

На правах рукописи

АЗНАГУЛОВА АНАСТАСИЯ ВИКТОРОВНА

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ОДУВАНЧИКА ЛЕКАРСТВЕННОГО
(*TARAXACUM OFFICINALE WIGG.*)**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Самара – 2016

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор *Куркин Владимир Александрович*

Официальные оппоненты:

Пуныкина Кира Александровна – доктор фармацевтических наук, профессор, государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии, профессор кафедры

Буланова Анджела Владимировна – доктор химических наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный аэрокосмический университет имени академика С.П. Королева (национальный исследовательский университет)», кафедра физической химии и хроматографии, профессор кафедры

Ведущая организация:

государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курск

Защита состоится «03» июня 2016 г. в ____:00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.085.06 при государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (443079, г. Самара, пр. К. Маркса, 165 Б).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171) и на сайте (<http://www.samsmu.ru/science/referats>) государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат фармацевтических наук,
доцент

Петрухина Ирина Константиновна

Актуальность темы. В настоящее время в рамках реализации «Стратегии лекарственного обеспечения населения Российской Федерации на период до 2025 года», а также в рамках реализации «Стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года» все большую значимость приобретает создание отечественных лекарственных препаратов. По сравнению с синтетическими препаратами лекарственные препараты на основе лекарственного растительного сырья (ЛРС) обладают рядом преимуществ: более низкий риск развития аллергических реакций, мягкое развитие эффекта, широкое терапевтическое действие, эффективность и безопасность (Киселева Т.Л. и др., 2008; Куркин В.А., 2007; Самылина И.А. и др., 2003; 2010).

В этой связи перспективным является использование сырья одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.). Данное растение широко распространено на территории Российской Федерации, однако в Государственной Фармакопее СССР XI издания в качестве ЛРС описаны лишь корни одуванчика лекарственного. Благодаря наличию в химическом составе горечей корни одуванчика лекарственного используются в качестве средства, стимулирующего аппетит, усиливающего секрецию пищеварительных желез. Кроме того, корни одуванчика лекарственного входят в состав желудочных и аппетитных сборов, включены в состав фиточаев.

В тоже время, по нашим оценкам, значительную часть фитомассы растения составляет надземная часть одуванчика лекарственного. Трава одуванчика лекарственного была описана в качестве ЛРС в Российской Фармакопее VII издания, однако в последующие издания данный вид сырья включен не был. Следовательно, в настоящее время бóльшая часть одуванчика лекарственного не находит применения в отечественной медицинской и фармацевтической практике. Использование всей фитомассы одуванчика лекарственного будет способствовать решению проблемы комплексной переработки данного растения в рамках ресурсосберегающих технологий и создает предпосылки для решения проблемы безотходного использования природных ресурсов. Следовательно, в настоящее время актуальным является исследование по обоснованию целесообразности применения в медицинской практике (наряду с корнями) надземной части одуванчика лекарственного.

В зарубежных фармакопеех и в исследованиях зарубежных авторов для надземной части одуванчика лекарственного описаны желчегонный, противовоспалительный, диуретический эффекты (Clare В.А., 2009; Hfaiedh M., 2014 и др.).

В зарубежных фармакопеех описаны возможные методики качественного анализа ЛРС и методики количественного определения содержания биологически активных соединений (БАС) в траве одуванчика лекарственного, однако, на наш взгляд, эти методы не лишены недостатков. Так, качественное определение травы одуванчика лекарственного методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) проводится с использованием в

качестве стандартов хлорогеновой кислоты и рутина, которые не являются характерными веществами для исследуемого вида сырья. Кроме того, данные стандарты применяются для определения ряда других растений (календулы лекарственной, боярышника, Melissa лекарственной и др.). Количественный анализ БАС в зарубежных фармакопеях предлагается проводить по определению суммы экстрактивных веществ, что не дает представления о содержании конкретных групп действующих веществ.

Таким образом, актуальным является углубленное фармакогностическое изучение надземной части одуванчика лекарственного с целью научного обоснования целесообразности использования в медицинской практике травы данного растения.

Степень разработанности темы. В настоящее время в зарубежных фармакопеях описаны методики стандартизации травы одуванчика лекарственного с использованием метода ТСХ, высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), однако они не лишены ряда недостатков. В западных фармакопеях описаны также морфолого-анатомические признаки цельного и измельченного сырья, однако некоторые диагностические признаки рассмотрены не в полной мере. По вопросам изучения фармакологической активности травы одуванчика лекарственного имеются исследования советских ученых, подтверждающие наличие желчегонной активности у данного вида ЛРС (Цаль и др., 1991). Зарубежные ученые также исследовали противомикробную, иммуномодулирующую активность, влияние извлечений из травы одуванчика лекарственного на работу желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, нервной системы, а также влияние на обмен веществ в организме.

В настоящее время в Российской Федерации отсутствуют методики стандартизации травы одуванчика лекарственного, а также методики качественного анализа и количественного определения БАС в препаратах на основе данного сырья. Методики, применяемые в зарубежных фармакопеях, не всегда основаны на особенностях химического состава травы одуванчика лекарственного и не являются специфичными. Кроме того, в зарубежных фармакопеях не приведены сравнительные описания сырья одуванчика лекарственного с возможными примесными видами.

Цель работы и основные задачи исследования. Целью настоящей работы является фармакогностическое исследование по обоснованию целесообразности использования в медицинской практике нового вида лекарственного растительного сырья «Одуванчика лекарственного трава» в качестве источника БАС.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Проведение сравнительного морфолого-анатомического исследования травы одуванчика лекарственного и возможных примесных видов (одуванчика позднего, цикория обыкновенного).
2. Проведение фитохимического исследования травы одуванчика лекарственного.

3. Изучение динамики накопления БАС фенольной природы в надземной части одуванчика лекарственного.
4. Изучение химического состава надземной части одуванчика лекарственного, произрастающего в различных регионах Российской Федерации.
5. Разработка методики качественного анализа травы одуванчика лекарственного.
6. Разработка методики количественного определения содержания БАС фенольной природы в траве одуванчика лекарственного.
7. Обоснование состава и технологии приготовления лекарственных препаратов на основе травы одуванчика лекарственного («Одуванчика лекарственного травы настойка»; «Одуванчика лекарственного травы сироп»).
8. Разработка методики качественного анализа и количественного определения БАС в лекарственных препаратах на основе травы одуванчика лекарственного («Одуванчика лекарственного травы настойка», «Одуванчика лекарственного травы сироп»).
9. Определение показателей качества разработанных лекарственных препаратов («Одуванчика лекарственного травы настойка», «Одуванчика лекарственного травы сироп»).
10. Проведение скринингового анализа специфической фармакологической и антимикробной активности разработанных препаратов.
11. Разработка проекта фармакопейной статьи (ФС) на новый вид лекарственного растительного сырья – «Одуванчика лекарственного траву».

Научная новизна.

Выявлены диагностические признаки, характерные для данного вида сырья и отличительные особенности травы одуванчика лекарственного, позволяющие отделять целевое сырье от примесных растений.

Впервые выделены из надземной части одуванчика лекарственного в виде индивидуальных соединений фенилпропаноид кафтаровая кислота (2¹-кофеилвинная кислота) и флавоноид трицин (5,7,4¹-тригидрокси-3¹,5¹-диметоксифлавонон). Впервые в Российской Федерации в виде индивидуальных соединений из травы одуванчика лекарственного выделены известные для одуванчика лекарственного соединения - кофейная кислота, хлорогеновая кислота, лютеолин (5,7,3¹,4¹-тетрагидроксифлавонон), 7-О-рамнозилглюкозид лютеолина, цинарозид (7-О-β-D-глюкопиранозид 5,7,3¹,4¹-тетрагидроксифлавонона) и тритерпеновый сапонин тараксастерин.

Разработаны и научно обоснованы подходы к стандартизации нового вида ЛРС «Одуванчика лекарственного траву».

Усовершенствованы методики анализа сырья, основанные на определении действующих веществ методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) и УФ-спектроскопии.

Разработаны методики определения суммы фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту.

Методики анализа адаптированы для лекарственных препаратов травы одуванчика лекарственного, что отвечает принципам унификации, предъявляемым к современному фармацевтическому анализу (Самылина И.А. и др. 1994; 2006).

Обоснована целесообразность применения надземной части наряду с корнями в рамках комплексного использования данного растения.

Разработан состав и способ получения лекарственных препаратов на основе травы одуванчика лекарственного - «Одуванчика лекарственного травы настойки» и «Одуванчика лекарственного травы сиропа», для которых доказано наличие диуретического эффекта.

Получен патент РФ № 2577713 «Сироп одуванчика лекарственного» (заявка 2014133928 от 18.08.2014). Решение о выдаче патента 25.12.2015 г.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Разработан и направлен в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» с целью включения в дополнения к Государственной Фармакопее Российской Федерации XIII издания проект ФС на новый вид лекарственного растительного сырья «Одуванчика лекарственного трава».

Обосновано применение для стандартизации исследуемого вида сырья усовершенствованных методик качественного анализа методом ТСХ и спектроскопии, а также методики количественного определения содержания БАС фенольной природы в образцах сырья.

Разработаны состав и способ получения лекарственных препаратов «Одуванчика лекарственного травы настойка» и «Одуванчика лекарственного травы сироп». Определены показатели качества данных препаратов.

Методология и методы исследования. Методология диссертационного исследования основана на изучении и систематизации литературных данных по фармакогностическому исследованию одуванчика лекарственного, на оценке степени разработанности и актуальности данной темы. В соответствии с поставленной целью и задачами был разработан план выполнения диссертационного исследования, выбраны объекты и методы исследования.

Объектами исследования стали образцы сырья одуванчика лекарственного, собранные на территории Российской Федерации в различные периоды вегетации, образцы сырья возможных примесных растений (одуванчика позднего, цикория обыкновенного), а также препараты, полученные из надземной части одуванчика лекарственного. Исследования проводили с использованием цифровой микроскопии, тонкослойной хроматографии (ТСХ), спектрофотометрии, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии. Также в работе использовались различные пробирочные и гистохимические реакции на отдельные группы БАС. Математическая обработка данных проводилась с использованием компьютерных программ по методике, описанной в ГФ РФ XIII издания.

Связь задач исследования с планами научных работ.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с тематическом планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России (№ Гос. регистрации 01200900568 до 28.04.2015; с 28.04.2015 № Гос. регистрации 115042810034; наименование НИОКР - «Комплексные исследования по разработке лекарственных средств природного и синтетического происхождения»).

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Результаты анатомо-гистологических исследований различных органов одуванчика лекарственного и возможных примесных видов.
2. Результаты фитохимического исследования травы одуванчика лекарственного.
3. Результаты исследований по разработке методик качественного анализа травы одуванчика лекарственного.
4. Результаты исследований по разработке методик количественного определения содержания фенольных веществ в траве одуванчика лекарственного.
5. Результаты исследований по разработке способов получения лекарственных препаратов на основе травы одуванчика лекарственного («Одуванчика лекарственного травы настойки», «Одуванчика лекарственного травы сиропа»).
6. Результаты исследований по стандартизации лекарственных препаратов на основе травы одуванчика лекарственного и разработке методик их качественного и количественного анализа.
7. Данные по изучению показателей качества разработанных лекарственных препаратов – «Одуванчика лекарственного травы настойки», «Одуванчика лекарственного травы сиропа».
8. Результаты исследования специфической фармакологической активности разработанных препаратов на основе травы одуванчика лекарственного.

Степень достоверности. Достоверность проведенных исследований подтверждена экспериментальными данными, полученными с помощью метода микроскопии, а также современных физико-химических и химических методов: ТСХ, УФ-спектроскопии, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии.

Апробация работы. Материалы работы доложены и обсуждены на Межуниверситетских осенних инновационных чтениях У.М.Н.И.К.-2013 (г. Самара, 2013), на III научно-практической конференции «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» (г. Москва, 2015); на конференциях дипломированных специалистов «Аспирантские чтения «Молодые ученые - медицине» (г. Самара, 2013; 2014; 2015); на IX годичной научно-практической конференции молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием (г. Душанбе, 2014); на IV Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (г.

Санкт-Петербург, 2014); на XIV международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Студенческая медицинская наука XXI века» (г. Витебск, 2014); на VIII Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы использования и охраны природных ресурсов России» (г. Самара, 2014); на научно-практической конференции с международным участием «Фармацевтическая наука: достижения, инновации и перспективы» (г. Пермь, 2015); на IV научно-практической конференции «Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине» (г. Москва, 2016).

Выполнение фрагментов диссертационного исследования осуществлялось по линии программы «Участник Молодежного научно-Инновационного Конкурса - 2013» («У.М.Н.И.К.»).

Публикации. Основное содержание работы опубликовано в 15 печатных работах, из них 5 статей в журналах, включенных ВАК Минобрнауки РФ в перечень рецензируемых научных изданий. Получен 1 патент РФ на изобретение.

Внедрение результатов исследования. Полученные в результате диссертационных исследований данные используются в учебном процессе на кафедрах: фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии; фармацевтической технологии; химии фармацевтического факультета; управления и экономики фармации Самарского государственного медицинского университета; в работе ГБУЗ «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области» и ЗАО «Самаралектравы».

Личный вклад автора. Все экспериментальные результаты, приведенные в диссертационной работе, получены самим автором. Автором выполнены исследования по изучению морфологических и анатомо-гистологических особенностей строения различных органов одуванчика лекарственного, выявлены диагностические признаки. Изучен химический состав травы одуванчика лекарственного, выявлена химическая структура компонентов, выделенных из сырья в индивидуальном виде. Разработаны методики анализа травы одуванчика лекарственного. Определена динамика накопления БАС фенольной природы в траве одуванчика лекарственного в период вегетации. Разработаны состав и технология получения препаратов – «Одуванчика лекарственного травы настойки» и «Одуванчика лекарственного травы сиропа». Автором предложены методики качественного и количественного анализа препаратов методом ТСХ и УФ-спектрофотометрии. Автором разработан проект ФС на новый вид лекарственного растительного сырья «Одуванчика лекарственного трава».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Основные положения, изложенные в данной работе, соответствуют паспорту научной специальности 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» (фармацевтические науки) по пунктам 2 - «Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных

средств»; 3 - «Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления»; 5 - «Изучение вопросов рационального использования ресурсов лекарственного растительного сырья с учетом влияния различных факторов на накопление биологически активных веществ в сырье» и 6 - «Изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе».

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 174 страницах машинописного текста, полученные данные проиллюстрированы 61 рисунком и изложены в форме 16 таблиц. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, 4 глав, в которых описаны результаты собственных исследований и их обсуждение, общих выводов и списка литературы, состоящего из 163 источников, из которых 46 - на иностранных языках.

Во введении описана актуальность темы исследования, сформулирована цель и задачи, определена научная новизна и практическая значимость проводимого исследования, приведены основные положения, выносимые на защиту, изложены сведения об апробации работы и публикациях.

Глава 1 содержит обзор отечественной и зарубежной литературы по состоянию исследований ЛРС одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.). В данной главе приведены имеющиеся сведения по химическому составу различных морфологических органов одуванчика лекарственного, по применению данного сырья в официальной и народной медицине. Описаны подходы к стандартизации сырья одуванчика лекарственного, применяемые в Российской Федерации и за рубежом.

В главе 2 описаны объекты и методы исследования. Представлены методики идентификации и количественного определения содержания БАС в траве одуванчика лекарственного, а также в препаратах на ее основе.

Глава 3 посвящена морфолого-анатомическому анализу надземной части одуванчика лекарственного, а также сравнительному морфологическому и анатомо-гистологическому исследованию травы одуванчика лекарственного и возможных примесных видов (травы одуванчика позднего, травы цикория обыкновенного).

Глава 4 посвящена описанию результатов фитохимических исследований травы одуванчика лекарственного. Приведены результаты выделения индивидуальных БАС из надземной части одуванчика лекарственного, установление их структуры.

В главе 5 приводятся результаты по разработке методик качественного анализа сырья одуванчика лекарственного, по разработке методик количественного определения содержания БАС в сырье одуванчика лекарственного, результаты определения динамики накопления БАС в траве

одуванчика лекарственного, а также предварительный фитохимический анализ возможного примесного вида сырья – травы одуванчика позднего.

Глава 6 посвящена описанию разработки состава и способа стандартизации лекарственных препаратов на основе травы одуванчика лекарственного, а также исследованиям по оценке специфической фармакологической активности разработанных препаратов травы одуванчика лекарственного.

Диссертация завершается общими выводами и списком литературы.

В приложениях представлены фотографии микропрепаратов травы одуванчика позднего, сравнительные таблицы морфологических и анатомо-гистологических признаков травы одуванчика лекарственного и травы цикория обыкновенного, фотографии микропрепаратов травы цикория обыкновенного, акты внедрения, проект фармакопейной статьи «Одуванчика лекарственного трава», патент РФ № 2577713 «Сироп одуванчика лекарственного».

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Объекты и методы исследования

Объектами исследования служили образцы сырья – трава и корни одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.), трава одуванчика позднего (*Taraxacum serotinum*) и цикория обыкновенного (*Cichorium intybus*), собранные в период с 2012 г. по 2015 г. Образцы сырья заготавливались на территориях различных регионов Российской Федерации: Самарской, Ульяновской, Пензенской, Архангельской областей. Образцы сырья были собраны в различные периоды вегетации растения в период с июня по сентябрь. Исследованию подлежали лекарственные препараты – настойка травы одуванчика лекарственного и сироп травы одуванчика лекарственного, а также индивидуальные вещества, выделенные из надземной части одуванчика лекарственного: кафтаровая, хлорогеновая, кофейная кислоты, трицин, цинарозид, лютеолин, лютеолин-7-О-рамнозилглюкозид и тараксастерин.

Морфолого-анатомическое исследование проводили с использованием цифровых микроскопов «Motic DM-111» и «Motic DM-39» с увеличениями x20, x40, x100, x400.

Изучение химического состава травы одуванчика лекарственного проводили методом адсорбционной жидкостной колоночной хроматографии с использованием силикагеля марки L 40/100 мкм и L 100/250 мкм (Чехия), сефадекс LH-20 (Швеция) и полиамида марки «Wolem» (Германия). Экстракцию осуществляли хлороформом, смесью хлороформ-этанол в различных соотношениях, спиртом этиловым 95%.

Для анализа извлечений из сырья, субстанций, выделенных веществ и лекарственных препаратов методом тонкослойной хроматографии использовали пластинки «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» и «Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ» (Россия).

Спектральные исследования проводили на спектрофотометрах «Specord 40» (Analytik Jena) и СФ-2000 (СКБ Спектр) в кюветах с толщиной слоя 10 мм. ¹Н-ЯМР-спектры регистрировали на приборе «Bruker AM 300 (300 мГц). Масс-спектры электронного удара регистрировали на приборе «Kratos MS-30» при энергии ионизирующих электронов 70 эВ и варьировании температуры ионного источника от 100 до 250 °С.

Получение настойки осуществляли методом модифицированной дробной мацерации и методом перколяции. Получение сиропа проводили в соответствии с классическими правилами фармацевтической технологии.

Проводили исследования диуретической и антимикробной активности разработанных лекарственных препаратов на основе травы одуванчика лекарственного.

2. Изучение вопросов морфолого-анатомической диагностики сырья одуванчика лекарственного и возможных примесных видов

Морфолого-анатомическому анализу подвергали воздушно-сухое и свежее сырье одуванчика лекарственного, а именно, надземную часть. К основным диагностическим признакам сырья «Одуванчика лекарственного трава» можно отнести характерные очертания поперечных срезов листовой пластинки, а также количество, расположение и характер проводящих пучков. Проводящие пучки армированы со стороны ксилемы склеренхимными клетками. Флоэмная часть проводящего пучка мощная, неоднородная по структуре – на периферии расположены клетки с утолщенными стенками, кроме того, по краю флоэмы располагаются млечники, содержащие млечный сок. Млечники также диагностируются в мезофилле листа. Мезофилл листовой пластинки представлен паренхимой с ослизняющимися воздушными полостями. Лист одуванчика лекарственного амфистоматический, устьица аномоцитного типа. Эпидермис листовой пластинки покрыт тонким слоем кутикулы, окрашивающейся раствором Судана III в розовый цвет. Характерным признаком травы одуванчика лекарственного является наличие на эпидермисе неразветвленных многоклеточных многорядных волосков. Волоски состоят из округлых клеток с живым протопластом, часто обламываются на конце.

К характерным особенностям сырья «Одуванчика лекарственного трава» относится наличие цветоносов. На поперечном срезе цветоносы одуванчика лекарственного имеют переходный тип строения; округлые по форме, в центре имеют полость. Клетки эпидермиса на поперечном сечении мелкие, треугольной формы, характер утолщения клеточной стенки аналогичен таковому у листовой пластинки. При рассмотрении с поверхности клетки эпидермиса вытянутые, со скошенными заостренными концами. Цветонос одуванчика лекарственного слабоопушен, как правило, многоклеточными однорядными волосками. Под эпидермой располагается рыхлая колленхима с большим количеством мелких межклетников. Размер клеток сердцевины цветоноса постепенно увеличивается к центру.

Проводящие пучки открытые, коллатерального типа, расположены по окружности. Имеют строение, аналогичное пучкам листовой пластинки.

Очевидна также важность анатомо-гистологических признаков соцветий одуванчика лекарственного. Мезофилл листочка обертки представлен пигментированными паренхимными клетками. В паренхиме образуются воздушные полости. Цветок одуванчика лекарственного – язычкового типа, у основания венчик слабо опушен многоклеточными волосками. Клетки эпидермиса венчика вытянутые, с волнообразными стенками, на отгибе встречаются выделительные элементы. Столбик пестика имеет раздвоенное рыльце, густо опушенное острыми одноклеточными волосками. Диагностически важным элементом является наличие в сырье характерных плодов – семян одуванчика лекарственного.

Описанные признаки цельного сырья «Одуванчика лекарственного трава» обнаруживаются при микроскопическом анализе измельченного и порошкованного сырья. В измельченном сырье встречаются фрагменты околоцветника, цветоложа, листовой пластинки, цветоноса, летучки, семянки. В порошкованном сырье под микроскопом заметны фрагменты пестика, околоцветника, цветоложа, летучки.

Ввиду высокой степени морфологического сходства и перекрытия ареалов произрастания возможна заготовка вместо целевого сырья – одуванчика лекарственного травы – примесных близкородственных видов (например, травы одуванчика позднего) или иных представителей рода *Compositae* (например, травы цикория обыкновенного). Следовательно, актуальным является морфолого-анатомическое описание возможных примесных видов в контексте выявления особенностей, на основании которых будет возможным определение целевого вида сырья (рис. 1).

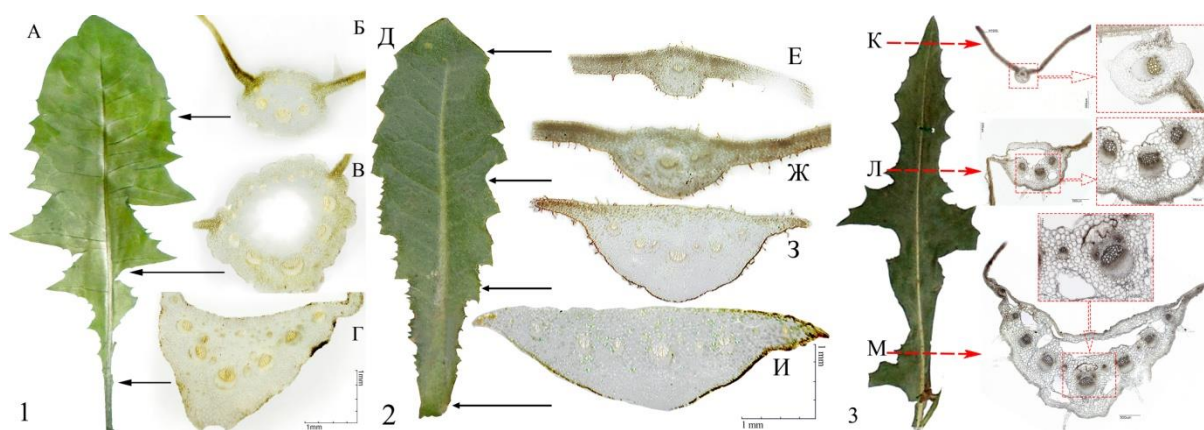


Рис. 1. Сравнительное морфолого-анатомическое описание листовых пластинок и их поперечных срезов одуванчика лекарственного (1), одуванчика позднего (2), цикория обыкновенного (3):

А – общий вид листовой пластинки одуванчика лекарственного; Б, Е, К – апикальная часть листовой пластинки; В, Ж, Л – медиальная часть листовой пластинки; Г, З, М – базальная часть листовой пластинки; Д – общий вид листовой пластинки одуванчика позднего; И – место прикрепления листовой пластинки одуванчика позднего.

Так, к характерным особенностям одуванчика позднего, позволяющим отличить его от целевого вида сырья, можно отнести отсутствие ослизняющей полости на поперечном сечении медиальной части листовой пластинки (рис. 1.2). Кроме того, в мезофилле листовой пластинки одуванчика позднего отсутствует аэренхима, характерная для одуванчика лекарственного (рис. 1.2). Мезофилл листа представлен изодиаметрическими плотно сомкнутыми клетками. Отличается также характер опушения листовых пластинок. У одуванчика позднего листовая пластинка имеет слабо-войлочное опушение, листовая пластинка одуванчика лекарственного голая. Данная особенность хорошо заметна при анализе цельного сырья.

Отличительными особенностями травы цикория обыкновенного является наличие трех видов трихом (однорядные тонкостенные, двурядные кроющие и двух- и трехрядные железистые). У одуванчика лекарственного железистые трихомы отсутствуют. В паренхиме листа цикория обыкновенного имеются респираторные полости (рис. 1.3). У одуванчика лекарственного паренхима листа представлена аэренхимой (рис. 1.1). Также имеются отличия в строении и расположении проводящих пучков в листовой пластинке цикория обыкновенного и одуванчика лекарственного (рис. 1.1, 1.3).

3. Фитохимическое исследование травы одуванчика лекарственного

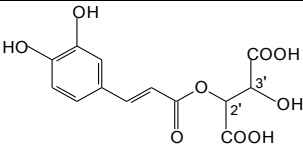
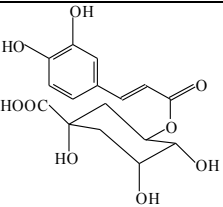
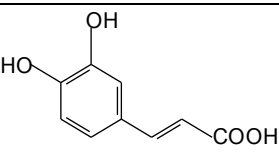
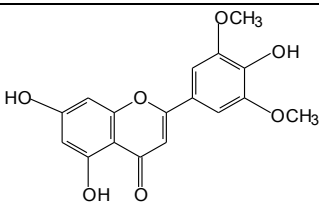
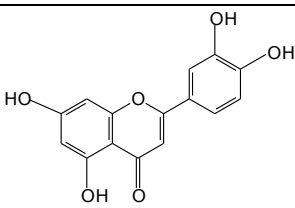
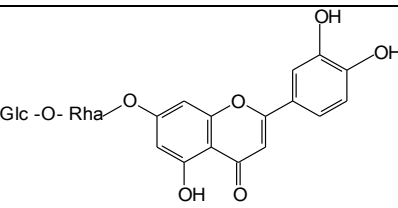
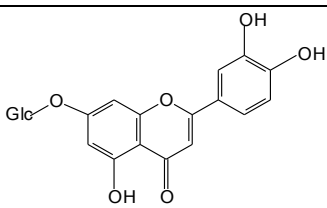
С целью обоснования подходов к качественному анализу и количественному определению содержания биологически активных соединений (БАС) травы одуванчика лекарственного было проведено выделение БАС методом колоночной хроматографии. Для определения химической структуры нами использовались методы ^1H -, ^{13}C -, УФ-спектроскопии, масс-спектрометрии, а также результаты химических превращений.

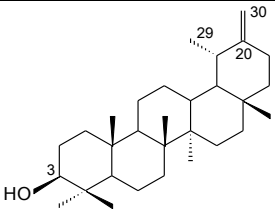
В результате проведенных исследований впервые из травы одуванчика лекарственного были выделены в индивидуальной форме фенилпропаноид кафтаровая кислота и флавоноид трицин. При этом кафтаровая кислота является доминирующим веществом травы одуванчика лекарственного. Кроме того, впервые в Российской Федерации получены в индивидуальной форме из травы одуванчика лекарственного фенилпропаноиды хлорогеновая и кофейная кислота, флавоноиды лютеолин, лютеолин-7-О-рамнозилглюкозид, цинарозид, а также тритерпеновый сапонин таракастерин (табл. 1).

Таблица 1

Физико-химические и спектральные характеристики соединений, выделенных из травы одуванчика лекарственного

№ п/п	Название	Химическая формула	Физико-химические характеристики

1.	<p>Кафтаровая кислота $C_{13}H_{12}O_9$ 2^1 – кофеилвинная кислота</p>		<p>Аморфное вещество светло-желтого цвета. УФ-спектр: λ_{max} 217, 243, 299 нм, 330 нм (EtOH).</p>
2.	<p>Хлорогеновая кислота $C_{16}H_{18}O_9$</p>		<p>Кристаллы белого цвета, т. пл. 201-203 $^{\circ}C$ (вода). УФ- спектр: λ_{max} 217, 243, 297 нм, 330 нм (EtOH).</p>
3.	<p>Кофейная кислота $C_9H_8O_4$</p>		<p>Кристаллы желтого цвета, т. пл. 217-220 $^{\circ}C$ (водный спирт). УФ-спектр: λ_{max} 217, 242, 298 нм, 328 нм (EtOH).</p>
4.	<p>Трицин $C_{17}H_{14}O_7$ $5,7,4^1$-тригидрокси- $3^1,5^1$- диметоксифлавонон</p>		<p>Игольчатые кристаллы желтого цвета, т. пл. 279-281 $^{\circ}C$ (водный спирт). УФ-спектр: λ_{max} 270, 351 нм (EtOH).</p>
5.	<p>Лютеолин $C_{15}H_{10}O_6$ $5,7,3^1,4^1$- тетрагидроксифлавонон</p>		<p>Кристаллы желтого цвета, т. пл. 227-230 $^{\circ}C$ (водный спирт). УФ-спектр: λ_{max} 256, 266 нм, 358 нм (EtOH).</p>
6.	<p>$C_{21}H_{20}O_{11}$ $7-O-\alpha-L$- рамнопиранозил-β- D-глюкопиранозид лютеолина</p>		<p>Кристаллы светло- желтого цвета, т. пл. 232-234 $^{\circ}C$ (водный спирт). УФ-спектр: λ_{max} 257, 266 нм, 352 нм (EtOH).</p>
7.	<p>Цинарозид $C_{21}H_{20}O_{11}$ $7-O-\beta-D$- глюкопиранозид лютеолина</p>		<p>Кристаллы светло- желтого цвета, т. пл. 232-234 $^{\circ}C$ (водный спирт). УФ-спектр: λ_{max} 257, 266 нм, 352 нм (EtOH).</p>

8.	Тараксастерин $C_{30}H_{50}O$		Игольчатые кристаллы белого цвета, т. пл. 220-222 °С (этанол).
----	----------------------------------	--	--

При использовании метода тонкослойной хроматографии (ТСХ) в системе *n*-бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2) было определено, что доминирующим компонентом извлечения из травы одуванчика лекарственного является кафтаровая кислота (рис. 2).

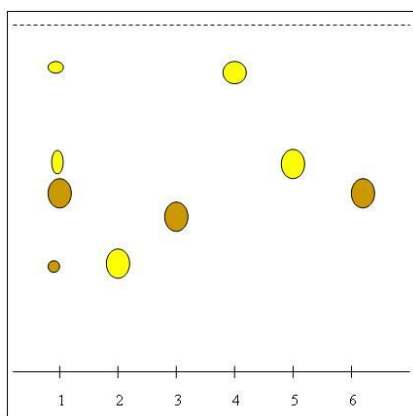


Рис. 2. Схема хроматограммы извлечения из травы одуванчика лекарственного (1:50). Система *n*-бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2). Обработка щелочным раствором диазобензолсульфо кислоты. Обозначения: 1 – извлечение из травы одуванчика лекарственного; 2 – ГСО рутина; 3 – хлорогеновая кислота; 4 – ГСО лютеолина; 5 – ГСО цинарозида; 6 – кафтаровая кислота.

Характер УФ-спектра суммарного извлечения из травы одуванчика лекарственного определяется в наибольшей мере веществами фенилпропаноидной природы – кафтаровой, хлорогеновой и кофейной кислотами (рис. 3).

4. Разработка подходов к стандартизации травы одуванчика лекарственного.

Разработаны методики качественного анализа сырья «Одуванчика лекарственного трава», а также методики количественного определения содержания БАС в сырье, основанные на полученных данных о химическом составе БАС травы одуванчика лекарственного.

4.1. Качественный анализ травы одуванчика лекарственного

Для оценки подлинности травы одуванчика лекарственного рекомендовано проведение ТСХ-анализа с определением в качестве доминирующего вещества кафтаровой кислоты с использованием в качестве веществ-свидетелей РСО хлорогеновой кислоты и ГСО цинарозида с последующим расчетом значений R_f и R_s .

ТСХ-анализ рекомендуется проводить в системе растворителей *n*-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:2). Детекцию проводят в УФ-свете при 254 нм и 366 нм, а также обработкой щелочным раствором диазобензолсульфо кислоты (ДСК). На хроматограмме обнаруживается сине-фиолетовая (366 нм) или желто-зеленая (254 нм) флуоресцирующая зона

вещества, совпадающего по подвижности с ГСО цинарозида ($R_f = 0,64$). Доминирующее вещество – кафтаровая кислота – обнаруживается в виде темно-фиолетовой (366 нм) или темно-коричневой (254 нм) зоны с $R_f = 0,55$. Наиболее близким по подвижности веществом является РСО хлорогеновой кислоты, следовательно, целесообразно, на наш взгляд, ввести значение R_s - коэффициента подвижности кафтаровой кислоты относительно хлорогеновой кислоты ($R_s = 1,1$) (рис. 2).

Для качественного анализа травы одуванчика лекарственного нами рекомендуется проведения спектроскопического анализа. УФ-спектр извлечения из травы одуванчика лекарственного в диапазоне длин волн от 190 нм до 500 нм имеет «плечо» при 296 ± 2 нм и максимум поглощения при 334 ± 2 нм.

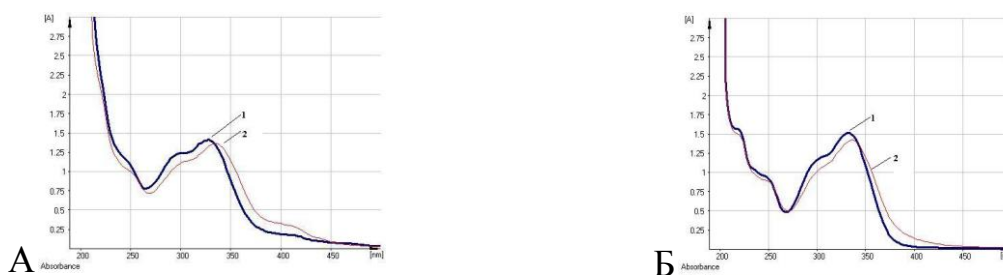


Рис. 3. УФ-спектры извлечения из травы одуванчика лекарственного (1:2500) (А) и кафтаровой кислоты (Б).

Обозначения: 1 – исходный раствор; 2 – раствор с добавлением комплексообразователя $AlCl_3$.

Данный характер спектра позволяет сделать вывод, что основной вклад в кривую поглощения вносят гидроксикоричные кислоты (фенилпропаноиды).

4.2. Количественное определение содержания суммы фенольных веществ в траве одуванчика лекарственного

В ходе проведенных исследований были апробированы два варианта методики количественного определения содержания БАС в траве одуванчика лекарственного, а именно методом прямой и дифференциальной спектрофотометрии. При использовании метода дифференциальной спектрофотометрии были получены завышенные результаты, вследствие чего количественное определение суммы веществ фенольной природы в траве одуванчика лекарственного рекомендовано проводить методом прямой спектрофотометрии с пересчетом суммарного содержания на хлорогеновую кислоту. При расчете содержания суммы фенольных веществ методом прямой спектрофотометрии рекомендовано использование в качестве аналитической длины волны $\lambda = 330$ нм. С целью упрощения проведения анализа было рассчитано значение удельного показателя поглощения хлорогеновой кислоты $=497$.

Методика определения суммы фенольных веществ в траве одуванчика лекарственного (прямая спектрофотометрия). Около 1 г травы одуванчика лекарственного (точная навеска), проходящей через сито с диаметром отверстий 2 мм, помещают в коническую колбу с притертой пробкой. К сырью добавляют 50 мл 70% спирта этилового, колбу закрывают пробкой и взвешивают с погрешностью $\pm 0,01$ г. Затем к колбе присоединяют дефлегматор и нагревают на кипящей водяной бане в течение 2 ч с момента закипания спирта этилового. Затем содержимое колбы охлаждают, взвешивают и доводят массу содержимого 70% спиртом этиловым до первоначального значения. Полученное водно-спиртовое извлечение фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата.

1 мл полученного извлечения (раствора А) помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят спиртом этиловым 96% до метки. Оптическую плотность измеряют на спектрофотометре «Specord 40» (Analytik Jena) при аналитической длине волны 330 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Содержание суммы веществ фенольной природы в пересчете на хлорогеновую кислоту и абсолютно сухое сырье в процентах (X) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 50 \cdot 50 \cdot 100}{497 \cdot m \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность исследуемого раствора; m – масса сырья, г (точная навеска); W – потеря в массе при высушивании сырья, %; 497 – удельный показатель поглощения хлорогеновой кислоты при аналитической длине волны 330 нм.

Метрологическая характеристика разработанной методики количественного определения приведена в таблице 2.

Таблица 2

Метрологические характеристики методики количественного определения суммы веществ фенольной природы в траве одуванчика лекарственного

N	F	\bar{X}	S^2	S	P, %	t (P, f)	$\Delta \bar{X}$	E, %
5	4	6,54	0,00152	0,0390	95	2,78	$\pm 0,108$	$\pm 1,66$

В зависимости от места сбора сырья содержание суммы веществ фенольной природы варьировало от 5,50% до 7,04%. Таким образом, на наш взгляд, рекомендуемое минимальное содержание веществ фенольной природы в траве одуванчика лекарственного должно составлять не менее 5%.

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: линейность, прецизионность и правильность. Линейность методики определяли для серии растворов хлорогеновой кислоты (с концентрациями в диапазоне от 0,00976 до 0,03904 мг/мл). Коэффициент корреляции составил 0,99998. Для установления прецизионности проводили

определение содержания для пяти параллельных измерений. Правильность методики определяли методом добавок путем добавления раствора хлорогеновой кислоты с известной концентрацией к исследуемому раствору. Открываемость находилась в пределах от 98% до 102%.

По разработанной методике количественного определения БАС фенольной природы нами была определена динамика накопления фенольных веществ в траве одуванчика лекарственного в течение вегетационного периода. На основании полученных результатов нами рекомендован период массового цветения одуванчика лекарственного (конец мая – начало июня) в качестве оптимального времени сбора и заготовки сырья.

5. Создание лекарственных препаратов на основе травы одуванчика лекарственного и обоснование подходов к их стандартизации

В результате проведенных технологических и аналитических исследований обоснована целесообразность создания лекарственных препаратов на основе травы одуванчика лекарственного.

Разработан способ получения настойки травы одуванчика лекарственного (соотношение «сырье-экстрагент» - 1:5, спирт этиловый 40% или 70%) методом перколяции и модифицированной дробной мацерации.

Разработанные методики качественного анализа травы одуванчика лекарственного адаптированы для лекарственного препарата «Настойка травы одуванчика лекарственного» с целью гармонизации подходов к стандартизации в последовательной цепочке сырье – субстанция – лекарственный препарат.

Количественное определение содержания веществ фенольной природы в настойке травы одуванчика лекарственного так же рекомендовано проводить методом прямой спектрофотометрии с расчетом суммарного содержания на хлорогеновую кислоту. Минимальное рекомендуемое содержание веществ фенольной природы в настойке травы одуванчика лекарственного должно составлять 0,5%.

С целью применения препаратов одуванчика лекарственного в педиатрической практике актуальным является создание сиропа. Образцы сиропов травы одуванчика лекарственного были получены из настойки на 70% спирте этиловом, содержание которой в готовой лекарственной форме составляло 5%.

Разработанные методики качественного анализа были адаптированы и апробированы для сиропов травы одуванчика лекарственного. Использование ТСХ-анализа возможно после проведения предварительной пробоподготовки (обработки сиропа равным объемом ацетона, с последующим отбором ацетоновой фазы, высушиванием, растворением в спирте этиловом и нанесением на хроматограмму). Методика УФ-спектроскопии также была адаптирована для лекарственной формы – сиропа.

Количественное содержание веществ фенольной природы в сиропе травы одуванчика лекарственного в пересчете на хлорогеновую кислоту при

расчете методом прямой спектрофотометрии должно составлять не менее 0,025%.

Определено влияние разработанных препаратов на выделительную функцию почек лабораторных животных. Введение настойки травы одуванчика лекарственного на 40% спирте этиловом в дозе 50 мкл/кг приводило к недостоверным колебаниям показателей диуреза, натрийуреза, калийуреза и креатининуреза в опытной группе относительно спиртоводного контроля. Введение настойки травы одуванчика лекарственного на 70% спирте этиловом в дозе 50 мкл/кг за 4 часа эксперимента приводило к статистически значимому увеличению диуреза на 63%, натрийуреза – на 111%, калийуреза – на 37%, что свидетельствует о калийсберегающем эффекте исследуемого препарата. По истечении суток данный препарат приводил к статистически значимому повышению диуреза на 38% и креатининуреза – на 34%.

Для разработанных лекарственных препаратов (настойки травы одуванчика лекарственного на 40% и 70% спирте этиловом), а также для настоя травы одуванчика лекарственного (вариант экстемпоральной лекарственной формы) определены показатели антимикробной активности в отношении некоторых штаммов микроорганизмов, а именно: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherihia coli*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных диссертационных исследований научно обоснована целесообразность использования в медицинской практике нового вида ЛРС «Одуванчика лекарственного трава» в качестве источника БАС для создания отечественных лекарственных препаратов, обладающих диуретической активностью и калийсберегающим эффектом.

Выводы

1. Определены морфолого-анатомические особенности строения нового вида ЛРС «Одуванчика лекарственного трава», имеющие диагностическое значение, а именно: форма поперечного сечения базальной и медиальной части листа; наличие крупной ослизняющей полости в центре медиальной части листа; выраженная аэренхима центральной жилки с крупными ослизняющимися межклетниками; опушение, представленное двумя типами кроющих многоклеточных трихом: с узким двух-, трехрядным основанием и с широким многорядным основанием. Выявленные признаки позволяют достоверно идентифицировать исследуемый вид ЛРС.
2. В результате сравнительного морфолого-анатомического и гистохимического изучения травы одуванчика лекарственного и потенциальных примесных видов (одуванчика позднего, цикория

обыкновенного) установлено, что выявленные общие и отличительные признаки позволяют объективно диагностировать вышеперечисленные виды.

3. В результате фитохимического исследования с использованием хроматографических, спектральных и химических методов впервые выделены из травы одуванчика лекарственного в индивидуальном виде и идентифицированы фенилпропаноид кафтаровая кислота (2^1 -кофеилвинная кислота) и флавоноид трицин ($5,7,4^1$ -тригидрокси- $3^1,5^1$ -диметоксифлавонон). Кроме того, впервые в Российской Федерации выделены и идентифицированы известные для травы одуванчика лекарственного фенилпропаноиды хлорогеновая кислота и кофейная кислота, флавоноиды лютеолин, 7-О-рамнозилглюкозид лютеолина, цинарозид, а также тритерпеновый сапонин тараксастерин.

4. Разработана методика качественного анализа травы одуванчика лекарственного методом ТСХ с использованием в качестве стандартов хлорогеновой кислоты и цинарозида с последующим расчетом значений R_f для цинарозида и кафтаровой кислоты и значения R_s для кафтаровой кислоты относительно хлорогеновой кислоты. Для целей идентификации ЛРС «Одуванчика лекарственного трава» может использоваться УФ-спектроскопия. Спектр поглощения извлечения из травы одуванчика лекарственного имеет «плечо» при 296 ± 2 нм, а также максимум при 330 ± 2 нм.

5. Обоснована целесообразность стандартизации травы одуванчика лекарственного по содержанию суммы фенольных веществ (фенилпропаноиды, флавоноиды) в пересчете на хлорогеновую кислоту с использованием прямой спектрофотометрии при аналитической длине волны 330 нм.

6. Определены показатели качества нового вида лекарственного растительного сырья «Одуванчика лекарственного трава». Содержание фенольных веществ в доброкачественном сырье при определении методом прямой спектрофотометрии варьирует от 5,50% до 7,04%, что позволило обосновать числовой показатель содержания суммы фенольных веществ не менее 5%.

7. С использованием технологических, аналитических и химических методов обоснованы состав и технология получения лекарственных препаратов на основе травы одуванчика лекарственного – «Одуванчика лекарственного травы настойка» и «Одуванчика лекарственного травы сироп», а также доказана целесообразность внедрения данных препаратов в медицинскую практику.

8. Разработанные методики качественного анализа и количественного определения БАС фенольной природы травы одуванчика лекарственного адаптированы и апробированы для разработанных лекарственных препаратов «Одуванчика лекарственного травы настойки» и «Одуванчика лекарственного травы сиропа». Определено, что содержание веществ фенольной природы в исследуемых препаратах варьирует от 0,51% до 0,72% и от 0,025% до 0,03% соответственно.

9. В ходе изучения влияние настойки одуванчика лекарственного на выделительную функцию почек выявлен диуретический и калийсберегающий эффекты, свидетельствующие о возможности применения данного препарата в медицинской практике. Определен также характер антимикробной активности образцов настоек и настоя травы одуванчика лекарственного. Наибольшую противомикробную активность исследуемые препараты проявляли в отношении *Staphylococcus aureus*. Наибольшую устойчивость к антимикробному действию БАС травы одуванчика лекарственного проявила *Escherihia coli*.

10. На основе результатов фармакогностических исследований разработан проект ФС «Одуванчика лекарственного трава», который отправлен в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» с целью включения в дополнения Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIII издания.

Практические рекомендации

Результаты диссертационной работы позволяют усовершенствовать подходы к стандартизации растительного сырья, содержащего фенилпропаноиды и флавоноиды, и могут быть использованы в учебном процессе по курсам «Фармакогнозия» и «Фармацевтическая химия», а также в центрах сертификации и контроля качества лекарственных средств и на фармацевтических предприятиях.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Проведение диссертационного исследования имеет научно-практическое значение для фармакогнозии и фармацевтической химии с целью дальнейшего изучения химического состава растений, содержащих фенилпропаноиды и флавоноиды, а также разработки методик анализа и стандартизации лекарственного растительного сырья, отвечающих современным требованиям. Кроме того, важным является научное обоснование комплексного использования растительных ресурсов в медицинской и фармацевтической практике. В процессе проведения исследований большое значение придается использованию современных методов анализа и приборной базы, а также изучению фармакологических эффектов лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Азнагулова, А.В. Анатомо-морфологическое исследование надземной части одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) / А.В. Азнагулова, В.А. Куркин, В.М. Рыжов, Л.В. Тарасенко // **Медицинский альманах**. – 2014. - № 3 (33). – С. 173–179.
2. Азнагулова, А.В. Оптимизация процесса получения настойки в рамках комплексной переработки фитомассы одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) / А.В. Азнагулова, В.А. Куркин, А.Г. Андреева, Е.А.

- Куприянова // **Известия Самарского научного центра РАН.** – 2014. – Т.16. - № 5 (2). – С. 967–969.
3. Азнагулова, А.В. Особенности стандартизации нового вида лекарственного растительного сырья – травы одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) / А.В. Азнагулова // **Аспирантский вестник Поволжья.** – 2014. - № 5-6. – С. 150-151.
 4. Азнагулова, А.В. Стандартизация сиропа одуванчика лекарственного как перспективного лекарственного препарата / А.В. Азнагулова, В.А. Куркин // **Известия Самарского научного центра РАН.** – 2015. – Т. 17. - № 2(2). – С. 438–441.
 5. Азнагулова, А.В. Диуретическая активность препаратов травы одуванчика / А.В. Азнагулова, В.А. Куркин, Е.Н. Зайцева, А.В. Дубищев // **Фармация.** – 2015. - №7. – С. 43-45.
 6. Азнагулова, А.В. Фитохимические исследования морфологических органов одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) / А.В. Азнагулова, В.А. Куркин, В.М. Рыжов // Сборник научных трудов «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. Вып. 68». – Волгоград, 2013. – С. 6-7.
 7. Азнагулова, А.В. Анатомио-гистологическое исследование цветоносов одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) / А.В. Азнагулова // Материалы Всероссийской конференции с международным участием «Молодые ученые - медицине». Аспирантские чтения - 2013. – Самара, 2013. – С. 255-258.
 8. Азнагулова, А.В. Исследование по разработке желчегонного и гепатопротекторного препарата на основе травы одуванчика лекарственного / А.В. Азнагулова // Материалы конкурса программы У.М.Н.И.К. (Информационно-методическое пособие для молодых ученых по развитию научного сотрудничества). Межуниверситетские осенние инновационные чтения «У.М.Н.И.К. – 2013». – Самара, 2013. – С. 90-92.
 9. Азнагулова, А.В. Предварительное исследование фитохимического состава травы одуванчика лекарственного / А.В. Азнагулова // Материалы IX годичной научно-практической конференции молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием. – Душанбе, 2014. – С. 258.
 10. Азнагулова, А.В. Изучение динамики накопления фенольных веществ в траве одуванчика лекарственного / А.В. Азнагулова // Сборник материалов IV Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего». – Спб, 2014. – С. 384-386.
 11. Азнагулова, А.В. Морфолого-анатомическое исследование листьев одуванчика лекарственного как перспективного лекарственного растительного сырья / А.В. Азнагулова // Материалы конференции с международным участием «Молодые ученые 21 века – от современных технологий к инновациям». Аспирантские чтения – 2014. – Самара, 2014. – С. 246-247.

12. Азнагулова, А.В. Особенности получения настойки на основе травы одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) / А.В. Азнагулова // Материалы XIV международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Студенческая медицинская наука XXI века». – Витебск, 2014. – С. 110.
13. Азнагулова, А.В. Трава одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) как перспективное лекарственное растительное сырье / А.В. Азнагулова, В.А. Куркин // Сеченовский вестник. – 2015. - № 1 (19). – С. 89-90.
14. Азнагулова, А.В. Особенности стандартизации травы одуванчика лекарственного и препаратов на ее основе / А.В. Азнагулова // Материалы докладов научно-практической конференции с международным участие «Молодые ученые XXI века – от идеи к практике». Аспирантские чтения – 2015. – Самара, 2015. – С. 155-156.
15. Азнагулова, А.В. Современные подходы к стандартизации нового вида лекарственного растительного сырья – травы одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) / А.В. Азнагулова, В.А. Куркин // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. Материалы научно-практической конференции с международным участием «Фармацевтическая наука: достижения, инновации и перспективы». – 2015. - № 16. – С. 10-11.

Патент

1. Патент РФ на изобретение 2577713. – А61К35/45 (заявка № 2014133928 от 18.08.2014). «Сироп одуванчика лекарственного» / В.А. Куркин, А.В. Азнагулова. – Решение о выдаче патента 25.12.2015 г.