Adelheid Brantner, Zeljan Males, Steepan Pepeljenjok, Ankico Antonic. Antimicrobial activity of *Paliurus spina-christi* Mill. (Christ's thorn). J. of Ethnopharmacology, 1996, 52, 119-122.
 8. Далакишвили Ц.М., Гусакова С.Д., Чачанидзе Н.И., Купарадзе К.Г., Кемертелидзе Э.П. Липиды семян *Paliurus spina-christi*. Химия природ. соедин. 1985, 3, 322-326.
 9. Далакишвили Ц.М., Зурабишвили Т.С., Кемертелидзе Э.П. Фитохимическое исследование *Paliurus spina-christi*. Химия природ. соедин. 1986, 5, 639.
 10. Кемертелидзе Э.П., Далакишвили Ц.М., Гусакова С.Д., Шалашвили К.Г., Хатиашвили Н.С., Битадзе М.А., Гогилашвили Л.М., Березнякова А.И. Химическое исследование и фармакологическая активность плодов *Paliurus spina-christi*. Химико-фарм. журнал, 1999, 11, 21-24.
 11. Кемертелидзе Э.П., Далакишвили Ц.М. Биологически активные липиды некоторых растений, произрастающих в Грузии. Монография, 1996, Тб., «Мецниереба», 186 с.
 12. Кемертелидзе Э.П., Далакишвили Ц.М., Шалашвили К.Г., Тищенко И.Ю., Кузнецов С.В., Березнякова А.И. Способ получения полифенольных соединений, обладающих гепатозащитной активностью. Авт. Св. СССР, №1721878, 1991.
 13. Кемертелидзе Э.П., Сакварелидзе Н.С., Шалашвили К.Г., Гогилашвили Л.М. Способ получения гепатопротекторного и желчегонного средства из плодов *Paliurus spina-christi*. Патент U 1737, 2009.
 14. Кемертелидзе Э.П., Гогилашвили Л.М., Сакварелидзе Н.С. Антиоксидантная активность гепатопротекторного и желчегонного препарата «Царубол». VIII Международная конференция «Биоантиоксидант», тезисы докл., 4-6 октября, 2010 г. Москва, 201-202.

ГЛАВА 6. ФЛАВОНОИДНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЛИСТЬЕВ *RHODODENDRON UNGERNII* TRAUTV. И ПРОТИВОГЕРПЕТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ РОДОПЕС

Среди вирусных заболеваний одним из наиболее распространенных являются герпес-инфекции. До 70% населения поражены герпесом, в большинстве случаев простым герпесом (ПГ), характеризующимся хроническим развитием и поражающим практически все органы и системы человеческого организма.

Номенклатура лечебных средств против герпеса ограничена и представлена лишь несколькими дорогостоящими зарубежными препаратами. В проведенных нами исследованиях по выявлению растительных соединений с антивирусной активностью интересными оказались фенольные соединения листьев *Rhododendron ungeronii* Trautv., продолжению исследования которых и посвящена данная глава.

Род *Rhododendron* L. (сем. *Ericaceae*) объединяет свыше 900 видов, распространенных в умеренной области северного полушария, особенно в горах Юго-Восточной Азии и в Гималаях. Встречаются в арктической области, в горах Малайского архипелага, в Новой Гвинее и на севере Австралии [1, 2]. На Кавказе и в Грузии произрастают шесть видов, среди них *Rhododendron ungeronii* Trautv. – рододендрон унгерна [3]. Рододендрон унгерна реликтовый вечнозеленый, декоративный кустарник высотой 4-6 м, иногда до 10 м, с густо шерстистыми кожнообразными большими листьями (13-20 см × 4-8 см). Верхняя поверхность листьев гладкая, нижняя густошерстистая. Красивые цветки белые или розовые [2]. Произрастает в лесной зоне Западной Грузии на высоте 1000-1200 м над у.м. Значительные заросли встречаются в западной части Шавшетского хребта. Общее распространение растения - Северо-Восточная Анатолия Артавинской области [1].

В Институте биохимии растений АН Грузии академиком С.В. Дурмишидзе с сотрудниками изучены широко распространенные на Кавказе *Rhododendron ponticum* L. – рододендрон понтийский и *Rhododendron caucasicus* Vieb. – рододендрон кавказский. Из листьев растений выделены ряд катехинов, антоцианов, фенолкарбоновых кислот, флавоноидов. Ими же установлена Р-витаминная эффективность суммарных препаратов, разработана технология получения и организован их выпуск [4].

Литературных сведений относительно химического состава или биологической активности рододендрона унгерна не существовало. В 50-х годах прошлого столетия в Институте фармакохимии в листьях рододендрона унгерна (РУ), заготовленных проф. В.Е. Шотадзе на горе Мтирала, нами установлено содержание фенольных соединений и выделен также андромедотоксин. Из данного растения был приготовлен новогаленовый препарат (содержащий основные вещества исходных листьев) в виде капель и ампул под названием «Rhodogern»–«Родогерн» [5]. Фармакологические изучения показали ясно выраженную гипотензивную эффективность родогерна. Препарат не оказывал нежелательных побочных действий на системы и функции животного организма [6]. Предварительные клинические наблюдения подтвердили стабильное гипотензивное действие родогерна. Однако работа над родогерном не продолжалась.

6.1. Флавоноидный состав листьев рододендрона унгерна и противогерпетический препарат РОДОПЕС

Для химического изучения состава рододендрона унгерна и выявления биологической эффективности выделена сумма фенольных веществ листьев.

В/с измельченные листья РУ экстрагировали 70% этанолом. Из экстракта спирт упаривали, водную часть очищали от липофильных веществ хлороформом и извлекали этилацетатом. Остаток после отгонки растворителя высушивали и измельчали.

Получали красновато-коричневый порошок в количестве 7-8%, содержащий не менее 13 веществ фенольной природы. Данную сумму хроматографировали на колонках силикагеля и полиамидного сорбента, с последующим рехроматографированием обогащенных фракций [7, 8].

В результате выделены 10 индивидуальных веществ. Их идентифицировали аналогично фенольным соединениям, описанным в предыдущих главах. Пять из изолированных веществ оказались флавонолами, три – катехинами, один – антоцианом. Выделенные соединения охарактеризованы как:

Кверцетин – 3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавонол, т. пл. 303-306°C; УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм): 372, 257.

Кверцитрин – Кверцетин-3-О- α -L-рамнопиранозид, т. пл. 182-183°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 72° (с 0.1, EtOH). УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм): 352, 274.

Изокверцитрин – Кверцетин-3-О- β -D-глюкопиранозид, т. пл. 227-229°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 80° (с 0.1, ДМФА). УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм): 350, 255.

Гиперин – Кверцетин-3-О- β -D-галактопиранозид, т. пл. 235-237°C, $[\alpha]_D^{20}$ - 60° (с 0.1, EtOH); УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм): 360, 262.

Рутин – 5, 7, 3', 4' – тетрагидроксифлавонол-3-О- β -D-рутинозид, т. пл. 189-191°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 32° (с 1.0, ДМСО). УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм): 360, 258.

(+)–Катехин - т. пл. 175-176°C; УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм) 280.

(-)–Эпикатехин - т. пл. 230-232°C; УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм) 282.

Изолированы также (+) – галокатехин и лейкоантоцианидин. Общее количество флавоноидов в сумме фенольных соединений РУ составляет 27%, катехинов 12%, лейкоантоцианидинов 17% [9-11].

Сумма флавоноидных соединений листьев РУ исследована на антимикробную и противовирусную активность. Эксперименты на

первично-трипсинизованной культуре клетки фибробластов куриного эмбриона показали, что в дозе 10 мкг/мл она полностью ингибирует репродукцию вируса герпеса I типа штамма «J₂» [9].

Острыми и хроническими экспериментами доказано, что сумма флавоноидов РУ не вызывает патологических изменений внутренних органов, сердечно-сосудистой системы, дыхательной функции, центральной нервной системы, не изменяет формулы крови.

После установления высокой противовирусной эффективности и безвредности суммы флавоноидов РУ, создана их готовая лекарственная форма для наружного применения в виде мази. Мазь содержит 5% активной субстанции – сумму флавоноидов; мазевой основой является моноглицерид дистиллированный и масло парфюмерное в соотношении 75:20 частей. Предлагаемому препарату дано название «Rhodopes» – РОДОПЕС – «*Unguentum Rhodopesum*» [7, 9].

6.2. Клинические наблюдения над Родопесом

Клиническая апробация родопеса проходила в пяти специализированных учреждениях. На кафедре терапевтической стоматологии Тбилисского государственного медицинского университета под руководством зав. кафедрой проф. М.Б. Ивериели, доцентом Н.Ш. Чипашвили и Н.О. Нижарадзе наблюдения велись при вирусных заболеваниях полости рта: первичного простого герпеса (ППГ), хронического рецидивируемого простого герпеса (РПГ) и опоясывающего герпеса (ОГ). Препаратами сравнения служили наиболее признанный в международной медицинской практике высокоэффективный при герпетических инфекциях препарат Ацикловир – Зовиракс (Glaxo Wellcome, Великобритания) и Интерферон (НПО «Бактериофаг», Грузия). Под исследованием находились 185 пациентов в возрасте 16-60 лет.

Статистическая обработка результатов проводилась с применением t критерия Стьюдента и метода χ^2 .

В зависимости от использовавшихся препаратов больные были распределены на 2 группы: группа А (130 пациентов) – лечение родопесом и контрольная группа В (55 пациентов) с двумя подгруппами: В1 – лечение зовираксом (35 пациентов) и В2 – лечение интерфероном (20 пациентов).

Критериями эффективности лечения служили клинические симптомы, имеющие математические параметры: продолжительность общеинфекционного синдрома, периоды везикуляции, эпителизации и длительность периода между рецидивами.

Сравнительный анализ пациентов контрольной и исследуемой группы А показал, что во время лечения герпетической инфекции результаты, полученные при использовании родопеса, как при ППГ, так и при РПГ и ОГ, были лучше, чем при лечении традиционными препаратами – зовираксом и интерфероном. Также отмечено, что родопес более эффективен у больных с ППГ и ОГ, чем у больных с РПГ (рис. 6.1).

По данным клинической апробации, родопес обладает высокой противовирусной активностью и оказывает выраженный кератопластический эффект. После начала лечения препаратом сразу же снижается интенсивность боли, отечность и зуд. Герпетические элементы не развиваются до стадии пузырьков, что связано с ускорением процесса эпителизации и возникновения чешуек; а также прекращается распространение новых элементов. При лечении родопесом системные побочные явления – аллергические реакции (локальная отечность, кожная сыпь, зуд, крапивница) и другие нежелательные явления не наблюдаются [9].

Для объяснения механизмов терапевтического эффекта родопеса исследовалась его иммулотропность, т.е. состояние иммунных показателей в процессе лечения. Иммунологические аспекты препарата изучались проф. Б.М. Корсантиа [9].

Иммунный статус организма оценивался по следующим параметрам: процент В- и Т-лимфоцитов и их субпопуляций [12], количество иммуноглобулинов М, G и А [13], фагоцитарная

активность нейтрофилов [14] и система интерферона [15]. Кровь для анализа брали до лечения (49 пациентов) и после лечения (спустя 10-15 суток), причем больные были распределены на две группы: этиотропная терапия зовираксом (25 пациентов – группа А) и терапия только родопесом (24 пациента – группа В).

Полученные результаты являются характерными для латентных вирусных инфекций вообще и, особенно, для простого герпеса [16,17]. Известно, что обострения герпеса сопровождаются наибольшим поражением системы фагоцитоза, снижением количества естественных цитотоксических клеток, а также угнетением активности одного из главных регуляторов иммунокомпетентности организма – гамма интерферона [18].

При распределении полученных данных в зависимости от тяжести герпетической инфекции не удалось отметить достоверной разницы по этим параметрам, что четко коррелируется с другими вирусными инфекциями, например – гриппа [19]. Наиболее приемлемым объяснением указанному факту можно считать установленное сходство клинико-лабораторной симптоматики (в том числе иммунологической) при очередных рецидивах герпеса [20]. Именно поэтому принято оценивать тяжесть обострений при герпетической инфекции по количеству рецидивов в течение одного года. Согласно этой классификации, легкой формой герпеса считается 1-2 рецидива в год, умеренной 3-5 и тяжелой 6 и более рецидивов.

Из приведенных в таблице 6.1 результатов иммунологического анализа после этиотропного лечения герпеса (группа А) и с помощью родопеса (группа В) видно, что купирование герпетического процесса сопровождается улучшением всех изучаемых параметров в обеих группах по сравнению с исходными цифрами. Выявлена четкая тенденция к их нормализации, однако более выражены положительные результаты иммунотропности родопеса – группа В. При этом достоверно выше исходных цифр оказались активность α -интерферона (α -ИФ – 26,7 ед/мл) и γ -интерферона (γ -ИФ – 15,2 ед/мл), фагоцитный индекс (Фи – 4,14) и индекс иммунорегуляции (Ии – 2,01).

Обращает на себя внимание также значительная иммуностропность родопеса на фоне более быстрого купирования процесса заболевания. Наряду с этим отмечены наиболее длительные сроки ремиссии (на 1,5 – 2,5 месяца больше, чем в группе А).

На основании последних данных сделан практический вывод: быстрая и интенсивная активация систем интерферона и фагоцитоза, активной фракции Т-лимфоцитов и индекса иммунорегуляции наблюдалась только у пациентов, результаты лечения которых признаны удовлетворительными, т.е. иммунологические показатели можно использовать для прогнозирования сроков ремиссии [9].

Клиническая апробация Родопеса проводилась также в центре СПИДА и клинической иммунологии Минздрава Грузии под руководством проф. Т.Н. Церцвадзе. Наблюдения велись над 100 пациентами с хроническим первичным простым герпесом, опоясывающим герпесом, параллельно с мазью зовиракс – ацикловир, в моно- и комбинированной терапии.

Клиника пришла к заключению, что родопес представляет собой эффективное лечебное средство при простом герпесе и герпесе-зостере. Препарат хорошо переносится, не оказывает местно-раздражающего действия, не вызывает аллергических реакций, системных побочных или каких-либо нежелательных явлений; эффективен как для иммунокомпетентных, так и иммунокомпроментальных лиц и для детей [9].

В Научно-исследовательском институте перинатальной медицины, акушерства и гинекологии им. К.В. Чачава Минздрава Грузии (Директор проф. П.И. Кинтраиа) клиническое наблюдение родопеса проводилось над 60 пациентами с герпетическими поражениями в области внешних половых органов, когда референ препаратом использовался ацикловир (зовиракс). Установлена эффективность родопеса, отсутствие местно-раздражающих, аллергических реакций и каких-либо побочных явлений. Родопес рекомендован для местного применения при кожных и слизистых поражениях герпес вирусом женских половых органов.

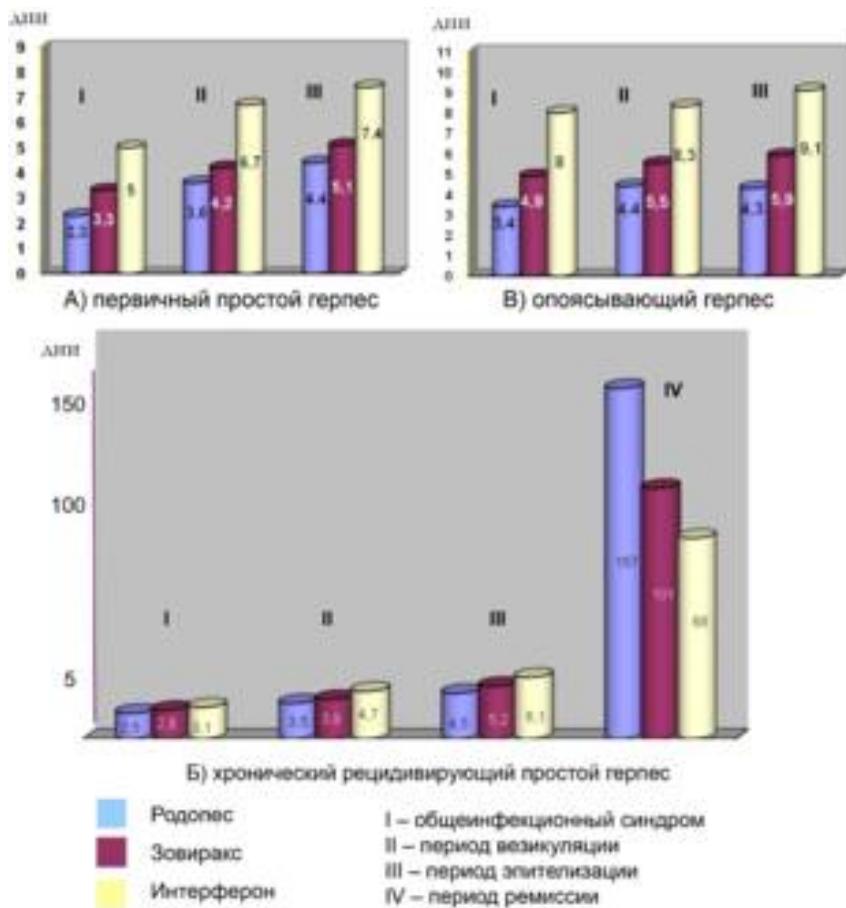


Рис. 6.1. Лечение герпетической инфекции препаратом Родопес

Таблица 6.1. Иммунологические показатели при стоматологическом герпесе в процессе лечения пациентов препаратом «Unguentum Rhodopesum 5%»

№	Группа пациентов	Показатель													α-ИФ, ед/мл	γ-ИФ, ед/мл
		Z	To, %	Ta, %	Tx, %	Tc, %	Ии	В, %	IgM, г/л	IgG, г/л	IgA, г/л	Фч, %	Фи	ЗФ, %		
1	Контроль	30	51.2	32.8	36.6	14.6	2.51	24.5	1.22	12.5	1.84	75.5	6.30	72.6	43.4	31.8
2	Группа «О»	49	48.6	21.8**	30.4*	18.2	1.66**	22.1	0.97	11.9	1.38*	59.7*	2.57***	56.3*	16.9***	7.1***
3	Группа «А»	25	49.4	23.7**	32.5	16.9	1.91*	22.7	1.06	11.6	1.44*	61.6*	3.07*	58.5*	20.4***	10.3***
4	Группа «В»	24	50.6	26.5*	33.7	16.8	2.01*	23.9	1.27	11.8	1.54*	64.1	4.14*	62.8*	26.7**	15.2**

Примечание: О – до лечения; А – после лечения Зовираксом; В – после лечения Родолесом; То – общее кол-во Т-лимфоцитов; Та – активная фракция Т-лимфоцитов; Тх – хелперная популяция Т-лимфоцитов; Тс – супрессорная популяция Т-лимфоцитов; Ии – индекс иммунорегуляции; В – общее кол-во В-лимфоцитов; Фч – фагоцитарное число; Фи – фагоцитарный индекс; ЗФ – завершённый фагоцитоз; α-ИФ и γ-ИФ – α- и γ-интерфероны; * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$ по отношению к контролю.

Клинические наблюдения с положительными результатами проводилась также на кафедре стоматологической терапии Медицинской академии Тбилиси зав. проф. Л.Д. Челидзе и в Научно-практическом центре инфекционных патологий, СПИДа и клинической иммунологии (директор Э. Д. Бочвадзе).

Итак, клинические исследования показали, что родопес по своей эффективности равняется, а по некоторым показателям превосходит зовиракс, и во всех случаях активнее интерферона [9].

На основании положительных клинических заключений Министерством труда, здравоохранения и социального обеспечения Грузии разрешено широкое применение родопеса в медицинской практике. Препарат получил Государственную регистрацию № R-0001795.

Применение родопеса показано при герпетическом поражении кожи и слизистых оболочек вирусами группы простого герпеса и группы ветрянки зостер; пузырьковом простом первичном и рецидивирующем лишае, опоясывающем лишае (зостер), остроконечной кондиломе и первичном рецидивирующем герпетическом поражении кожи и слизистых оболочек генитальной сферы; герпетическом стоматите, остром афтозном стоматите, хроническом рецидивирующем стоматите.

Разработаны все вопросы, связанные с производством родопеса, и организован его выпуск на экспериментально-производственной базе Института фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе для применения в медицинской практике [9].

6.3. Полимерные пленки препарата РОДОПЕС для стоматологической практики

Из вирусных заболеваний полости рта наиболее важную этиологическую роль играет простой герпес (ПГ). Избирательная способность вируса к начальной инвазии в клетки эпидермиса и наружных слизистых оболочек, наименее защищенных от него иммунной системой, определяет высокую вирулентность инфекции. Следует принимать во внимание широкую распространенность ПГ, а также способность пожизненной персистенции инфекции после первичного заражения.

Известна огромная регулирующая и стабилизирующая роль иммунной системы (особенно ее местных факторов) в сохранении нормального гомеостаза в коже и слизистых оболочках. В ротовой полости иммунная система принимает непосредственное участие в этиопатогенезе различных стоматологических заболеваний. Кроме свойственных иммунной системе в целом защитных механизмов, формирующиеся местные иммунопатологические механизмы могут индуцировать серьезные поражения тканей пародонта и даже препятствовать репаративным процессам. Учитывая важнейшую регулирующую роль иммунной системы в чередовании этапов рецидива и ремиссии герпеса, специалисты рекомендуют использовать в комплексной терапии герпеса иммуномодулирующие препараты [22].

При комплексном лечении вирусных заболеваний полости рта важно определить наиболее эффективные средства. С этой точки зрения заслуживает интерес новый противогерпетический препарат растительного происхождения Родопес – *Unguentum Rhodopesum* 5%.

С целью усовершенствования готовой лекарственной формы родопеса для стоматологии созданы его адгезивная паста и полимерная пленка, содержащие 5% активной субстанции препарата. Адгезивная паста на желатине и пектинцеллюлозе разработана в Институте фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе. Особый интерес представляет сравнительно современная форма родопеса – полимерная пленка, разработанная в исследовательском центре медицинских полимеров и биовеществ – РСМРВ проф. Р. Д. Кацарва [21].

Пленка толщиной 0.08-0.10 мм, содержащая 5% субстанции родопеса, приготовлена на биодеградирующем полиэфирамиде – 8-Phe-6 (себациновая кислота, фенилаланин и гександиол) и ферменте α -химотрипсине. Биодegradуемость и биодоступность полиэфиров, постоянно подвергающихся расщеплению под воздействием α -химотрипсина, придает данной пленке лечебные свойства постоянного депо находящегося в ней активного вещества. Помимо этого, все время высвобождается ценная для организма незаменимая аминокислота – *L*-фенилаланин [21].

Биополимерные пленки родопес в период пролонгированной адгезии равномерно выделяют активные компоненты, концентрируя их в патологическом участке слизистой оболочки полости рта, благодаря чему увеличивается время действия, соответственно повышается эффективность и снижается расход препарата.

На кафедре терапевтической стоматологии Тбилисского государственного медицинского университета и в стоматологической клинике «Унидент» проведена клиническая апробация полимерных пленок родопес при вирусных заболеваниях полости рта – первичном ПГ (ППГ), хроническом рецидивирующем ПГ (РПГ) и опоясывающем герпесе (ОГ). Проводились параллельно клинические наблюдения как с мазью и адгезивной пастой Родопес, так и с традиционными противовирусными препаратами – зовиракс и интерферон. Наблюдения проведены на 278 пациентах в возрасте от 16 до 60 лет. Больные были распределены на 3 группы: 1-я группа – основная (77 пациентов) – лечение проводилось полимерной пленкой родопес; 2-я – контрольная (146) – с 2 подгруппами: А1 (60 больных), применялась адгезивная паста родопес; А2 (86) – мазь родопес; 3-я группа (55) – тоже с 2 подгруппами: В1 (35) – использовали зовиракс, В2 (20) – интерферон.

Для объяснения механизмов терапевтического эффекта полимерной пленки родопес исследовались иммунные показатели в процессе лечения. Сравнительный анализ пациентов контрольной и основной групп показал, что по всем критериям эффективности лучшие результаты получены при использовании полимерных пленок родопес как при РПГ, так и ОГ. При этом выраженные различия отмечены как при применении мази и адгезивной пасты родопес, так и традиционных препаратов.

Противорецидивный эффект у полимерных пленок родопес более выражен, чем у мази и адгезивной пасты ($p < 0.1$) на фоне лечения зовираксом и интерфероном ($p < 0.001$). У пациентов с РПГ при лечении полимерными пленками родопес продолжительность

ремиссии в среднем составляет 175.5 ± 15.2 дня. Анализ иммунологических данных выявил серьезное угнетение иммунокомпетентности при лечении полимерными пленками родопес герпетической инфекции полости рта, главным образом – в отношении неспецифических факторов защиты.

Проведенные наблюдения над иммунологическими показателями при 2-х различных схемах лечения герпеса – с помощью зовиракса и полимерных пленок родопес – показали, что купирование герпетического процесса сопровождалось улучшением всех изучаемых параметров в обеих группах по сравнению с исходными цифрами, т.е. выявлена четкая тенденция к их нормализации (таблица 6.2.).

Полученные результаты подтвердили выраженный иммуностимулирующий эффект полимерных пленок родопес, который можно отнести к одному из механизмов протекторного действия препарата при герпетической инфекции полости рта.

При использовании полимерных пленок родопес происходит концентрация большого количества активного вещества на поврежденном участке слизистой оболочки полости рта, обеспечивается крепкий контакт с тканями, а также возникает эффект депонирования, более равномерно выделяется лечебный субстрат, чем соответственно обеспечивается высокая терапевтическая эффективность, наряду с уменьшением расхода в 3-5 раз лечебного препарата.

При лечении полимерными пленками родопес системных побочных явлений, аллергических реакций (локальная отечность, кожная сыпь, зуд, крапивница) не наблюдалось.

Итак, полученные данные доказывают преимущество новой лекарственной формы препарата – полимерных пленок Родопес – как перед предшествующими формами препарата, так и перед другими, до сих пор использующимися антивирусными средствами и обосновывают перспективу их активного применения в современной стоматологической практике [21- 23].

6.4. Ранозаживляющее действие препарата Родопес

Ранозаживляющее действие родопеса было исследовано на модели иссеченных кожных ран у мышей. У животных, леченых родопесом, наблюдалось более быстрое закрытие раны по сравнению с контрольными животными. Отмечено ускорение стягивания краев раны, укорочение времени заживления и регенерации пораженных тканей. Лечение родопесом вызывало увеличение инфильтрации макрофагов, нейтрофилов и фибробластов в раневое ложе по сравнению с необработанными ранами. Более того, родопес ускорял время отторжения струпа и полную реэпителизацию раны без признаков бактериального заражения. После заживления раны образовывался гладкий мягкий рубец, исчезавший всего за 1-2 дня [24].

Клинические наблюдения ранозаживляющего действия родопес в клинике стоматологии и Научно-исследовательском центре «Унидент» проведены на 90 пациентах с острыми травматическими повреждениями, с повреждениями в результате откусывания слизистой оболочки щек или губ, после анестезии при стоматологическом вмешательстве, с хроническими травмами (эрозии, язвы, трещины) [25].

Клинические наблюдения доказали высокий заживляющий эффект родопеса в виде мази и пленки с преимуществом полимерной пленки. Эффект более выражен в случае применения препаратов сразу после повреждения, чем через 24 часа.

Клиническими наблюдениями отмечено более значительное действие родопеса, чем при эксперименте, что обусловлено лучшим восстанавливающим свойством слизистой оболочки по сравнению с кожей [25].

На основании вышеизложенного сделано заключение, что родопес, наряду с герпетическими заболеваниями, можно использовать в качестве ранозаживляющего средства [24-26].

Таблица 6.2. Иммунологические показатели при герпетической инфекции полости рта в процессе лечения пациентов полимерными пленками препарата РОДОПЕС

Группы пациентов	n	To (%)	Ta (%)	Tx (%)	Tc (%)	Ии	В (%)	Ig М (г/л)	Ig G (г/л)	Ig A (г/л)	Фч (%)	Фи	ЗФ (%)	ИФNa (ед/мл)	ИФNu (ед/мл)
Контроль	30	51.2	32.8	36.6	14.6	2.51	24.5	1.22	12.5	1.84	75.5	6.30	72.6	43.4	31.8
Герпес «О»	55	48.6	21.7	30.4	18.2	1.66	22.1	0.97	11.9	1.38	59.5	2.59	55.3	15.3	6.9
Легкая форма	19	48.9	22.7	30.8	18.1	1.69	22.9	1.04	12.9	1.42	61.8	2.83	58.2	18.4	7.5
Средняя форма	24	49.4	22.5	30.6	18.6	1.64	22.6	0.97	12.6	1.38	60.2	2.61	56.2	18.2	7.2
Тяжелая форма	12	47.7	20.3	29.7	18.0	1.65	20.7	0.91	10.4	1.35	57.1	2.26	54.7	14.2	6.8
Герпес «А2»	25	49.4	23.7	32.5	16.9	1.91	22.7	1.06	11.6	1.44	61.6	3.07	58.5	20.4	10.3
Герпес «В2»	30	50.6	26.5	33.7	16.8	2.01	23.9	1.27	11.8	1.54	64.1	4.15	62.8	27.3	17.6
2/1 p <	-	0.01	0.05	-	-	0.001	-	-	-	0.05	0.05	0.001	0.05	0.001	0.001
3/1 p <	-	0.02	-	-	-	0.05	-	-	-	0.1	0.05	0.02	0.05	0.001	0.001
4/1 p <	-	0.1	-	-	-	0.05	-	-	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.02	0.01
3/2 p <	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.1
4/2 p <	-	0.05	0.1	-	-	0.05	-	-	-	0.1	0.02	0.02	0.05	0.05	0.01
4/3 p <	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.05	0.1	0.05	0.05	0.05

Примечания. Группа О: поступление пациента; Группа А2 – после лечения зовираксом; Группа В2 – после лечения полимерными пленками препарата родопес; знаком (-) показано отсутствие достоверности (p < 0.1) или (p > 0.1).

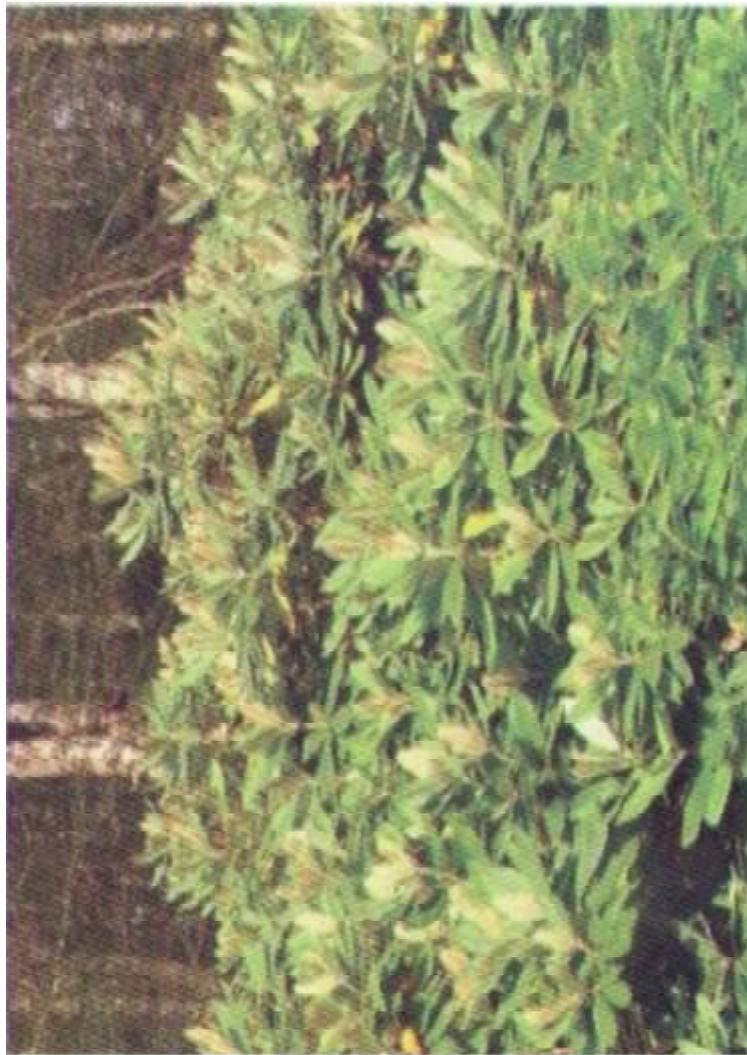


Рис. 6.2. *Rhododendron ingermii* Trautv



Рис. 6.3. листья *Rhododendron ungerii* Trautv.

Литература

1. Флора Грузии, 1985, т.Х, изд. «Мецниереба», Тбилиси, 387 с.
2. Флора СССР, 1952, т.ХVIII, изд. АН СССР, М.-Л., 802 с.
3. Gagnidze R. Vascular plants of Georgia. A nomenclatural checklist, 2005, "Universal", Tbilisi, 248 p.
4. Дурмишидзе С.В., Шалашвили А.Г., Мжаванадзе В.В., Циклаури Г.Ч. Флавоноиды и оксикоричные кислоты некоторых представителей дикорастущей флоры Грузии, 1981, «Мецниереба», Тбилиси, 197 с.
5. Бостоганашивили В.С., Кемертелидзе Э.П. К вопросу о приготовлении препарата Рододендрона унгерна с выраженным гипотензивным действием. Сб. трудов ТНИХФИ, 1956, вып. VIII, 25-29.
6. Гедеванишвили Д.М., Церетели М.П. К фармакологии Рододендрона унгерна. Влияние препарата Рододендрона унгерна на сердечно-сосудистую и нервную систему. Сб. трудов ТНИХФИ, 1956, вып. VIII, 69-88.
7. Kemertelidze E., Shalashvili K. Chemical composition and pharmacological activity of *Rhododendron ungerii*. Bull. Georg. Acad. Sci., 2004, 170, 3, 533-535.
8. Кемертелидзе Э.П., Шалашвили К.Г. Лечебное средство герпеса. Патент Р.2179, 1998.
9. Кемертелидзе Э.П., Шалашвили К.Г., Корсантия Б.М., Нижарадзе Н.О., Чипашвили Н.Ш. Фенольные соединения листьев *Rhododendron ungerii* и их терапевтическое действие. Химико-фармацевтический журнал, 2002, 41, 1, 10-13.
10. Borkovski R., Gzyszevska. Bull. Inst. Rosl. Leczn., 1958, 4, 340-357.
11. Swain T., Hills W.E. Sci. Food Agric., 1959, 10, 63-70.
12. Jondal M., Rlein H., J. Exp. Med., 1973, 138, 1365-1368.
13. Manchini G., Carbonara A., Hermans G. Intern. J. Immunochemistry, 1965, 2, 235-254.
14. Кост Е.А., Степко М.Н. Справочник по клиническим методам исследования, 1975, «Медицина», М., 185 с.
15. Соловьев В.Д., Бектемиров Т.А. Интерфероны в терапии и практике медицины, 1981, «Медицина», М., 400 с.
16. Букринская А.Г. Вирусология, 1992, «Медицина», М., 315 с.
17. Simmons A., Tschasche P., Spech P., Curz. Top. Microbiol. Immunol., 1992, 179, 31-56.

18. Самгин М.А., Иванов О.Л., Кужелева С.А. и др. Вестник дерматологии и венерологии, 1990, 3, 71-74.
19. Джонсон М.Р., Корсантиа Б.М., Гачечиладзе А.Г. Georgian Med. News, 2003, 9 (102), 82-83.
20. Сухих Т.Г., Варько Л.В., Кулаков В.И. Иммуниет и генетический герпес, 1997, НЦАГ и ПРАМН, Н.Новгород-Москва, 1997, 220 с.
21. Katsarava R., Alavidze Z. Polimeric blends as biodegradable matrices for preparing biocomposites. US Patent 6, 703, 040, 2004.
22. Нижарадзе Н.О., Чипашвили Н.Ш., Шалашвили К.Г., Корсантиа Б.М., Кацаравა Р.Д., Кемертелидзе Э.П. Полимерные пленки противогерпетического препарата Родопес для стоматологической практики. Стоматология, 2008, 82, 3, 36-40.
23. Нижарадзе Н.О., Чипашвили Н.Ш., Шалашвили К.Г., Корсантиа Б.М., Кемертелидзе Э.П. Иммуномодулирующие аспекты эффективности препарата растительного происхождения «Родопес» в стоматологической практике. Аллергология и иммунология, 2008, 9, 5, 569-571.
24. Mulkijanian K., Novikova Zh., Sulakvelidze M., Shalashvili K., Kemertelidze E. Antiviral drug Rhodopes: Evaluation of wound healing activity. Georgian Med. News, 2012, 3 (102), 84-87.
25. Нижарадзе Н.О., Чипашвили Н.Ш., Шалашвили К.Г., Кемертелидзе Э.П. Ранозаживляющая эффективность антигерпетического препарата Родопес. Аллергология и иммунология, 2010, 11, 2, 117-118.
26. Nizharadze N.O., Chipashvili N. Ch., Shalashvili K.G., Kemertelidze E.P. Evaluation of efficacy of various formulations of preparation Rhodopes of treatment oral cavity viral and traumatic diseases. Georgian Medical News, 2016, in press.

ГЛАВА 7. КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ *SATUREJA HORTENSIS* L. И ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ САТУРИН

Сахарный диабет – одно из наиболее распространенных заболеваний. Число больных диабетом в мире превышает 300 млн, из них 80-90% приходится на диабет 2 типа. Повышенный уровень глюкозы в крови повреждает ряд тканей и систем организма, в том числе сосуды глаз, почек, головного мозга, сердечно-сосудистой системы.

Для профилактики и лечения диабета, наряду с диетой и коррекцией образа жизни, необходим индивидуальный подбор сахароснижающих препаратов. В связи с этим не теряет актуальности создание новых эффективных, безвредных и доступных для населения гипогликемических средств. В представленной главе предложена разработка антидиабетического препарата из растения *Satureja hortensis* L. [1].

Род *Satureja* L. (сем. *Labiatae*) включает около 30 видов, распространенных преимущественно в средиземноморских странах. *Satureja hortensis* L. – чабер садовый (ЧС) – однолетнее травянистое эфиромасличное растение высотой 15-30(45) см, со слабо развитой корневой системой; стебли ветвистые от основания, листья линейно-ланцетные; цветки мелкие, светло-лиловые или розоватые; плоды яйцевидно-трехгранные, цветет в июле-октябре [2,3]. Растет на сухих щебнистых и каменистых склонах, скалах до высоты 1500 м над у.м. В качестве пряной-ароматической приправы культивируется во многих странах, в том числе в Грузии.

Нами показано, что ЧС богат фенольными соединениями. Для их выделения собранные в период бутонизации и цветения воздушно-сухие листья (с цветками) извлекали 80% спиртом; водную жидкость, оставшуюся после отгонки спирта, очищали от липофильных веществ хлороформом и экстрагировали последовательно этилацетатом и н-бутанолом. Этилацетатную и н-

бутанольную суммы фенольных веществ хроматографировали на колонке полиамидного сорбента с последующим рехроматографированием узких фракций в градиентной системе хлороформ-метанол (9:1; 4:1; 7:3; 3:2; 1:1).

В результате изолированы 6 флавоноидов, 2-фенилпропаноида, идентификация которых проведена изучением физико-химических свойств и спектральных характеристик самих соединений, продуктов их полного и частичного кислотного и ферментативного гидролиза.

Выделенные соединения охарактеризованы как:

Апигенин - 5,7,4'-тригидроксифлавоон, т.пл. 341-344°C; УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм): 336, 269.

Лютеолин - 5,7,3',4'-тетрагидроксифлавоон, т.пл. 329-331°C; УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм): 349, 266 плечо, 253.

Цинарозид – лютеолин 7-β-D-глюкопиранозид, т.пл. 255-257°C; УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм): 350, 266 плечо, 255.

Лютеолин-7-β-D-глюкуронид, т.пл. 190-193°C; УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм): 350, 265 плечо, 255.

Лютеолин-7-β-D-рутинозид - лютеолин 7-β-D-глюкопиранозил – (1→6)-O-α-L-рамнопиранозид, т.пл. 190-192°C; УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм): 350, 265 плечо, 255.

Изороифолин – апигенин 7-β-D-глюкопиранозил – (6→1)-O-α-L-рамнопиранозид, т.пл. 251-253°C; УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм): 350, 265 плечо, 255.

Розмариновая кислота – 3,4-дигидроксифенил-α-(3',4'-диоксицинамоил) пропионовая кислота, т.пл. 203-204°C; УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм): 325, 287.

Хлорогеновая кислота – 3 - кофеил - D-хинная кислота, т.пл. 202-204°C. УФ-спектр ($\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$, нм): 325, 298 плечо, 245.

Как видно, в ЧС в основном биосинтезируются флавоны, производные лютеолина и фенилпропаноиды [1,4]. Прямым спектрофотометрическим анализом при длине волны 330 нм, по удельному показателю поглощения лютеолина (ϵ , 560.8±0.38), общее содержание фенольных соединений в листьях в ЧС оказалось 1.97%.

Из в/с листьев (с цветками) ЧС перегонкой водяным паром получено до 1% эфирного масла со следующими константами: d_4^{20} - 0.889; n_D^{20} - 1.4868; $[\alpha]_D^{20} + 22^\circ$; кислотное число 2.3 мг/КОН; эфирное число 15.2 мг/КОН. Методом ГЖХ в составе эфирного масла обнаружены 16 компонентов, основными из которых являются терпеновые углеводороды – 49.4%, тимол – 28.25% и метилкарвакрол – 17.15% [1].

Для фармакологического исследования приготовлен натуральный препарат. 1 кг в/с измельченных листьев (с цветками) подвергают бисмацерацией водой. Воду упаривают, остаток высушивают и измельчают. Получается 200 г 20% сухого водного экстракта. Он представляет собой аморфный порошок коричневого цвета со специфическим запахом и горьковатым вкусом. Экстракт содержит почти весь комплекс веществ исходного растительного сырья: эфирное масло - 0.03%, сумму флавоноидов - 6.2%, фенилпропаноидов - 4.1%. В их состав входят (%): лютеолин – 0.05, цинарозид – 0.7, лютеолин-7-β-*D*-глюкуронид – 0.5, лютеолин-7-β-*D*-рутинозид – 4.9, изороифолин – 0.07, розмариновая и хлорогеновая кислоты – 3.75 и 0.35, соответственно.

В сухом экстракте обнаружены аминокислоты (мг %): пролин - 76.48; тирозин - 21.56; аспарагиновая кислота – 17.50; треонин+аланин – 13.58; глутаминовая кислота – 13.57; валин – 11.83; фенилаланин – 9.59; лизин – 7.35; серин – 7.53; глицин – 7.0; изолейцин – 5.81; аргинин – 1.27; метионин – 2.73; лейцин – 1.82;

гистидин – 0.77; цистеин – 0.49. Как видно, преимущественным содержанием отличаются пролин и тирозин.

По данным атомно-абсорбционного анализа состав микроэлементов в сухом экстракте ЧС следующий (%): К – 5.32; Na – 0.145; Si – 0.003; Fe – 0.121; Cu – 0.003; Mn – 0.009; Ni – 0.0002; Pb – 0.00002; Zn – 0.004; Cr – 0.001; Al – 0.001. Обращает на себя внимание высокое количество калия.

Фармакологическое исследование сухого водного экстракта ЧС с целью выявления его гипогликемической активности проведено в лаборатории фармакологии Института растительных веществ им С.Ю. Юнусова АН РУз (Ташкент) проф. В.Н. Сыровым и проф. З.А. Хушбаковой. Опыты велись на интактных животных и животных с экспериментальным аллоксановым диабетом, на крысах самцах массой 180-200 г. Сухой водный экстракт ЧС растворяли в воде и вводили животным из расчета 100 мг/кг массы орально при помощи специального зонда в желудок (в предварительных экспериментах в этой дозе отмечался наиболее выраженный эффект испытуемого экстракта). Контрольные животные получали эквивалентное количество дистиллированной воды.

Экстракт ЧС вводили как однократно, так и многократно (в течение 3-х недель). При изучении влияния экстракта ЧС на гипергликемию, вызванную внутрибрюшинным введением глюкозы (3000 мг/кг), его вводили за 2.5 ч до инъекции глюкозы, а затем через 30 и 60 мин определяли содержание сахара в крови. Изучение влияния экстракта ЧС на течение аллоксанового диабета начинали через 30 дней после введения животным аллоксана (150 мг/кг, подкожно), когда у крыс наблюдалась стойкая, держащаяся на относительно постоянном уровне гипергликемия. Крысы были распределены на 3 группы: с уровнем сахара в крови в пределах 150, 150-250 и 250-400 мг%. Исследуемый экстракт в данном случае вводили в течение 7 дней. Кровь для исследования брали из хвостовой вены. Уровень сахара в крови определяли с помощью *орто*-толуидинового реактива. Препаратом сравнения в

проведенных экспериментах служил арфазетин [5]. Статистическую обработку полученного материала проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Проведенные эксперименты привели к следующим результатам. На интактных крысах уже однократное введение водного экстракта ЧС приводило к незначительному гипогликемическому эффекту. Содержание глюкозы у них в крови с $100,6 \pm 3,2$ мг% понижается через 3 ч до $91,0 \pm 3,1$ мг%, т.е. на 9,5 % ($p > 0,05$). Более длительное введение исследуемого экстракта приводило к стойкому и статистически достоверному сахароснижающему действию [6]. Так, при поступлении экстракта ЧС в организм животных в течение 7 дней наблюдалось понижение сахара в крови на 18.2% (с $96,7 \pm 7,8$ до $79,1 \pm 2,6$ мг%) при $p < 0,05$. Через 14 и 21 день гипогликемический эффект составлял, соответственно, 19.4 и 20.4% ($p < 0,05$). Препарат сравнения — арфазетин показал в этих опытах более слабое действие. Однократное его введение вообще не давало заметного эффекта, через 7 дней введения он понизил содержание глюкозы в крови на 14.2% (с $92,8 \pm 6,7$ до $79,7 \pm 4,4$ мг%) при $p > 0,05$; через 14 и 21 день на 17.6 и 16.5 % ($p < 0,05$).

Более четкую гипогликемическую активность водный экстракт ЧС проявил при экспериментальном моделировании гипергликемических состояний. В опытах на крысах, которым внутривенно вводили глюкозу, было установлено, что через 30 мин (пик гипергликемического действия) сахар в крови у них повышается на 46.7% (с $104,3 \pm 4,6$ до $153,0 \pm 16,3$ мг%). У животных же, которым предварительно вводили экстракт ЧС, это повышение составляло только 26.9 % (с $104,0 \pm 4,2$ до $132,0 \pm 4,6$ мг%), причем разница в содержании сахара в контроле и в опыте, составляющая 21%, была статистически достоверна $p < 0,002$. При введении животным арфазетина уровень сахара в крови повышался более значительно (с $105,2 \pm 3,8$ до $138,0 \pm 2,4$ мг%), т.е. на 31.2%. Это всего на 9.8% ниже, чем в контроле.

При сравнительном анализе действия экстракта ЧС и арфазетина у крыс с аллоксановым диабетом были получены следующие результаты (таблица 7.1.). В группе крыс с исходным уровнем гликемии в пределах 150 мг% семидневное введение экстракта ЧС понижало содержание сахара в крови на -30.8%; у животных с исходной гликемией до 250 мг% - на 29.7%, а при исходном значении гликемии у крыс до 400 мг% гипогликемический эффект испытуемого средства был в пределах 18.8%, а арфазетина в обозначенных выше группах составлял 26.3, 19.3 и 15.8 %.

Таблица 7.1. Влияние экстракта *Satureja hortensis* и арфазетина на уровень сахара в крови крыс с аллоксановым диабетом
($M \pm m$, $n = 6-10$)

Условия эксперимента	Уровень сахара в крови, мг%		Эффект в % (по отношению к исходному уровню)	P
	Исходный	Через 7 дней		
Уровень сахара в крови в пределах 150 мг%				
Контроль (аллоксановый диабет)	153.4±6.4	159.1±4.8	+3.7	-
Аллоксановый диабет + экстракт ЧС	154.6±6.0	107.0±6.6	-30.8	<0.001
Аллоксановый диабет + арфазетин	155.0±6.1	114.2±5.2	-26.3	<0.001
Уровень сахара в крови до 250 мг%				
Контроль (аллоксановый диабет)	242.0±8.6	251.0±16.7	+3.7	-
Аллоксановый диабет + экстракт ЧС	253.0±15.4	178.0±9.6	-29.7	<0.001
Аллоксановый диабет + арфазетин	244.0±12.6	197.0±12.5	-19.3	<0.05
Уровень сахара в крови до 400 мг%				
Контроль (аллоксановый диабет)	381.0±12.8	357.9±9.5	-6.1	-
Аллоксановый диабет + экстракт ЧС	378.0±20.9	307.0±22.8	-18.8	<0.05
Аллоксановый диабет + арфазетин	368.0±22.6	310.0±21.4	-15.8	<0.1

Таким образом, было установлено, что водный экстракт *Satureja hortensis* – чабера садового (ЧС) обладает достаточно выраженной гипогликемической активностью, значительно снижая уровень сахара в крови. Токсикологическое исследование показало его полную безвредность при длительном применении. Все это открывало возможности практического использования экстракта ЧС в качестве гипогликемического средства.

С учетом оптимальной гипогликемической дозы сухого водного экстракта ЧС создана готовая лекарственная форма в виде капсул. В состав одной капсулы входят 0.221 г экстракта и 0.109 г мелкодисперсного порошка листьев растения. Препарат получил название „SATURIN“ „САТУРИН“ [1].

Клиническое наблюдение терапевтического действия Сатурина проводилось в национальном центре по исследованию диабета в Тбилиси проф. Курашвили Р.Б. и Цуцкиридзе Л.Р. [7].

Клиническое испытание Сатурина имело цель выявить его эффективность на гликемические показатели и гликированный гемоглобин (интегральный показатель диабета). В исследование были включены 30 пациентов со 2 типом сахарного диабета, которые вместе с гипогликемическими препаратами принимали рекомендованную дозу Сатурина. Критериями для включения в апробацию являлись: 1) наличие сахарного диабета типа 2, диагностированного не менее чем за 6 месяцев до начала исследования; 2) возраст больного ≥ 18 – ≤ 75 лет; 3) показатель гликированного гемоглобина $\geq 7\%$.

На первом этапе исследования проводился отбор пациентов по вышеприведенным критериям. При каждом визите проводился общий осмотр, физикальное обследование, определение артериального давления, пульса, частоты дыхания, роста, массы тела, индекса массы тела. Помимо исследуемого препарата, пациенты находились на основном лечении (1 гипогликемический препарат, дозы определялись по гликемическим показателям).

В процессе исследования ни у одного пациента не было выявлено побочных эффектов со стороны исследуемого препарата, не наблюдался набор лишнего веса.

Средние показатели глюкозы и гликированного гемоглобина в начале апробации:

глюкоза - 134 ± 14.03 мг/дл; гликированный гемоглобин 8.0 ± 0.50 %.

Средние показатели глюкозы и гликированного гемоглобина при повторном визите:

глюкоза - 117.3 ± 16.5 мг/дл, $p=0.001$; гликированный гемоглобин 7.17 ± 0.59 %, $p=0.002$.

По полученным данным, между показателями глюкозы и гликированного гемоглобина определяется статистически достоверная разница. Исходя из этого можно заключить, что при 2-ом типе сахарного диабета Сатурин эффективен как дополнительный препарат к основному лечению и его применение рекомендовано в широкой практике.

Составлена и утверждена научно-техническая документация на Сатурин. Препарат зарегистрирован в Министерстве труда, здравоохранения и социального обеспечения Грузии (Регистрационное удостоверение № 003658) в качестве лекарственного средства и применяется при сахарном диабете 2 типа как самостоятельно, так и в комбинации с другими гипогликемическими препаратами.

Сатурин выпускается экспериментально-производственной базой Института фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе и с успехом применяется на практике.

Как уже отмечалось, *Satureja hortensis* L. – чабер садовый в Грузии разводится в основном на приусадебных участках, как пряное растение. Для обеспечения сырьевой базой производства Сатурина на Ширакской (Восточная Грузия) опытной станции ле-

карственных растений Института фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе, зав. отделом Б.Л. Григолава изучены биологические особенности роста и развития растения и осуществлено его разведение.

На хорошо подготовленной почве сеются семена ЧС с площадью питания 70 см на глубине 1-2 см, норма посева 5-6 кг на 1 га. При нормальных климатических условиях всхожесть начинается уже на 10-12-й день после посева. Уборка урожая проводится в фазу цветения, когда растение достигает 50-60 см высоты. Свежее сырье подсушивается в хорошо проветренных помещениях. Урожайность в/с растения 600-750 кг/га.

Получается высококачественное сырье, соответствующее нормативно-техническим требованиям. Можно констатировать, что *Satureja hortensis* L. легко поддаваемое культивированию растение, дает хороший урожай качественного лекарственного сырья.

За последние 15 лет заострилось внимание на химическом и фармакологическом изучении видов *Satureja*. Особенно интенсивные работы ведутся в научных центрах Ирана и Турции. Отмечается антиоксидантная, инсектицидная, фунгицидная, антипротозойная, антихолестеринемическая и др. активность эфирного масла и экстрактов листьев *Satureja*. Растения данного рода рекомендуются для лечения заболеваний полости рта и желудочно-кишечных заболеваний [8-13].

Приведенные в данной главе работы по химическому, фармакологическому, клиническому изучению *Satureja hortensis* L. привели к созданию эффективного препарата Сатурин, уже с успехом применяемого на практике для профилактики и лечения диабета 2-типа. Но имеющиеся литературные сведения дают основание для продолжения исследований культивированного чабера садового с целью выявления его других интересных биологических активностей.



Рис. 7.1. *Satureja hortensis* L.

Литература

1. Кемертелидзе Э.П., Сагареишвили Т.С., Сыров В.Н., Хушбактова З.А.. Химический состав и фармакологическая активность листьев чабера садового (*Satureja hortensis* L.), произрастающего в Грузии. Химико-фарм. журнал, 2004, 38, 6, 33-35.
2. Флора СССР. 1954, т. XXI, М.-Л, изд-во АН СССР, 704 с.
3. Дудченко Л. Г., Козьяков А. С., Кривенко В. В. Пряно-ароматические и пряно-вкусовые растения. Справочник. К.: Наукова думка, 1989, 237-238.
4. Mabry T.J., Markham K.R., Thomas M.B. The Systematic identification of flavonoids. 1970 N-Y.: Acad. Press, 354 p.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства. 2005, М.: Новая волна, 564 с.
6. Каракашов А.В., Пичев Е.П. Микрометоды в клинической лаборатории. 1968, Медицина и физкультура, София, 126 с.
7. Кемертелидзе Э.П., Сагареишвили Т.Г., Сыров В.Н., Хушбактова З.А., Цуцкиридзе Л.Р., Курашвили Р.Б. Сатурин – эффективное растительное средство при лечении сахарного диабета 2 типа. Georgian Medical News, 2012, 2 (203) февраль, 47-52.
8. Dorman H.J.D., Hiltunen R. Fe(III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract and subfractions. Food Chemistry, 2004, 88, 2, 193-199.
9. Yazdanpanah L., Mohamadi N. Antifungal activity of *Satureja hortensis* L. essential oil against *Alternaria citri*. European Journal of Experimental Biology, 2014, 4(1), 399-403.
10. Tozlu E., Cakir A., Kordali S., Tozlu G., Ozer H., Akcin T.A. Chemical compositions and insecticidal effects of essential oils isolated from *Achillea gypsicola*, *Satureja hortensis*, *Origanum acutidens* and *Hypericum scabrum* against broadbean weevil (*Bruchus dentipes*). Scientia Horticulturae, 2011, 130, 9-17.
11. Van Baren C., Anao I., Leo Di Lira P., Debenedetti S., Croft S., Martino V. Triterpenic Acids and Flavonoids from *Satureja parvifolia*. Evaluation of their Antiprotozoal Activity. Z. Naturforsch., 2006, 61, 189-192.
12. Ebrahimi A., Qotbi A.A.A., Pourhossein Z. The effect of different levels of savory (*Satureja hortensis* L.) on blood parameters and gastrointestinal

microbial population of broiler chickens. *Annals of Biological Research*, 2013, 4(6), 332-336.

13. Sabzghabae A.M., Davoodi N., Ebadian B., Aslani A., Ghannadi A. Clinical evaluation of the essential oil of „*Satureja hortensis*“ for the treatment of denture stomatitis. *Dent. Res. J. (Isfahan)*, 2012, 9(2), 198-202.

ГЛАВА 8. *GINKGO BILOBA* L., ПРОИЗРАСТАЮЩЕЕ В ГРУЗИИ, КАК ЛЕКАРСТВЕННОЕ СЫРЬЕ, И ПРЕПАРАТ ГИНКГО-БАТИ

Реликтовое растение *Ginkgo biloba* L. – гинкго билоба (сем. *Ginkgoaceae*) один из редких видов, выживших после ледникового периода 200 млн лет тому назад. Гинкговые широко были распространены в северном полушарии в большом количестве видов рода. Они повсюду вымерли. Сохранились лишь в горах юго-западного Китая с единственным родом и видом *Ginkgo biloba* L. – гинкго билоба (ГБ). Растение это достигает 2000 летнего возраста и полагают, что ГБ старше любого дерева на земле [1,2].

ГБ культивируется во многих странах в качестве декоративного растения. В ботанических садах Черноморского побережья, в частности в Крыму, ГБ появилась в 1818 г., а в Грузии в 1860 г. и хорошо акклиматизировалась в почвенно-климатических условиях Абхазии, Аджарии и некоторых других мест. *Ginkgo* – листопадные, до 40 м высоты деревья; листья длинечерешковые, двух или несколько лопастные, веерообразные, голые, кожистые, светло-зеленого цвета. Гинкго начинает размножаться в 20 лет и затем плодоносит более 1000 лет [1-3]. ГБ с древних времен используется в китайской народной медицине. С 60-х годов прошлого столетия интенсивно началось химическое и фармакологическое изучение этого редкого вида. В результате он признан одним из важнейших лекарственных растений современной медицины. Многочисленные лечебные препараты и биологически активные добавки широкого спектра действия листьев ГБ пользуются большим спросом. Они применяются при сосудистых и дегенеративных заболеваниях головного и спинного мозга, нейросенсорных периферических кроветворных патологиях, для лечения атеросклероза, болезни Альцгеймера, в сочетании с ингибиторами холинэстеразы. Вещества, содержащиеся в листьях ГБ, являются специфическими и действенными антагонистами факторов активации тромбоцитов,

одним из наиболее важных биорегуляторов живого организма и т.п. [3-8].

Листья ГБ отличаются уникальным химическим составом. В них биосинтезируются C_{20} - дитерпены – гинголиды, C_{15} - сескви-терпеновые лактоны – билобалиды, специфические бифлавоноиды – гингогетерозиды; содержатся также антоцианы, фенилкарбоновые кислоты, кумаринфлавогликозиды [3,5]. Описаны эмбриотоксические вещества группы алкилфенолов и т.п. [3,9-13].

Флавоноидные гликозиды и трилактоновые терпены считаются наиболее важными соединениями терапевтической эффективности препаратов ГБ. Для листьев гинкго характерно специфическое соотношение флавоно-гликозидов – преимущественно кверцетина, кемпферола и изорамнетина [14-16].

В связи с вышеуказанным, качество препаратов ГБ, в первую очередь, оценивают по этим показателям. В стандартизированных экстрактах ГБ флавоно-О-гликозиды состоят из флавоноидных агликонов кверцетина, кемпферола, изорамнетина в соотношении приблизительно 9,5 : 10,5 : 2,0 %. Такой качественный и количественный состав флавоно-гликозидов уникален для высших растений и служит специфическим показателем качества препаратов Гинкго [14-16].

С целью выяснения возможности использования листьев произрастающего в Грузии гинкго для приготовления лечебных средств мы провели сравнительный анализ их флавоноидного состава с литературными данными, а также с некоторыми патентованными препаратами Гинкго [17].

Исследовались листья ГБ, произрастающего в Батумском ботаническом саду, Анасеули и Кобулети. На первом этапе проведены бумажно-хроматографический (Б/Х) анализ спиртового экстракта листьев (I направление: н-бутанол – уксусная кислота – вода 4:2,1; II направление: 15% уксусная кислота). На проявленных хроматограммах при рассмотрении в УФ свете отмечается 26 пятен – некоторые из них флюоресцируют

характерными для гинкголидов, билоболидов, биофлавоноидов, фенолкарбоновых кислот розовым, голубым и темным цветом. После обработки Б/Х 10%-м раствором NaOH 9 основных пятен приобретают ярко-желтый цвет, указывающий на их флавоноидную природу. Общая сумма флавоноидов в листьях определена хромато-спектрометрическим методом в пересчете на калибровочный график чистого рутина. Содержание флавоноидов в листьях составило 0,73% [17]. По международным требованиям в листьях гинкго они должны быть не менее 0,5% [14-16].

С целью определения соотношения отдельных агликонов флавоноидов проведен количественный кислотный гидролиз листьев. 5 г порошка листьев 3 раза экстрагировали 70%-м этанолом в соотношении 1:5. Из объединенных экстрактов спирт отгоняли, к водной жидкости добавляли 8 мл смеси Киллиани (соляная кислота – уксусная кислота – вода 1,0: 3,5 : 5,5); нагревали на кипящей водяной бане в течение 1,5 часа. Образовавшиеся при этом агликоны, после охлаждения реакционной массы, извлекали этилацетатом. Растворитель отгоняли, остаток сушили. Получали техническую сумму агликонов, состоящую из кверцетина, кемпферола и изорамнетина. Их адсорбционным колоночным хроматографированием изолированы чистые индивидуальные кверцетин, кемпферол, изорамнетин в количествах, соответственно: 0,132, 0,139 и 0,005% от исходного растительного сырья. Таким образом, соотношение отдельных агликонов составляет 9,2:10,2:3,5%, что и приближается к международному стандарту [15-17].

На следующем этапе проведен сравнительный анализ экстрактов гинкго наших образцов, полученных различными способами, с некоторыми патентованными препаратами данного растения. Сухой водный экстракт, 80% спиртовые, ацетоновые, этилацетатные извлечения после отгонки растворителей очищали хлороформом от липофильных веществ и анализировали на Б/Х параллельно с препаратами, реализуемыми через аптечную сеть:

билобиллом, танаканом, било-рицом, гинкго-форту. Показан почти идентичный их состав. Следовательно, листья ГБ, произрастающего в Грузии, по своим основным показателям соответствуют таковым официального растения и могут быть использованы в качестве лекарственного сырья. И мы приступили к работе для приготовления лечебного средства из листьев ГБ наших образцов.

Из листьев ГБ, произрастающих в Батумском ботаническом саду, Анасеули приготовлен 40% спирто-водный жидкий экстракт способом перколяции. Препарату дано название “Ginkgo-bathi” - «Гинкго-бати». Гинкго-бати стандартизированный препарат, 1 мл которого содержит 30-40 мг сухого экстракта листьев. Он представляет собой темно-коричневого цвета, приятного запаха и горького вкуса жидкость [17]. Утверждена нормативно-техническая документация препарата.

Приказом Министерства труда, здравоохранения и социального обеспечения Грузии от 1.06.2009 г. Ginkgo-bathi зарегистрирован в качестве лекарственного средства (NR – 007502) по 50 мл экстракта во флаконах, для приема внутрь в каплях.

Гинкго-бати улучшает функцию капиллярного, артериального и венозного кровообращения в головном мозгу, конечностях, ингибирует агрегацию тромбов, нейтрализует свободные радикалы. Гинкго-бати показан для лечения и профилактики атеросклероза головного мозга, при снижении умственной и физической работоспособности, внимания и способности восприятия, при нарушениях памяти, головокружении, шуме в ушах, расширении вен нижних конечностей [17].

Ginkgo-bathi выпускается на экспериментально-производственной базе Института фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе и с успехом применяется в медицинской практике [17].

На Кобулетской опытной станции лекарственных растений Института фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе изучены биология роста и развития ГБ, для установления возможности его культивирования [18]. Доказано, что в условиях Аджарии ГБ

быстрорастущее дерево, отличающееся обильным плодоношением, размножается как вегетативно, так и семенами. Хорошие результаты получены высевом семян. Семена, собранные в период массового созревания, хранятся в темном, прохладном месте. В январе они высаживаются на стелетах в холодной теплице. Всхожесть семян 95%. В теплице саженцы оставляют до трехлетнего возраста, в открытый грунт высажено 280 экземпляров ГБ на участках с площадью питания 1х1 м. Наблюдается значительный прирост у растений в высоту, хорошее развитие корневой системы, образование боковых побегов и появление листьев. Приживаемость растений хорошая. Наблюдение за ростом и развитием ГБ в открытом грунте дает право прогнозировать культивирование растений в широком масштабе [18].

Таким образом, произрастающее в Грузии реликтовое растение Гинкго билоба по показателям химического состава отвечает требованиям международных стандартов. Осуществлено использование его листьев в качестве лекарственного сырья. Принципиально разрешен вопрос культивирования растения в условиях Западной Грузии, для создания прочной базы лекарственных препаратов. Необходимо продолжение исследований с целью обеспечения здравоохранения доступными, эффективными отечественными лекарственными средствами из этого важнейшего растения.



Рис. 8.1. *Ginkgo biloba* L.

Литература

1. Дендрофлора Кавказа (Дикорастущие и культурные деревья и кустарники), 1959 (I), 13-16, Тбилиси, изд. АН ГССР.
2. Деревья и кустарники. Голосеменные. Справочник, 1971, 22-24. Киев, изд-во Наукова думка.
3. Свиридов А.Ф. Гинкголиды и билобалиды: структура, фармакология, синтез. Биоорганическая химия, 1991, 17, 10, 1304-1312.
4. Arenz A., Klein M., Fiele K. et al. Occurrence of Neurotoxic, 4-0-methylpyridotoxine in *Ginkgo biloba* leaves. Ginkgo medications and Japanese Ginkgo food. *Planta Medica*, 1996, 62, 548-551.
5. Jaggy H., Koch E. Chemistry and biology of alkylphenols from *Ginkgo biloba* L. *Pharmazie*, 1997, 52(10), 735-738.
6. Canevelli M., Adali N., Kelaiditi F. et al. Effects of *Ginkgo biloba* superpermentation in Alzheimers disease patients receiving cholinesterase inhibitors: Data from the ISTUS study. *Phytomedicine*, 2014, 21, 888-892.
7. Basel A. Abdel-Wahab, Samy M. Abdel-Aziz. *Ginkgo biloba* protects against intermittent hypoxia-induced memory deficits and hippocampal DNA damage in rats. *Phytomedicine*, 2012, 19, 444-450.
8. Suzan M. Mansour, Ashral K. Bahgat, Aimon S. El-Khatib, Mohamed T. Khagyal. *Ginkgo biloba* extract (EGb 761) normalizes hypertension in 2k, 1C hypertensive rats. Role of antioxidant mechanisms, ACE inhibiting activity and improvement of endothelial dysfunction. *Phytomedicine*, 2011, 18, 641-647.
9. Baron-Ruppert G. and Luepke N-P. Evidence for toxic effects of alkylphenols from *Ginkgo biloba* in the hen's egg test (HET). *Phytomedicine*, 2001, 8(2), 133-138.
10. Victoire C., Haag-Berrurier M., Lobstein-Guth A., Balz J.P., Anton R. Isolation of Flavonol Glycosides from *Ginkgo biloba* leaves. *Planta Medica*, 1988, 54, 245-247.
11. Joly M., Haag-Berrurier M., Anton R. La 5' Methoxybilobetine, une biflavone extracte du *Ginkgo biloba*. *Phytochemistry*, 1980, 19, 1999-2002.
12. Huh H., Staba E.J. The botany and chemistry of *Ginkgo biloba* L. *J. Herbs. Species and Medicinal Plants*, 1992, 1, 92-124.
13. Tang Yuping, Fengchang Lou, Jinghua Wang et al. Coumaroyl flavonol glycosides from the leaves of *Ginkgo biloba*. *Phytochemistry*, 2001, 58, 1251-1256.

14. Steinke B., Miller B., Wagner H. Biologische standardisierungsmethode für Ginkgo extracte. *Planta Medica*, 1993, 59, 155-160.
15. Юрьев А.В., Эллер К.И., Арзамасцев А.П. Анализ флавоногликозидов в препаратах и БАД на основе экстракта *Ginkgo biloba*. *Фармация*, 2003, 2, 7-9.
16. *Pharmascopia Forum*, 1999. 25, 7754.
17. Кемертелидзе Э.П., Алания М.Д., Шалашвили К.Г. *Ginkgo biloba* L., произрастающее в Грузии, как лекарственное сырье. *Химический журнал Грузии*, 2007, 7(1), 81-83 (на груз. языке).
18. Накаидзе А.У., Ярош Э.А., Хиникидзе С.Р., Гогитидзе Ц.Р. Опыты культивирования *Ginkgo biloba* L. В книге: *Фитохимические и растениеводческие исследования некоторых растений, произрастающих в Аджарии*. Составлено Э.П. Кемертелидзе, 2010, Тб., 148 с., стр. 52-55.

ГЛАВА 9. ФЛАВОНОИДЫ РОДА *TRIFOLIUM* L. И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Род *Trifolium* L. - клевер (сем. *Leguminosae*) объединяет до 300 видов – кормовые, медоносные, декоративные, многолетние травянистые растения, широко распространенные в северной части умеренных зон планеты (Азия, Европа, США). Культивируются как ценнейшие пастбищные, эстрогенные растения, на любых, непригодных для других культур, почвах [1-3].

Клеверы живут в симбиозе с бактерией *Rhizobium leguminosarum*, фиксирующей азот. Проблема бесплодия животных, пасущихся на клеверных посевах, вызывает необходимость их всестороннего химического изучения [4]. Содержащиеся в клеверах фитоэстрогены, изофлавоны, кумарины, стероиды и, в особенности, куместаны стимулируют синтез белка в организме и, следовательно, проявляют анаболическую эффективность.

Клеверы издавна применяются в народной медицине Китая, Европы, Азии, США, как отхаркивающие, болеутоляющие, противовоспалительные средства, очиститель крови, при экземах, псориазе и других хронических кожных заболеваниях [4].

Экспериментально установлено, что суммарный препарат „Тризофлан“ из *T. pratense* L. ингибирует развитие холестерина, β-липопротеидов в сыворотке крови; однако препарат этот не нашел практического применения [5].

За последние 20 лет во многих странах особенно усилился интерес к изучению *Trifolium pratense* L., как наиболее характерного и важного представителя рода *Trifolium* [6]. *Trifolium pratense* L. – клевер красный - клевер луговой – пчелиный хлеб - самый богатый источник изофлавоноидов, являющихся природным гормоном, действующих как эстроген; обладает лечебными свойствами при менопаузах и связанных с ними заболеваниях, не оказывая при этом вредного действия. На уровне ферментной активности выявлены механизмы благоприятного влияния клевера

красного при заболеваниях с симптомами менопаузы и других биологических его свойств. Экстракт клевера красного стимулирует выведение мочи, слизи, желчи из организма и улучшает кровообращение; обладает высокой антиоксидантной активностью [6].

Как показали предварительные исследования, род *Trifolium* флоры Грузии богат флавоноидами. Совершенно очевидна целесообразность их исследования для выявления возможности медицинского применения. Этой задаче и была посвящена квалификационная работа канд. биол. наук Кетеваны Гиоргиевны Шалашвили, выполненная под руководством Э.П. Кемертелидзе.

9.1. Флавоноидный состав видов клевера

Из описанных во флоре Грузии 39 видов *Trifolium* проанализированы 30, относящихся к пяти секциям [3]. Все они содержат значительное количество флавоноидов; но наиболее богатыми оказались: *T. ambiguum* Vieb., *T. hybridum* L., *T. trichocephalum* Vieb., *T. repens* L., *T. arvense* L., *T. spadiceum* L., *T. angustifolium* L., *T. fragiferum* L., *T. caucasicum* Tausch., *T. medium* L., *T. pratense* L., *T. canescens* Willd., которые и стали предметом дальнейшего изучения (рис. 9.1).

Выделение суммы флавоноидов из клеверов, разделение на индивидуальные компоненты и их идентификация проведены аналогично описанным в предыдущих главах этой книги для других растений, с некоторыми уточнениями. Всего изолированы 46 индивидуальных соединений, которые оказались 17 различными флавоноидами. Ниже приведены некоторые их физико-химические константы.

В клеверах найдены свободные агликоны и гликозиды кверцетина, кемпферола, лютеолина, изофлавоноиды – производные биоханина А, формонетина и даидзеина. Углеводная часть представлена L – рамнозой, D – глюкозой, D – галактозой.

Кверцетин – 3,5,7,3',4'-пентагидроксифлавоон, C₁₅H₁₀O₇, т.пл. 312-314°C; УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 372, 264.

Кемпферол – 3,5,7,4'-тетрагидроксифлавоон, C₁₅H₁₀O₈, т.пл. 274-257°C; УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 367, 267.

Лютеолин - 5,7,3',4'-тетрагидроксифлавоон, C₁₅H₁₀O₆, т.пл. 329-331°C; УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 350, 256.

Формонетин – 7-окси-4'-метоксиизофлавоон, C₁₆H₁₂O₄, т.пл. 256-257°C; УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 250, 258, 300 плечо, 335 плечо.

Биоханин А – 5,7 – дигидрокси-4'-метоксиизофлавоон, C₁₆H₁₂O₅, т.пл. 214-215°C; УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 263, 363 плечо.

Цинарозид – лютеолин-7-О-β-D-глюкопиранозид, C₂₁H₂₀O₁₁, т.пл. 255-258°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 52.0° (с. 0.5 MeOH); УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 268, 353.

Дракоцефалозид – 5,7,4'-тригидрокси-3'-О-β-глюкопиранозил-изофлавоон, C₂₉H₂₀O₁₁, т.пл. 227-228°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 40.0° (с. 0.5 EtOH); УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 268,348.

Рутин – 5,7,3',4'-тетрагидрокси-3-О-рутинозил-флавоон, C₂₇H₃₀O₁₆, т.пл. 189-191°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 32.0° (с. 0.5 MeOH); УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 258,360.

Астрагалин – 5,7,4'-тригидрокси-3-О-β-D-глюкопиранозил-флавоон, C₂₉H₂₀O₁₁, т.пл. 175-176°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 57.0° (с. 0.5; MeOH); УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 263,327.

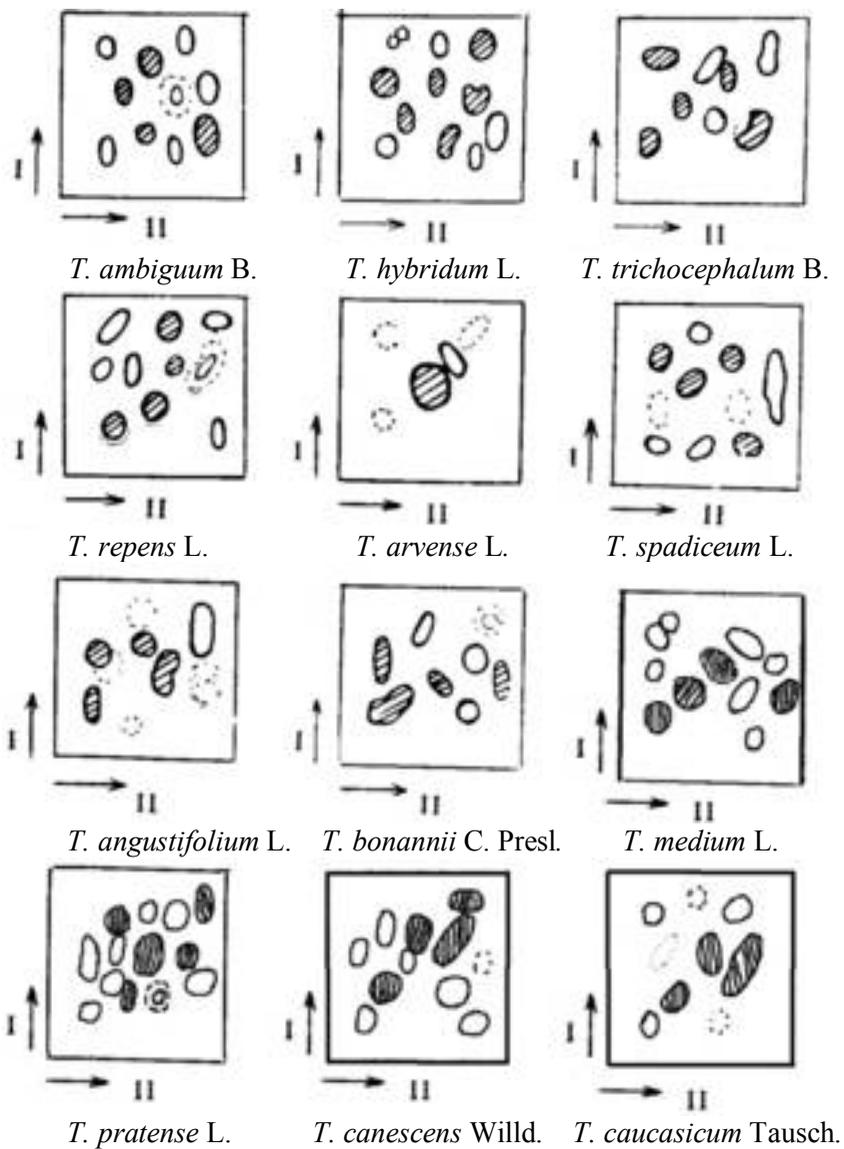


Рис. 9.1. Двумерные бумажные хроматограммы очищенных спиртовых экстрактов видов *Trifolium* флоры Грузии.

Система: I направление – бутанол-уксусная кислота-вода (4:1:2);
II- направление – 5% уксусная кислота.

Трифолин - 5,7,4'-тригидрокси-3-О-β-галактопиранозил-флавоноид, C₂₁H₂₀O₁₁, т.пл. 228-230°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 45.2° (с. 0.5 MeOH); УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 267,354.

Популнин - 3,5,4'-тригидрокси-7-О-β-D-глюкопиранозил-флавоноид, C₂₁H₂₀O₁₁, т.пл. 270-271°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 48.0° (с. 0.5; EtOH); УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 263,365.

Робинин - кемпферол-3-О-β-робинобиозил-7-О-α-L-рамнопиранозид, C₃₃H₄₀O₁₉, т.пл. 195-196°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 81.3° (с. 0.5 MeOH); УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 265,359.

Изокверцитрин - 5,7,3',4'-тетрагидрокси-3-О-β-D-глюкопиранозил-флавоноид, C₂₁H₂₀O₁₂, т.пл. 216-217°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 53.2° (с. 0.5; MeOH); УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 255,362.

Гиперин - 5,7,3',4'-тетрагидрокси-3-О-β-D-галактопиранозил-флавоноид, C₂₁H₂₀O₁₂, т.пл. 235-237°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 60.0° (с. 0.5; MeOH); УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 259, 361.

Биоханин А-7-глюкозид - 5-гидрокси-4'-метокси-7-β-О-D-глюкопиранозил-изофлавоноид, C₂₂H₂₂O₁₀, т.пл. 209-211°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 24.8° (с. 0.5; EtOH); УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 252, 323.

Даидзеин - 7,4'-дигидрокси-изофлавоноид, C₂₁H₂₀O₉, т.пл. 218-220°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 35,6 (с. 0.5 EtOH); УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 258, 332 плечо, 350.

Ононин - 4'-метокси-7-О-β-D-глюкопиранозил-изофлавоноид, C₂₂H₂₂O₉, т.пл. 210-212°C; $[\alpha]_D^{20}$ - 25.3° (с. 0.5; MeOH); УФ-спектр (λ_{\max}^{EtOH} , нм): 250, 232 плечо, 303 плечо.

9.2. Биологически активные флавоноиды клеверов

9.2.1. Робинин из клевера сходного

На основе флавоноидного гликозида Робинина – кемпферол-3-О-β-D-робинобиозил-7-О-α-L-рамнопиранозида, выделенного из цветков и листьев *Astragalus falcatus* L. – астрагала серпоплодного, создан гипоазотемический препарат „Фларонин“, с успехом применяемый в медицинской практике. Однако природные ресурсы астрагала серпоплодного ограничены и растение культивируется. Робинин, полученный из *Trifolium ambiguum* L. – клевера сходного в количестве 0.5%, по своим физико-химическим показателям соответствует чистому робинину. Технология аналогична таковой для получения робинина из астрагала серпоплодного. В лаборатории ВНИИХТЛС доказано, что гипоазотемическим действием он полностью идентичен робинину из астрагала серпоплодного. Робинин из *Trifolium ambiguum* L. рекомендуется в качестве дополнительной активной субстанции препарата фларонина [7].

9.2.2. Гиперин из клевера пашенного

Из рис. 9.1 видно, что сумма флавоноидов *Trifolium arvense* L.- клевера пашенного в основном состоит из одного доминирующего вещества, с небольшой примесью. Ее два раза перекристаллизовывали из 80% этанола, промывали водой, этиловым эфиром и сушили. В результате получен индивидуальный флавоноид с т.пл. 325-237°C, охарактеризованный как чистый гиперин – кверцетин-3-О-β-D-галактопиранозид. Выход гиперина из надземной части клевера пашенного составляет 0.5-0.6%, при содержании 0.88-0.92% в сырье в фазе бутонизации и цветения [8, 9].

По заключению лаборатории экспериментальной фармакологии ВНИИХТЛС установлена диуретическая активность гиперина, влияющего на водно-солевой обмен, что выражается в увеличении диуреза, экскреции электролитов с мочой, в нормализации

симптомов почечной недостаточности и основных процессов мочеобразования. Гиперин обладает гипоазотемическим действием, снижая содержание токсических продуктов азотистого обмена в крови экспериментальных животных и усиливая их выделение с мочой. По гипоазотемической эффективности гиперин не уступает робинину, однако хорошо растворяется в воде и на его основе можно создать жидкую готовую лекарственную форму в виде ампул для внутривенного применения при лечении азотемии.

9.2.3. Сумма флавоноидов клевера шведского

Из *Trifolium hybridum* L. – клевера шведского получена этилацетатная сумма флавоноидов в количестве 3%, содержащая: кверцетин, изокверцитрин, популнин, биоханин А–7–глюкозид и формонетин [10]. Изучение их фармакологического действия проводилось в отделе физиологии центральной научно-исследовательской лаборатории Института усовершенствования врачей Минздрава СССР, под руководством проф. Польшина В.В. Изучались: половой цикл, морфологическая картина гипофиза надпочечных желез и матки; а также определялись гонадотропно-стимулирующие свойства методом биологического тестирования на матках неполовозрелых мышей и овариэктомированных нормальных крыс [11].

Установлено, что указанная сумма вызывает корнификацию влагалищного эпителия у интактных крыс, но их действие совершенно безрезультатно в отношении кастрированных животных. Так как препарат этот не предотвращает развитие постовариэктомических изменений, что выражено в сохранении веса гипофиза, числа гипертрофированных базофилов, в гипертрофии сетчаткой зоны коры надпочечников и атрофии матки, сделано заключение, что он не обладает эстрогенными свойствами [11].

Отсутствие характерных для овариэктомии дегенеративных изменений (вакуолизация) в гонадотропоцитах позволяет предположить, что гипофизы животных подвергались гонадотропно-стимулирующему действию, которое распространялось на

процессы, связанные с эвакуацией секрета из клетки. Это подтверждается усилением стимулирующего действия суспензии гипофизов на яичники и матку.

По полученным данным сделан вывод, что сумма флавоноидного препарата клевера шведского обладает гонадотропно-стимулирующим эффектом передней доли гипофиза, который обуславливает избыточное выделение гонадотропинов, под действием которых происходит усиление эстрогенной функции яичников и, как следствие, развитие пролонгированной течки [11].

Следовательно, изучен флавоноидный состав видов *Trifolium* флоры Грузии. *Trifolium ambiguum* L. и *Trifolium arvense* L. предложены в качестве исходного сырья для получения гипоазотемических и диуретических препаратов робинина и гиперина. Намечена перспектива продолжения исследований суммарного флавоноидного препарата *Trifolium hybridum* L. в качестве средства гонадотропного действия.

Литература

1. Флора СССР. 1945, Т. XI, Изд-во АН СССР, М.-Л., 432 с.
2. Флора Грузии, 1981, Т. VII, Тбилиси, Мецниереба, 514 с.
3. Gagnidze R. Vascular plants of Georgia. A nomenclatural checklist. 2005, Тб. "Universal", 248 p.
4. Коллер Р. Растительные вещества, специфически действующие на половую систему животных, Сельское хозяйство за рубежом, Животноводство, 1953, 10, 88-94.
5. Казаков А.Л. Химические исследования флавоноидов клевера, синтез изофлавонов и их биологическая активность. Автореферат дисс. канд. хим. наук. Ростов-на Дону, 1978, 24с.
6. Chaudhary N., Tripathi S. A review on chemical and biological activity of *Trifolium pratense*. Pharmatutor, 2014, 2, 3, 93-101.
7. Шалашвили К.Г. Флавоноиды растений рода *Trifolium* L. флоры Грузии. Автореферат дисс. канд. биол. наук, Тбилиси, 1986, 22с.

8. Шалашвили К.Г. Гиперозид из *Trifolium arvense*. Химия природ.соедин., 1975, 5, 655.
9. Шалашвили К.Г., Иосебидзе Н.И., Алания М.Д. Динамика содержания гиперина в клевере пашенном (*Trifolium arvense*), Изв. АН ГССР, серия биолог., 1981, 7, 6, 522-525.
10. Шалашвили К.Г., Кемертелидзе Э.П. Флавоноиды клеверов *Trifolium* флоры Грузии. Изв. АН ГССР, серия биолог., 1985, 11, 6, 388-392.
11. Шалашвили К.Г., Польшин В.В., Кемертелидзе Э.П. Некоторые биологические особенности суммы флавоноидов *Trifolium hybridum*. Тезисы III Всес. симп. по фенольным соединениям, Тбилиси, 1976, 165-166.

ГЛАВА 10. ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ШИШЕК *ALNUS BARBATA* С.А.МЕУ.

В пятидесятых годах прошлого столетия в Тбилисском научно-исследовательском химико-фармацевтическом институте (ныне – Институт фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе) проф. В.Е. Шотадзе из шишек *Alnus barbata* С.А. Меу. – ольхи бородавчатой – было разработано антидиарейное средство «Тхмелин», представляющий собой сухой водный экстракт растения. Клиническая апробация показала хорошую терапевтическую эффективность препарата [1]. Фармакологическими комитетами министерств здравоохранения СССР и Грузии «Тхмелин» был разрешен для широкого применения в медицинской практике при расстройствах желудочно-кишечного тракта, энтероколитах недизентерийного характера. Производство Тхмелина было организовано на Тбилисском химико-фармацевтическом заводе, и продукция реализовалась через аптечную сеть Советского Союза. Однако затем, в период интенсивного использования антибиотиков, выпуск Тхмелина прекратился.

Alnus barbata С.А. Meyer (сем. *Betulaceae*) – ольха бородавчатая – дерево высотой 30-38 м, распространена почти по всей территории Грузии, наиболее широко в западной ее части на высоте 1500-1700 м над у.м. Обильно плодоносит и образует большое количество шишек [2, 3].

Целесообразность создания натуральных лекарственных средств растительного происхождения побудила нас изучить химический состав и биологическую активность шишек *Alnus barbata* (АВ) [4]. Объектом исследований было сырье, собранное в Душетском районе (Грузия) в июне-июле, в период неполной зрелости шишек, и в августе-сентябре в фазе их зрелости. Готовились 80% спиртовые и водные извлечения шишек. Из зрелых шишек получалось сухое водное извлечение в количестве 12%, из

незрелых – 20%; а 80% спиртовые экстракты - соответственно 10% и 24%. Качественными реакциями в экстрактах показано наличие конденсированных и гидролизуемых танинов, причем состав водных и спиртовых экстрактов почти идентичен. В дальнейшем исследовались спиртовые извлечения незрелых шишек АВ [4].

Полифенольный состав экстрактов шишек ольхи бородавчатой анализировался с помощью ВЭЖХ/МС на аппаратах *Agilent 1100* и *Thermo Finnigan LCQDeca* с позитивной ионизации на колонке обратной фазы 18С *Waters Symmetry* (2.1×150 mm, 5µm). 20 мкл экстрактов с концентрацией 1мкг/мл автоматически переносились на колонку. Скорость мобильной фазы составляла 0.2 мл/мин. Анализы проводились при градиентных условиях растворителей вода (А) – ацетонитрил (В) (Т – 0-60 мин; в 10-90 %). На ВЭЖХ/УФ/МС экстрактов незрелых шишек проявляются четыре основных пика фенольных соединений, а зрелых – два, выход которых составляет 7-17 минут. Проявляются также пики терпеноидов при RT 35-60 минут. Хроматографированием экстрактов шишек на сефадексе *LH-20* выделено белое кристаллическое вещество, дающее на ВЭЖХ/УФ один пик чистого соединения. В масс-спектре пик 963 $[M^+Na]^+$ и фрагмент иона 811 $[M^+-152]^+$ указывают на отщепление галловой кислоты (рис. 10. 1-3). Анализом спектра 1H ЯМР доказано наличие в нем одной молекулы глюкозы и пяти – галловой кислоты. Вещество это охарактеризовано как пентагаллоилглюкоза, являющаяся доминирующим фенольным компонентом шишек АВ [4, 5].

В лаборатории растительных веществ Квебекского университета фундаментальной науки (Канада) исследована цитотоксическая активность экстракта шишек АВ по отношению к некоторым злокачественным опухолям на клеточных линиях по методу резазурина [6]. Активность оценивалась по минимальной ингибирующей концентрации IC_{50} мкг/мл. Установлено, что экстракт ингибирует клетки злокачественной опухоли легких А-549 в концентрации 18.18 мкг/мл, прямой кишки DLD-1 – 21.68 мкг/мл, а

нормальных фибробластов WS-1 лишь 51.90 мкг/мл. Следовательно, показана цитотоксическая эффективность экстракта шишек АВ.

Оценивалась антиоксидантная активность (АОА) экстрактов АВ определением промежуточного липидно-перекисного процесса – малондиальдегида (МДА) [7]. Липидно-перекисное инициирование происходило под влиянием двухвалентных ионов железа. МДА определялась тестом тиобарбитуровой кислоты спектрофотометрическим методом. Кроме экстракта шишек анализировались АОА листьев и коры ветвей АВ.

Введение экстрактов шишек в инкубационную среду на 15 минут, при 37 °С, вызывает резкое снижение количества МДА по сравнению с фоновой концентрацией. Наиболее эффективным среди них оказался экстракт незрелых шишек (табл. 10.1).

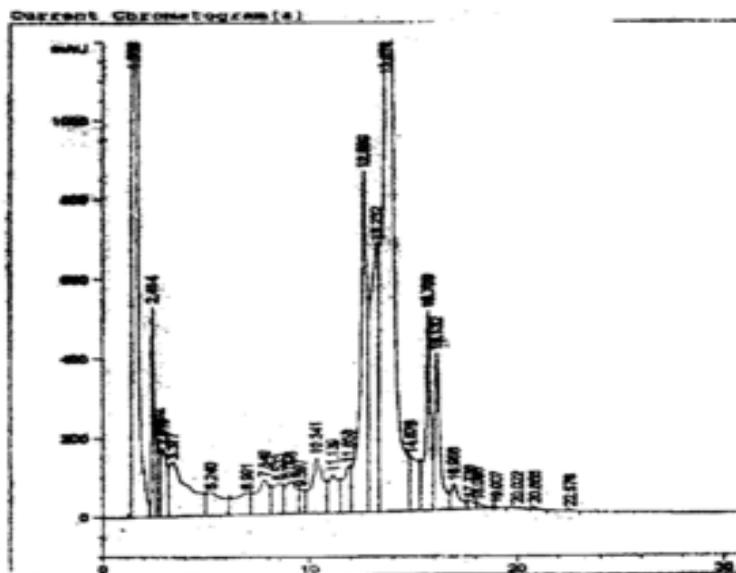


Рис. 10.1. ВЭЖХ/УФ хроматограмма экстракта незрелых шишек *Alnus barbata*

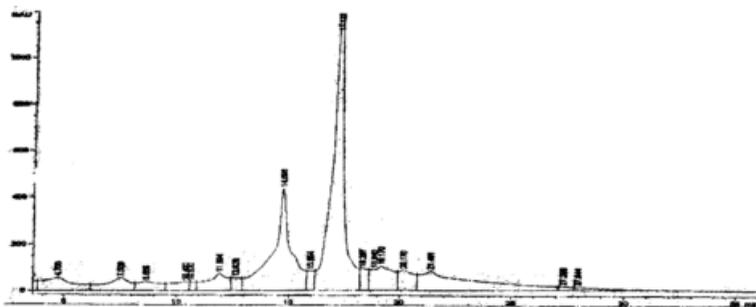


Рис. 10.2. ВЭЖХ/УФ хроматограмма экстракта зрелых шишек *Alnus barbata*

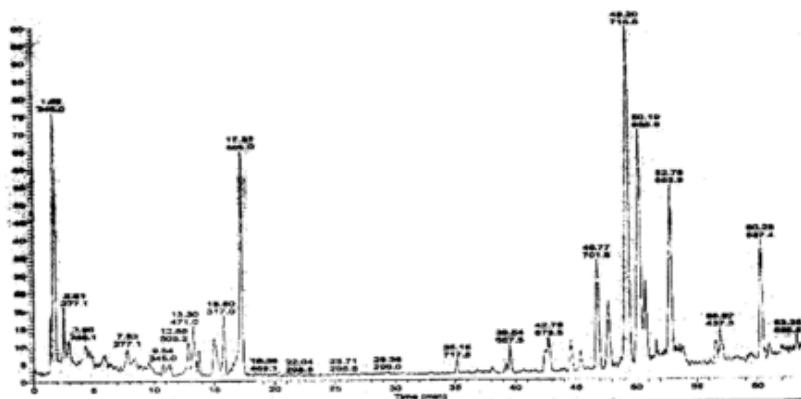


Рис. 10.3. ВЭЖХ/МС хроматограмма экстракта незрелых шишек *Alnus barbata*

Таблица 10.1. Количество МДА (мк/мол/л) в сыворотке крови человека под влиянием экстрактов отдельных органов

Alnus barbata

Фоновая концентрация	Иницированная Fe ²⁺	Fe ²⁺ + экстракт незрелых шишек	Fe ²⁺ + экстракт листьев	Fe ²⁺ + экстракт коры ветвей
8.8	20.5	1.14	7.17	6.84

Таблица 10.2. Относительная антиоксидантная активность экстрактов отдельных органов *Alnus barbata*

Орган растения	Экстракт	Относительная АОА, %
Шишки	80 % спиртовый	207
Шишки	Водный	185
Листья	80 % спиртовый	113
Кора ветвей	80 % спиртовый	116
Кора ветвей	Водный	123
ЭДТА*		90
α-токоферол		97

* - этилендиаминотетрауксусная кислота

Данные таблицы 10.2. показывают, что экстракты отдельных органов АВ в эксперименте *in vitro* в сыворотке крови человека вызывают снижение промежуточного липидно-перекисного продукта МДА, намного превосходящее таковые препараты сравнения – ЭДТА и α-токоферол. Наибольшую АОА проявляют экстракты шишек.

В эксперименте *in vivo* при пероральном введении белым крысам экстракта шишек АВ в дозе 80 мг/кг через 4 часа в сыворотке крови подопытных животных наблюдается тенденция снижения количества МДА от 9.0±0.21 до 8.2±0.18 мкмол/л.

В лаборатории растительных веществ Квебекского университета фундаментальных наук определение АОА шишек АВ проводилось по эквиваленту тролокса [8], когда стандартом служил

DCFH-DA - 2',7'-дихлорфлюоресцин диацетат. Установлено, что максимальная доза экстракта шишек 0.14 мг/кг вызывает ингибирование свободных радикалов на 97%, а минимальная – 0.0125 мг/кг – на 94%.

В лаборатории фармакологии Института фармакохимии им. И.Г. Кутателадзе на экспериментальной модели мышей установлено умеренное антидиарейное действие экстракта АВ при его пероральном введении в дозе 50 мг/кг.

Полученный экспериментальный материал дает основание продолжить углубленное фармакологическое исследование экстракта шишек АВ для возможной разработки лекарственного средства соответственного назначения.

Литература

1. Аладашвили А.С., Парма И.М. Tkhemelin – как закрепляющее средство. Сб.трудов ТНИХФИ, 1949, вып. VI, 60-70.
2. Gagnidze R. Vascular plants of Georgia. A nomenclatural checklist, 2005, Tbilisi, 248 p.
3. Флора Грузии, 1975, т.III, изд-во «Мецниереба», Тбилиси, 276 с.
4. Схиртладзе А.В., Шабуришвили Е.Г., Малания М.А. и др. Биологическая активность *Alnus barbata* С.А. Меу. Изв. АН Грузии, сер. химическая, 2009, 35, 1, 75-77.
5. Шабуришвили Е.Г., Схиртладзе А.В., Шалашвили К.Г. Фенольные соединения из шишек ольхи – *Alnus barbata*. Химический журнал Грузии, 2006, 6 (3), 316-318 (на грузинском языке).
6. O'Brien J., Wilson J., Orton T., Pognan F. Investigation of the Almar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. European J. Biochem., 2000, 267, 5421-5426.
7. Андреева А.И., Кожемякин М.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей в тесте тиобарбитуровой кислотой. Лабораторное дело, 1988, 1, 41-43.
8. Legault J., Dahl W., Debiton E., Pichette A., Madelmont J.C. Antitumor activity of balsam fir oil: production of reactive oxygen species induced by alpha-humulene as possible mechanism of action. Planta Medica, 2003, 69, 5, 402-407.

Оглавление

Введение	3
Глава 1. Краткие сведения о флавоноидах	6
1.1. Выделение флавоноидов из растительного сырья	13
1.2. Качественные реакции.....	14
1.3. Идентификация флавоноидов.....	15
Литература	16
Глава 2. Предварительный анализ растений Грузии на содержание флавоноидов	17
Глава 3. Флавоноиды рода <i>Astragalus</i> L. и гипозотемический препарат ФЛАРОНИН	19
3.1. Предварительный анализ астрагалов	20
3.2. Выделение и химическое изучение флавоноидов.....	20
3.3. Лекарственный препарат ФЛАРОНИН.....	27
3.4. Биологическая активность других флавоноидов астрагалов.....	31
3.5. Растительный источник Робинина	33
Литература	35
Глава 4. Флавоноиды <i>Pueraria hirsuta</i> (Thunb.) Matsum., произрастающей в Грузии и их гипозотемическое действие	38
4.1. Выделение и идентификация флавоноидов пуерарии шерстистой.....	39
4.2. Натуральный препарат листьев пуерарии шерстистой с антиуремической эффективностью	42
Литература	50
Глава 5. Химический состав плодов <i>Paliurus spina-christi</i> Mill. и гепатопротекторный препарат ЦАРУБОЛ	52
5.1. Флавоноиды плодов держи-дерева.....	52
5.2. Нейтральные липиды семян держи-дерева	53
5.2.1. Биологическая активность нейтральных липидов семян держи-дерева	55
5.3. Полярная фракция семян держи-дерева	57

5.4. ЦАРУБОЛ – гепатопротекторный и желчегонный препарат плодов держи-дерева.....	58
Литература	63
Глава 6. Флавоноидные соединения листьев <i>Rhododendron ungernii</i> Trautv. и противогерпетический препарат РОДОПЕС	65
6.1. Флавоноидный состав листьев рододендрона унгерна и противогерпетический препарат РОДОПЕС	66
6.2. Клинические наблюдения над Родопесом.....	68
6.3. Полимерные пленки препарата Родопес для стоматологической практики	74
6.4. Ранозаживляющее действие препарата Родопес.....	78
Литература	82
Глава 7. Компонентный состав <i>Satureja hortensis</i> L. и гипогликемический препарат САТУРИН	84
Литература	94
Глава 8. <i>Ginkgo biloba</i> L., произрастающее в Грузии, как лекарственное сырье, и препарат ГИНКГО-БАТИ	96
Литература	102
Глава 9. Флавоноиды рода <i>Trifolium</i> L. и возможности их использования	104
9.1. Флавоноидный состав видов клевера.....	105
9.2. Биологически активные флавоноиды клеверов	109
9.2.1. Робинин из клевера сходного	109
9.2.2. Гиперин из клевера пашенного.....	109
9.2.3. Сумма флавоноидов клевера шведского	110
Литература	111
Глава 10. Фенольные соединения и биологическая активность шишек <i>Alnus barbata</i> С.А. Мей	113
Литература	118