

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Факультет хімії та фармації
Кафедра фармакології та технології ліків

Дипломна робота

на здобуття ступеня вищої освіти магістра

на тему: «Аналіз екстракту трави *Chamerion angustifolium* та дослідження аналгетичної активності мазі на його основі»

«Analysis of Chamerion angustifolium herb extract and study of analgesic activity of ointment based on it»

Виконала: студентка заочної форми навчання
спеціальності 102 Хімія

Кір'як Христина Олексіївна

Керівник: к. б. н., доц. Кобернік А.О. _____
(підпис)

Рецензент: д.б.н., снс. Ларіонов В.Б.

Рекомендовано до захисту:
протокол засідання кафедри
№ ____ від ____ 20__ р.

Завідувач кафедри
____ д.мед. н., проф. Грицук О.І.
(підпис)

Захищено на засіданні екзаменаційної комісії
протокол № ____ від « ____ » ____ 20__ р.
Оцінка ____ / ____ / ____
(за національною шкалою, за шкалою ECTS, бал)

Голова екзаменаційної комісії
____ д. х. н., проф. Марцинко О.Е.
(підпис)

Одеса – 2021

РЕФЕРАТ

Кваліфікаційна робота була виконана на кафедрі фармакології та технології ліків факультету хімії та фармацевції Одеського національного університету (ОНУ) імені І.І. Мечникова МОН України.

Робота присвячена детальному аналізу поліфенольних сполук в екстракті листя Кипрею методом високоефективної рідинної хроматографії, технологічному обґрунтуванню виготовлення сухого екстракту та лікарської форми на його основі з подальшим вивченням її аналгетичної активності на термічних моделях болю.

З одержаних результатів ВЕРХ за піками на хроматограмі ідентифіковано та визначено кількісний вміст певних груп, а також ряд індивідуальних сполук поліфенольної природи, серед яких: катехіноподібні речовини, хлорогенова кислота, кофейна кислота, глікозид мірицитину, рутин, мірицитин, кверцетин, лютеолін.

Було запропоновано технологію одержання сухого екстракту листя Кипрею та лікарської форми на його основі (0,25% мазь, стандартизована за вмістом суми поліфенольних сполук).

На термічних моделях болю, - «Гаряча пластина» та «Відсмикування хвоста» доведено наявність вираженої аналгетичної активності розробленої 0,25% мазі на основі сухого екстракту листя Кипрею вузьколистого.

Кваліфікаційна робота магістра викладена на 53 сторінках друкованого тексту та містить: 4 таблиці; 5 рисунків; використано 53 літературних джерела.

Зміст

Вступ.....	5
Розділ 1. Огляд літератури	7
1.1. Фармакотерапія больового синдрому	7
1.1.1. Історичні аспекти та сучасний стан вивчення проблеми хронічного болю	7
1.1.2. Класифікації болю	8
1.1.3. Патофізіологічні механізми болю	11
1.2. Сучасний стан створення лікарських препаратів на основі рослинної сировини.....	16
1.2.1. Практика використання рослинних аналгетиків	19
1.3. Загальна характеристика та перспективи використання Кипрею вузьколистого в фармакотерапії болю	21
1.3.1. Характеристика лікарської рослинної сировини – Кипрею вузьколистого	21
1.3.2. Хімічний склад Кипрею вузьколистого	23
1.3.3. Спектр фармакотерапевтичної активності Кипрею вузьколистого	24
Розділ 2. Матеріали та методи дослідження	26
2.1. Матеріали дослідження	26
2.2. Методи дослідження.....	26
2.2.1. Методика високоефективної рідинної хроматографії для ідентифікації та визначення вмісту поліфенолів в зразках ЛРС	26
2.2.2. Дослідження аналгетичної активності при термічному подразненні у тесті «гаряча пластина»	30

2.2.3. Дослідження аналгетичної активності в тесті «Відсмикування хвоста».....	30
2.2.4. Статистична обробка результатів експерименту.....	31
2.3. Результати та їх обговорення.....	34
2.3.1. Дослідження вмісту БАР в зразках листя Кипрею вузьколистого методом ВЕРХ	35
2.3.2. Технологія одержання та стандартизація сухого екстракту листя Кипрею вузьколистого	37
2.3.3. Технологічні особливості розробки лікарської форми на основі сухого екстракту Кипрею вузьколистого	39
2.3.4. Дослідження аналгетичної активності розробленої лікарської форми.....	41
Висновки	47
Список використаної літератури	48

ВСТУП

Проблема лікування та регуляції болю є однією з найактуальніших у сучасній медицині. Серед сучасних методів знеболення одне з центральних місць посідає фармакотерапія. Для терапії болю використовують широкий арсенал лікарських засобів, провідне місце серед яких мають аналгетики.

Пошук нових знеболювальних засобів, що перевершують існуючі за ефективністю та/чи безпекою є надзвичайно важливий, оскільки не вирішено та залишається та актуальним питання зниження доз традиційних аналгетиків, зменшення побічних ефектів і лікування інших симптомів під час терапії болю.

Для поглибленого вивчення знеболювальної активності в експерименті використовують значний спектр методик *in vivo*, в яких застосовують хімічне, термічне чи механічне ноцицептивне подразнення.

Методи термічної ноцицептивної стимуляції посідають одне із центральних місць у вивченні антиноцицептивної активності. Показано, що методи термічного подразнення шкіри не характеризують вісцеральний біль чи ноцицепцію опірно-рухливого апарату. Стимуляція терморекцепторів призводить до активації низки ланок ноцицептивної системи – терморекцепторів, ноцирецепторів, і нарешті (можливо) «парадоксальних холодних» рецепторів [1].

Кипрей вузьколистий є перспективною лікарською рослиною, яка завдяки своєму хімічному складу, має цінні для здоров'я людини властивості, у тому числі антиандрогенні, антипроліферативні, цитотоксичні, антиоксидантні, протизапальні, імуномодулюючі, протимікробні та інші. Особлива група речовин, що забезпечує більшість вказаних ефектів представлена поліфенольними сполуками.

Метою роботи було визначення поліфенольних сполук в екстракті листя Кипрею методом ВЕРХ, одержання сухого екстракту, виготовлення

лікарської форми на його основі та вивчення її протибольової активності на термічних моделях болю.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

1. Ідентифікувати та визначити вміст сполук поліфенольної природи в зразках екстракту листя Кипрею вузьколистого методом ВЕРХ.
2. Обґрунтувати технологію одержання сухого екстракту та визначити відсоток виходу екстрактивних речовин.
3. Розробити склад лікарської форми на основі одержаного сухого екстракту.
4. Визначити анагетичну активність розробленої лікарської форми на термічних моделях болю («Гаряча пластина» та «Відсмикування хвоста»).

ВИСНОВКИ

1. Ідентифіковано та визначено кількісний вміст певних груп, а також ряд індивідуальних сполук поліфенольної природи за допомогою методу високоефективної рідинної хроматографії.

2. Розроблено технологію одержання сухого екстракту листя Кипрею вузьколистого, вихід екстрактивних речовин склав 38,4%.

3. Наведено технологію виготовлення 0,25% мазі на основі сухого екстракту листя Кипрею при масовому співвідношенні компонентів маzewої основи - 1,2- пропіленгліколю, поліетиленоксиду-400 та поліетиленоксиду - 1500 як 2:3:4, сухий екстракт додавали у кількості еквівалентній 25 мг суми ПФС з розрахунку на 10 г мазі, а саме - 0,24 г, виготовлення здійснювали за технологією для мазей-сплавів.

4. Встановлено, що розроблена лікарська форма (0,25% мазь) за рівнем анальгетичної активності на термічних моделях болю не поступається показникам препарату-порівняння (2% мазь анестезину), збільшуючи термін латентного періоду в порівнянні з контрольною групою тварин на 80 та 120% на моделях «Гаряча пластина» та «Відсмикування хвоста», відповідно.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Sinclair J. G., Main C. D., Lo G. F. Spinal vs supraspinal actions of morphine on the rat tail-flick reflex // *Pain*. – 1988. – V. 33. – P. 357–362.
2. Duenas M. A review of chronic pain impact on patients, their social environment and the health care system / M. Duenas, B. Ojeda, A. Salazar et al. // *J Pain Res*. – 2016. – №9. P. 457-467.
3. Яхно Н.Н. Болезни нервной системы (Руководство для врачей) / Н.Н. Яхно – М.: Медицина, 2005. – Том 1. – С. 107–125.
4. Xin S.Q. Significance of the straight-leg-raising test in the diagnosis and clinical evaluation of lower lumbar intervertebral-disc protrusion / S.Q. Xin, Q.Z. Zhang, D.H. Fan // *J Bone Joint Surg Am*. – 1987. – Vol. 69(4). – P. 517–522.
5. Le Maitre C.L. Degeneration of the intervertebral disc with new approaches for treating low back pain / C.L. Le Maitre, A.L. Binch, A.A. Thorpe et al. // *J Neurosurg Sci*. – 2015. – №59(1). – P. 47-61.
6. im D.H. The genetics of pain: implications for evaluation and treatment of spinal disease / D.H. Kim, C.E. Schwartz // *Spine Journal*. – 2010. – Vol. 10(9). P. 827–840.
7. Gruber H.E. A Novel Catechol-O-Methyltransferase Variant Associated with Human Disc Degeneration / H.E. Gruber, W. Sha, C.R. Brouwer et al. // *International Journal of Medical Sciences*. – 2014. – Vol. 11(7). – P. 748–753.
8. Treede R.D. A classification of chronic pain for ICD-11 / R.D. Treede, W. Rief, A. Barke // *Pain*. – 2015. – Vol. 156(6). – P. 1003–1007.
9. Коритко З. Загальна фізіологія: навч. посіб. / Зоряна Коритко, Євген Голубій. - Львів : ПП Сорока, 2002. - 141 с.
10. Nijs J. Low back pain: guidelines for the clinical classification of predominant neuropathic, nociceptive, or central sensitization pain / J. Nijs, A. Apeldoorn, H. Hallegraeff et al. // *Pain Physician*. – 2015. – №18(3). – P. 333-346.

-
11. Finnerup N.B. Neuropathic pain: an updated grading system for research and clinical practice / N.B. Finnerup, S. Haroutounian, P. Kamerman et al. // *Pain*. – 2016. – №157(8). – P. 1599-1606.
 12. Forster M. Axial Low Back Pain: One Painful Area – Many Perceptions and Mechanisms /M. Forster, F. Mahn, U. Gockel et al. // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8(7). – E. 68273.
 13. Della Mora L.S. Differences among primary care patients with different mechanical patterns of low back pain: a cross-sectional investigation / L.S. Della Mora, A.V. Perruccio, E.M. Badley et al. // *BMJ Open*. – 2016. – №6(12). – e013060.
 14. Baron R. Peripheral input and its importance for central sensitization / R. Baron, G. Hans, A.H. Dickenson // *Ann Neurol*. – 2013. – №74(5). – P. 630-636.
 15. Hashemi M. Changing Concept of Sciatica: A Historical Overview / M. Hashemi, F. Halabchi // *Iran Red Crescent Med J*. – 2016. – №18(2). – e21132.
 16. Kwon M. The role of descending inhibitory pathways on chronic pain modulation and clinical implications / M. Kwon, M. Altin, H. Duenas et al. // *Pain Pract*. – 2014. – Vol. 14(7). – P. 656–667.
 17. Lubetzki C. Axonal problems in demyelinating pathologies: role of inflammation and demyelination / C. Lubetzki // *Rev Neurol (Paris)*. – 2009. – Vol. 165(2). – P. 109–113.
 18. Kuner R. Structural plasticity and reorganisation in chronic pain / R. Kuner, H. Flor // *Nat Rev Neurosci*. – 2016. – №18(1). – P. 20-30.
 19. Liang M. Brain potentials evoked by intraepidermal electrical stimuli reflect the central sensitization of nociceptive pathways / M. Liang, M.C. Lee, J. O'Neill et al. // *J Neurophysiol*. – 2016. – №116(2). – P. 286-295.
 20. Крыжановский Г.Н. Центральные механизмы патологической боли / Г.Н. Крыжановский // *Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова*. – 1999. – №12. – С. 4–7.

-
21. Tung K.W. Neuropathic pain mechanisms and imaging / K.W. Tung, D. Behera, S. Biswal // *Semin Musculoskelet Radiol.* – 2015. – Vol. 19(2). P. 103–111.
22. Кукушкин М.Л. Общая патология боли / М.Л. Кукушкин, Н.К. Хитров М.: Медицина, 2004. – 144 с.
23. Данилов Ал.Б. Современные подходы к лечению хронической боли: биопсихосоциокультурная модель / Ал.Б. Данилов // *Лечение заболеваний нервной системы.* – 2013. – №1(11) – С. 15–21.
24. Сметаніна К. І. Рослинні ліки. Проблеми розробки лікарських засобів рослинного походження / К. І. Сметаніна // *Фармац. часопис.* – 2011. – № 2. – С. 95–98.
25. Семкина О. А. Мази, гели, линименты и кремы, содержащие фитопрепараты (обзор) / О. А. Семкина // *Хим.–фармац. журн.* – 2005. – Т. 39, № 7. – С. 30–36.
26. Vishnevskaya L. Medicinal plants as raw material for new drugs creation / L. Vishnevskaya, Y. Piskovatskij, V. Georgiants // *Analiza farmaceutyczna I diagnostyka laboratoryjna a zdrowie człowieka.* – Białystok, 2007. – P. 80.
27. Гудзенко А. В. Вітчизняний ринок багатокомпонентних лікарських засобів рослинного походження: аналіз стану структура та перспективи розвитку / А. В. Гудзенко, О. О. Цуркан, Т. В. Ковальчук // *Фармац. журн.* – 2012. – № 1. – С. 8–12.
28. Украинский рынок растительных препаратов по лекарственным формам: предпочтения и перспективы / Е. П. Пивень, С. И. Дихтярев, В. В. Левченко, Е. В. Тихомирова // *Фармаком.* – 2008. – № 2. – С. 102–107.
29. Надлежащая производственная практика лекарственных средств. Активные фармацевтические ингредиенты. Готовые лекарственные средства. Руководство по качеству. Рекомендации PIC/S / под ред. Н. А. Ляпунова, В. А. Загоря, В. П. Георгиевского и др. – К. : Морион, 2001. – 472 с.

30. Гарник Т. П. Сучасні технології виробництва фітозасобів та перспективи фітотерапії / Т. П. Гарник // Фітотерапія–часопис. – 2008. – № 1. – С. 59–63.

31. Мониторинг отношения потребителей к применению препаратов растительного происхождения / Б. П. Громовик, Е. В. Юрченко, С. С. Павличко и др. // Провизор. – 2000. – № 14. – С. 14–16.

32. WHO monographs on selected medicinal plants. – Geneva : World Health Organization, 2002. – Vol. 2. – 357 p.

33. Губанов И. А. и др. 929. *Chamerion angustifolium* (L.) Holub [*Epilobium angustifolium* L., *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop.] — Иван-чай узколистный // Иллюстрированный определитель растений Средней России. В 3 т. — М.: Т-во науч. изд. КМК, Ин-т технолог. иссл., 2003. — Т. 2. Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные). — С. 584. — ISBN 9-87317-128-9.

34. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/169/xamenerij-xamerion-vuzkolistij-ivan-chaj>

35. Igor A. Schepetkin, Andrew G. Ramstead Therapeutic Potential of Polyphenols from *Epilobium angustifolium* (Fireweed)// Published in final edited form as: *Phytother Res.* 2016 August ; 30(8): 1287–1297. doi:10.1002/ptr.5648.

36. MARIOLA DREGER, ARTUR ADAMCZAK Pharmacological properties of fireweed (*Epilobium angustifolium* L.) and bioavailability of ellagitannins. A review // International journal edited by the Institute of Natural Fibres and Medicinal Plants. - Vol. 66 No. 1 2020.- P. 52-64.

37. Vogl S, Picker P, Mihaly-Bison J, Fakhrudin N, Atanasov AG, Heiss EH, Wawrosch C, Reznicek G, Dirsch VM, Saukel J, Kopp B. Ethnopharmacological in vitro studies on Austria's folk medicine--an unexplored lore in vitro anti-inflammatory activities of 71 Austrian traditional herbal drugs. *J Ethnopharmacol.* 2013; 149:750–771. [PubMed: 23770053]

38. Hiermann A, Juan H, Sametz W. Influence of *Epilobium* extracts on prostaglandin biosynthesis and carrageenin induced oedema of the rat paw. *J Ethnopharmacol.* 1986; 17:161–169. [PubMed: 3099091]

39. Kosalec I, Kopjar N, Kremer D. Antimicrobial activity of Willowherb (*Epilobium angustifolium* L.) leaves and flowers. *Curr Drug Targets.* 2013; 14:986–991. [PubMed: 23796429]

⁴⁰. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / О.В. Стефанов. – Київ.: МОЗ України. Державний фармакологічний центр. – 2001. – 527 с.

41. Ходаков И.В. Способ идентификации полифенолов в растительных экстрактах при помощи ВЭЖХ. Определение состава изофлавонов сои // Методы и объекты химического анализа. – 2013. – т. 8. – № 3. – С. 132–142.

42. Семенистая Е.Н., Ларионов О.Г. Изучение состава и антиоксидантной активности растительных экстрактов методом ВЭЖХ с УФ- и амперометрическим детектированием // Хим.-фарм. журн. – 2008. – 42. – № 9. – С. 43–48.

43. Wang L.-H., Li W.-H. General method for determining of flavonoids in medicinal plants and raw cosmetics using HPLC with a photodiode array detector // Хим.-фарм. журн. – 2007. – 41. – № 4. – С. 46–51.

44. Моисеев Д.В., Бузук Г.Н., Шелюто В.Л. Идентификация флавоноидов в растениях методом ВЭЖХ // Хим.-фарм. журн. – 2011. – 45. – № 1. – С. 35–38.

45. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry, and Applications* / Edited by Øyvind M. Andersen and Kenneth R. Markham. – Boca Raton; London; New York: CRC Press Taylor & Francis Group, - 2006. – 1197 p

46. Galeotti N., Ghelardini C. St. John's wort relieves pain in an animal model of migraine. *Eur. J. Pain,* - 2012. -Nov. 14.

-
47. Погорілий О.П. Технологія виготовлення мазі на основі екстрактивних речовин *Chamaenerion angustifolium* та дослідження її фармакологічної активності. – Дипломна робота магістра. – ОНУ – 2020.
48. Goodman A., Gilman L. The pharmacological basis of Therapeutic (9th ed.). – New York: McGraw-Hill., 1996. – Ch. 27. – P. 836–932.
49. Каннер Р. Секреты лечения боли. Пер. с англ. – М.: «Издательство БИНОМ», 2006. – 400 с
50. Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals. National Research Council (US) Committee on Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals. – Washington (DC): National Academies Press (US), 2009 [Electronic resource]. – Access mode: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK32655/>
51. Carlsson K. H., Jurna I. Depression by Flupirtine, a Novel Analgesic Agent, of Motor and Sensory Responses of the Nociceptive System in the Rat Spinal Cord. Eur. J. Pharmacol. 1987. V. 3, № 143 (1). P. 89–99.
52. Vogel Gerhard H. Drug Discovery and Evaluation. Pharmacological Assays Second Completely Revised, Updated, and Enlarged Edition. Springer Verlag Berlin Heidelberg. 2002. 1026 p.
53. Eddy N. B., Leimbach D. Synthetic Analgesics. II. Dithienylbutenyl- And Dithienylbutylamines. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1953. V. 107, № 3. P. 385–393.