УДК 582.824:547.979.7:54.06

**В.П. Гапоненко1, доцент, канд.фарм.наук,**

**О.Л. Левашова2, ассистент, канд.фарм.наук**

*1Национальный фармацевтический университет*

*ул. Пушкинская,53, г. Харьков, Украина, 6100*

*2Харьковский национальный медицинский университет*

*пр. Ленина 4, г. Харьков, Украина, 61022*

*E-mail:lesya12@mail.ru*

**ФИТОХИМИЧЕСКОЕ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОФИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ЗВЕРОБОЯ**

Поиск новых источников биологически активных веществ для создания лекарственных препаратов различной направленности действия, а также изыскание растений, которые могут служить дополнительным лекарственным сырьем к официальным видам, является на сегодняшний день одной из наиболее актуальных задач химико-фармацевтической промышленности и медицины Украины.

В настоящее время зверобой продырявленный (Hypericum perforatum L.) является одним из самих популярных лекарственных растений, применяемый в народной и научной медицине [1-4]. Потребность в нем не удовлетворяются за счет сбора в естественных условиях, поэтому изучение видов рода Зверобой, близких ботанически к применяемым официнальным видам и введение их в культуру имеет не только научное, но и практическое значение [5.6] .

Объектами изучения служили трава зверобоя продырявленного (Hypericum perforatum L.), З.пятнистого (H.maculatum Crantz.), З.жестковолосистого (H.hirsutum L.), З.изящного (H.elegans Steph.), З.большого, собранные в различные годы на территории Харьковской, Курской, Ярославской областей, Хабаровского края, а также полученные из Государственной научно-исследовательской станции лекарственных растений (ГНИСЛР, Крым).

Целью наших исследований было изучение качественного и количественного состава липофильного, комплекса, полученного из надземной части различных видов зверобоя, а также его фармакологическая активность.

В процессе разработки технологии получения липофильного комплекса зверобоя (ЛКЗ) были проведены исследования по подбору экстрагента, используя такие растворители как гексан, петролейный эфир, бензол, хлороформ [7-9]. В результате установлено, что наиболее пол­но липофильные соединения, содержащиеся в сырье, извлекаются хлороформом или хлористым метиленом (6-7%), гексаном - 4,9% , петролейным эфиром - 4,6%, бензолом - до 2,5%. Выход ЛКЗ, полученных из надземной части З.продырявленного, З.пятнистый, З.жестковолосистый, З.изящный, З.большого, составляет 7,4%; 6,01%; 5,8%; 5,4%; 4,2% соответственно.

ЛКЗ представляет собой густую однородную массу темно-зеленого цвета со слабым своеобразным запахом, который практически не растворяется в воде, спирте, хорошо растворяется в хлороформе. В ка­честве основных действующих веществ ЛКЗ содержит производные бен­зо- α-пирона, тритерпеноиды, стерины, хлорофиллы А и В ( до 70%) и другие вещества.

Для разделения биологически активных веществ (БАВ) изучаемых видов рода Зверобой использовали методы адсорбционной и распределительной хроматографии на колонках полиамидного сорбента и силика­геля (соотношение разделяемая смесь - сорбент 1:50, соот­ношение диаметра колонки к высоте - 1:10). В качестве растворителей использовали бензол, смесь бензол-хлоpофоpм (1:2 – 1:9) и хлоpофоpм. Контроль за разделением осуществляли пpосмотpом колонки в УФ-свете, а также методом БХ и ТСХ в системах органических pаствоpителей: хлоpофоpм, хлоpофоpм-этанол (9:1), хлоpофоpм-этилацетат (4:1).

Наличие хлорофиллов характерно для всех исследуемых видов зверобоя. Максимальное количество хлорофиллов содержится в липофильной фракции З.продырявленного - 1,57%, минимальное - в З.большого 1,46%. Это связано с наличием в исследуемой надземной части З.большого большего количества цветков по отношению к листьям и стеблям. Количественное содержание хлорофиллов в З.пятнистого, З. жестковолосистого, З.изящного составил 1,54%, 1,51%; 1,52% соответственно.

При фитохимическом изучении ЛКЗ пяти видов рода Hypericum L. обнаружено 11 веществ, из которых выделено и идентифицировано 2 оксикумарина (умбелиферон, скополетин), 2 тритерпеноида (урсоловая и олеаноловая кислоты), ß-ситостерин, хлорофиллы А и В. Впервые из травы З.пятнистого выделен скополетин, а из З. жестковолосистого и З.большого урсоловую и олеаноловую кислоты соответственно.

Для определения ранозаживляющего действия ЛКЗ беспородным белым крысам обоего пола массой 150-180 г на выстриженном участке спины производили разрез кожи до мышц длиной 4 см и накладывали 3 шва. О ранозаживляющем действии судили по величине груза, необходимого для разрыва рубцовой ткани, который проводили на 7 сутки после нанесения раны. ЛКЗ испытывали в виде 1% раствора в подсолнечном масле, которым покрывали раны ежедневно в течение 7 суток. Применение ЛКЗ усиливает крепость раневого рубца у крыс на 18,4%, что свидетельствует о выраженной стимуляции процессов регенерации в тканях. Действие 1% раствора ЛКЗ З.пятнистого, З.жестковолосистого, З.изящного, З.большого характеризуется увеличением прочности рубца на 18,2%, 16,3%, 18,1% и 17,8% соответственно. ЛКЗ оказывает также местный проти­вовоспалительный эффект, предотвращая или в большинстве случаев значительно уменьшая выраженность основных признаков воспаления кожи (отек, гиперемия, температурная реакция).

При выполнении работы придерживались основных требований Ванкуверской конвенции (1979, 1994) о биомедицинских экспериментах. Все манипуляции проводили под эфирным наркозом.

Антимикробную активность ЛКЗ изучали с применением метода диффузии в питательный агар по отношению к следующим тест-микроорганизмам: Bacillus cereus NCТС 8035, Staphylococus aureus АТСС 6538-Р, Escherichia coli М-17, Pseudomonas aeruginosa «Тесаков», Streptococcus pyogenes DICK - 1, Proteus vulgaris HX 19 № 222, Candida albicans NCTC 885-653. Как показали исследования более выраженным антимикробным действием по отношению к Staphylococus aureus и спорообразующей палочки Bacillus cereus проявили липофильные экстракты зверобоя продырявленного, З.пятнистого, З.жестковолосистого, З. изящного.

Изучение токсичности ЛКЗ проводили при однократном внутрижелудочном и накожном применении. Опыты проводились на белых беспородных мышах и крысах обоего пола. ЛКЗ при внутрижелудочном введении испытывали в виде 15% и 50% концентрации на подсолнечном масле, при накожном применении – в виде 50% концентрации. Время наблюдения – 14 суток. Исследования показали проявление токсичности при внутрижелудочном введении (в виде гибели животных) 50% ЛКЗ. Установлено, что наибольшая переносимая доза 50% ЛКЗ составляет 5,0 мл/кг, доза, вызывающая гибель половины животных, взятых в опыт, рассчитанная по Литчилду-Уилкоксону – 7,1 мл/кг. В пересчете на сухое вещество – 2,5 г/кг и 3,55 г/кг соответственно. 15% липофильный комплекс в дозе 10 мл/кг (1,5 г/кг) не вызывает гибели животных и изменений в их поведении и состоянии. При накожном нанесении 50% концентрация ЛКЗ не вызывает гибели животных, покраснений и раздражений кожных покровов. Таким образом, 15% концентрация ЛКЗ может быть объектом дальнейших исследований ее эффективности на экспериментальных моделях патологии.

Исследование аллергизирующего действия ЛКЗ (15% и 50% раствор в подсолнечном масле) проводили на морских свинках по методу Брусиловского Е.С., Фиаловского А.М. Аллергизирующее действие выявляли после нанесения разрешающей дозы ЛКЗ и оценивали по изменению состояния кожи (ее покраснение, шелушение), а также по изменению эозинофилов в периферической крови. Проведенные исследования свидетельствуют об уменьшении содержания эритроцитов и незначительном увеличении содержания лейкоцитов под влиянием 15% раствора ЛКЗ. Под влиянием 50% раствора ЛКЗ эти изменения незначительны.

Следовательно, полученные данные могут иметь практическое значение для создания новых лекарственных препаратов на основе липофильных комплексов исследуемых 5 видов зверобоя. На основании проведенных исследований ЛКЗ рекомендуется в качестве антимикробного, противовоспалительного и ранозаживля­ющего средства. Предлагаемые лекарственные формы - гранулы, капсулы, лечебно-профилактическая паста, спиртовый раствор и раствор ЛКЗ в ингибиторе липазы.

***Библиографический список***

1. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейство Hypericaceae. – Л.: Наука, 1985. – 357с.
2. Универсальная энциклопедия лекарственных растений. – Минск, 2002. – С. 218-220.
3. Кьосев П.А. Полный справочник лекарственных растений. – М.: ЭКСМО-Пресс, 2001. – 992 с.
4. Носаль І.М. Від рослини – до людини: Розповіді про лікувальні та лікарські рослини України. - К.: Веселка, 1995. - 606 с.
5. Маковецька О.Ю. – Дослідження біологічно активних речовин видів роду звіробій (Hypericum L.) // Фармац. Журнал. - № 4. – 2001. – С 5—55.
6. Комисаренко Н.Ф. Фенольные соединения, их распространение в природе и биотехнологическая активность\ В кн.: Технология и стандартизация лекарств. Сб. научных трудов – Харьков: ООО «РИРЕГ», 1996.
7. Гапоненко В.П. Исследование липофильного комплекса зверобоя продырявленного и з.четырехгранного / В.П. Гапоненко, И.Г. Левашова, А.Г. Сербин //Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: зб. наук. статей. - Запоріжжя, 2006 – Вип. ХV - Т. 1. – С. 235.
8. Гапоненко В.П. Изучение возможностей рационального использования представителей рода Hypericum L. в Украине / В.П. Гапоненко, И.Г. Левашова, А.Г. Сербин // Запорожский мед. журн. – 2008. - № 2. - С. 45-47.
9. Технология и стандартизация лекарств. / Под ред. В.П. Георгиевского. - Х: ООО Ригер, 1996 – 784 с.