

На правах рукописи

БОМБЕЛА ТАТЬЯНА ВЛАДИМИРОВНА

**МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ,
СТАНДАРТИЗАЦИИ СЫРЬЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВИДОВ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ РОДА *EUPHRASIA***

14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора фармацевтических наук

Самара 2017

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант:

доктор фармацевтических наук, профессор

Белоногова Валентина Дмитриевна

Официальные оппоненты:

Браславский Валерий Борисович, доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, доцент кафедры

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

Ханина Миниса Абдуллаевна, доктор фармацевтических наук, профессор, государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет» Министерства образования Московской области, кафедра химии, заведующий кафедрой

Ведущая организация:

Пятигорский медико-фармацевтический институт - филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пятигорск.

Защита диссертации состоится «__» _____ 2017 г. в __.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.085.06 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего 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/scientists/science/referats/2017>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «____» _____ 2017 г.

Ученый секретарь

Диссертационного совета Д 208.085.06,
кандидат фармацевтических наук, доцент

Петрухина Ирина Константиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Терапевтическая ценность лекарственных растений признана научной медициной, они тщательно изучаются с целью создания на их основе лекарственных препаратов. Критерием перспективности растительных объектов для изучения и введения в медицинскую практику является опыт народной медицины. Однако внедрение может быть затруднено в связи с полиморфизмом, широко распространенным в растительном мире.

Полиморфизм отмечен во многих родах, в том числе и лекарственных растений, с разнообразным видовым составом. Особые затруднения связаны с идентификацией видов при заготовке сырья, возникает необходимость изучения глубины изменчивости морфолого-анатомических и биохимических параметров в зависимости от климатических, географических и прочих факторов внешней среды [Баева, 2005].

Сложность и многообразие процессов, приводящих к возникновению полиморфизма, а также его широкое распространение среди лекарственных растений требует разработки научно-методологических подходов к фармакогностическому изучению и стандартизации полиморфных видов, при этом использование рода Очанка (О.) – *Euphrasia* L. (E.) семейства Норичниковые – *Scrophulariaceae* Juss., в качестве примера, является целесообразным.

Род *Euphrasia* наиболее сложный в систематическом отношении. Причины обусловлены большим количеством видов, полиморфизмом большинства из них, широким развитием процессов гибридизации, приводящих к возникновению многочисленных промежуточных форм.

Региональная флора Пермского края насчитывает одиннадцать видов рода *Euphrasia*, которые встречаются во всех ботанико-географических зонах края, что позволяет провести их изучение на популяционном уровне с привлечением сравнительного материала из различных точек ареала вида, анализируя взаимоотношения между видами.

Растения рода Очанка содержат высокоактивные природные соединения, издавна используются в народной медицине для лечения заболеваний глаз, верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта. *Euphrasiae Herba* – Очанки трава давно и эффективно применяется в научной медицине стран Западной Европы и является фармакопейным лекарственным средством в Англии, Польше и Германии. В качестве лекарственного сырья используется трава различных видов. Так, в Англии применяется *E. officinalis*, в Польше *E. Roskoviana* и *E. stricta*, а в Германии дополнительно к последним двум видам разрешены и гибридные формы очанок [Растительные ресурсы..., 1990; Deutsches Arzneimittel Codex, 1997].

Государственным Регистром лекарственных средств России [Регистр лекарственных ..., 2005, 2006] разрешены к использованию более 20 наименований одно- и многокомпонентных биологически активных добавок (БАД) к пище отечественного и импортного производства. В качестве растительных компонентов в этих препаратах используются *E. brevipila* Burn. et Greml, *E. parviflora* Schag., *E. officinalis* L., *E. stricta* D. Wolff ex J.F. Lehm., *E. tatarica* Fisch. ex Spreng. При этом, основными показаниями к применению травы очанки являются: ухудшение зрения, аллергические реакции различного генеза, снижение иммунитета и другие.

Несмотря на повышенный интерес к растениям рода Очанка, до настоящего времени ни один вид не имеет официального статуса в России. По этой же причине сырье различных видов очанок не используется для выпуска брикетированной и таблетированной продукции, а также для производства экстракционных (настойки, экстракты) и комбинированных лекарственных препаратов.

Все вышесказанное определяет необходимость и актуальность настоящего исследования.

Степень разработанности темы исследования. Необходимо отметить, что род *Euphrasia* постоянно вызывает интерес ученых, как перспективный для внедрения в научную медицину [Сухина, 2002; Кроткова, 2012], а также как представитель группы паразитических растений семейства Норичниковые [Петриченко, 2006; Киселева, 2013]. В ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России на кафедре фармакогнозии с курсом ботаники изучена фармакогностическая характеристика растений семейства *Scrophulariaceae*, имеющих различный тип питания [Петриченко, 2006]. Одним из восьми объектов сравнительного исследования являлся род *Euphrasia*, характеризующийся полупаразитическим типом существования. Очанка коротковолосистая (*E. brevipila* Burnat et Gremli) являлась одним из пяти объектов ботанических исследований, выполненных в ФГБУ «Ботанический сад» Уральского отделения Российской академии наук, как однолетний представитель гемипаразитических Норичниковых [Киселева, 2013].

Однако комплексные научные исследования, направленные на решение проблем таксономии, видоидентификации и стандартизации лекарственных растений, характеризующихся полиморфизмом, на примере рода *Euphrasia* семейства *Scrophulariaceae*, проведены впервые.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы является формирование новых методологических подходов к фармакогностическому изучению и стандартизации лекарственных растений, характеризующихся полиморфизмом, на основании сравнительного анализа фармакологических свойств, анатомо-морфологических, биохимических признаков и глубины их изменчивости на примере растений рода *Euphrasia*.

Для решения поставленной цели были обозначены следующие задачи:

- провести анализ литературных данных о современном состоянии систематических, биологических, фитохимических и фармакологических исследований рода *Euphrasia* и дать теоретическое обоснование необходимости и возможности их применения в медицинской практике;
- изучить ресурсный потенциал растений рода *Euphrasia* на территории Пермского края, для анализа обеспеченности сырьевой базы;
- исследовать токсичность и биологические свойства растений рода *Euphrasia*, с оценкой потенциала их фармакологической перспективности;
- изучить морфолого-анатомическое строение растений рода *Euphrasia* для установления показателей подлинности лекарственного растительного сырья;
- провести сравнительный фитохимический анализ продуктов первичного и вторичного метаболизма, а также элементного состава у перспективных видов рода *Euphrasia* и установить диагностически значимые компоненты и возможность их использования в хемосистематике, а также в аналитических целях;
- исследовать закономерности накопления и распределения фенольных соединений и иридоидов под влиянием географических факторов и биологических особенностей рода *Euphrasia*, с оценкой глубины их изменчивости;
- провести стандартизацию сырья полиморфных видов лекарственных растений на примере рода *Euphrasia*, с учетом вариантов гипотетически возможных в природе (методом математического планирования);
- разработать методики качественного и количественного анализа сырья очанки, для включения в нормативную документацию на лекарственное растительное сырье и фитопрепараты на их основе;

- разработать, состав и технологические параметры получения фитопрепаратов на основе растений рода *Euphrasia* и провести их стандартизацию;
- разработать нормативную документацию на ЛРС «Очанки трава» и фитопрепараты на её основе.

Научная новизна исследований. Комплексное исследование представителей рода *Euphrasia* позволило сформулировать научно-методологические принципы фармакогностического изучения лекарственных растений, характеризующихся полиморфизмом, и обосновать возможность их использования в медицинской практике.

На основании ботанического анализа флоры России, сопредельных государств, региональной флоры Пермского края выделены перспективные виды растений рода Очанка для углубленных исследований.

Изучен ресурсный потенциал растений рода Очанка на территории Пермского края. Составлена карта-схема распространения данного рода на территории края, для проведения мероприятий по заготовке сырья.

Впервые проведены скрининговые фармакологические исследования полиморфных видов рода Очанка. Выявлено, что все изученные виды обладают низкой токсичностью и одинаковым уровнем биологической активности и являются перспективными для внедрения в медицинскую практику, в качестве источников сырья – очанки трава. Полученные результаты позволяют рекомендовать растения рода Очанка в качестве объектов для получения на их основе фитопрепаратов, обладающих противовоспалительным, гипотензивным, антикоагулянтным, антирадикальным и антимикробным действием. С использованием коэффициентов корреляции установлены группы БАВ, оказывающих наибольший вклад в биологическую активность.

В результате сравнительного морфолого-анатомического исследования, с использованием методов цифровой макро- и микроскопии вегетативных органов рода Очанка, выявлен комплекс морфолого-анатомических признаков, характеризующий исследуемый род, а также позволяющий проводить дифференциальную диагностику морфологически близких, полиморфных видов.

Впервые с помощью современных физико-химических методов (ВЭЖХ, ГЖХ МС и др.) проведено сравнительное фитохимическое изучение БАВ у перспективных видов рода Очанка. Данные исследования позволили установить значение продуктов первичного и вторичного обмена, элементного состава для видоидентификации и таксономии.

Определен качественный состав и количественное содержание углеводов и аминокислот у перспективных видов рода Очанка. Впервые из травы очанки коротковолосистой выделены углеводные фракции и установлена структура углеводного комплекса: водорастворимые полисахариды (ВРПС) относятся к галактоарабанам; пектиновые вещества (ПВ) – галактоксиламам; Гемиллюлоза (ГЦ) А и В относятся к ксилоарабанам и ксилоглюканам, соответственно.

Постоянными компонентами аминокислотного комплекса рода *Euphrasia* являются гистидин в свободном и связанном состоянии, треонин и аланин в связанном, а аргинин в свободном виде. По количественному содержанию доминирующим является аланин в свободном (2,42 – 2,93 мкг/мг) и связанном (6,10 – 10,93 мкг/мг) состоянии.

Впервые изучен липофильный комплекс семян у растений рода *Euphrasia*. Установлено, что в маслах семян доминируют непредельные кислоты С:18 – линоленовая, линолевая, олеиновая. Основу пула насыщенных жирных кислот составляют пальмитиновая и стеариновая кислоты. Среднее значение концентраций высших жирных кислот исследованных видов можно

рассматривать в качестве жирнокислотного профиля масел семян рода *Euphrasia* и использовать в хемотаксономических целях.

Установлен элементный состав исследуемых видов рода Очанка, который представлен 24 элементами, учитывая их содержание они отнесены к микро- и ультрамикроразнообразиям. В траве изученных видов содержатся жизненно важные элементы – кобальт, медь, молибден, хром, цинк. Установлено, что исследуемые виды накапливают свинец, при этом его концентрация не превышает ПДК, принятые для биологически активных добавок. Повышенное содержание минеральных веществ отмечается в органах, осуществляющих активную фотосинтетическую деятельность (листья), а также принимающих участие в процессах размножения (цветки, плоды, семена).

Впервые проведено изучение, с использованием метода ВЭЖХ, фенольных соединений у перспективных видов рода *Euphrasia*. Всего обнаружено от 15 до 28 компонентов, из которых идентифицировано 13 веществ, относящихся к различным классам природных соединений: фенолкарбоновые (ФКК) и гидроксикоричные кислоты (ГКК), флавоноиды, кумариновые производные. Доминирующими компонентами фенольного комплекса у всех видов являются фенолкарбоновые и гидроксикоричные кислоты.

Установлено, что растения рода *Euphrasia* характеризуются незначительной вариабельностью флавоноидного и иридоидного пула. Общими для исследуемого рода являются девять флавоноидных и пять иридоидных веществ, в том числе лютеолин-7-О-глюкозид (цинарозид) и аукубин. Накопление гидроксикоричных и фенолкарбоновых кислот значительно варьирует внутри рода, типичным компонентом является хлорогеновая кислота. Идентифицированные вещества являются химическими маркерами рода *Euphrasia*, и использованы при стандартизации сырья.

Впервые изучена межпопуляционная (географическая) изменчивость накопления биологически активных веществ (БАВ) в траве, а также по органам исследуемых видов рода «Очанка». Географический фактор не оказывает существенного влияния на накопление БАВ, поэтому заготовку сырья можно вести по всему ареалу данного растения. Исследуемые виды рода *Euphrasia*, характеризуются средней вариабельностью межпопуляционной изменчивости по содержанию флавоноидов и окисляемых веществ, что позволяет говорить о стабильности данных показателей внутри ценопопуляции. Содержание иридоидов характеризуется высокой вариабельностью, и не позволяют использовать данный показатель для характеристики качества лекарственного сырья. Определены предпочтительные фитоценозы для сбора растительного сырья в природе, позволяющие накапливать максимальную фитомассу и наибольшее количество БАВ.

Результаты анатомо-морфологических и фитохимических исследований послужили основой для разработки единых подходов к стандартизации сырья и фитопрепаратов на основании установленных групп БАВ, отвечающих за фармакологический эффект, в соответствии с современными требованиями.

Впервые предложено для морфологически близких, полиморфных видов, произрастающих совместно, при разработке числовых показателей учитывать результаты товароведческого анализа модельной смеси, составленной и проанализированной с использованием метода математического планирования.

Приоритет проведенных исследований защищен 4 патентами РФ на изобретение: «Способ получения средства, обладающего противовоспалительной и гипотензивной активностью» (патент № 2220735), «Унифицированный способ количественного определения флавоноидов в траве и экстракционных препаратах очанки» (патент № 2266544),

«Фармацевтическое средство для лечения заболеваний суставов и способ его получения» (патент № 2342946) и «Средство, обладающее антимикробным, противовоспалительным и анестезирующим действием, и способ его получения» (патент № 239671).

Теоретическая и практическая значимость исследований. Проведенные комплексные исследования по сравнительному изучению фармакологических свойств, анатомо-морфологических и биохимических признаков, а также глубины их изменчивости у представителей рода *Euphrasia* семейства *Scrophulariaceae*, позволили сформулировать ряд правил, способствующих рациональному внедрению в научную медицину полиморфных видов лекарственных растений. На основании этого предложена концепция фармакогностического изучения, стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений, которая может быть взята за основу при исследовании полиморфных видов из других родов, семейств и дополнена с учетом биологических особенностей исследуемого таксона и механизма возникновения полиморфизма.

Результаты проведенного сравнительного фитохимического анализа продуктов первичного и вторичного обмена расширят сведения о химическом составе растений рода *Euphrasia*.

Разработана и апробирована спектрофотометрическая методика количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в перерасчете на хлорогеновую кислоту. Установлены валидационные характеристики данной методики, а также ранее разработанной методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид, включенной в НД «Очанки трава».

Научно обоснованы технологические параметры получения фитопрепаратов (настойка, экстракт сухой, экстракт жидкий), косметического средства (фитокрем) на основе травы очанки коротковолосистой, определены показатели качества и методики стандартизации.

Методология и методы исследования. Методология исследования построена на трех этапах: I – основан на информационном поиске и анализе литературных данных, оценке степени разработанности и актуальности темы, постановке цели и задач исследования по экспериментальному обоснованию возможности внедрения в медицинскую практику сырья полиморфных видов лекарственных растений; II этап – базируется на сравнительном изучении фармакологических свойств, а также анатомо-морфологических и биохимических признаков и глубины их изменчивости на примере растений рода *Euphrasia*, биологической особенностью которого является полиморфизм; III этап – заключается в разработке НД на ЛРС; разработке составов и способов получения фитопрепаратов и методик их стандартизации; формулировании выводов, определяющих теоретические и практические рекомендации материалов диссертационной работы.

Объектами исследования служили представители рода *Euphrasia*, собранные на территории Европейской части России, в том числе и в различных ботанико-географических районах Пермского края, что позволило провести изучение глубины изменчивости признаков на популяционном уровне, анализируя взаимоотношения между видами.

В ходе исследования были использованы современные методы физико-химического анализа: хроматография в тонком слое сорбента и на бумаге, высокоэффективная жидкостная хроматография, газовая хроматография, газовая хромато-масс-спектрометрия, спектрофотометрия, титриметрия, а также метод математического планирования. Изучение микропрепаратов проводили с помощью микроскопа «Motic» (Германия), используя цифровую насадку. Фотографию микропрепаратов проводили с использованием цифрового фотоаппарата

марки Canon A 720 I. Оценку фармакологической активности и острой токсичности проводили по общепринятым методикам.

Положения, выносимые на защиту:

- экспериментально-теоретическое обоснование возможности и рациональности внедрения в научную медицину сырья полиморфных видов лекарственных растений на примере рода *Euphrasia*;
- результаты изучения ресурсного потенциала растений рода *Euphrasia* на территории Пермского края;
- результаты исследования токсичности и фармакологической активности перспективных видов рода *Euphrasia*;
- результаты морфолого-анатомического исследования растений рода *Euphrasia*;
- результаты сравнительного фитохимического изучения веществ первичного и вторичного метаболизма, элементного состава исследуемых видов рода *Euphrasia*, их значения для таксономии и видоидентификации;
- результаты изучения внутри- и межвидовой изменчивости фенольных соединений и иридоидов в растениях рода *Euphrasia*, в зависимости от географических факторов и биологических особенностей рода;
- результаты исследований по стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений на примере рода *Euphrasia*.

Степень достоверности результатов. Научные положения, выводы и рекомендации базируются на достаточном количестве экспериментальных исследований; использованы современные физико-химические методы анализа, математическое планирование, исследования подтверждаются большим количеством табличного материала, микрофотографиями и рисунками. Статистическую обработку результатов проводили согласно требованиям ГФ XII с помощью программы «Microsoft Excel 2010» и «STAT».

Апробация результатов исследований. Основные положения работы доложены и обсуждены на: ежегодных научно-практических конференциях Пермской государственной фармацевтической академии (Пермь, 1994 – 2014); областных межвузовских конференциях «Экология: проблемы и пути решения» (Пермь, 1996 – 2002); научно-практических конференциях «Современные тенденции развития фармации» (Самара, 1999) и «Фармацевтическая наука и практика» (Кемерово, 1999); 2-м съезде Российского научного общества фармакологов (Москва, 2003); научной конференции, посвященной 20-летию кафедры фармакогнозии ЯГМА (Ярославль, 2004); Российско-Китайской научной конференции (Пермь, 2006); Российской научно-практической конференции «Создание лекарственных средств на основе продуктов природного происхождения» (Пермь, 2010); Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежная наука и современность» (Курск, 2011); Конкурсе «Молодежная инновационная медицина XXI века», проходившем в рамках конгресса «Здравоохранение Российской Федерации, стран СНГ и Европы» (Москва, 2011); Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2005, 2012, 2013).

Внедрение результатов исследования. На основании проведенных исследований разработаны:

- проект фармакопейной статьи «Очанки трава» для включения в ГФ XIII издания (направлен в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России);

– проект «Инструкция по сбору и сушке очанки травы» (направлен в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России),

– проект нормативного документа «Очанки настойка», согласован и апробирован ООО «НПК «Апифито групп»,

– проект нормативного документа «Очанки экстракт жидкий», согласован и апробирован ООО «НПК «Апифито групп».

– проект нормативного документа «Очанки экстракт сухой. Субстанция», согласован и апробирован ООО «НПК «Апифито групп»,

Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе кафедры фармакогнозии с курсом ботаники Пермской государственной фармацевтической академии, кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии Самарского государственного медицинского университета, кафедры фармакогнозии и ботаники Новосибирского государственного медицинского университета, кафедры фармакогнозии и фармацевтической технологии Ярославской государственной медицинской академии.

Результаты исследования использованы для написания монографии В.М. Петриченко, Т.В. Сухина «Очанки Западного Урала (фармакогностические и биологические аспекты)» и учебного пособия Т.В. Бомбела, О.А. Кроткова «Микродиагностические признаки перспективных видов рода Очанка», утвержденные Ученым советом ПГФА.

Личный вклад автора. Автору принадлежит ведущая роль в разработке методологических основ, научном обосновании и обобщении полученных результатов. Все приведенные в диссертации экспериментальные данные получены под руководством и при личном участии автора, оформлены статьи по материалам исследования, автореферат и диссертация.

Связь темы диссертации с планом основных научно-исследовательских работ академии. Диссертация выполнена в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (государственная регистрация 01.9.50007426).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2, 3 и 6 паспорта специальности – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Публикации. По теме диссертации опубликовано 65 научных работ, из них 20 статей в журналах, включенных ВАК Минобрнауки РФ в перечень рецензируемых научных изданий, монография «Очанки Западного Урала (фармакогностические и биологические аспекты)» и учебное пособие «Микродиагностические признаки перспективных видов рода Очанка». Получены 4 патента РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 366 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы (глава 1), объекты и методы (глава 2), шести глав экспериментальной части, общих выводов, заключения, списка литературы и приложения; иллюстрирована 69 рисунками, 93 таблицами. Список литературы включает 324 источника, из них 56 на иностранных языках.

Во введении сформулированы актуальность выбранной темы, цели и задачи исследования, определены научная новизна и практическая значимость работы.

В разделе «методологические основы фармакогностического изучения, стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений на примере рода *Euphrasia*» приведена концептуальная схема, включающая шесть научно-исследовательских компонентов, а также обоснование представленной концепции.

Первая глава посвящена обзору литературы по современному состоянию и перспективам фармакогностического изучения растений рода *Euphrasia*. Рассмотрены и обобщены сведения по систематическому положению, биологическим особенностям рода (полиморфизм, гемипаразитизм), химическому составу, а также данным о доклинических и клинических исследованиях и перспективах внедрения исследуемого рода в медицинскую практику.

Во второй главе приведены характеристика объектов исследования, краткое описание методов анализа, приборов и реактивов, использованных в работе, а также статистической обработки результатов.

В третьей главе представлены результаты по распространению, встречаемости, а также ресурсоведческих исследований очанки коротковолосистой на территории Пермского края.

Четвертая глава отражает результаты исследования острой токсичности и фармакологической активности изученных видов рода *Euphrasia*.

Пятая глава содержит результаты сравнительного анатомо-морфологического исследования перспективных видов рода *Euphrasia*, а также морфологического аналога зубчатки обыкновенной, как возможной примеси к траве очанки. Кроме того, приведены данные по проявлению анатомо-диагностических признаков измельченного лекарственного растительного сырья.

Шестая глава посвящена исследованию качественного состава и количественного содержания продуктов первичного и вторичного метаболизма, и элементного состава, а также закономерностей их накопления.

В главе семь представлены результаты по разработке методик качественного и количественного определения основных групп БАВ. Изучена возможность стандартизации растений рода *Euphrasia* по содержанию суммы гидроксикоричных кислот, проведена валидация методик количественного определения БАВ, определяющих фармакологическую активность. Приведены результаты определения товароведческих показателей ЛРС, характеризующегося полиморфизмом с учетом вариантов гипотетически возможных в природе.

Восьмая глава посвящена разработке оптимальных технологических параметров и стандартизации фитопрепаратов на основе растений рода Очанка.

В приложение вынесены информационные данные по сравнительному анализу морфолого-анатомических признаков видов рода *Euphrasia*; таблицы аналитических данных по стандартизации ЛРС; проекты нормативной документации, акты внедрения, патенты.

**МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ,
СТАНДАРТИЗАЦИИ СЫРЬЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВИДОВ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ РОДА *EUPHRASIA***

При фармакогностическом изучении лекарственных растений полиморфизм создает целый ряд проблем и требует специфических подходов. Проведенные комплексные исследования по сравнительному изучению фармакологических свойств, анатомо-морфологических и биохимических признаков, а также глубины их изменчивости у представителей рода *Euphrasia* семейства *Scrophulariaceae*, позволили сформулировать ряд

правил, способствующих рациональному внедрению в научную медицину полиморфных видов лекарственных растений. На основании этого предложена концепция фармакогностического изучения полиморфных видов лекарственных растений, которая может быть взята за основу при исследовании полиморфных видов из других родов, семейств и дополнена с учетом биологических особенностей исследуемого таксона и механизма возникновения полиморфизма.

Концепция включает шесть научно-исследовательских компонентов, среди которых выделяются три базовых для научного обоснованного подхода к стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений (рис. 1).

Первый компонент – флористический анализ и ресурсоведческие исследования изучаемого рода. Данный этап предназначен для выбора объектов исследования, перспективных для углубленного изучения, на основании флористического анализа ботанической литературы. Информационные данные по распространению и встречаемости исследуемого рода могут быть подтверждены на практике, в ходе ресурсоведческих исследований.

Критериями выбора объектов исследования являются наличие или отсутствие у вида следующих показателей: признаков полиморфизма (стойких диагностических признаков), строгой экологической приуроченности к местообитанию, а также степень распространения и частота встречаемости вида во флоре региона.

В качестве объектов, перспективных для углубленного изучения, рекомендуются виды, характеризующиеся:

- морфологическим сходством, при этом указанные в ботанической литературе признаки не представляют диагностической ценности, так как варьируют от места произрастания;
- однотипными местами обитания, или совместно произрастающие;
- обширным ареалом распространения на территории России;
- частой встречаемостью на территории региона исследования.

Эндемичные виды, встречающиеся только в определенной и ограниченной географической области и не встречающиеся в других местах, а также имеющие строгую экологическую приуроченность и стойкие отличительные морфологические признаки, не представляют исследовательского интереса.

Используя выше названные критерии, проведен анализ флоры России и сопредельных государств, а также региональной флоры Пермского края. Установлено, что все виды рода *Euphrasia*, произрастающие в Пермском крае, имеют обширный ареал на территории России, а также встречаются во всех ботанико-географических районах края; являются морфологически близкими (отсутствуют стойкие диагностические признаки); имеют типичные места обитания (луговые, лугово-лесные сообщества); часто произрастают совместно.

Флора Пермского края представлена одиннадцатью видами данного рода. Проведенные экспедиционные обследования позволили расширить данные по встречаемости и распространению видов рода в исследуемом регионе. Очанка онежская, о. волосистенькая, о. весенняя и о. Ветштейна являются раноцветущими (короткоцветущими) видами, то есть вегетируют в течение одного - двух месяцев, при этом имеют незначительный габитус и относятся к «редко» или «изредка» встречающимся. Очанка лекарственная, о. татарская, о. прямая, о. Рейтера, о. Мурбека, о. коротковолосистая, о. мелкоцветная являются поздноцветущими (долгоцветущими) видами, то есть вегетируют в течение трех – четырех месяцев, достигают значительных размеров и накапливают максимальную фитомассу, относятся к «часто» или «нередко» встречающимся. Установлено что, Пермский край обладает

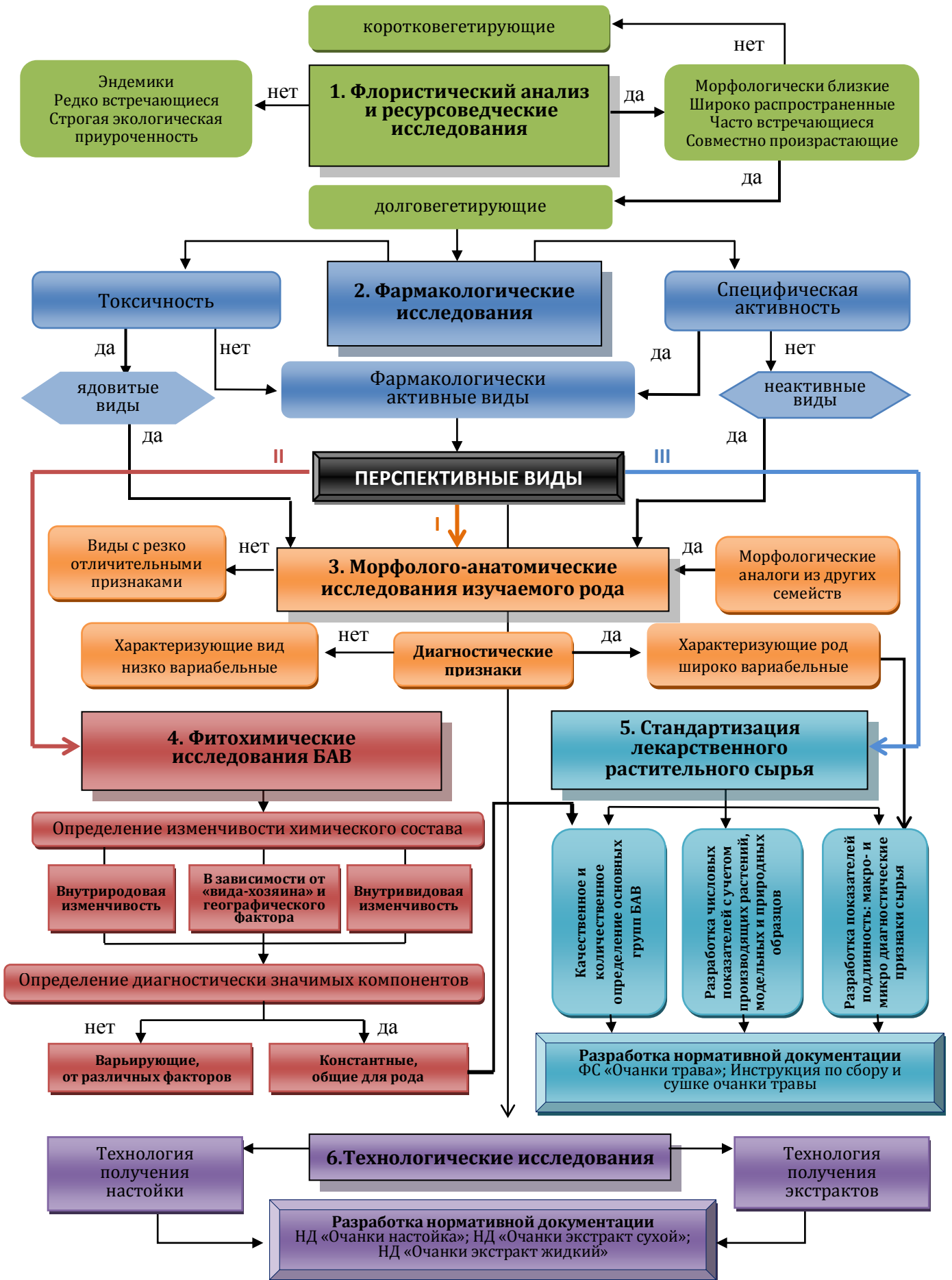


Рис. 1. Концепция фармакогностического изучения и стандартизации полиморфных видов лекарственных растений на примере рода *Euphrasia*.

достаточным потенциалом ресурсов ЛРС – травы очанки и при соблюдении режимов рациональной эксплуатации зарослей может служить сырьевой базой для нужд практического здравоохранения.

Таким образом, в качестве перспективных объектов для дальнейшего изучения выбраны долговегетирующие виды. Они часто произрастают совместно, характеризуются морфологическим сходством, экологической пластичностью диагностических признаков, которые в значительной степени подвержены влиянию условий обитания, а также, учитывая биологическую особенность рода *Euphrasia* (растение гемипаразит), вероятно, могут изменяться в зависимости от «вида-хозяина».

Второй компонент – фармакологические исследования. Данный этап позволяет определить эффективность и безопасность исследуемых видов растительного сырья, и научно обосновать целесообразность использования в медицине полиморфных видов.

Фармакологические исследования проводятся по двум направлениям: острая токсичность и специфическая активность. Определение острой токсичности позволяет оценить безопасность ЛРС и установить токсичные виды, которые будут отнесены к ядовитым примесям, не допустимым при сборе сырья. Исследование специфической активности позволяет устанавливать виды, эффективные в отношении заявленного действия, а также виды, не проявляющие фармакологическую активность, которые так же будут отнесены к недопустимым примесям. Выбор вида специфической активности проведен путем анализа информационных данных о применении исследуемого рода в научной и народной медицине.

Отбор полиморфных видов, перспективных для дальнейшего изучения предложено проводить по «условной широте фармакологической перспективности». При этом лимитирующими факторами, ограничивающими использование вида, являются его токсичность или отсутствие у него исследуемой специфической активности.

Таким образом, под «условной широтой фармакологической перспективности» подразумевают диапазон перспективных видов, обладающих низкой токсичностью и одинаковым уровнем фармакологического действия.

Анализируя литературные данные о применении растений рода Очанка в официальной и традиционной медицине России и зарубежных стран, выбраны пять основных видов фармакологической активности.

Исследование противовоспалительной активности продиктовано применением травы различных видов рода Очанка в научной медицине стран Западной Европы, являясь фармакопейным лекарственным средством в Англии, Польше и Германии, используется как противовоспалительное, вяжущее и антисклеротическое средство [Энциклопедический словарь ..., 1999; Deutsches Arzneimittel Codex, Diener, 1969].

Изучение гипотензивной активности связано с тем, что наиболее полно изучено влияние экстракционных препаратов очанки, согласно литературным данным, на сердечно-сосудистую систему. Установлено выраженное гипотензивное и кардиотропное действия [Сухина, 2002; Юсупова, 1956, Юсупова, 1957; Зеленский, 1958].

Учитывая положительный опыт использования в народной и научной медицине травы очанки для лечения заболеваний глаз, а также причины возникновения и механизмы развития патологических состояний глаз, изучено антикоагулянтное, антирадикальное и антимикробное действие у исследованных видов очанки [Воронова, 1998; Поляковская, 1986; Diener, 1969; Weiss, 1974].

Выбор антикоагулянтной активности продиктован широким применением антикоагулянтов в комплексной терапии сосудистой патологии глаз [Роль антикоагулянтов ...,

2005]. Исследование антирадикальной активности связано с тем, что сетчатка глаза относится к числу наиболее уязвимых и нуждающихся в антиоксидантной защите [Мерзлек, 1989]. Исследование антимикробного действия обосновано использованием лекарственных растений при заболеваниях глаз инфекционной и воспалительной природы [Марголис, 1976; Можеренков, 1978].

Острую токсичность изучали на белых мышах, с использованием рекомендаций Прозоровского.

Объектами фармакологических исследований являлись извлечения (водные и спиртовые), полученные из семи долговегетирующих видов рода *Euphrasia*.

На основании проведенных фармакологических исследований установлено, что все изученные виды очанки обладают низкой токсичностью и одинаковым уровнем фармакологической активности, являются перспективными для углубленного изучения.

Таким образом, научно обоснована на примере рода *Euphrasia* целесообразность использования в медицинской практике полиморфных видов, для включения в НД в качестве производящих растений и для получения на их основе фитопрепаратов, обладающих противовоспалительным, гипотензивным, антикоагулянтным, антирадикальным и антимикробным действием.

Третий компонент – морфолого-анатомические исследования, направлен на установление макро- и микро- диагностических признаков растительного сырья, характеризующихся полиморфным строением, совместно произрастающих и является первым базовым компонентом (I) для научно обоснованного подхода к стандартизации сырья полиморфных видов.

Основными объектами исследования являются фармакологически активные виды. Кроме этого, в сравнительном аспекте, необходимо провести изучение возможных примесей, к исследуемому ЛРС:

- ядовитых видов исследуемого рода;
- видов, не проявляющих биологическую активность, в отношении исследуемого фармакологического действия;
- морфологически близких видов из других родов или семейств.

Виды, имеющие резко отличительные признаки не исследуются.

Основными объектами морфолого-анатомического изучения являлись все исследуемые представители рода *Euphrasia*, как виды обладающие «условной шириной фармакологической перспективности». В ходе фармакологических исследований не были установлены ядовитые виды и виды, не проявляющие активности. При этом, в связи с наличием у травы очанки рода, близкого по морфологическому строению, изучена зубчатка обыкновенная, как возможная примесь к траве очанки и установлены отличительные признаки внешней и внутренней структуры. В сравнительном аспекте исследовано морфолого-анатомическое строение очанки весенней, как представителя коротковегетирующих видов.

Установлено, что в основе диагнозов подлинности у растений, характеризующихся полиморфизмом, необходимо закладывать родовые, широко вариабельные признаки внешней и внутренней структуры. Для дифференциальной диагностики видов необходимо использовать комплекс морфолого-анатомических признаков, выбранный на основании статистических исследований.

Таким образом, проведенные с использованием методов цифровой макро- и микроскопии исследования, позволили установить диагностические признаки, рекомендуемые

для включения в раздел «Подлинность» в нормативную документацию на очанки траву.

Четвертый компонент – **фитохимические исследования БАВ**. Данный этап позволяет установить диагностически значимые компоненты для использования в аналитических целях и является вторым базовым компонентом (II) для научно обоснованного подхода к стандартизации сырья полиморфных видов.

Фитохимические исследования направлены на изучение химического состава и определение глубины его изменчивости. Изменчивость биохимических признаков для полиморфных видов необходимо исследовать на межвидовом и популяционном уровне, а также учитывая влияние эколого-географических факторов и биологических особенностей исследуемого рода.

Константные компоненты, общие для исследуемого рода являются диагностически значимыми для стандартизации сырья и разработки на их основе методик качественного и количественного определения действующих веществ. Компоненты минорные, редко встречающиеся, варьирующие в зависимости от различных факторов, не могут быть использованы для стандартизации сырья полиморфных видов.

Объектами исследования явились перспективные виды, отобранные в ходе флористического анализа, ресурсоведческого и фармакологического исследований изучаемого рода.

В ходе сравнительного анализа исследуемых видов рода *Euphrasia*, установлен компонентный состав и количественное содержание продуктов первичного и вторичного метаболизма, а также макро- и микроэлементов. Определены доминирующие группы БАВ, вероятно, определяющие фармакологическую активность растения рода *Euphrasia*. Установлено, что в качестве диагностически значимых компонентов необходимо закладывать константные компоненты, общие для исследуемого рода. С целью разработки на их основе методик стандартизации, для включения их в нормативную документацию.

С привлечением сравнительного материала из разных точек ареала, изучено влияние географического фактора на изменчивость компонентного состава и количественного содержания фенольных и иридоидных соединений. Установлено, что заготовку сырья можно вести по всему ареалу данного растения.

Учитывая биологическую особенность рода *Euphrasia* (растение гемипаразит), а также фармакологическую ценность основных групп БАВ, определен порядок их накопления в зависимости от «вида-хозяина» на межпопуляционном уровне. Установлены предпочтительные фитоценозы для сбора растительного сырья.

Пятый компонент – **стандартизация лекарственного растительного сырья**, предусматривает выбор вида сырья, сырьевых источников (производящих растений), торгового названия и составление нормативной документации (НД). Данный этап является третьим базовым компонентом (III) для научно обоснованного подхода к стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений.

Стандартизация проводится в трех направлениях: 1. разработка показателей подлинности; 2. разработка методик качественного и количественного определения действующих веществ, отвечающих параметрам валидации; 3. разработка числовых показателей.

Первое направления базируется на результатах, полученных в ходе морфолого-анатомических исследований; второе на результатах фитохимических исследований. При разработке числовых (направление 3) показателей необходимо учитывать результаты

товароведческого анализа производящих растений, природных образцов, содержащих смесь видов, а также модельной смеси, составленной и проанализированной с использованием метода математического планирования. Модельный образец воспроизводит варианты гипотетически возможные в природе, а данный метод позволяет при ограниченном количестве опытов получить достаточный для анализа и обоснования выводов объем информации.

Таким образом, в результате проведенных исследований, обоснована возможность использования в качестве производящих растений, широко распространенных, систематически близких, полиморфных видов рода Очанка: очанки коротковолосистой; очанки мелкоцветной; очанки Рейтера, очанки лекарственной, очанки татарской, очанки Мурбека и очанки прямой.

Определены диагностические признаки внешнего и внутреннего строения, включенные в разделы «Внешние признаки» и «Микроскопия». Разработаны методики качественного и количественного определения действующих веществ, на основе константных компонентов фенольного и иридоидного комплекса, отвечающих параметрам валидации. Для морфологически близких, полиморфных видов, произрастающих совместно, нормирование числовых показателей выполнено с учетом результатов товароведческого анализа производящих растений, модельных и природных образцов, содержащих смесь видов.

На основании полученных результатов оформлен проект фармакопейной статьи (ФС) «*Euphrasiae Herba*» и «Инструкция по сбору и сушке очанки травы».

Шестой компонент – технологические исследования, является начальным этапом жизненного цикла нового лекарственного средства (ЛС). Данный компонент позволяет устанавливать оптимальные технологические параметры получения фитопрепаратов, изготавливать экспериментальные серии в лабораторных условиях для разработки методик испытания лекарственного средства и опытных серий в промышленных условиях для проведения доклинических и клинических исследований ЛС и изучения их стабильности в процессе хранения.

В ходе технологических исследований, проведенных на основе стандартизованного лекарственного растительного сырья очанки, разработаны оптимальные технологические параметры получения настойки и экстрактов (сухого и жидкого), а также состав и способ получения косметического средства (фитокрем) на основе липофильного (масляный экстракт очанки) и гидрофильного комплекса (геля метилцеллюлозы, приготовленного на основе отвара очанки) биологически активных веществ травы *Euphrasia*. Результаты фитохимического исследования травы очанки послужили основой для разработки единых подходов к стандартизации сырья и фитопрепаратов в соответствии с современными требованиями и группами действующих БАВ и включены в нормативную документацию. По результатам фармацевтической разработки оформлены и согласованы с ООО «НПК «Апифитогруп» проекты нормативных документов предприятия: «Очанки настойка»; «Очанки экстракт жидкий»; «Очанки экстракт сухой. Субстанция».

Предложенная концепция может быть методологической основой для проведения сравнительного исследования полиморфных видов из других родов и семейств, направленного на определение результативности использования разработанной концепции, а также на добавление новых научно-исследовательских и информационных компонентов схемы.

Научные сведения по морфолого-анатомическому строению, химическому составу, фармакологическим свойствам, ресурсоведческой характеристике, технологическим аспектам могут быть обобщены и включены в учебные пособия и курс лекций для студентов, интернов и аспирантов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основными объектами исследования служили семь долговегетирующих видов рода Очанка – *Euphrasia L.*, сем. Норичниковые – *Scrophulariaceae Juss.*: *Euphrasia officinalis L.* – очанка лекарственная; *E. tatarica Fisch. ex Spreng.* – о. татарская; *E. stricta D. Wolff ex J.F. Lehm.* – о. прямая; *E. × reuteri Wettst.* – о. Рейтера; *E. × murbeckii Wettst.* – о. Мурбека; *E. brevipila Burn. et Gremli* – о. коротковолосистая; *E. parviflora Schag.* – о. мелкоцветная. Вид *E. vernalis List.* – о. весенняя относится к коротковегетирующим и представлял интерес в сравнительном аспекте. Образцы заготавливали в фазу цветения – начало плодоношения, в период с 2003 по 2012 гг. на территории Европейской части России.

Определение запасов травы очанки было проведено на конкретных зарослях. Запас сырья на единицу площади определяли методом модельных экземпляров. Статистическую обработку материалов проводили по общепринятым методикам.

Фармакологические исследования проводились на базе кафедры физиологии и микробиологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России. **Противовоспалительную** активность изучали на крысах обоего пола, массой 180 – 200 г. Острое асептическое воспаление конечности животных вызывали субплантарным введением 0,1 мл каррагенина раствора 1%. Препаратом сравнения выбран ортофен в дозе 10 мг/кг. **Гипотензивную** активность изучали на наркотизированных мединалом кошках вес которых состоял от 4,0 кг до 5,0 кг. Контролем служил раствор папаверина гидрохлорида, в дозе 3 мг/кг. **Антикоагулянтную** активность исследовали *in vitro* с помощью коагулометра «Minilab-701». В качестве эталона сравнения использовали гепарин в дозе 1 ЕД/мл. Для оценки **антирадикальной** активности использовали реакцию со свободным стабильным радикалом дифенилпикрилгидразилом (ДФПГ). **Антимикробную** активность в отношении *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* исследовали методом двухкратных серийных разведений на мясопептонном бульоне. Оценку **острой токсичности** фитосубстанций проводили по Прозоровскому на нелинейных белых мышах массой 17 – 25 г.

Морфолого-анатомические исследования проводили в соответствии с общепринятыми методиками Государственной фармакопеи Российской Федерации XII.

Изучение качественного состава биологически активных веществ (БАВ) проводили с использованием методов бумажной (БХ), тонкослойной (ТСХ), высокоэффективной жидкостной (ВЭЖХ) хроматографии, хромато – масс – спектрометрии (ГХ/МС), спектрофотометрии (СФ). Исследования проводили в сравнении со стандартными образцами (СО) фенольных соединений: кофейной, хлорогеновой кислот (Sigma, США), лютеолин-7-О-глюкозида (цинарозид), соответствующего ФС 42 – 3150 – 95; иридоида: аукубина; сахаров: глюкоза, галактоза, арабиноза, ксилоза, рамноза (Sigma, США); аминокислот: аланина, аспарагина, аргинина, валина, глутаминовой кислоты, изолейцина, орнитина, пролина, серина (Sigma, США); липофильные вещества идентифицировали путем сравнения времени удерживания и полных масс-спектров с соответствующими данными библиотеки Wiley275 и NIST98. Исследование липофильных веществ проводились совместно с Пермским краевым бюро судебно-медицинской экспертизы. Анализ макро- и микроэлементного состава проводили с помощью эмиссионного спектрального анализа на дифракционном спектрографе ДФС-13-1, в аккредитованном аналитическом испытательном центре ОАО «Уральская центральная лаборатория» г. Екатеринбург.

Исследование количественного содержания флавоноидов проводили методом дифференциальной спектрофотометрии, в пересчете на лютеолин-7-О-глюкозид; гидроксикоричных кислот (ГКК) – прямой спектрофотометрии, в пересчете на хлорогеновую кислоту; иридоидов – фотоколориметрическим методом по Греггеру и Симхену; окисляемых веществ – по методике ГФ XI «определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье»; свободных аминокислот, в пересчете на глутаминовую кислоту; углеводов, в пересчете на глюкозу спектрофотометрическим методом; липофильных веществ – методом ГЖХ/МС, содержание вычисляли по площади пиков, без использования градуировочных коэффициентов, в нормировочных процентах от суммы площадей всех зарегистрированных пиков.

РЕСУРСОВЕДЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РОДА *EUPHRASIA* НА ТЕРРИТОРИИ ПЕРМСКОГО КРАЯ

В ходе экспедиционных исследований установлено что, Пермский край обладает достаточным потенциалом ресурсов ЛРС – травы очанки и при соблюдении режимов рациональной эксплуатации зарослей может служить сырьевой базой для нужд практического здравоохранения. Определено, что тип фитоценоза на ПЗС очанки коротковолосистой достоверного влияния не оказывает, поэтому заготовка ЛРС возможна в различных растительных ассоциациях. Общая площадь зарослей составила 17,2 га, а возможный объем ежегодной заготовки 1064,6 кг. Составлена карта-схема распространения рода *Euphrasia* на территории Пермского края (рис. 2). Расширен ареал распространения *E. stricta*, *E. officinalis*, *E. tatarica*, *E. reuteri* в четырех ботанико-географических районах края. Полученные результаты могут быть использованы в ходе ресурсоведческих исследований и при организации мероприятий по заготовке сырья.



ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ У ВИДОВ РОДА *EUPHRASIA*

Для исследования противовоспалительной и антирадикальной активности приготовлены настои, полученные по методике ГФ XII; для антимикробной – настойки на спирте 40 и 70%; для острой токсичности, гипотензивной и антикоагулянтной – водные и спиртовые извлечения (фитоэкстракты), полученные методом исчерпывающей экстракции.

Экспериментально установлено, что извлечения, полученные из исследуемых видов очанки, обладают противовоспалительной, гипотензивной, антикоагулянтной, антимикробной и антирадикальной активностью. Одинаковый уровень активности подтвержден статистически.

Изучение острой токсичности

Изучение острой токсичности экстрактов всех исследуемых видов рода *Euphrasia* спиртовых показало, что они обладают низкой токсичностью, ЛД₅₀ при введении в желудок – более 5000 мг/кг.

Изучение противовоспалительной активности

При введении водных извлечений, полученных в режиме «настой» из семи перспективных видов очанки, наблюдается достоверное снижение отека лапы, что свидетельствует о торможении экссудативной фазы воспаления. Угнетение отека варьирует от 16 до 26% и является достоверным в сравнении с животными контрольной группы. Противовоспалительная активность наиболее выражена у настоя *Euphrasia brevipila*, *Euphrasia x murbeckii* и *Euphrasia tatarica*. Гибридный вид *Euphrasia x reuteri*, а также *Euphrasia officinalis* проявляют менее выраженную противовоспалительную активность (табл. 1).

Таблица 1

Противовоспалительная активность перспективных видов рода *Euphrasia*

Вид растения, вид извлечения	Число животных	Доза, мл/кг	Прирост отека через 4 часа, %	Угнетение отека, %
Контроль (2% крахмальная слизь)	6	--	76,48 ± 7,11	--
<i>Euphrasia brevipila</i> , настой 1:5	6	15	54,14 ± 8,24 p < 0,05	26,42
<i>Euphrasia parviflora</i> настой 1:5	6	15	59,41 ± 11,51 p < 0,05	18,87
<i>Euphrasia x reuteri</i> настой 1:5	6	15	65,32 ± 10,69 p < 0,05	16,76
<i>Euphrasia officinalis</i> настой 1:5	6	15	63,32 ± 9,79 p < 0,05	17,59
<i>Euphrasia tatarica</i> настой 1:5	6	15	56,41 ± 11,51 p < 0,05	24,25
<i>Euphrasia x murbeckii</i> настой 1:5	6	15	55,47 ± 12,34 p < 0,05	25,84
<i>Euphrasia stricta</i> настой 1:5	6	15	57,31 ± 3,44 p < 0,05	20,07
Ортофен	6	10 мг/кг	27,88 ± 5,22 p < 0,001	60,61

Изучение гипотензивной активности

При введении 25 мг/кг водных растворов фитоэкстрактов из исследуемых видов очанки наблюдается гипотензивная активность, на уровне папаверина гидрохлорида (рис. 3). При этом исследуемые извлечения имеют общие закономерности по силе и продолжительности действия.

Максимальный гипотензивный эффект отмечен через две минуты от начала эксперимента и составляет от 19 до 29%. Гипотензивная активность более выражена у спиртовых фитоэкстрактов. На вершине фармакологической активности фитоэкстракты по интенсивности действия могут быть расположены следующим образом: **спиртовые** - *E. parviflora* > *E. x reuteri*, *E. stricta* > *E. x murbeckii* > *E. officinalis* > *E. tatarica* > *E. brevipila*; **водные** - *E. x reuteri* > *E. stricta* > *E. x murbeckii* > *E. officinalis* > *E. brevipila* > *E. tatarica* > *E. parviflora*. Анализируя полученные ряды, установлен одинаковый уровень влияния фитоэкстрактов по силе гипотензивной активности, вне зависимости от экстрагента.

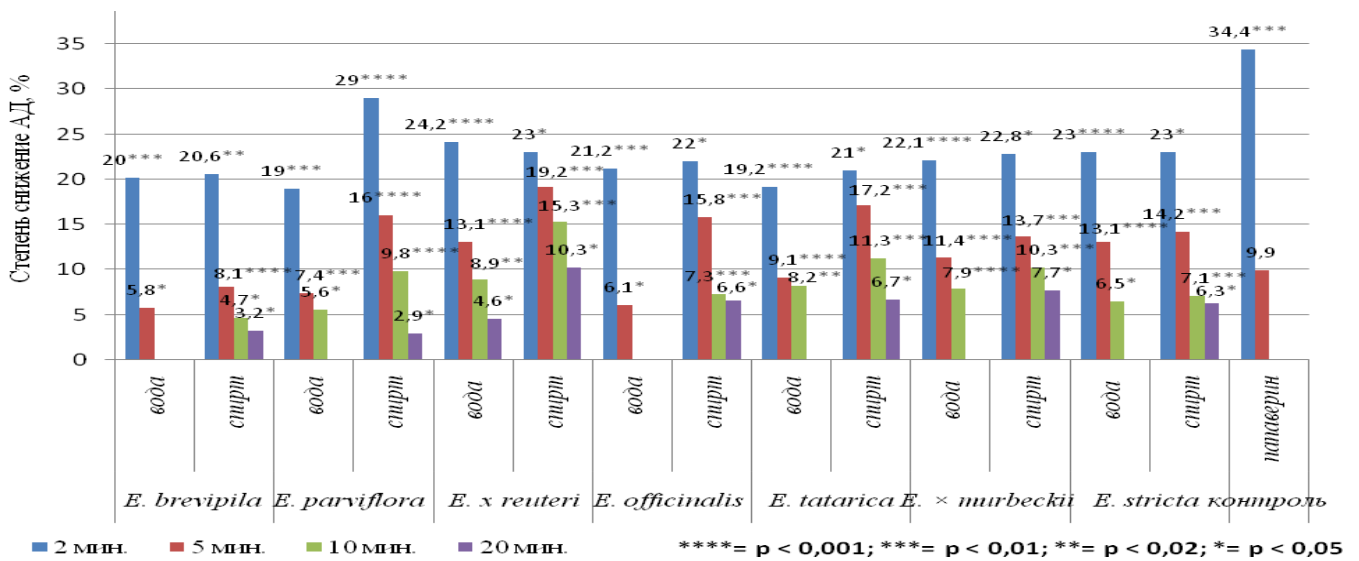


Рис. 3. Степень снижения АД водными и спиртовыми фитоэкстрактами полиморфных видов рода *Euphrasia* L.

Анализ кинетических кривых гипотензивного эффекта семи исследованных видов рода Очанка показал «мягкость» действия и равномерность снижения активности, полученные данные свидетельствует об общности обмена биологически активных веществ, участвующих в фармакологическом эффекте и, вероятно, сходном механизме гипотензивного действия (рис. 4).

Наиболее выраженный и продолжительный эффект наблюдается у *E. x reuteri*. Спиртовые экстракты эффективнее по продолжительности и силе действия в 2-2,5 раза.

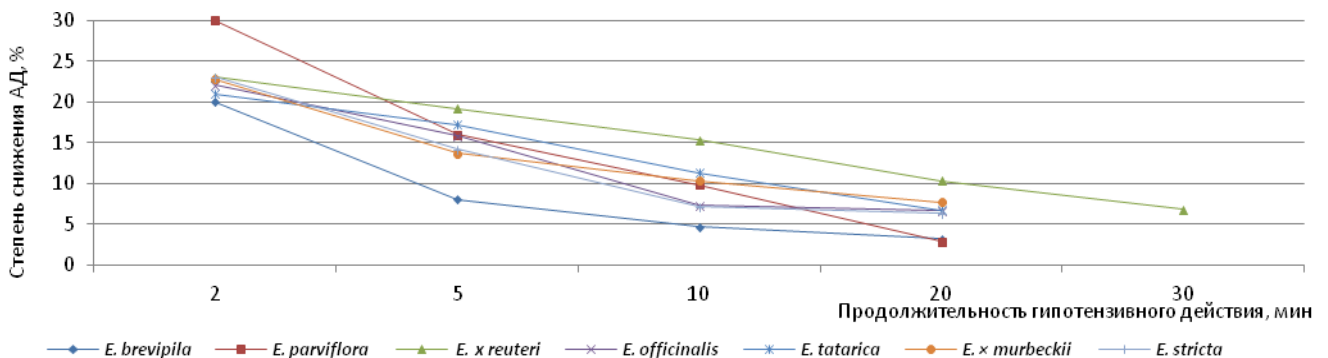


Рис. 4. Кинетические кривые гипотензивного действия фитоэкстрактов полиморфных видов рода *Euphrasia* L.

Изучение антикоагулянтной активности

Исследована антикоагулянтная активность фитоэкстрактов семи долговегетирующих видов рода *Euphrasia* флоры Пермского края (табл. 3). Наиболее высокая активность отмечена у спиртовых экстрактов из травы *E. × reuteri* (22,5%) и *E. stricta* (21,3%), водного из *E. × murbeckii* (23,5%), а также водного и спиртового из *E. parviflora* (22,5 и 22,0% соответственно). Их действие близко по действию к гепарину. Остальные фитоэкстракты проявляют антикоагулянтную активность в пределах от 15,3 до 19,1%.

Таблица 3

Антикоагулянтная активность фитоэкстрактов из растений рода *Euphrasia* L.

Вид	Экстрагент	Время свертывания, с		Изменение свертываемости, %	P
		контроль	опыт		
<i>E. brevipila</i>	вода	30,5±0,63	34,5±0,79	- 16,6	< 0,002
	спирт	29,9±0,53	34,4±1,20	- 15,3	< 0,01
<i>E. × reuteri</i>	вода	29,7±1,26	35,1±1,75	- 18,3	< 0,02
	спирт	28,2±1,16	34,5±1,44	- 22,5	< 0,002
<i>E. parviflora</i>	вода	26,6±1,24	32,6±1,73	- 22,5	< 0,02
	спирт	26,4±1,13	32,2±1,35	- 22,0	< 0,02
<i>E. officinalis</i>	вода	28,2±0,58	33,4±1,27	- 18,5	< 0,002
	спирт	20,9±1,07	24,9±0,93	- 19,1	< 0,01
<i>E. tatarica</i>	вода	20,5±0,89	24,1±1,43	- 17,7	< 0,05
	спирт	35,3±1,49	41,2±1,84	- 16,7	< 0,05
<i>E. × murbeckii</i>	вода	22,6±1,21	27,9±0,94	- 23,5	< 0,01
	спирт	22,7±1,17	26,8±0,15	- 18,1	< 0,02
<i>E. stricta</i>	вода	14,6±0,62	17,4±0,72	- 18,8	< 0,02
	спирт	18,6±0,64	22,6±0,42	- 21,3	< 0,001
Гепарин	---	29,9±0,48	36,6±1,82	- 22,4	< 0,01

Изучение антимикробной активности

Настойки из исследуемых видов рода *Euphrasia* обладают антимикробной активностью в отношении *E. coli* и *St. aureus*. Наиболее выраженный антибактериальный эффект в разведении от 1/20 до 1/80 проявляют настойки по отношению к грамположительным микроорганизмам (*St. aureus*), тогда как в отношении грамотрицательных (*E. coli*), установлена более низкая восприимчивость, находится в пределах разведения от 1/10 до 1/40 (табл. 4).

Таблица 4

Антибактериальная активность настойки (1:5) из растений рода *Euphrasia* L.

Вид	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	контроль	опыт	контроль	опыт
<i>E. brevipila</i>	1/10*	1/20	1/10	1/10
<i>E. x reuteri</i>	1/10	1/80	1/10	1/20
<i>E. parviflora</i>	1/10	1/20	1/10	1/20
<i>E. tatarica</i>	1/10	1/40	1/10	1/20
<i>E. officinalis</i>	1/10	1/80	1/10	1/40
<i>E. x murbeckii</i>	1/10	1/20	1/10	1/10
<i>E. stricta</i>	1/10	1/40	1/10	1/20

Примечание: * - здесь и далее, максимальное разведение, которое полностью предотвратило микробный рост.

Изучение антирадикальной активности

Установлена антирадикальная активность (АРА) у семи видов рода *Euphrasia*. Время полураспада стабильного радикала ДФПГ изменяется в пределах 0,5 – 27 минут. Наиболее высокую активность показали извлечения из *E. ×murbeckii*, *E. brevipila*, *E. tatarica*, *E. stricta* (0,5 – 6 минут). Низкая антирадикальная активность обнаружена у извлечений из *E. ×reuteri*, *E. officinalis* и *E. parviflora* (18 – 27 минут). Степень выраженности антирадикальной активности изученных видов зависит от содержания в них фенольных соединений и иридоидов (рис. 5). Коэффициент корреляции составляет - 0,841 и - 0,681, соответственно.

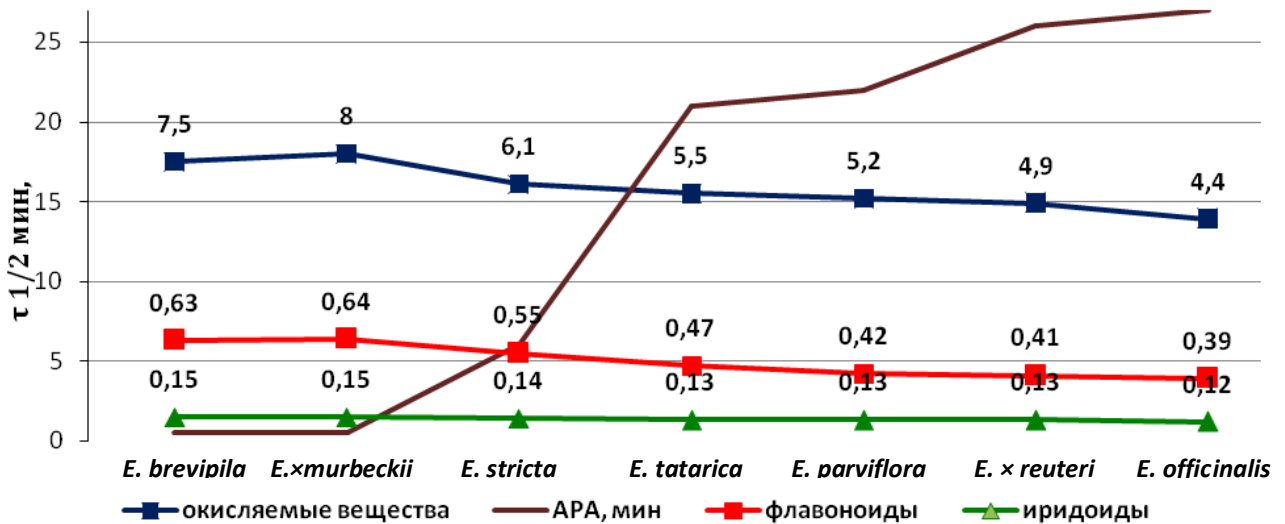


Рис. 5. Зависимость между АРА ($\tau_{1/2}$) и количеством БАВ в растениях рода *Euphrasia* L.

МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩЕГОСЯ ПОЛИМОРФИЗМОМ НА ПРИМЕРЕ РОДА *EUPHRASIA*

Сравнительный анализ морфолого-анатомического строения растений рода *Euphrasia* показал, что, несмотря на принадлежность к различным рядам, изученные виды имеют общий план строения и трудно отличимые диагностические признаки. Ни один признак не обладает абсолютной таксономической и диагностической ценностью.

Установлено, что в основе диагнозов подлинности у растений, характеризующихся полиморфизмом, необходимо закладывать родовые, широко варьируемые признаки внешней и внутренней структуры. Для видоидентификации необходимо использовать комплекс морфолого-анатомических признаков, выбранный на основании статистических исследований.

Морфологические признаки: для стебля – длина и ветвистость, длина максимального бокового побега, отношение длины стебля к длине максимального бокового побега; для листа – форма и количество зубцов на листовой пластинке, остистость зубцов стеблевых и прицветных листьев; для цветка – длина венчика, длина нижней губы венчика, отношение длины венчика к длине нижней губы, степень рассечения лопастей верхней губы, длина соцветия; для плода – форма, глубина выемки плода.

Анатомические признаки: для листа (рис. 6, 7 В, Г) – сочетание типов трихом, толщина столбчатого и губчатого мезофилла; для стебля (рис. 7А) – диаметр, отношение толщины первичной коры к радиусу, отношение толщины флоэмы, перицикла, камбия к радиусу, отношение толщины ксилемы к радиусу, число рядов клеток ксилемы, отношение диаметра

сосудов к радиусу стебля; для корня (рис. 7Б) – диаметр, отношение толщины перидермы к радиусу корня, отношение толщины флоэмы к радиусу.

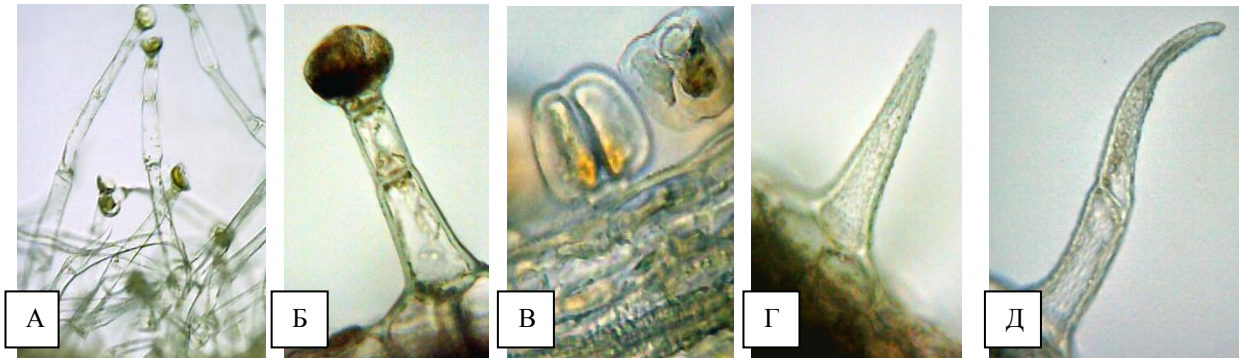


Рис. 6. Трихоматические образования полиморфных видов рода *Euphrasia* L. ($\times 100$): А – железистые волоски с многоклеточной ножкой и одноклеточной головкой, $l > 0,2$ мм; Б – железистый волосок с двухклеточной ножкой и одноклеточной головкой, $l < 0,2$ мм; В – железистые волоски с одноклеточной ножкой и двухклеточной головкой; Г – простой одноклеточный волосок; Д – простой двухклеточный волосок.

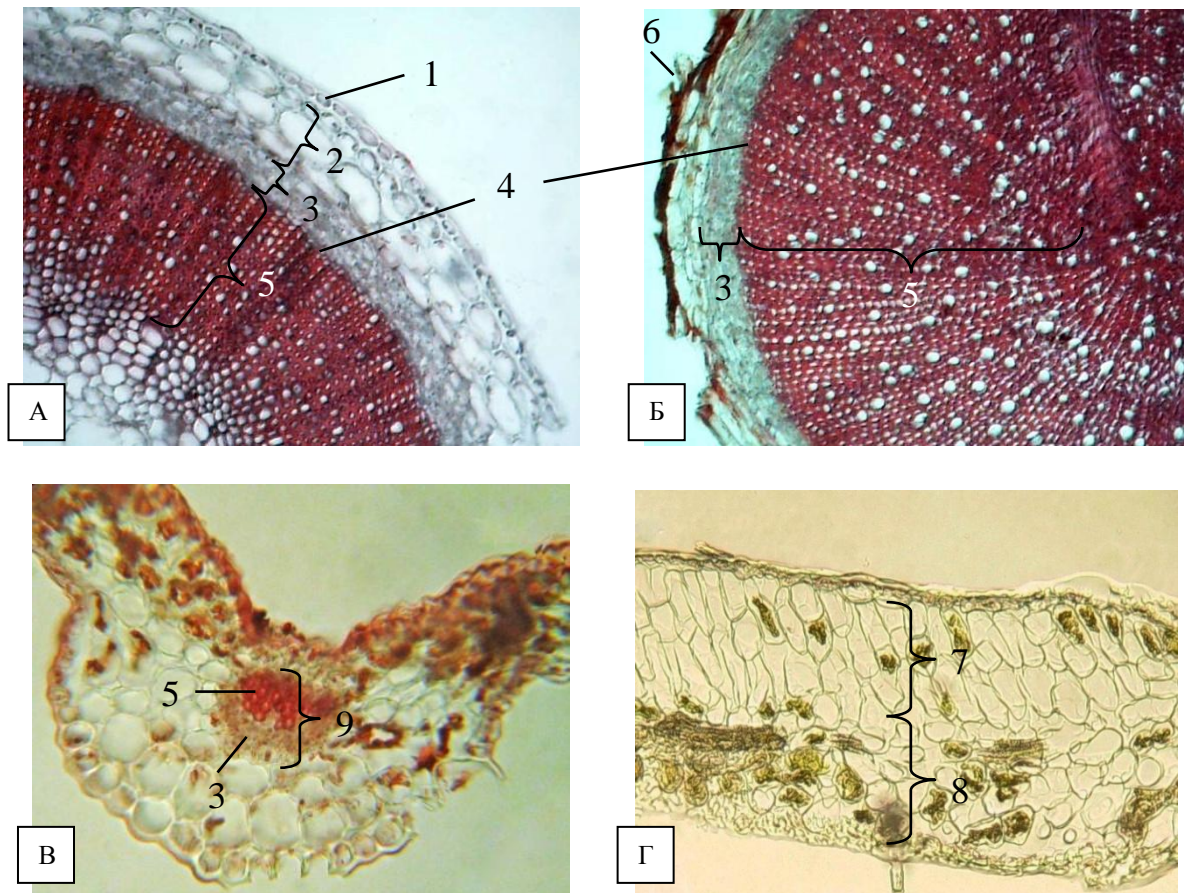


Рис. 7. Анатомическое строение вегетативных органов рода *Euphrasia* L. на поперечном срезе ($\times 100$): А - стебель; Б – корень; В – главная жилка листа; Г - листовая пластинка: 1 - эпидерма; 2 – первичная кора; 3 - флоэма, 4 - камбий; 5 – ксилема; 6 – пробка; 7 – столбчатый мезофилл; 8 – губчатый мезофилл; 9 – закрытый коллатеральный пучок.

Установлены отличительные признаки морфолого-анатомического строения возможной примеси (*Odontites vulgaris* L.) к видам рода Очанка.

ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩЕГОСЯ ПОЛИМОРФИЗМОМ НА ПРИМЕРЕ РОДА *EUPHRASIA*

Исследование углеводного состава

Компонентный состав углеводов в растениях рода *Euphrasia* представлен шестью веществами, при этом глюкоза, галактоза, ксилоза, арабиноза и рамноза присутствуют как в свободном, так и в связанном состоянии.

С помощью методики последовательного фракционного выделения полисахаридов предложенной Н.К. Кочетковым, из травы *E. brevipila* выделены фракции ВРПС, выход составил 4,1%; ПВ – 2,7%; ГЦ А – 1,4%; ГЦ Б – 2,3%.

Компонентный состав и количественное содержание моносахаридов во фракциях изучен методом ГЖХ-МС. Руководствуясь результатами исследования, можно сделать предварительное заключение о возможной структуре углеводного комплекса *E. brevipila*: ВРПС относятся к галактоарабанам; ПВ – галактоксиланам; ГЦ А и В имеют нейтральную природу по составу мономеров и, с определенной долей вероятности, относятся к ксилоарабанам и ксилоглюканам, соответственно (табл. 5).

Таблица 5

**Соотношение моносахаридов в составе
углеводных фракций *E. brevipila*, определенных методом ГХ-МС**

Фракции углеводов	Моносахаридный состав, %						
	Gal	Glc	Rha	Ara	Xyl	GalUA+ClcUA	НИ*
ВРПС	23,7	7,9	7,9	11,6	8,69	7,1	33,1
ПВ	29,1	6,1	6,4	4,6	11,8	3	36,7
ГЦ А	2,8	4,4	2,0	15,4	67,5	---	5,2
ГЦ В	6,6	13,7	0,5	2,9	59,2	---	17,2

Примечание: НИ* – не идентифицированные вещества.

С использованием ранее разработанной методики (Кроткова, 2011) изучено количественное содержание углеводов в видах рода *Euphrasia*, которое находится в пределах от 3,9% до 8,7%. Максимальное количество от общей суммы приходится на низкомолекулярные сахара, тогда как полисахариды от общей суммы составляют 10%. Наибольшее количество углеводов накапливается в траве *E. officinalis*, наименьшее – в траве *E. × reuteri* (рис. 8).

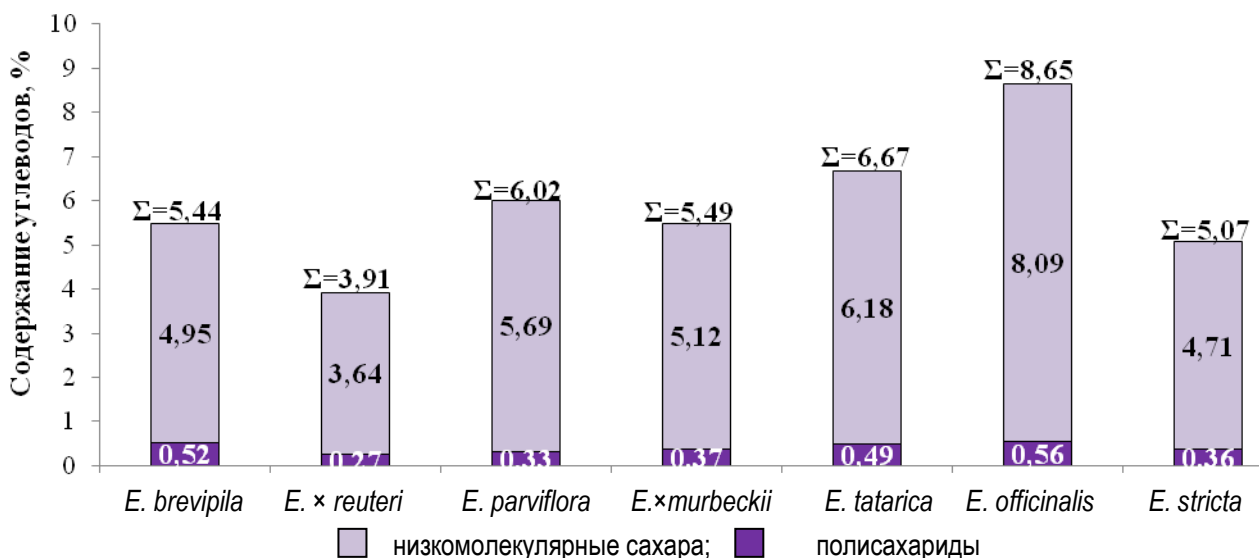


Рис. 8. Количественное содержание углеводов в траве растений рода *Euphrasia* L.

Исследование аминокислотного состава

Установлено, что компонентный состав аминокислот изученных видов является близким, и представлен 8 связанными и 7 свободными аминокислотами (табл. 6, 7). Количественное содержание аминокислот в среднем у пяти исследуемых видов составило для связанных 33,3 мкг/мг и свободных 7,6 мкг/мг.

Во всех видах рода *Euphrasia* постоянно присутствуют гистидин в свободном и связанном состоянии, треонин и аланин в связанном, а аргинин в свободном виде. Аминокислоты глицин и серин относятся к редко встречающимся. При анализе количественного содержания аминокислот установлено, что доминирующим является аланин в свободном и связанном состоянии, наименьшее количественное содержание отмечается для свободного треонина и связанного лизина. Наиболее разнообразный аминокислотный состав (8 – 7 веществ) отмечен у *E. parviflora*, несколько беднее (7 – 6 веществ) у *E. brevipila*, *E. tatarica*, *E. officinalis*, а у *E. reuteri* обнаружено лишь 5 веществ.

Установлено, что представители Подсекции 1 (*Euphrasia*) характеризуются повышенным содержанием аминокислот и белков, обладающих высокими основными свойствами, тогда как у представителей Подсекции 2 (*Brevipila*) доминируют оксиаминокислоты (треонин и серин) имеющие, более низкие основные свойства. Вид *E. x reuteri* имеет гибридное происхождение, при этом доминирующей аминокислотой является аланин, занимающий по основным свойствам промежуточное положение. Для *E. parviflora* (Подсекция 4 (*Nemorose*)) характерно наличие диаминомонокарбоновых (аргинин), моноаминокарбоновых кислот (аланин) и оксиаминокислот (треонин и серин).

Исследование липофильных веществ

Содержание жирного масла в семенах исследованных видов *Euphrasia* колеблется от 23 до 33%. Доминирующими являются непредельные кислоты. Их суммарное содержание в исследованных видах имеет близкое значение и находится в интервале 83,3 – 90,4% (табл. 8). Среди непредельных кислот у всех видов преобладает линоленовая, максимум содержания которой отмечается у *E. stricta* (55,1%), а минимум у *E. reuteri* (48,3%). Далее в порядке убывания следуют линолевая (среднее значение $23,9 \pm 1,7\%$), олеиновая ($10,3 \pm 1,2\%$) и пальмитолеиновая ($0,52 \pm 0,03\%$) кислоты. Суммарное содержание предельных кислот изменяется в интервале 9,4 – 13,2%. Основу пула насыщенных жирных кислот составляют пальмитиновая и стеариновая кислоты. Наиболее высокие концентрации миристиновой (0,53%) и докозановой (0,44%) кислот характерны для *E. tatarica*. Среднее значение концентраций высших жирных кислот исследованных видов можно рассматривать в качестве жирнокислотного профиля масел семян рода *Euphrasia* и использовать в хемотаксономических целях.

Исследование макро- и микроэлементного состава

Макро- и микроэлементный состав растений рода *Euphrasia* представлен 24 элементами, при этом наблюдаются незначительные отличия между видами (табл. 9). Большинство из обнаруженных элементов относятся к микро- и ультрамикроэлементам. В траве изученных видов отмечено высокое содержание фосфора и марганца, что согласуется с их важной ролью в процессе биосинтеза продуктов первичного и вторичного метаболизма. Накопление элементов в растениях рода *Euphrasia* имеет общие закономерности и представлено следующим рядом элементов: P > Mn > Ba > Sr > Zn > Ti > Cu > Zr > Ni > Cr > Co > Mo > Pb > Nb > V > Ga > Sn > Sc > Yb > Y > Be > Ag. Содержание токсичных элементов (свинец, медь) не превышает ПДК, принятые для БАД (рис. 9). Характеристика биоэлементов, встречающихся в растениях рода *Euphrasia*, представлена в таблице 10.

Содержание связанных аминокислот в растениях рода *Euphrasia* L.

Аминокислота	Молекулярный вес	Содержание аминокислот, мкг/мл					Среднее значение
		Систематическое положение видов					
		Подсек. 1. <i>Euphrasia</i>	Подсек. 2. <i>Brevipila</i>			Подсек. 4 <i>Nemorose</i>	
		<i>Aggr. E. officinalis</i>	<i>Aggr. E. pectinata</i>		<i>Aggr. E. vernalis</i>	<i>Aggr. E. nemorosae</i>	
	<i>E. officinalis</i>	<i>E. tatarica</i>	<i>E. x reuteri</i>	<i>E. brevipila</i>	<i>E. parviflora</i>		
Аргинин	174,2	19,85±2,11	--	1,48±1,51	5,96±0,55	4,61±0,48	7,98
Треонин	119,1	4,32±0,45	5,13±0,53	0,55±0,07	15,07±1,53	10,31±1,00	7,08
Серин	105,1	--	2,68±0,30	--	6,71±0,66	9,54±0,97	6,31
Глутаминовая к-та	147,1	4,18±0,42	--	--	1,58±0,16	4,29±0,44	3,35
Глицин	75,1	--	1,52±0,18	--	1,18±0,11	1,89±0,98	1,52
Лизин	146,2	--	1,32±0,13	--	--	1,61±0,72	1,47
Гистидин	155,2	2,77±0,27	4,31±0,45	3,75±0,41	5,02±0,49	5,28±0,55	4,23
Аланин	89,1	8,95±0,87	10,93±1,00	9,21±0,99	6,10±0,56	6,44±0,67	8,33
Сумма:		40,07	25,89	14,99	41,62	43,97	33,31

Содержание свободных аминокислот в растениях рода *Euphrasia* L.

Аминокислота	Молекулярный вес	Содержание аминокислот, мкг/мл					Среднее значение
		Систематическое положение видов					
		Подсек. 1. <i>Euphrasia</i>	Подсек. 2. <i>Brevipila</i>			Подсек. 4 <i>Nemorose</i>	
		<i>Aggr. E. officinalis</i>	<i>Aggr. E. pectinata</i>		<i>Aggr. E. vernalis</i>	<i>Aggr. E. nemorosae</i>	
	<i>E. officinalis</i>	<i>E. tatarica</i>	<i>E. x reuteri</i>	<i>E. brevipila</i>	<i>E. parviflora</i>		
Аргинин	174,2	4,40±0,45	3,08±0,32	0,09±0,001	0,41±0,04	2,48±0,25	2,09
Треонин	119,1	0,38±0,04	1,18±0,12	--	0,66±0,05	0,89±0,09	0,78
Серин	105,1	--	--	--	0,98±0,09	1,37±0,14	1,18
Глутаминовая к-та	147,1	1,51±0,15	1,27±0,13	--	0,23±0,02	1,51±0,16	1,13
Лизин	146,2	1,71±0,18	0,72±0,07	0,79±0,08	--	--	1,07
Гистидин	155,2	1,52±0,15	1,57±0,16	1,21±0,11	0,81±0,09	1,65±0,17	1,35
Аланин	89,1	2,84±0,29	2,42±0,23	2,93±0,30	--	2,43±0,26	2,66
Сумма:		12,36	10,24	5,02	3,09	10,33	7,6

Состав и содержание жирных кислот (% от суммы) в маслах семян растений рода *Euphrasia* L.

Кислота	Индекс	Систематическое положение вида						
		Подсек. 1. <i>Euphrasia</i>	Подсек. 2. <i>Brevipila</i>				Подсек. 4 <i>Nemorose</i>	
		Aggr. <i>E. officinalis</i>	Aggr. <i>E. stricta</i>	Aggr. <i>E. pectinata</i>		Aggr. <i>E. vernalis</i>		Aggr. <i>E. nemorosae</i>
		<i>E. officinalis</i>	<i>E. stricta</i>	<i>E. tatarica</i>	<i>E. × reuteri</i>	<i>E. brevipila</i>	<i>E. × murbeckii</i>	<i>E. parviflora</i>
Миристиновая	14:0	сл.*	сл.	0,53±0,04	сл.	сл.	сл.	0,21±0,01
Пальмитолеиновая	16:1	0,64±0,05	0,52±0,03	0,41±0,03	0,62±0,05	0,41±0,04	0,62±0,03	0,43±0,03
Пальмитиновая	16:0	6,7±0,6	7,2±0,6	4,2±0,4	7,8±0,6	7,9±0,5	7,7±0,5	6,4±0,5
Линолевая	18:2	22,6±1,2	18,1±1,1	24,7±1,7	26,2±1,8	20,6±1,6	28,7±1,6	26,7±1,8
Линоленовая	18:3	51,9±1,9	55,1±1,0	53,1±2,1	48,3±1,7	49,2±0,9	51,1±2,0	55,0±2,3
Олеиновая	18:1	11,5±0,8	10,4±0,6	12,2±0,9	11,7±0,7	13,1±0,7	6,2±0,4	7,1±0,4
Стеариновая	18:0	6,1±0,5	3,9±0,3	3,2±0,3	4,1±0,3	4,5±0,3	4,7±0,3	3,8±0,2
Эйкозановая	20:0	0,42±0,03	0,33±0,02	1,1±0,1	сл.	0,31±0,02	0,34±0,02	0,21±0,01
Докозановая	22:0	-**	-	0,44±0,03	-	-	-	-
Сумма непредельных кислот		86,6	84,1	90,4	86,8	83,3	86,6	89,2
Сумма предельных кислот		13,2	11,4	9,4	11,9	12,7	12,7	10,6

Примечание: *- содержание менее 0,1%; ** - кислота не обнаружена.

Таблица 10

Содержание химических элементов растений рода *Euphrasia* L.

Систематическое положение			Физиологическая роль		Класс опасности		
			Эссенциальные	Условно-эссенциальные	1	2	3
Подсек. 1. <i>Euphrasia</i>	Aggr. <i>E. officinalis</i>	<i>E. officinalis</i>	P, Mn, Co, Cu, Mo, Cr, Zn	V, Ni, Ba, Li, Ti, Ag	Pb, Zr, Be	Ag, Mo, Ti, Ni, Cu, Cr, Co	Mn, Ba, V, Sn
Подсек. 2. <i>Brevipila</i>	Aggr. <i>E. pectinat</i>	<i>E. tatarica</i>					Mn, Ba, V
	Aggr. <i>E. vernalis</i>	<i>E. × reuteri</i>					
Подсек. 4 <i>Nemorose</i>	Aggr. <i>E. nemorosae</i>	<i>E. brevipila</i>					Mn, Ba, V, Sn

Содержание химических элементов растений рода *Euphrasia* L.

элемент	Виды				
	<i>E. officinalis</i>	<i>E. tatarica</i>	<i>E. x reuteri</i>	<i>E. brevipila</i>	<i>E. parviflora</i>
<i>Макроэлементы, мкг/мг</i>					
P	1150	613	840	902	909
Mn	173	184	84	277	636
<i>Микро- и ультрамикроэлементы, мкг/мг</i>					
Ti	208	12	59	111	14
Sr	46	31	42	70	46
Ba	81	92	59	48	82
Zn	23	31	50	28	64
Ni	8	9	4	11	9
Cu	10	6,1	8,4	7,4	9,1
Cr	5,8	0,92	1,7	2,8	1,8
Zr	10	3,1	5,9	2,5	4,6
Co	1,2	0,55	0,76	1,0	1,8
Nb	1,7	0,55	0,76	0,79	0,64
Pb	2,1	0,55	0,84	0,52	0,64
V	5,8	0,31	0,6	0,47	0,45
Mo	0,35	0,31	0,84	0,34	9,1
Sn	2,3	-	0,17	-	-
Sc	0,35	-	0,17	-	-
Ga	0,69	0,12	0,42	0,18	0,18
Yb	-	-	-	-	-
Y	1,2	-	-	-	-
Be	0,12	0,06	0,08	0,09	0,09
Ag	0,03	0,01	0,1	0,04	0,01

Примечание: прочерк означает содержание элемента меньше предела обнаружения.

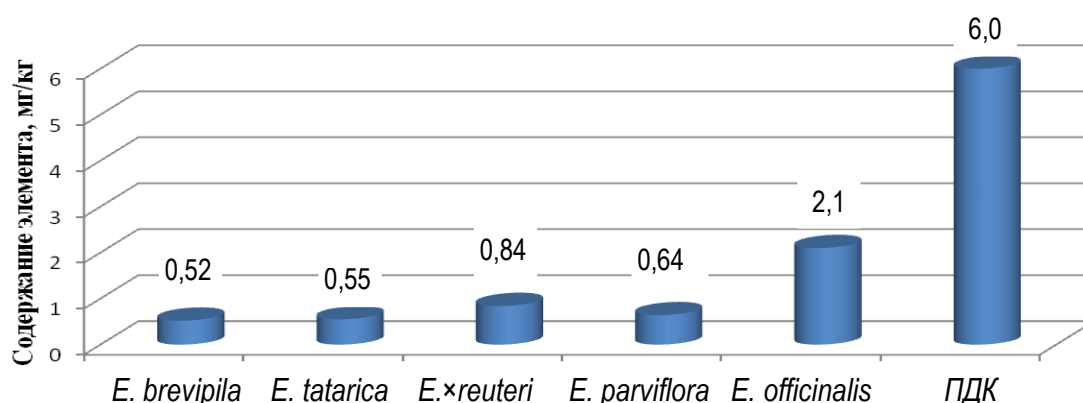


Рис. 9. Содержание токсичного элемента (Pb) в растениях рода *Euphrasia* L.

Исследование фенольных соединений

Методом ВЭЖХ исследованы перспективные виды рода *Euphrasia*, обнаружено от 15 до 28 компонентов, из которых идентифицировано тринадцать веществ (табл. 11). Доминирующими компонентами у всех исследованных видов являются фенолкарбоновые кислоты. Их суммарное содержание в пробах находится в пределах 39 – 57%. Максимальное количество суммы

Фенольные соединения растений рода *Euphrasia* L.

Вещества	Время удерживания, мин	Количественное соотношение, %*						
		Систематическое положение вида						
		Подсек. 1. <i>Euphrasia</i>	Подсек. 2. <i>Brevipila</i>				Подсек. 4 <i>Nemorose</i>	
		Aggr. <i>E. officinalis</i>	Aggr. <i>E. stricta</i>	Aggr. <i>E. pectinata</i>		Aggr. <i>E. vernalis</i>		Aggr. <i>E. nemorosae</i>
	<i>E. officinalis</i>	<i>E. stricta</i>	<i>E. tatarica</i>	<i>E. x reuteri</i>	<i>E. brevipila</i>	<i>E. x murbeckii</i>	<i>E. parviflora</i>	
Фенолокарбоновые и гидроксикоричные кислоты								
Галловая кислота	3,12	6,43**	6,82	4,39	2,64	5,72	4,03	5,48
Хлорогеновая кислота	3,69	32,15	27,74	19,63	37,75	32,31	25,84	47,35
Кофейная кислота	4,06	--	3,39	3,57	--	3,77	3,39	--
Феруловая кислота	6,59	16,81	4,48	19,51	--	5,01	5,96	1,75
Неохлорогеновая кислота	9,40	--	10,63	--	1,73	10,33	--	--
	Сумма	55,39	53,06	47,10	42,12	57,14	39,22	54,61
Флавоноиды								
Апигенин	11,6	0,98	1,52	2,15	4,34	0,33	--	9,57
Кверцетин	26,32	--	--	2,16	1,25	0,08	5,41	5,27
Дигидрокверцетин	30,40	--	--	0,43	--	0,91	1,24	--
Лютеолин	49,27	0,72	0,05	--	--	2,45	0,51	--
	Сумма	1,70	1,57	4,74	5,59	3,77	7,16	14,84
Кумарины								
Умбелиферон	2,75	0,48	--	--	0,20	--	1,49	0,99
Дикумарин	5,55	--	3,79	--	8,61	3,85	--	7,33
Скополетин	21,46	0,02	--	--	--	1,64	0,40	1,08
Кумарин	37,40	--	1,45	1,01	0,41	--	1,13	--
	Сумма	0,50	5,24	1,01	9,22	5,49	3,02	9,40

Примечание: * - соотношение идентифицированных веществ от общего количества разделенных компонентов в пробе, %; ** - среднее значение. Колебание полуширины доверительного интервала (ΔX) находится в пределах 5 – 10% от среднего значения; прочерк означает, что данное вещество не обнаружено.

фенолокислот отмечается в *E. brevipila* (57,14%), а минимальное в гибридных видах – *E. x reuteri* (42,12%) и *E. x murbeckii* (39,22%). Постоянными компонентами фенольного комплекса являются галловая и хлорогеновая кислоты. К редко встречаемым компонентам относится неохлорогеновая кислота, которая обнаружена только у представителей Подсекции 2 (*Brevipila*): *E. x reuteri*, *E. brevipila*, *E. stricta*.

Флавоноиды у исследованных видов *Euphrasia* представлены производными флавонола, флавонола и флаванолола. Суммарное содержание агликонов флавоноидов в пробах находится в пределах 1,57 – 14,84%. Апигенин обнаружен у всех видов, за исключением *E. x murbeckii*. Максимальное количество апигенина отмечено в *E. parviflora* (9,57%), лютеолина в *E. brevipila* (2,45%), кверцетина и дигидрокверцетина в *E. x murbeckii*, 5,41 и 1,24% соответственно.

Кумариновые соединения у видов *Euphrasia* представлены окси-, метоксипроизводными и димерами кумарина. Наибольшее содержание суммы кумариновых производных характерно для *E. parviflora* (9,40%), *E. x reuteri* (9,22%) и *E. brevipila* (5,49%). Кумарин доминирует в *E. stricta* (1,45%), дикумарин в *E. x reuteri* (8,61%), а скополетин в *E. brevipila* (5,5%), умбеллифирон в *E. x murbeckii* (1,49%).

Исследование иридоидных соединений

У растений рода *Euphrasia* обнаружено семь веществ иридоидной природы. По качественным реакциям на хроматограммах эти соединения разделили по окраске пятен на две группы:

Группа А – вещества с $R_f = 0,13; 0,22; 0,26; 0,37$; проявляются только реактивом Бэкона-Эдельмана в виде пятен желто-оранжевого цвета с флюоресценцией в УФ свете от лимонно-желтой до коричневой окраски; реактивами Шталя и Трим-Хилла не обнаруживаются, что указывает на их принадлежность к иридоидным соединениям подгруппы каталпола и изокаталпола [Мнацаканян, 1986].

Группа Б – вещества с $R_f = 0,41; 0,56; 0,78$ образуют синюю окраску с реактивом Шталя, голубую с реактивом Трим-Хилла и коричневую с реактивом Бэкона-Эдельмана.

Проведена предварительная оценка иридоидного состава видов рода *Euphrasia* по значению R_f в стандартных условиях, в сравнении с литературными данными, а также по УФ – спектрам элюатов с хроматограмм. Установлено, что наиболее вероятными иридоидными компонентами являются изокаталпол, каталпол, 6-о-метилкаталпол, аукубин, одонтозид, ранее идентифицированные у представителей рода *Euphrasia*. По интенсивности окраски пятен на хроматограммах, аукубин является преобладающим веществом.

Изучение изменчивости компонентного состава веществ вторичного обмена в растениях рода *Euphrasia*

Сравнительный фитохимический анализ видов рода *Euphrasia*, принадлежащих к различным систематическим таксонам, показал, что они имеют близкий флавоноидный состав (табл. 12). Наиболее типичными для данного рода являются пять веществ, в том числе цинарозид и космосиин, которые обнаружены во всех видах. Компонентный состав внутри рода колеблется от семи до тринадцати веществ. Наиболее разнообразный состав обнаружен у представителей двух подсекций: *Euphrasia* (11 – 13 веществ) и *Brevipila* (13 веществ). Минимальное количество флавоноидов (7 веществ) обнаружено у представителя Подсекции 4. *Nemorosa* и гибридного вида *E. x reuteri*. Флавоноидные вещества лютеолин и апигенин являются минорными.

Хроматографическая характеристика БАВ растений рода *Euphrasia* L.

№ вещества	Значение R _f		Систематическое положение вида						
	БУВ, 4:1:2	CH ₃ COOH*	Подсек. 1. <i>Euphrasia</i>	Подсек. 2. <i>Brevipila</i>				Подсек. 4 <i>Nemorose</i>	
			Aggr. <i>E. officinalis</i>	Aggr. <i>E. stricta</i>	Aggr. <i>E. pectinata</i>		Aggr. <i>E. vernalis</i>		Aggr. <i>E. nemorosae</i>
			<i>E. officinalis</i>	<i>E. stricta</i>	<i>E. tatarica</i>	<i>E. x reuteri</i>	<i>E. brevipila</i>	<i>E. x murbeckii</i>	<i>E. parviflora</i>
Флавоноиды									
1	0,21	0,31	+	+	+	+	+	+	+
2	0,22	0,74	+	+	+		+	+	
3	0,24	0,38	+	+	+	+	+	+	+
4	0,32	0,16	+	+	+	+	+	+	+
5	0,32	0,47	+	+	+		+	+	+
6	0,42	0,30	+	+	+		+	+	
7	0,43	0,18	+	+	+	+	+	+	+
8	0,53	0,32	+	+	+	+	+	+	
9	0,56	0,56	+	+	+	+	+	+	+
10	0,25	0,69		+	+		+	+	
11	0,74	0,77		+				+	
12	0,32	0,52			+				
13	0,11	0,45			+				
14	0,24	0,43					+		
15	0,80	0,04	+	+			+	+	
16	0,84	0,04	+	+	+	+	+		+
Фенолкарбоновые и гидроксикоричные кислоты									
1	0,45	0,74	+		+		+		
2	0,48	0,64	+		+		+		
3	0,55	0,69	+	+	+	+	+	+	+
4	0,66	0,69	+	+	+	+	+	+	+
5	0,78	0,83		+		+	+	+	+
6	0,58	0,40		+			+	+	+
7	0,79	0,67		+			+	+	+
8	0,78	0,32	+	+	+		+	+	+
9	0,23	0,86			+				
10	0,52	0,56					+		
11	0,60	0,50					+		
12	0,77	0,20		+	+	+	+	+	
13	0,88	0,37					+		
14	0,90	0,37				+	+		+
Иридоиды									
1	0,13	---	+	+	+	+	+	+	+
2	0,22	---	+	+	+		+	+	+
3	0,26	---	+	+	+		+	+	
4	0,37	---	+	+	+		+		
5	0,41	---	+	+	+	+	+	+	+
6	0,56	---	+	+	+	+	+	+	
7	0,78	---	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: * 15% CH₃COOH используется для анализа флавоноидов, 2% CH₃COOH – фенолкарбоновые и гидроксикоричные. Значения R_f СО цинарозида в системе: БУВ, 4:1:2 – 0,32; CH₃COOH, 15% - 0,17; значение R_f СО хлорогеновой кислоты в системе БУВ, 4:1:2 – 0,65; CH₃COOH, 2% - 0,68; значение R_f СО аукубина в системе БУВ, 4:1:2 – 0,41.

Компонентный состав ФКК и ГКК исследованных видов рода *Euphrasia* варьирует от трех до тринадцати веществ (табл. 12). Близкий компонентный состав установлен для *E. officinalis* и *E. tatarica*, относящихся к разным подсекциям, данная пара видов характеризуется наличием пяти совпадающих веществ. Представители, относящиеся к подсекции *Brevipila*, но разным видам агрегатам, характеризуются семью совпадающими веществами. Компонентный состав гибридного вида *E. x reuteri* отличается минимальным набором (пять) веществ. Постоянным компонентом рода *Euphrasia* является хлорогеновая кислота. Кофейная кислота присутствует в пяти исследуемых видах, за исключением *E. parviflora*, *E. officinalis* и *E. x reuteri*; феруловая в семи видах, за исключением *E. x reuteri*.

Компонентный состав иридоидов семи видов рода *Euphrasia* является однородным (табл. 12). Постоянными компонентами являются изокаталпол, аукубин и одонтозид. Каталпол найден у представителей подсекций *Euphrasia* и *Brevipila*, за исключение гибридного вида *E. x reuteri*. Наиболее разнообразный состав (семь веществ) обнаружен у *E. officinalis*, *E. stricta* и *E. brevipila*. Наименьший компонентный состав (три вещества) обнаружен у представителя подсекции *Nemorosa*.

Анализ внутривидовой изменчивости показал незначительную вариабельность флавоноидов, ФКК, ГКК и иридоидов. Сходство, вероятнее всего, обусловлено онтогенетическими факторами, а незначительные различия в количестве компонентов, влиянием экологических условий произрастания.

Изучение изменчивости количественного содержания биологически активных веществ в растениях рода *Euphrasia*

Межвидовая изменчивость количественного содержания БАВ в траве и органах в пределах рода *Euphrasia*

В результате сравнительного анализа количественного содержания БАВ установлено, что порядок их накопления в растениях рода *Euphrasia* имеет общие закономерности (рис. 10).

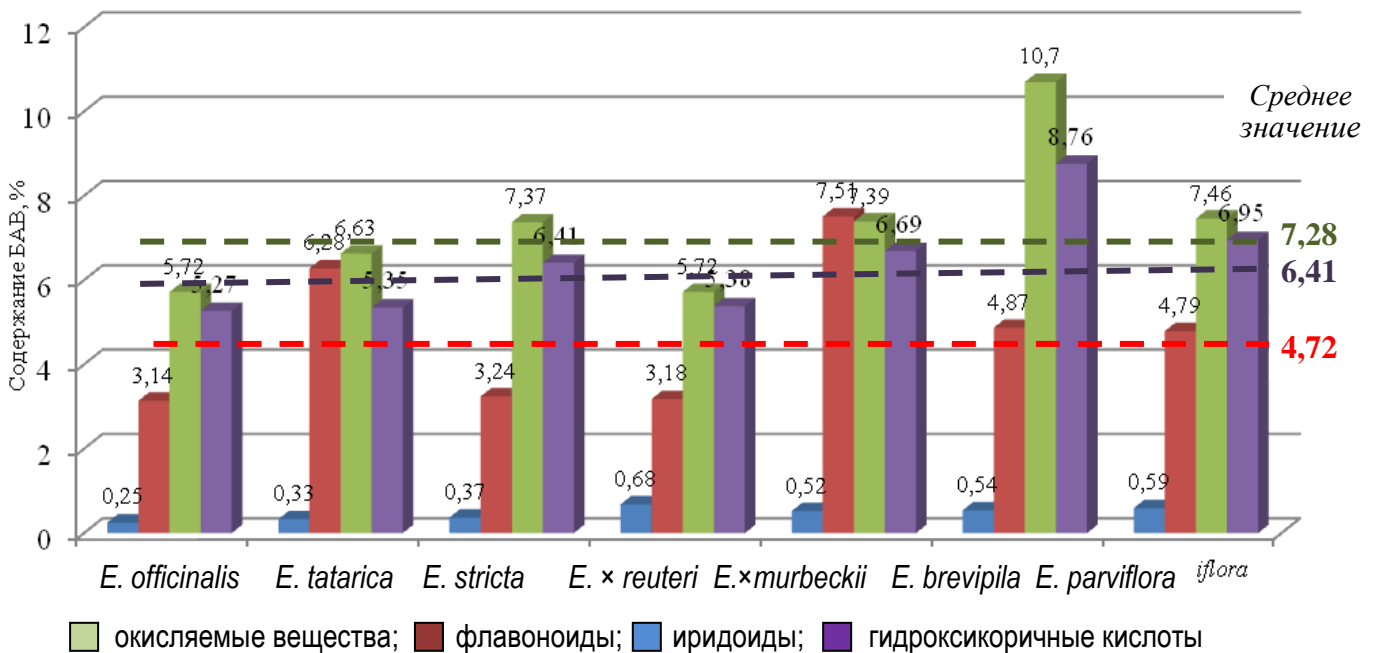


Рис. 10. Содержание БАВ в траве растений рода *Euphrasia* L., произрастающих в различных регионах России.

Высоким содержанием характеризуются виды, принадлежащие к *Aggr. E. vernalis* и *Aggr. E. nemorosae*, их количественное содержание выше среднего значения, тогда как у *E. officinalis* и гибридного вида *E. × reuteri* содержание БАВ ниже среднего значения. Представители *Aggr. E. pectinata* и *Aggr. E. stricta*, характеризуются содержанием БАВ на уровне среднего значения по роду *Euphrasia*. В траве исследуемых видов доминирует группа окисляемых веществ, содержание колеблется от 5,72 до 10,7% и, объясняется преобладанием в компонентном составе флавоноидов и гидроксикоричных кислот (ГКК). Характер накопления БАВ в органах исследуемых образцов имеет общие тенденции. Флавоноиды, гидроксикоричные кислоты и окисляемые вещества накапливаются в значительных количествах в генеративных органах: цветках и плодах, что обусловлено их важной ролью в процессах воспроизводства.

Минимальное количество содержится в вегетативных органах: корнях и стеблях. Закономерность накопления иридоидов имеет обратную зависимость, наибольшее количество иридоидов накапливается в корнях, а минимальное в листьях и цветках.

Межпопуляционная изменчивость комплекса БАВ

Установлено, что на накопление флавоноидов и гидроксикоричных кислот в траве *E. brevipila* ($F_{кр} > F_{экс.}$) географический фактор существенного влияния не оказывает, поэтому заготовку сырья можно вести по всему ареалу данного растения.

Сравнительный анализ количественного содержания БАВ у семи видов рода *Euphrasia*, перспективных в качестве производящих растений, показал, что они характеризуются средней вариабельностью межпопуляционной изменчивости по содержанию флавоноидов и окисляемых веществ, что позволяет говорить о стабильности данных показателей внутри ценопопуляции. Содержание иридоидов характеризуется высокой вариабельностью, и не позволяет использовать данный показатель.

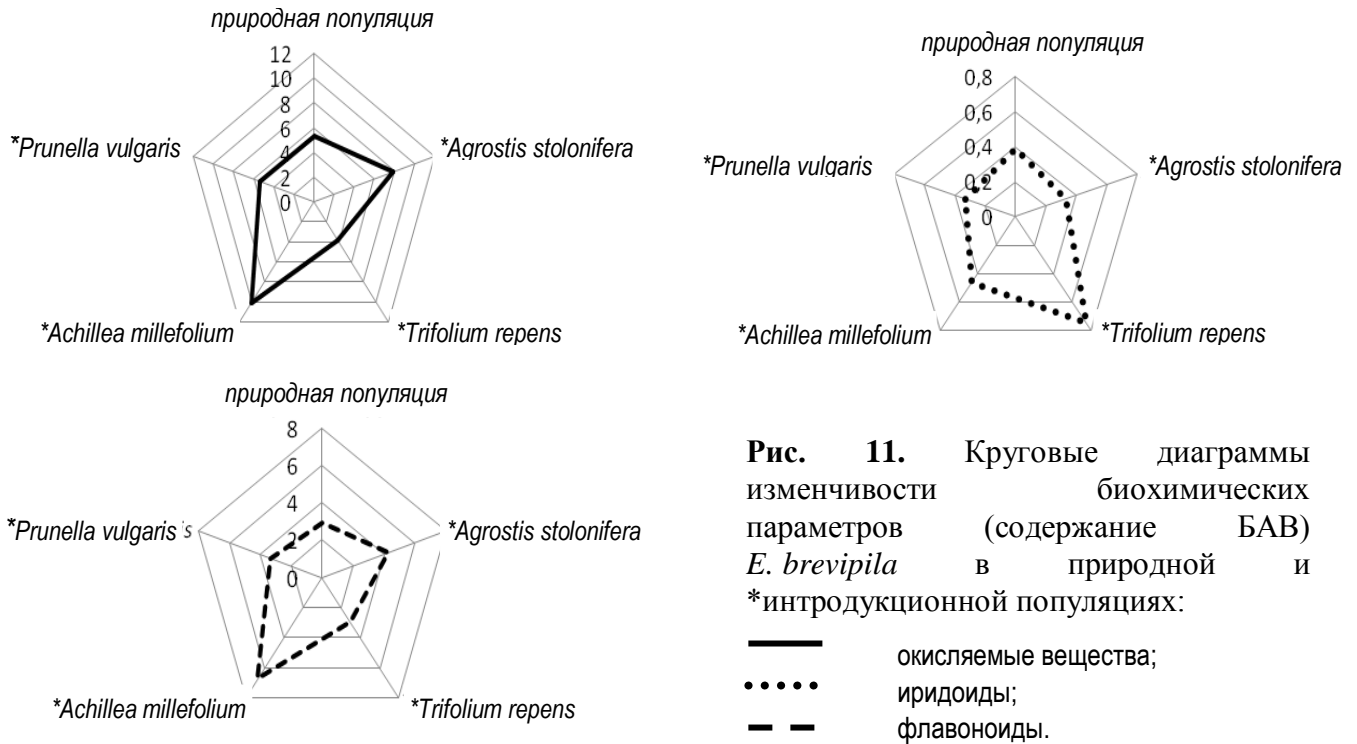
Накопление БАВ, в зависимости от биологической особенности рода *Euphrasia*

Одной из биологических особенностей растений рода Очанка является полупаразитический тип существования, то есть растения содержат хлорофилл, способны к фотосинтезу, формируют гаустории, и на определенном этапе онтогенеза питаются за счет ресурсов других растений в ходе непосредственного контакта с ними. В настоящее время широко используется для данного явления термин «растение гемипаразит» (hemiparasitic plant) [Киселева, 2013; Govier, Harper, 1965; Nickrent, 2002].

Актуальным является изучение характера накопления БАВ в растениях рода Очанка, произрастающих в условиях монокультуры «растения-хозяина» или «вида-хозяина», что было проведено в ходе одного из этапов интродукционного процесса на примере *E. brevipila*. Данные исследования так же позволят научно обосновать выбор предпочтительного фитоценоза для сбора травы очанки в природных условиях.

Таким образом, установлено, что количественное содержание БАВ в условиях культуры изменяется в зависимости от растения-хозяина (рис. 11). Высокое содержание иридоидов и максимальное количество фенольных соединений накапливается при совместном произрастании *E. brevipila* с *A. millefolium*. Тогда как, доминирование *T. repens* в популяции приводит к низкому содержанию флавоноидов и окисляемых веществ в сырье и максимальному количеству иридоидов.

Наиболее предпочтительными для сбора сырья *E. brevipila* являются природные ценопопуляции с преобладанием в травостое представителей разнотравья – *A. millefolium* (сем. Астровые), сем. Бобовые – *T. repens*; сем. Злаковые – *A. stolonifera*.



СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, ХАРАКТЕРИЗУЮЩЕГОСЯ ПОЛИМОРФИЗМОМ НА ПРИМЕРЕ РОДА *EUPHRASIA*

Разработана методика качественного обнаружения флавоноидов, гидроксикоричных кислот методом ТСХ в лекарственном растительном сырье очанки, отвечающая параметрам валидации по показателям: приемлемость и специфичность. Разработана методика количественного определения суммарного содержания гидроксикоричных кислот в сырье *E. brevipila* методом прямой спектрофотометрии в пересчете на хлорогеновую кислоту ($E^{1\%}_{1\text{см}} = 459$, при $\lambda = 325$ нм), отвечающая параметрам валидации. Изучено влияние времени экстракции, природы и концентрации экстрагента, соотношения сырья и экстрагента на выход ГКК. Ошибка метода с достоверной вероятностью 95% составляет 4,3%. Обоснована возможность их использования у перспективных видов рода Очанка.

Для лекарственного растительного сырья, характеризующегося полиморфизмом, предложено нормировать числовые показатели с учетом результатов товароведческого анализа производящих растений, природных образцов, представляющих собой смесь различных видов, произрастающих совместно; модельных образцов, составленных с учетом факторов гипотетически возможных в природе. Определены числовые показатели, регламентирующие доброкачественность сырья.

Полученные результаты положены в основу проекта ФС «Очанки трава» и «Инструкция по сбору и сушке очанки травы».

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ФИТОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ РАСТЕНИЙ РОДА *EUPHRASIA*

Установлены оптимальные технологические параметры получения фитопрепаратов на основе лекарственного растительного сырья очанки: экстрагент – спирт 40% для экстракта сухого и 70% для настойки и экстракта жидкого; степень измельчения сырья $> 0,25 \leq 2,0$ мм; метод

получения – реперколяция – для экстрактов и ускоренная дробная мацерация для настойки; время настаивания для экстрактов 8 часов.

Стандартизацию разработанных фитопрепаратов проводили на шести сериях в соответствии с требованиями ГФ XIII. На основании проведенных исследований разработаны и согласованы с ООО «НПК «Апифитогруп» проекты НД «Очанки настойка», «Очанки экстракт сухой. Субстанция», «Очанки экстракт жидкий».

Учитывая анализ рынка косметических товаров, обоснован состав и разработана технология крема на основе липофильного (масляный экстракт очанки) и гидрофильного комплекса (гель метилцеллюлозы, приготовленного на основе отвара очанки) биологически активных веществ из травы *E. brevipila*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований разработан методологический подход к фармакогностическому изучению и стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений, на примере растений рода *Euphrasia*, предназначенный для решения проблем рационального использования и внедрения в медицинскую практику лекарственных растений, характеризующихся полиморфизмом, а также создание на их основе высокоэффективных и безопасных лекарственных препаратов.

Используя комплексный подход, на примере сравнительного исследования полиморфных видов рода *Euphrasia* L. семейства *Scrophulariaceae* Juss. выделены для включения в НД перспективные виды данного рода. Доказана целесообразность использования морфологически близких видов, произрастающих совместно, в качестве производящих растений.

Выводы

1. Установлено, что Пермский край обладает достаточным потенциалом ресурсов ЛРС – травы очанки и при соблюдении режимов рациональной эксплуатации зарослей может служить сырьевой базой для нужд практического здравоохранения. Определено, что тип фитоценоза на ПЗС очанки коротковолосистой достоверного влияния не оказывает, поэтому заготовка ЛРС возможна в различных растительных ассоциациях. Общая площадь зарослей составила 17,2 га, а возможный объем ежегодной заготовки 1064,6 кг.

2. На основании экспериментальных данных составлена карта-схема распространения рода *Euphrasia* на территории Пермского края. Расширен ареал распространения *E. stricta*, *E. officinalis*, *E. tatarica*, *E. reuteri* в четырех ботанико-географических районах края. Полученные результаты могут быть использованы в ходе ресурсоведческих исследований и при организации мероприятий по заготовке сырья – травы очанки.

3. Установлена безопасность и эффективность перспективных видов рода *Euphrasia*. Сопоставимый уровень фармакологической активности позволяет, с научной точки зрения, обосновать целесообразность их использования в качестве производящих растений.

Исследуемые виды очанки отнесены к группе «Малоопасные вещества» (IV класс токсичности) ЛД₅₀ более 5000 мг/кг.

Установлено, что водные извлечения (настой) очанки оказывают достоверное торможение экссудативной фазы воспаления, при этом **противовоспалительная активность** гибридных видов менее выражена.

Гипотензивную активность проявляют все изученные виды очанки, при этом спиртовые извлечения эффективнее по продолжительности и силе действия.

При анализе **антикоагулянтной активности** установлено, что изученные виды очанки обладают одновекторным действием, однако природа экстрагента не влияет на время свертывания крови.

Наиболее выраженный **антимикробный эффект** проявляют спиртовые извлечения (настойка) из исследуемых видов очанки по отношению к грамположительным микроорганизмам (*St. aureus*), тогда как в отношении грамотрицательных (*E. coli*) установлена более низкая восприимчивость.

4. Сравнительные морфолого-анатомические исследования перспективных видов очанки позволили установить диагностические признаки и включить их в нормативную документацию на сырье в разделы «Внешние признаки» и «Микроскопия». В основе диагнозов подлинности у растений, характеризующихся полиморфизмом, заложены родовые, широко варьируемые признаки внешней и внутренней структуры.

5. Доказано, что микродиагностические признаки, характеризующие видовую принадлежность сырьевого источника у измельченного и порошкованного сырья, а также сырья в составе БАД «*Herba Euphrasiae*», проявляются во фракциях со степенью измельчения $> 0,25 < 1,0$ мм.

6. Установлены отличительные признаки внешнего и внутреннего строения, произрастающего совместно с очанками, морфологически сходного вида *Odontites serotina*, как одной из возможных примесей к лекарственному растительному сырью.

7. Показано, на примере рода *Euphrasia*, что для обоснования возможности использования в фармации лекарственных растений, характеризующихся полиморфизмом, необходимо исследовать закономерности накопления продуктов первичного и вторичного обмена. Полученные результаты используются в аналитических целях, а также для хемосистематики.

8. Выявлено, что компонентный состав углеводов рода *Euphrasia* представлен шестью веществами, при этом глюкоза, галактоза, ксилоза, арабиноза и рамноза присутствуют как в свободном, так и в связанном состоянии.

9. Доказано, что постоянными компонентами аминокислотного комплекса рода *Euphrasia* являются гистидин в свободном и связанном состоянии, треонин и аланин в связанном, а аргинин в свободном виде, доминирующим является аланин в свободном (2,42 – 2,93 мкг/мг) и связанном (6,10 – 10,93 мкг/мг) состоянии.

10. Установлено, что содержание жирного масла в семенах исследованных видов колеблется от 23 до 33%; в маслах доминируют непредельные кислоты C:18 – линоленовая, линолевая, олеиновая. Основу пула насыщенных жирных кислот составляют пальмитиновая и стеариновая кислоты. Суммарное содержание непредельных жирных кислот находится в интервале 83,3 – 90,4%, а предельных 9,4 – 13,2%, от их общего количества. Среднее значение концентраций высших жирных кислот исследованных видов можно рассматривать в качестве жирнокислотного профиля масел семян рода *Euphrasia*.

11. Определен элементный состав золы растений рода *Euphrasia*. Он представлен 24 элементами, согласно их содержанию большинство отнесены к микро- и ультрамикроэлементам. Накопление имеет общие закономерности и представлено следующим рядом элементов: $P > Mn > Ba > Sr > Zn > Ti > Cu > Zr > Ni > Cr > Co > Mo > Pb > Nb > V > Ga > Sn > Sc > Yb > Y > Be > Ag$. В траве изученных видов содержатся жизненно важные элементы – кобальт, медь, молибден, хром, цинк. Установлено, что исследуемые виды накапливают свинец, при этом его концентрация не превышает ПДК, принятые для биологически активных добавок.

12. Доказано, что доминирующими компонентами фенольного комплекса перспективных видов рода *Euphrasia* являются фенолкарбоновые и гидроксикоричные кислоты, их суммарное содержание в пробах находится в пределах 39 – 55%. Максимальное количество суммы фенолокарбоновых и гидроксикоричных кислот отмечается в *E. brevipila* (57,14%), а минимальное в гибридных видах – *E. x reuteri* и *E. x murbeckii*, 42,12 и 39,22%, соответственно. Постоянными компонентами фенольного комплекса являются галловая и хлорогеновая кислоты.

13. Установлена закономерность накопления БАВ у систематически близких видов. Высоким содержанием флавоноидов, гидроксикоричных кислот и иридоидов характеризуются виды, принадлежащие к *Aggr. E. vernalis* и *Aggr. E. nemorosae*, их количество выше среднего значения, тогда как у *E. officinalis* и гибридного вида *E. × reuteri* содержание БАВ ниже среднего значения. Представители *Aggr. E. pectinat* и *Aggr. E. stricta* содержат БАВ на уровне среднего значения по роду *Euphrasia*. В траве исследуемых видов доминирует группа окисляемых веществ, содержание колеблется от 5,72 до 10,7% и объясняется преобладанием в компонентном составе БАВ фенольных соединений. Максимальное количество фенольных соединений в исследованных видах накапливается в надземных органах – цветках и листьях, а иридоидов в подземных органах – корнях.

14. Показано, что исследуемые виды рода *Euphrasia* характеризуются средней вариабельностью межпопуляционной изменчивости по качественному и количественному содержанию фенольного комплекса БАВ, это позволяет говорить о стабильности данных показателей внутри ценопопуляции. Количественное содержание иридоидов характеризуется высокой вариабельностью и не позволяет использовать данный показатель для характеристики качества лекарственного растительного сырья.

15. Исследование изменчивости комплекса БАВ, в зависимости от биологической особенности рода *Euphrasia*, позволило установить закономерности влияния «растения-хозяина» на накопление БАВ у растений гемипаразитов. Высокое содержание иридоидов и фенольных соединений накапливается при совместном произрастании о. коротковолосистой с *Achillea millefolium*. Тогда как, доминирование *Trifolium repens* в популяции приводит к низкому содержанию флавоноидов и окисляемых веществ в сырье и высокому количеству иридоидов. Наиболее предпочтительными для сбора сырья о. коротковолосистой являются природные ценопопуляции с преобладанием в травостое – *Achillea millefolium* (сем. Астровые), *Trifolium repens* (сем. Бобовые); *Agrostis stolonifera* (сем. Злаковые).

16. Разработаны методики качественного обнаружения флавоноидов, гидроксикоричных кислот в лекарственном растительном сырье очанки, отвечающие параметрам валидации. Впервые разработана методика спектрофотометрического определения гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту, отвечающая параметрам валидации по показателям: диапазон использования, линейность, повторяемость, правильность, воспроизводимость. Обоснована возможность её использования у перспективных видов рода *Euphrasia*.

17. Предложено для лекарственного растительного сырья, характеризующегося полиморфизмом, нормировать числовые показатели с учетом результатов товароведческого анализа производящих растений, модельных и природных образцов, содержащих смесь видов. Определены числовые показатели, регламентирующие доброкачественность сырья.

18. Установлены технологические параметры получения фитопрепаратов: экстрагент – спирт 40% для экстракта сухого и 70% для настойки и экстракта жидкого; степень

измельчения сырья $> 0,25 \leq 2,0$ мм; метод получения – реперколяция – для экстрактов и ускоренная дробная мацерация для настойки; время настаивания для экстрактов 8 часов.

Обоснован состав и разработана технология косметического средства на основе липофильного (масляный экстракт очанки) и гидрофильного комплекса (гель метилцеллюлозы, приготовленного на основе отвара очанки) биологически активных веществ травы очанки коротковолосистой.

19. По результатам проведенных комплексных фармакогностических исследований разработан проект ФС «Очанки трава» и «Инструкция по сбору и сушке травы очанки». Проведена стандартизация фитопрепаратов по основным показателям качества, составленные проекты нормативной документации на «Очанки настойка», «Очанки экстракт сухой. Субстанция», «Очанки экстракт жидкий» согласованы с ООО «НПК «Апифито групп».

Рекомендации. Разработанный методологический подход может быть рекомендован для изучения полиморфных видов среди представителей различных семейств покрытосеменных растений, а также других таксонов органического мира.

Разработанные технологические параметры получения фитопрепаратов могут быть использованы при производстве лекарственных препаратов и биологически активных добавок.

Результаты фармакологических исследований растений рода *Euphrasia* являются базой для разработки доступных и эффективных лекарственных препаратов антикоагулянтного, антирадикального, антимикробного, противовоспалительного и гипотензивного действия.

Разработанные рекомендации по выделению диагностических признаков анатомо-морфологического строения, а также установлению таксономически значимых компонентов БАВ в аналитических целях могут использоваться для исследования растений других родов и семейств, среди которых наблюдается полиморфизм.

Разработанная и апробированная спектрофотометрическая методика количественного определения гидроксикоричных кислот рекомендована для включения в НД при стандартизации фитопрепаратов и лекарственного растительного сырья.

Результаты ресурсоведческих исследований травы очанки могут использоваться при организации мероприятий по заготовке сырья на территории Пермского края, а результаты этапа экспериментальной интродукции травы очанки – при разработке Агротехнических правил возделывания растений рода *Euphrasia* в условиях Уральского региона.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Перспективы дальнейшего исследования проблемы заключаются в проведении сравнительного исследования полиморфных видов из других родов и семейств, направленного на определение результативности использования разработанной концепции, а также на добавление новых базовых научно-исследовательских компонентов схемы. Кроме того, путем усовершенствования критериев отбора перспективных видов, с учетом биологических особенностей таксона и механизма возникновения полиморфизма.

Исследования в фармако-технологическом направлении могут быть продолжены за счет разработки оригинальных лекарственных препаратов на основе растений рода *Euphrasia* и проведения их клинических исследований.

Изучение глубины изменчивости морфолого-анатомических параметров, по нашему мнению, было бы интересно дополнить сравнительным исследованием биологических особенностей рода *Euphrasia* с использованием молекулярно-биологических методов.

Исследования интродукционного процесса в перспективе могут быть продолжены проведением растениеводческого этапа, разработкой методов и приемов агротехники,

оптимальных для региона технологий выращивания лекарственных растений рода *Euphrasia* на плантациях.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Петриченко, В.М. Спектрофотометрический метод определения содержания флавоноидов в *Euphrasia brevipila* Burn. et Greml. / В.М. Петриченко, Т.В. Сухина, Н.С. Фурса // **Растительные ресурсы.** – 2002. – Вып. 2. – Т. 38. – С. 104 – 109.
2. Петриченко, В. М. Антимикробная активность извлечений из трех видов *Euphrasia* L. / В.М. Петриченко, Т.В. Сухина, Т.Ф. Одегова, Л.К. Бабян, Н.И. Шрамм // **Растительные ресурсы.** – 2002. – Вып. 3. – Т. 38. – С. 82 – 86.
3. Петриченко, В.М. Макро- и микроэлементный состав *Euphrasia brevipila* Burn. et Greml. / В.М. Петриченко, Т.В. Сухина, Н.С. Фурса, А.Ю. Запоров, А.В. Жекин // **Растительные ресурсы.** – 2003. – Т. 39, вып. 3. – С. 111-114.
4. Петриченко, В.М. Технология получения и фармакологические свойства сухого экстракта из травы очанки коротковолосистой / В.М. Петриченко, Т.В. Сухина, Н.И. Шрамм, Л.К. Бабян, В.В. Юшков // **Химико-фармацевтический журнал.** – 2005. – Т. 39, № 3. – С. 33 – 36.
5. Шестакова, Т.С. Биологически активные вещества БАД «Уральская очанка» / Т.С. Шестакова, В.М. Петриченко, Т.В. Сухина // **Фармация.** – 2005, №6. – С 44 – 45.
6. Петриченко, В.М. Химический состав и антиоксидантная активность биологически активных веществ очанки коротковолосистой / В.М. Петриченко, Т.В. Сухина, Н.И. Шрамм, Л.К. Бабян // **Химико-фармацевтический журнал.** – 2006. – Т. 40, №6. – С. 66 – 70.
7. Сухина, Т.В. Технология получения водных извлечений из травы очанки / Т.В. Сухина, В.М. Петриченко, Н.И. Шрамм, Л.К. Бабян // **Фармация.** – 2006, №5. – С. 30 – 32.
8. Шестакова, Т.С. Химический состав и биологическая активность препарата «Уральская очанка» / Т.С. Шестакова, В.М. Петриченко, Т.В. Сухина, Г.М. Сафонова // **Фармация.** – 2006, №6. – С. 35 – 38.
9. Шестакова, Т.С. Таблетки «Уральская очанка»: химический состав и показатели качества / Т.С. Шестакова, В.М. Петриченко, Т.В. Сухина, Г.М. Сафонова, Н.И. Шрамм, Л.К. Бабян // **Фармация.** – 2007, №3. – С. 40 – 41.
10. Шестакова, Т.С. Элементный состав травы и экстракционных препаратов очанки / Т.С. Шестакова, В.М. Петриченко, Т.В. Сухина // **Химико-фармацевтический журнал** – 2008, № 8. – С. 20 – 22.
11. Сухина, Т.В. Влияние экстрагентов на состав БАВ, спектральные характеристики и антимикробную активность извлечений из травы очанки коротковолосистой / Т.В. Сухина, Т.С. Шестакова, В.М. Петриченко, В.В. Новикова // **Химико-фармацевтический журнал,** 2010. – Т. 44, № 12. – С. 63 – 67.
12. Петриченко, В.М. Состав жирных кислот масла семян некоторых видов рода *Euphrasia* (*Scrophulariaceae*) / В.М. Петриченко, Т.В. Сухина // **Растительные ресурсы,** 2011 – № 4. – С. 177 – 180.
13. Бомбела, Т. В. Микроскопическое исследование травы очанки лекарственной / Т. В. Бомбела, О. А. Кроткова, В. М. Петриченко // **Фармация,** 2011. – №4. – С. 21 – 23.
14. Кроткова, О.А. Полисахариды *Euphrasia brevipila* (*Scrophulariaceae*) / О.А. Кроткова, Т.В. Бомбела, В.М. Петриченко // **Вестник уральской медицинской академической науки,** 2011. – № 3/1. – С. 64 – 65.

15. Бомбела, Т.В. Фенольные соединения некоторых видов рода Очанка (*Euphrasia* L.) флоры Пермского края / Т.В. Бомбела, В.М. Петриченко, О.А. Кроткова // **Химия растительного сырья**, 2011. – №4. – С. 177-180.
16. Бомбела, Т.В. Проявляемость анатомо-диагностических признаков травы очанки лекарственной при измельчении / Т.В. Бомбела, О.А. Кроткова, В.М. Петриченко // **Фармация**, 2012. – №1. – С. 12-16.
17. Бомбела, Т.В. Фармакогностическое изучение *Euphrasia tatarica* Fisch. ex Spreng. (*Scrophulariaceae*) / Т.В. Бомбела, О.А. Кроткова, В.М. Петриченко, В.Д. Белоногова // **Медицинский альманах**, 2012. – №2 (21). – С. 230-233.
18. Бомбела Т.В. Разработка и исследование фитокрема на основе очанки коротковолосистой/ Т.В. Бомбела, Л.К. Бабян, Т.В. Ложкина // **Современные проблемы науки и образования**, 2013. – № 4. – С. 351.
19. Бомбела Т.В. Сравнительное изучение липофильных веществ растений рода *Euphrasia* L./ Т.В. Бомбела, О.А. Кроткова// **Химия растительного сырья**, 2014. – №1. – С. 147-151.
20. Elena A., Goun Anticancer and antithrombin activity of Russian plants / Elena A. Goun, V.M. Petrichenko, S.U. Solodnikov, T.V. Suchinina, Martin A. Kline, Glenn Cunningham, Chi Nguyen, Howard Miles // **Journal of Ethnopharmacology** – 2001. - № 81 – S. 337 – 342.
21. Бомбела, Т.В. Инновационный подход к созданию лекарственных препаратов для лечения социально значимых заболеваний / Т.В. Бомбела, Э.А. Коркотян, Т.С. Шестакова и др. // **Менеджмент качества в сфере здравоохранения и социального развития**, 2012. – №1 (11). – С. 97-100.
22. Сухинина, Т.В. Использование морфометрических показателей видов Очанка (*Scrophulariaceae*) для диагностики лекарственного сырья / В.М. Петриченко, Т.В. Сухинина // **Современные вопросы фармакогнозии: Межвуз. сб. науч. тр. с междунар. участием.** – Ярославль, 2004. – С. 264 – 272.
23. Сухинина, Т.В. Количественные параметры анатомической структуры четырех видов рода Очанка (*Euphrasia*) / Т.В. Сухинина, В.М. Петриченко // **Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: Сб. науч. тр. Пятигорской гос. фармацев. акад.** – Пятигорск, 2006. – Вып. 61. – С. 45 – 48.
24. **Сухинина, Т.В.** Структура фитоценозов и синэкологический оптимум очанки коротковолосистой в Пермском крае / Т.В. Сухинина // **Вестник ПГФА.** – Пермь, 2007, № 2.– С. 288 – 291.
25. **Сухинина, Т.В.** Аминокислотный состав растений рода *Euphrasia* L. / Т.В. Сухинина // **Сб. мат. науч.-практ. конф. с междунар. участием. посвящ. 25-летию фармацев. фак. Ярославской гос. мед. академии.** – Ярославль, 2007. – С. 314 – 316.
26. Сухинина, Т.В. Динамика накопления иридоидов в *Euphrasia brevipila* Burnat et Gremli. / Т.В. Сухинина, В.М. Петриченко // **Современное состояние и пути оптимизации лекарственного обеспечения населения: Мат. Российской науч.-практ. конф. ПГФА, проводимой в рамках 14-ой междунар. выставки «Медицина и здоровье» (13-15 ноября 2008 года)** – Пермь, ГОУ ВПО ПГФА Росздрава, 2008. – С. 360 – 363.
27. Сухинина, Т.В. Показатель качества жидкого экстракта очанки коротковолосистой, и их изменение в процессе хранения / Т.В. Сухинина, Т.С. Шестакова, В.М. Петриченко, А.Н. Булякбаева // **Актуальные вопросы судебно-химических, хим.-токсикол. исслед. и фармацев. анализа: Мат. Российской науч.-практ. конф. с междунар. участием, 28 сентября – 3 октября 2009 г., Пермь, ГОУ ВПО ПГФА Росздрава**, 2009. – С. 165 – 168.

28. Кроткова, О.А. Фенольные соединения *Euphrasia officinalis* / О. А. Кроткова, Т.В. Сухинина, В.М. Петриченко // Актуальные проблемы современной науки и образования. Биологические науки: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Т. II. – Уфа: РИЦ БашГУ, 2010. – С. 418 – 422.
29. Бомбела, Т.В. Иридоиды *Euphrasia tatarica* (*Scrophulariaceae*) / Т.В. Бомбела, О.А. Кроткова, В.М. Петриченко // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии – 2010. – №7. – С. 23 – 26.
30. Бомбела, Т.В. Состав полисахаридов травы *Euphrasia brevipila* (*Scrophulariaceae*) / Т.В. Бомбела, О.А. Кроткова, В.М. Петриченко // Там же. – С. 26 – 28.
31. Бомбела, Т.В. Подлинность и количественное определение действующих компонентов настойки очанки коротковолосистой / Т.В. Бомбела, В.М. Петриченко, Л.К. Бабиян, Н.И. Шрамм, О.А. Кроткова, // Там же. – С. 28 – 31.
32. Бомбела, Т.В. Изменчивость химических параметров травы очанки коротковолосистой в условиях интродукции / Т.В. Бомбела, О.А. Кроткова // Материалы за 7-а международна научна практична конференция, «Achievement of high school», - 2011. Т. 25. Биологии. Экология. География и геология. София: «Бял ГРАД-БГ» ООД, 2011. – С. 3 – 7.
33. Бомбела, Т.В. Оценка антимикробной активности растений рода *Euphrasia* L. / Т.В. Бомбела, О.А. Кроткова, В.М. Петриченко, Т.Ф. Одегова // Актуальные вопросы фармацевтической науки и образования: мат-лы науч. конф. с междун. участием, посв. 70-летию фарм. фак. СГМУ, Томск, 7-8 сентября 2011 г. – Томск, 2011. – С. 27 – 30.
34. Бомбела, Т.В. Выделение и идентификация пигментов травы очанки коротковолосистой / Т.В. Бомбела, О.А. Кроткова, М.А. Секерина, В.М. Петриченко // Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов: от разработки до коммерциализации / Материалы научно-практической конференции с международным участием, посвященной 75-летию Пермской государственной фармацевтической академии (7 – 9 декабря 2011 года, г. Пермь). – Пермь, ПГФА, 2011. – С. 191 – 193.
35. Бомбела, Т.В. Влияние экологических и онтогенетических факторов на содержание окисляемых веществ *E. tatarica*, *E. × murbeckii* и *E. stricta* // Т.В. Бомбела, О.А. Кроткова, В.М. Петриченко // Там же. – С. 188 – 190.
36. Кроткова, О.А. Компонентный состав биологически активных веществ *Euphrasia stricta* (*Scrophulariaceae*) / О.А. Кроткова, Т.В. Бомбела, Е.П. Смирнова, В.М. Петриченко // Там же. – С. 224 – 227.
37. Кроткова, О.А. Особенности микроструктуры прицветного листа двух видов рода *Euphrasia* L. / О.А. Кроткова, Т.В. Бомбела, В.М. Петриченко // Там же. – С. 228 – 231.
38. Бомбела, Т.В. Изменчивость морфолого-анатомических признаков стеблевого и прицветного листа двух видов рода *Euphrasia* L. / Т.В. Бомбела, О.А. Кроткова, В.М. Петриченко // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. / под. ред. М.В. Гаврилина. – Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2011. – Вып. 66. – С. 23-27.
39. Сухинина, Т.В. Сравнительное морфологическое изучение видов рода *Euphrasia* L. / Т.В. Сухинина, В.М. Петриченко, Т.И. Вотинова, А.Д. Шустов // Актуальные проблемы медицины и фармации: Материалы конференции. – Курск: КГМУ, 1999. – С. 351.
40. Сухинина, Т.В. Биологические особенности семян очанки коротковолосистой / Т.В. Сухинина, В.М. Петриченко, Т.И. Вотинова // Современные тенденции развития фармации: Материалы научно-практической конференции, посвященной 80-летию фармацевтической

службы Самарской области, Самарского государственного медицинского университета и Самарского аптечного склада (8 – 10 июня 1999 г.). – Самара, 1999. – С. 56.

41. Петриченко, В.М. Фитохимический анализ видов рода *Euphrasia* L. / В.М. Петриченко, Т.В. Сухина, Т.И. Вотинова, Л.С. Макарова // Актуальные проблемы фармацевтической науки и образования: итоги и перспективы: материалы юбилейной межвузовской научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава, посвященной 40-ому выпуску провизоров заочного обучения Пермской государственной фармацевтической академии. – Пермь: ПГФА, 2000. – С. 189.

42. Петриченко, В.М. Элементный состав очанки коротковолосистой / В.М. Петриченко, Т.В. Сухина, Н.С. Фурса, А.Д. Шустов // Там же – С. 190.

43. Сухина, Т.В. Иридоиды рода *Euphrasia* L. / Т.В. Сухина, В.М. Петриченко, С.Н. Лепина // Там же. – С. 195.

44. Сухина, Т.В. Содержание суммы флавоноидов и окисляемых веществ в растениях рода Очанка/ Т.В. Сухина, В.М. Петриченко, Т.С. Шестакова // Актуальные проблемы фармацевтической науки и образования: итоги и перспективы: материалы межвузовской научно-практической конференции, посвященной 85-летию высшего образования на Урале. – Пермь: ПГФА, 2001. – С. 119 – 120.

45. Сухина, Т.В. Разработка лекарственных форм на основе травы очанки / Т.В. Сухина, В.М. Петриченко, Л.К. Бабиян, Н.И. Шрамм // Актуальные проблемы медицины и фармации. Материалы конференции. – Курск: КГМУ, 2001. – С. 346.

46. Петриченко, В.М. Технология получения и биологическая активность экстракционных препаратов очанки коротковолосистой / В.М. Петриченко, Т.В. Сухина, Л.К. Бабия, Н.И. Шрамм, В.В. Юшков // Материалы 67-й межвузовской конференции студентов и молодых ученых. В 2-х частях. Часть II. – Курск: КГМУ, 2002. – С. 138 –139.

47. Сухина, Т. В. Ресурсоведческая характеристика и прогнозирование запасов сырья *Euphrasia brevipila* в Пермской области / Т.В. Сухина, В.М. Петриченко, В.Д. Белоногова // Актуальные проблемы фармацевтической науки и образования: итоги и перспективы. Материалы межвузовской научно-практической конференции “Вузы и регионы”. – Пермь, 2002. – С. 59 – 60.

48. Сухина, Т.В. Аминокислотный состав растений рода *Euphrasia* L. / Т.В. Сухина, В.М. Петриченко, О.С. Панова// Актуальные проблемы фармацевтической науки и образования: итоги и перспективы: Материалы межвуз. науч. – практ. конф. – Пермь, 2003. – С. 107 – 108.

49. Петриченко, В.М. Состав жирных кислот семян видов *Scrophulariaceae*/ В.М. Петриченко, Т.В. Сухина, Т.А. Ванькевич // Там же. – С. 109 – 110.

50. Петриченко, В.М. Состав биологически активных веществ растений семейства норичниковые / В.М. Петриченко, Т.С. Шестакова, Т.В. Сухина, М.А. Чуракова // Фармация и здоровье: Мат. междунар. науч.-практ. конф. – Пермь: ПГФА, 2005. – С. 143.

51. Сухина, Т.В. Антимикробная активность извлечений из растений семейства норичниковые / Т.В. Сухина, В.М. Петриченко, М.А. Просовский, В.В. Новикова // Там же. – С. 145 – 146.

52. Петриченко, В.М. Биологическая активность травы очанки и её фитопрепаратов / В.М. Петриченко, Т.В. Сухина, Т.С. Шестакова, Сыропятов Б.Я. // Фундаментальная фармакология и фармация – клинической практике: Мат. II-ой Российско-Китайской науч. конф. – Пермь, 2006. – С. 127.

- 53.** Шестакова, Т.С. БАД «Уральская очанка» - перспективное средство для профилактики тромбообразования / Т.С. Шестакова, Т.В. Сухинина, В.М. Петриченко, Сыропятов Б.Я. // Сб. мат. Конгресса. XIV Росс. нац. конгресс «Человек и лекарство». – Москва, 2007. – С. 463.
- 54.** Сухинина, Т.В. Антикоагулянтная активность паразитирующих растений семейства норичниковые / Т.В. Сухинина, В.М. Петриченко, Т.С. Шестакова, Сыропятов Б.Я. // Там же. – С. 882.
- 55.** Петриченко, В.М. Биологические и химические свойства растений семейства норичниковые / В.М. Петриченко, Т.В. Сухинина, Б.Я. Сыропятов, Т.С. Шестакова, Е.Е. Галишевская, К.А. Мищенко // Региональный конкурс РФФИ – Урал. – Пермь: ПНЦ УрО РАН, 2008, – Ч. 2, - С. 120 – 123.
- 56.** Петриченко, В.М. Биологические и химические свойства растений семейства норичниковые / В.М. Петриченко, Т.В. Сухинина, Б.Я. Сыропятов, Т.С. Шестакова, Е.Е. Галишевская и др. всего 8 чел.// Региональный конкурс РФФИ - Урал. Результаты научных исследований, полученные за 2007-2009 гг. Сб. статей. Ч. 2. Пермь: ПНЦ УрО РАН, 2010. – С. 113 – 117.
- 57.** Кроткова, О.А. Влияние условий произрастания на содержание флавоноидов в траве и органах *Euphrasia × turbeckii* / О.А. Кроткова, Т.В. Бомбела, Е.П. Смирнова // Материалы 76-й всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых: Молодежная наука и современность. 19-20 апреля 2011 года. В 3-х частях. Часть II – Курск: ГОУ ВПО КГМУ, 2011. – С. 247.
- 58.** Бомбела Т.В. Роль фотосинтетических пигментов в жизнедеятельности полупаразитирующих видов рода Очанка// Т.В. Бомбела// Сб. мат. Конгресса. XX Росс. нац. конгресс «Человек и лекарство». – Москва, 2013. – С. 552.
- 59.** Кроткова, О.А. Хромато-масс-спектрометрическое исследование мономерного состава полисахаридного комплекса очанки коротковолосистой/ О.А. Кроткова, Т.В. Бомбела, В.М. Петриченко, А.А. горбунов // Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез: Материалы Всероссийской конференции – Краснодар, 2013. – С. 142.
- 60.** Петриченко, В.М. Очанки Западного Урала (фармакогностические и биологические аспекты): **монография**/ В.М. Петриченко, Т.В. Сухинина. – Пермь: ГОУ ВПО «ПГФА Росздрава», 2006. – 145 с.
- 61.** Бомбела, Т.В. Микродиагностические признаки перспективных видов рода Очанка: **учебное пособие**/ Т.В. Бомбела, О.А. Кроткова. – Пермь: ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава, 2012. – 20 с.

Патенты

- 62.** Патент РФ 2220735. А 61К 35/78 А61Р 29/00 А 61Р 9/02. Способ получения средства, обладающего противовоспалительной и гипотензивной активностью/ Петриченко В.М., Сухинина Т.В., Бабиян Л.К., Шрамм Н.И., Сыропятов Б.Я., Юшков В.В.; заявитель и патентообладатель Перм. гос. фармацевт. акад. – № 2002108096; заявл. 29.03.02; опубл. 10.01.04. – 12с.
- 63.** Патент РФ 2266544. G 01 N 33/52. Унифицированный способ количественного определения флавоноидов в траве и экстракционных препаратах очанки/ Петриченко В.М., Сухинина Т.В.; заявитель и патентообладатель Перм. гос. фармацевт. акад. – № 2003137328/15; заявл. 24.12.03. опубл. 20.12.05. – 14с.
- 64.** Патент РФ 2342946. А61К 36/808 А61К 31/16 А61К 31/10 А61К 19/02. Фармацевтическое средство для лечения заболеваний суставов и способ его получения/

Петриченко В.М., Шестакова Т.С., Сухинина Т.В., Сыропятов Б.Я., Панцуркин В.И.; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО ПГФА Росздрава. – № 2007113315/15; заявл. 09.04.07. опубл. 10.01.09. – 9с.

65. Патент РФ 239671. А61К 36/80 А61К 31/10 А61К 29/00 А61К 31/04. Средство, обладающее антимикробным, противовоспалительным и анестезирующим действием, и способ его получения/ Петриченко В.М., Шестакова Т.С., Сухинина Т.В., Новикова В.В., Сыропятов Б.Я.; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО ПГФА Росздрава. – № 2007113315/15; заявл. 09.04.07. опубл. 10.01.09. – 8с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД	Артериальное давление
БАВ	Биологически активные вещества
БАД	Биологически активная добавка
ВОЕЗ	Возможный объем ежегодной заготовки
ВРПС	Водорастворимые полисахариды
ВЭЖХ	Высоко эффективная жидкостная хроматография
ГЖХ-МС	Газожидкостная хроматография с масселективным детектором
ГКК	Гидроксикоричные кислоты
ГЦ А	Гемицеллюлоза А
ГЦ В	Гемицеллюлоза В
ДФПГ	Дифинилпикрилгидразил
ЛР	Лекарственные растения
ЛРС	Лекарственное растительное сырьё
НД	Нормативный документ
ОСТ	Отраслевые стандартные требования
ПЗС	Плотность запаса сырья
ПВ	Пектиновые вещества
ПДК	Предельно допустимая концентрация
ТСХ	Тонкослойная хроматография
ФС	Фармакопейная статья
ФСП	Фармакопейная статья предприятия
ФКК	Фенолкарбоновые кислоты
ЭЗ	Эксплуатационный запас

Автор выражает глубокую благодарность и признательность доктору фармацевтических наук, профессору Василию Михайловичу Петриченко, за значительный вклад в практическую и теоретическую часть выполненной работы, идеи, советы и ценные замечания.

Искренняя благодарность заведующей кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники, доктору фармацевтических наук, профессору Валентине Дмитриевне Белоноговой за поддержку и помощь в работе над докторской диссертацией.

Особая благодарность коллективу кафедр фармакогнозии с курсом ботаники, фармацевтической технологии, физиологии, фармакологии, микробиологии, экстремальной медицины и товароведения Пермской государственной фармацевтической академии за неоценимую помощь при выполнении настоящей работы.