

АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН  
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ  
ИМЕНИ АКАДЕМИКА А.С. САДЫКОВА

*На правах рукописи*  
УДК 577.1+547.94+547.915+543.867

ИШИМОВ УЧКУН ЖОМУРАДОВИЧ

**КАПСАИЦИНОИДЫ *CAPSICUM ANNUUM L.*, СОЗДАНИЕ НА ИХ  
ОСНОВЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ПРОТИВОВОСПАЛИ-  
ТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ**

02.00.10 – Биоорганическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Ташкент – 2011

Работа выполнена в лаборатории химии белков и пептидов Института биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова АН РУз

- Научный руководитель:** кандидат химических наук,  
старший научный сотрудник  
**Зиявитдинов Жамолитдин  
Фазлитдинович**
- Официальные оппоненты:** доктор химических наук, профессор  
**Арипова Салимахон Фазиловна**  
доктор фармацевтических наук,  
профессор  
**Камилов Хожиясрор Махсудович**
- Ведущая организация:** Национальный университет Узбекистана  
имени Мирзо Улугбека, химический  
факультет

Защита состоится “\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_ 2012 г. в “\_\_\_\_\_” часов на заседании Специализированного совета Д.015.21.01 при Институте биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова АН РУз по адресу: 100125, Ташкент, ул. Мирзо Улугбек, 83. Тел: (0099871) 2623540; Факс: (0099871) 2627063

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова АН РУз.

Автореферат разослан “\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

**Ученый секретарь  
Специализированного Совета  
кандидат химических наук**

**М.Б. Гафуров**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

**Актуальность проблемы.** Среди разнообразных органических соединений растительного происхождения алкалоиды занимают несколько «привилегированное» положение. Это объясняется их интересными химическими и структурными особенностями, а также исключительно важной практической ценностью в медицине и в сельском хозяйстве.

Растения рода *Capsicum annuum* являются богатыми источниками капсаициноидов (КО) – алкалоидов, обладающих высокой биологической активностью и схожей химической структурой. Отвары и настойки из плодов стручкового перца издавна применяются в народной медицине при лечении заболеваний опорно - двигательного аппарата (ЗОДА), которые являются одним из основных причин инвалидности населения и находится, по данным ВОЗ, на 4 месте по распространенности. Препараты, полученные из некоторых его видов, применяются в медицинской практике. Многие виды растений этого рода, произрастающие на территории Узбекистана, остаются до сих пор мало изученными.

С развитием инструментальных методов выделения, установления структуры и стандартизации биологически активных соединений из растительных объектов в качестве субстанций лекарственных средств, увеличивается спрос на очищенные экстракционные препараты. Глубокая очистка повышает их стабильность, устраняет побочное действие ряда балластных веществ. В связи с этим выделение, установление структуры биологически активных соединений и их стандартизация в качестве субстанций лекарственных средств, а также разработка лекарственных форм представляется актуальным и целесообразным.

**Степень изученности проблемы.** Данной проблеме посвящен ряд работ отечественных и зарубежных исследователей, в которых проведены исследования по разработке методов выделения капсаицина (К), установлению структуры КО и конструированию лекарственных препаратов на их основе. Однако, широкие исследования по созданию композиционных лекарственных форм, содержащих в себе большое количество нестероидных противовоспалительных соединений, не проводились. Исходя из вышеописанного, создание комбинированных противовоспалительных препаратов на основе нестероидных веществ из местного растительного и животного сырья, представляет важное научное и практическое значение.

**Связь диссертационной работы с тематическими планами НИР.** Диссертационная работа выполнена в рамках прикладных исследований по теме: ГНТП-15. № П-15.30. «Создание масляной композиции, обладающей противовоспалительной активностью» (2003-2005 гг.) и ГНТП-10. № А-10-073 “Разработка технологии получения нового лекарственного препарата “Апикапсалвин”, обладающего противовоспалительным действием” (2006 – 2008 гг.).

**Цель исследования:** Исследование основных и минорных компонентов суммы капсаициноидов (СКО) выделенных из местных сортов красного стручкового перца *Capsicum annuum L. (C. annuum L.)*, изучение их биологических, а так же фармакологических свойств и создание на их основе лекарственного препарата.

**Задачи исследования:**

1. Исследование качественного и количественного состава КО, каротиноидов и витаминов в спиртовом экстракте стручкового перца *C. annuum L.*;
2. Исследование некоторых биологических свойств СКО;
3. Создание субстанции «Капсаициноиды» из СКО и разработка методов контроля качества;
4. Разработка композиции лекарственной формы «Апикапсалвин» для наружного применения состоящей из субстанции «Капсаициноиды», пчелиного яда, метилсалицилата и очищенного виноградного масла (ВМ) в качестве основы.

**Объект и предмет исследования.** Объектом исследования является красный стручковый перец *C. annuum L.* Предметом являются сумма капсаициноидов.

**Методы исследования.** При проведении исследований использовали методы биоорганической химии, фармакологии и фармакопей.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- Результаты исследований по разработке метода выделения СКО из красного стручкового перца *C. annuum L.*
- Результаты исследований качественного и количественного состава КО, каротиноидов и витаминов спиртового экстракта стручкового перца *C. annuum L.*
- Исследования по стандартизации СКО и создание субстанции «Капсаициноиды».
- Определение качественного и количественного состава жирных кислот и витаминов ВМ, полученного из местных винных сортов косточек винограда.
- Создание лекарственной формы противовоспалительного препарата «Апикапсалвин».

**Научная новизна.** Впервые:

- установлен качественный и количественный состав минорных и основных КО, каротиноидов и витаминов красного стручкового перца *C. annuum L.*, выращенного в климатических условиях Ферганской долины;
- обнаружен витамин В<sub>6</sub> в спиртовом экстракте красного стручкового перца *C. annuum L.*, отсутствующий в составе сортов перца, выращиваемых в других регионах;
- в процессе стандартизации ВМ, взятого в качестве основы для линимента, установлен качественный и количественный состав жирных кислот и витаминов;

**Научная и практическая значимость результатов исследования.** Сочетание инструментальных методов для характеристики, изучения строения и стандартизации компонентов природного сырья с подбором состава композиции не только по фармакологическим свойствам, но и синергизму действия может послужить методологическим приемом конструирования эффективных лекарственных средств. Полученные результаты по изучению КО, каротиноидного и витаминного состава и биологических свойств СКО из красного перца местного сорта позволили создать импортозамещающий, экспортноориентированный новый противовоспалительный препарат «Апикапсалвин», применяемый при ЗОДА.

**Реализация результатов.** Созданы ВФС для субстанции «Капсаициноиды», ВФС для лекарственной формы - линимента «Апикапсалвин», которые зарегистрированы в ГУККЛС и МТ МЗ РУз под № 42 Уз –1470 – 2009 и 42 Уз –1471 – 2009. Решением МЗ РУз препарат и его субстанция разрешен к широкому применению в медицине.

**Апробация работы.** Основные результаты работы обсуждались на конференциях «Ўзбекистонда табиий бирикмалар кимёсининг ривожига келажак» (Ташкент, 2007), «50 years anniversary S. Yunusov Institute of the Chemistry of plant Substances 7<sup>th</sup> International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds» (Tashkent, 2007), «Актуальные проблемы химии природных соединений» (Ташкент, 2009), «Фармацияда таълим, фан ва ишлаб чиқаришнинг долзарб масалалари» (Ташкент, 2009), «Актуальные проблемы развития Биоорганической химии» (Ташкент, 2010), «Конференция молодых ученых, посвященной памяти акад. С.Ю. Юнусова» (Ташкент, 2011).

Препарат «Апикапсалвин» рекламирован на II, III и IV Республиканских ярмарках, «Инновационных идей, технологий и проектов».

**Опубликованность результатов.** По теме диссертации опубликованы 3 статьи и 7 тезисов научных докладов.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация работа изложена на 139 страницах компьютерного текста и состоит из введения, литературного обзора, полученные результаты и их обсуждения, экспериментальной части, выводов и списка использованной литературы включающего 222 источника и 8 приложения, содержит 18 рисунков, 38 таблиц и 4 схемы.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ**

Во введении обоснована актуальность проблемы, сформулированы цель и задачи, показана научная новизна и практическая значимость работы.

В обзоре литературы проанализированы данные о разновидности и распространении красного стручкового перца. Приведен химический состав, пути биологического и химического синтеза, способы выделения и идентификации КО, биологические свойства и область применения.

В главе «полученные результаты и их обсуждения» приведены данные по разработке метода выделения СКО, исследованию качественного и количественного состава основных и минорных КО, витаминов и каротиноидов плоды стручкового перца *S. annuum L.*, выращенных в климатических условиях Ферганской долины. Обсуждены условия препаративного выделения и разработка технологической схемы СКО, а также создание и внедрение в практику субстанции «Капсаициноиды» и лекарственной формы противовоспалительного препарата «Апикапсалвин».

В экспериментальной части описаны использованные приборы, реактивы, материалы и методы.

### **Полученные результаты и их обсуждение**

#### **1. Разработка метода выделения суммы капсаициноидов**

Объектом исследования являлись плоды стручкового перца *S. annuum L.*, выращенные в климатических условиях Ферганской долины (Коканд). Выделение СКО проводили из зрелых и высушенных плодов путем экстракции действующих компонентов перца этиловым спиртом (вариант 1) и петролейным эфиром (вариант 2) в соотношении 1/10 при комнатной температуре в течение трех суток (со сменой растворителя через 24 часа). Ярко-красные экстракты упаривали на роторном испарителе. Выход олеосмолы в варианте 1 составил 8,4 г, а в варианте 2 – 6,1 г. Выделение СКО из олеосмолы в варианте 1 включало в себя 3 основных стадии: экстракция, распределение в системе органиче-

ских растворителей и колоночная адсорбционная хроматография на  $Al_2O_3$ . В варианте 2 отсутствовала стадия распределения в двухфазной системе растворителей, тем не менее, выход составил на 30% ниже.

Для выяснения причин низкого выхода конечного продукта в случае варианта 2 необходимо было провести анализ количественного содержания капсаициноидов, витаминов и каротиноидов в олеосолах 1 и 2. Для этой цели проводили анализы образцов с помощью ВЭЖХ в присутствии соответствующих маркеров – коммерческих препаратов фирмы “Sigma”.

## 2. Определение количества капсаициноидов в олеосолах

Для определения содержания основных КО в олеосолах 1 и 2 отбирали образцы по 100 мкг и растворяли в 1 мл этилового спирта. Количественный анализ проводили методом ВЭЖХ. Профили элюции и условия анализа приведены на рис.1. В качестве стандартов использовали К и дигидрокапсаицин (ДК) фирмы Sigma.

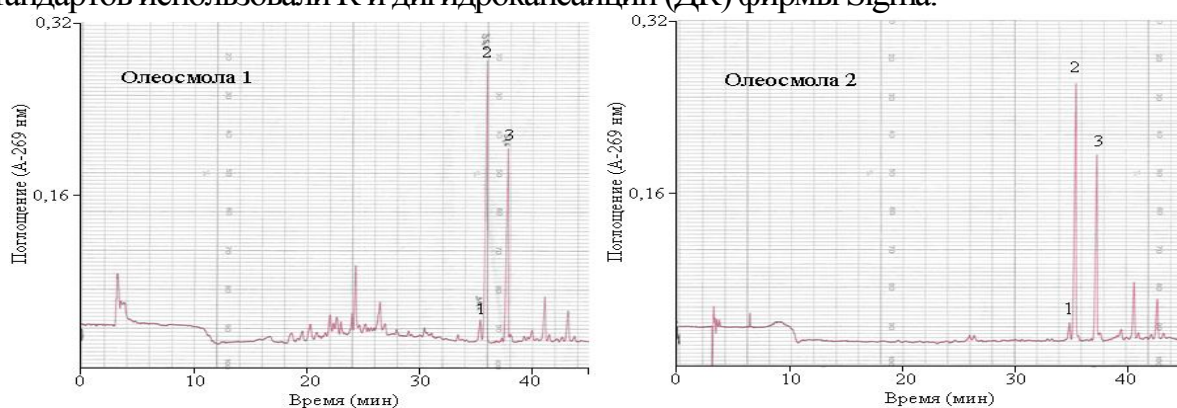


Рис.1. ВЭЖХ анализ олеосола 1 (А) и 2 (Б) для количественного определения КО. Колонка 4,6 x 250 мм Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 5μm. Раствор А: 0,1% CF<sub>3</sub>COOH, В:CH<sub>3</sub>CN. Градиент концентрации %В/мин: 5/0-5; 70/35-40; 5/45. Скорость потока 1мл/мин, поглощение 269 нм. Внесено по 50 мкл раствора олеосмол (5 мкг). 1- нор-ДК, 2- К, 3- ДК.

Как видно из рисунка 1(А) на хроматограмме олеосола 1 присутствуют 53 пика. Основной вклад в процентное содержание экстракта вносят пики, элюированные в промежутке времени от 34 до 44 минут. В отличие от хроматограммы (А), в хроматограмме олеосола 2 (Б) присутствуют 28 пиков. Среди них пики элюированные на 35,1; 35,6 и 37,5 минутах, соответствуют времени удерживания стандартных образцов нордигидрокапсаицина (нор-ДК), К и ДК. Полученные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Состав и общее содержание капсаициноидов в олеосолах полученных из 100 г перца

Препарат	Количество густого экстракта		Содержание капсаициноидов в 1 г экстракта						Общее количество капсаициноидов		
			Капсаицин		Дигидрокапсаицин		Нордигидрокапсаицин				Сумма
	г	%	мг	%	мг	%	мг	%	мг	мг	%
Олеосола 1	8,4	8,4	22,89	2,3	15,84	1,6	1,73	0,17	40,46	339,8	0,34
Олеосола 2	6,1	6,1	20,99	2,1	15,24	1,5	1,40	0,14	37,63	229,5	0,23

Как видно из таб. 1, из 100 г красного стручкового перца *S. annuum L.* при экстракции этиловым спиртом получено 8,4 г олеосола с общим содержанием КО 339,8

мг, выход которого составил 0,34% на сухой вес исходного материала. В случае экстракции петролейным эфиром это значение составляло 229,5 мг (0,23%).

## 2. Определение минорных компонентов суммы капсаициноидов

Индивидуальные КО выделяли методом ВЭЖХ из СКО, на колонке 4,6x250 мм ZORBAX 300SB-C<sub>18</sub>. Обнаружение и идентификацию КО проводили методом LC-МС на приборе Waters ZQ – 4000 непосредственным введением индивидуальных веществ в масс-спектрометр в следующих условиях: источник ионизации ESI<sup>+</sup>; поток осушающего газа 450 л/ч; температура осушающего газа 250°C; напряжение на конусе скиммера 30, 35, 50, 70 В; диапазон масс 100 – 400 m/z; способ ионизации положительный; мобильная фаза вода – метанол (1:9); скорость потока 0,25 мл/мин. Для получения масс-спектров при разных напряжениях конуса каждый образец повторно вводили в инжектор масс-спектрометра. При напряжениях на конусе 35 и 50V молекулярные массы алкалоидов отмечаются пиками молекулярного иона. В масс-спектрах также присутствовали пики б однозарядных и одного двухзарядного положительных ионов.

В таблице 2 представлены m/z и интенсивность (I, %) сигналов, образованных при распаде К в приведенных выше условиях масс-спектрометрического анализа.

Таблица 2

Данные масс-спектра капсаицина и время удерживания при ВЭЖХ анализе

Ион m/z	106,6	121,6	122,6	136,6	152,7	169,7	181,7	M <sup>+</sup> 305,9	Вр.удержив.
I, %	2,5%	23%	2%	100%	2,9%	5,71%	8,57%	14,3%	37,025 мин

В масс-спектре (таб.2), обнаружен сигнал для положительного иона 3-метокси 4-оксибензилидена с m/z 136.6 (100%) и сигналы вторичных положительных ионов с m/z 106.6 (2,5%), 121.6 (23%) и 122.6 (2%). Так же обнаружены положительные ацильный и ациламидные ионы, образованные при распаде молекулярного иона: C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>-CO-, C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>-CO-NH- и C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>-CO-NH-CH<sub>2</sub>- с m/z 152,7 (2,9%), 169,7 (5,71%) и 181,7 (8,57%) соответственно, на основании которых можно установить структурную формулу капсаицина и возможные пути распада молекулярного иона капсаицина (схема 1).

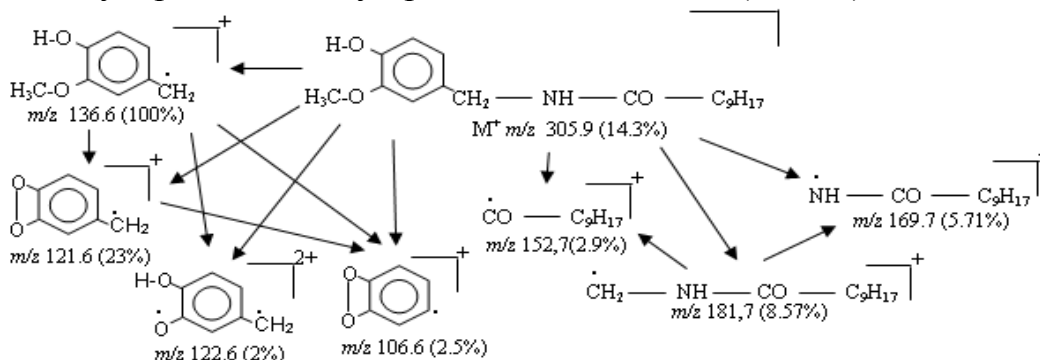


Схема 1. Масс-спектрометрический распад капсаицина.

В масс-спектрах выделенных 11 индивидуальных веществ обнаружены сигналы положительного иона 3-метокси 4-оксибензилидена с m/z 136,6 (100%) и вторичных положительных ионов с m/z 106,6 , 121,6 и 122,6 разной интенсивности, образованные из ароматической части, а также сигналы положительных ацильных и ациламидных ионов, образованных после распада алифатической части молекулярного иона: R-CO-, R-CO-NH- и R-CO-NH-CH<sub>2</sub>-. В таблице 3 представлены m/z и интенсивности (I, %) сигналов,

образованных при распаде алифатической части молекулярных ионов КО в аналогичных условиях масс-спектрометрического анализа и время удерживания при ВЭЖХ.

Таблица 3

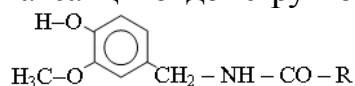
Данные масс-спектрометрического анализа КО и время удерживания в колонке при ВЭЖХ по сравнению с Капсаицином

Время удерживания.		Молекулярный ион ( $M^+$ )	Вторичные ионы				
мин	$\Delta t$		$m/z$ и (I, %)				$\Delta m/z$
30,931	-6,09	277,8 (14,81)	136,6 (100)	124,5 (11,12)	141,5 (14,81)	153,6 (9,26)	-28
33,087	-3,94	279,9 (13,88)	136,6 (100)	126,9 (44,4)	143,9 (83,33)	155,5 (55,56)	-26
35,508	-1,52	291,7 (12,24)	136,6 (100)	138,7 (20,37)	155,7 (37,03)	167,7 (7,41)	-14
36,108	-0,92	293,9 (11,12)	136,6 (100)	140,7 (5,55)	157,7 (7,41)	169,6 (7,62)	-12
36,479	-0,55	293,9 (12,96)	136,6 (100)	140,6 (2,6)	157,7 (3,70)	169,6 (7,41)	-12
37,025	0	305,9 (14,3)	136,6 (100)	152,7 (2,9)	169,7 (5,71)	181,7 (8,57)	0
39,347	+2,3	307,9 (18,5)	136,6 (100)	154,6 (4,12)	171,6 (7,41)	183,6 (11,11)	+2
39,850	+2,83	319,8 (10,01)	136,6 (100)	166,2 (2,3)	183,2 (4,35)	195,2 (6,08)	+14
40,051	+3,03	319,9 (9,89)	136,6 (100)	166,3 (2,9)	183,3 (4,53)	195,3 (6,14)	+14
42,064	+5,04	321,9 (11,85)	136,6 (100)	168,7 (2,8)	185,7 (5,56)	197,7 (8,14)	+16
42,604	+5,58	322,0 (12,24)	136,6 (100)	168,7 (2,71)	185,7 (5,46)	197,7 (8,22)	+16

Увеличение  $m/z$  на 2 а.е.м., которые означает наличие 2 дополнительных водородных атома ациламидной части КО приводит к увеличению времени удерживания его в колонке от 2,0 до 2,3 мин по отношению к ненасыщенной молекуле. Увеличение или уменьшение длины ациламидной части КО на одну метиленовую группу приводит к изменению времени удерживания его в колонке на 2,85 мин., тогда как уменьшение на две метиленовые группы уменьшает это время на 6,09 мин. Изменение места разветвления также приводит к уменьшению времени удерживания в колонке от 0,4 до 0,5 мин по отношению времени удерживания изомера.

Таблица 4

Химическое строение капсаициноидов стручкового перца *S. annuum L.*



№	R - радикал	Тривиальное название	Содержание в %	Время выхода (мин)
1	<i>Trans</i> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH=CHCHMe <sub>2</sub>	Капсаицин	45,29	37,025
2	(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CHMe <sub>2</sub>	Дигидрокапсаицин	38,35	39,347
3	(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CHMe <sub>2</sub>	Нордигидрокапсаицин	1,91	36,479
4	(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CHMe <sub>2</sub>	Гомодигидрокапсаицин	1,56	42,604
5	<i>trans</i> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH=CHCHMe <sub>2</sub>	Гомокапсаицин	1,31	40,051
6	<i>trans</i> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH=CHCHMe <sub>2</sub>	Норкапсаицин	1,26	35,508
7	<i>trans</i> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH=CHCHMe <sub>2</sub>	Норноркапсаицин	0,267	30,931
8	<i>trans</i> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH=CHCH <sub>2</sub> CHMe <sub>2</sub>	Гомокапсаицин II	0,158	39,850
9	(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CHMeCH <sub>2</sub> Me	Гомодигидрокапсаицин II	0,148	42,064
10	(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> Me	-	0,146	33,087
11	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CHMeCH <sub>2</sub> Me	Нордигидрокапсаицин II	0,140	36,108

На основании полученных результатов в таблице 4 приведены формулы радикалов и общепринятые тривиальные названия идентифицированных капсаициноидов в порядке уменьшения общего содержания в анализируемом сорте перца.

Таким образом, нами впервые определен качественный и количественный состав минорных компонентов СКО, выделенных из плодов красного стручкового перца *S. annuum L.*

### 3. Определение витаминного состава в олеосолах красного стручкового перца

Витамины в олеосолах определяли методом ВЭЖХ. Условия анализа и профили элюции водорастворимых и жирорастворимых витаминов приведены на рис 2 и 3. Полученные результаты приведены в таблице 5.

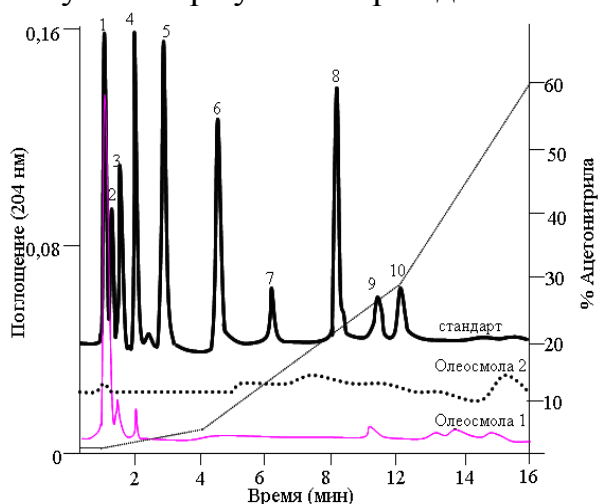


Рис.2. ВЭЖХ анализ водорастворимых витаминов в олеосолах 1 и 2. Колонка Zorbax SB-C<sub>18</sub>, 3,5µm (4,6x75мм). Буфер А: 0,05 М раствор КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub> рН 2,5; В:СН<sub>3</sub>СN. Программа градиента - 0,6% В 0-0,5 мин; 6% В 4мин; 30% В 12 мин, 60% В 16 мин. Скорость потока 1 мл/мин, поглощение 204 нм, Стандарты витаминов: 1.Аскорбиновая кислота (С), 2. Тиамин (В<sub>1</sub>), 3. Никотинамид (РР), 4. Пиридоксин (В<sub>6</sub>). 5. Пиридоксамин, 6. Аминобензильная кислота, 7. Пантотеновая кислота, 8. Фолиевая кислота, 9. Рибофлавин (В<sub>2</sub>), 10. Тиотиновая кислота.

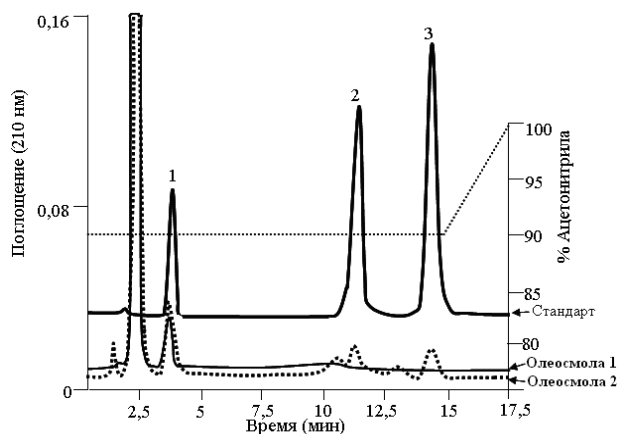


Рис.3. ВЭЖХ- анализ жирорастворимых витаминов в олеосолах 1 и 2. Колонка Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub>, 3,5µm (4,6 x 75 мм). Раствор А: Вода; В:СН<sub>3</sub>СN. Программа градиента - 90% В 0-15 мин; 100% В 17,5 мин. Скорость потока 1мл/мин, поглощение 210 нм, чувствительность 0,16 ОЕ. Стандарты: 1.Ретинол (А), 2. Холекальциферол (D<sub>3</sub>), 3. Токоферол (Е).

Таблица 5

Витаминный состав олеосмол (мг/100 г перца)

№	Витамины	Олеосола 1	Олеосола 2	Лит. данные
1	Аскорбиновая кислота (С)	54,42 ± 0,056	0,12 ± 0,006	64,14
2	Тиамин (В <sub>1</sub> )	0,23 ± 0,006	-	0,35
3	Пиридоксин (В <sub>6</sub> )	0,05 ± 0,003	-	-
4	Рибофлавин (В <sub>2</sub> )	0,45 ± 0,002	-	0,8
5	Ретинол (А)	0,023 ± 0,0015	0,032 ± 0,0013	0,035
6	Холекальциферол (D <sub>3</sub> )	-	0,008 ± 0,0011	0,007
7	Токоферол (Е).	-	0,005 ± 0,0008	0,005

В олеосмоле 1 содержание витамина С составляет 54,42 мг, тогда как в олеосмоле 2 его количества составляет  $0,120 \pm 0,006$  мг, а по литературным данным составлял 64,14 мг на 100 г перца. Кроме того, в олеосмоле 1, нами обнаружен витамин В<sub>6</sub> в количестве  $0,050 \pm 0,003$  мг, который не обнаружен в олеосмоле 2 и ранее в стручковом перце. Из жирорастворимых витаминов в олеосмоле 1 был обнаружен только витамин А в количестве 0,023 мг на 100 г перца, а в олеосмоле 2 обнаружены витамины А, Д и Е в количествах, согласующихся с литературными данными.

Из результатов анализа видно, что при экстракции этиловым спиртом в основном извлекаются водорастворимые витамины. Их общее содержание по отношению к полученной олеосмоле (8,4 г) составляет 0,66% (55,15 мг). В олеосмоле 2 (6,1 г) преобладают жирорастворимые витамины и их общее содержание составляет 0,0074% (0,045 мг), а витамин С обнаружен 453 раза меньше чем в олеосмоле 1. В олеосмоле 1 витамин А обнаружен в 0,72 раза меньше, чем в олеосмоле 2.

Каротиноидный состав рода *Capsicum* резко отличается в зависимости от вида, агросорта перца, климатических условий культивирования и варьирует в довольно широких пределах. Исходя из этого, интересно было изучить каротиноидный состав *C. annuum* L. культивированного в климатических условиях Узбекистана, а также в олеосолах 1 и 2.

#### 4. Изучение каротиноидного состава

Выделение каротиноидов красного перца проводили при полном отсутствии света встряхиванием с ацетоном в присутствии 0,5 % ионола. После фильтрования, высушивания и перерастворения в 75% водном растворе ацетона экстракт и олеосмолы 1 и 2 анализировали методом ВЭЖХ (рис.4).

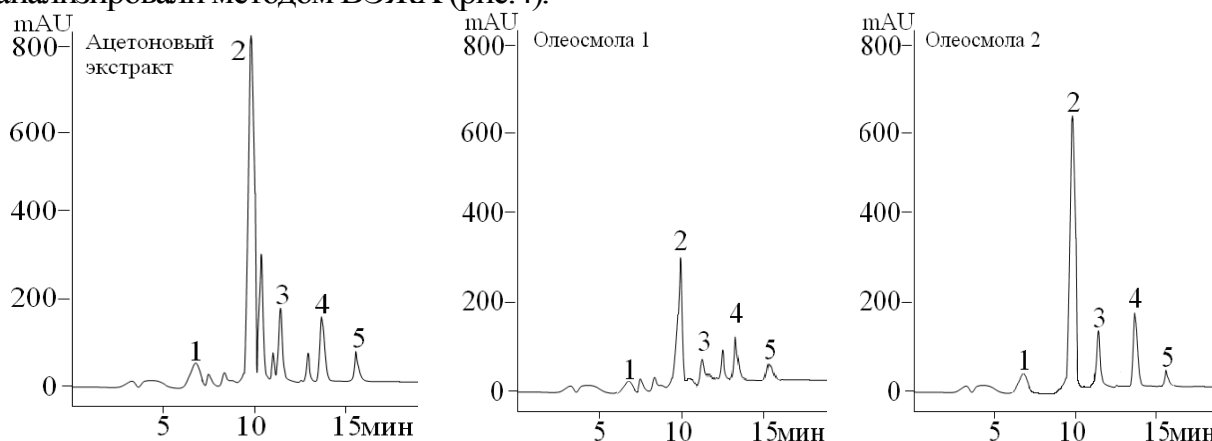


Рис. 4. ВЭЖХ – анализ каротиноидов перца *C. annuum* L. Колонка Lichrosorb RP-18 10мкм, 200x4.6 мм, диодно-матричный детектор, длина волны 460 nm. Мобильная фаза ацетон: вода. Градиент ацетона: 75% - 5 мин, 75-95% - 10 мин, 95% – 5 мин, 95-75% - 5 мин. Скорость потока 0,8 мл/мин. Каротиноиды: 1 - Капсорубин, 2 - Капсантин, 3 - Зеаксантин, 4 - β-Криптоксантин, 5 - β-Каротин.

В выделенных экстрактах содержится 5 основных видов каротиноидов, количественная характеристика которых приведена в таблице 6.

Из полученных данных видно, что олеосола 2 содержит в себе 10,609 мг/г каротиноидов, тогда как эти значения в олеосмоле 1 примерно в 7 раз меньше и равняется 1,480 мг/г.

Биологические свойства для СКО выделенных из различных сортов стручкового перца мало изучены, так как состав СКО варьирует в зависимости от сорта и климата прорастания. Поэтому следующим этапом наших исследование явилось изучение некоторых биологических свойств СКО.

Таблица 6

Каротиноидный состав красного стручкового перца *S. annuum L.*

№	Каротиноиды	Ацетоновый экстракт	Олеосмола 1	Олеосмола 2
		мг/г	мг/г	мг/г
1	Капсорубин	0,191±0,007	0,092±0,010	0,115±0,020
2	Капсантин	13,374±0,150	1,005±0,200	8,525±0,100
3	Зеаксантин	0,299±0,063	0,095±0,006	0,168±0,005
4	β-Криптоксантин	0,353±0,030	0,103±0,020	0,215±0,020
5	β-Каротин	2,283±0,078	0,185±0,008	1,586±0,050
Сумма		16,600±0,328	1,480±0,244	10,609±0,439

### 6. Антирадикальная активность капсаициноидов

Для изучения антирадикальной активности (АРА) нами была использована методика, основанная на способности антиоксидантов восстанавливать молекулы 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (ДФПГ). Данным методом изучена кинетика рекомбинации препаратов со стабильным радикалом ДФПГ. Полученные результаты показывают (рис. 5), что часть молекул ДФПГ восстанавливается в течение первых 5 мин. реакции, а в дальнейшем реакция восстановления проходит с более медленной скоростью. В общем, кинетика восстановления ДФПГ подчиняется двухэкспоненциальной кривой изменения.

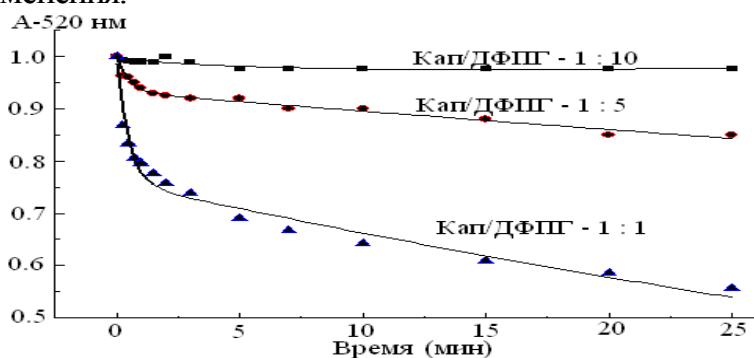


Рис.5. Изменение относительного значения оптической плотности ( $D/D_0$ ) спиртового раствора ДФПГ при добавлении различного количества СКО. На графике указаны весовые соотношения ДФПГ и СКО (мг/мг). Температура 24°C.

Таким образом, исследованный препарат СКО проявляет АРА, причем эффективность АРА зависит от концентрации препарата.

### 7. Влияние суммы капсаициноидов на проводимость бислоиных мембран

Для определения влияния СКО на проводимость плоских липидных мембран по отношению к неорганическим ионам эксперименты были проведены с использованием метода фиксации электрического потенциала. Оказалось, что введение СКО в цис-отсек измерительной ячейки приводит к изменению проводимости липидных мембран по отношению к ионам  $K^+$  (рис. 6). Анализ результатов показывает, что проводимость мембраны увеличивается с увеличением концентрации СКО. При этом для 40 мкг наблюдалась область плато. Можно предположить, что этот факт связан с накоплением молекул КО в приповерхностной области липидных мембран.

Увеличение проводимости мембраны при взаимодействии молекул КО с липидами является результатом образования дефектов в бислое, через которые могут диффундировать неорганические ионы  $K^+$ . Канальные структуры исключены, поскольку отсутствуют дискретные скачки проводимости при добавлении исследуемого препарата.

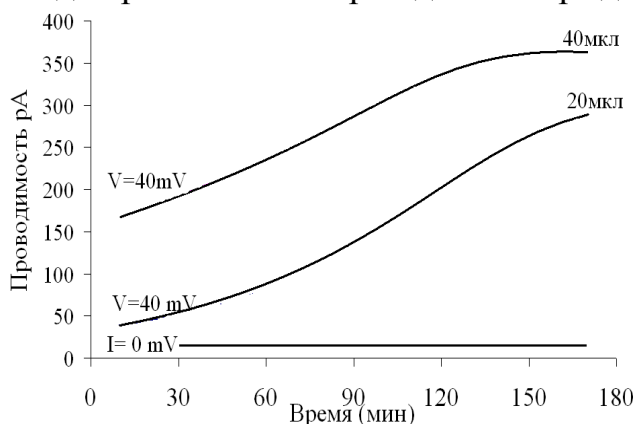


Рис.6. Изменение проводимости мембраны при добавлении препарата (концентрации указаны) при постоянном перемешивании. Буфер: KCl 10 mM, Hepes 10 mM, pH 7.4.

## 8. Влияние суммы капсаициноидов на набухание изолированных митохондрий печени крыс в присутствии субстратов окисления

Эксперименты по влиянию СКО на энергозависимое набухание митохондрий проводили в присутствии субстратов окисления - глутамата и малата. Было показано, что в диапазоне концентраций 3-90 мкг/мл СКО вызывают энергозависимое набухание митохондрий (Рис. 7).

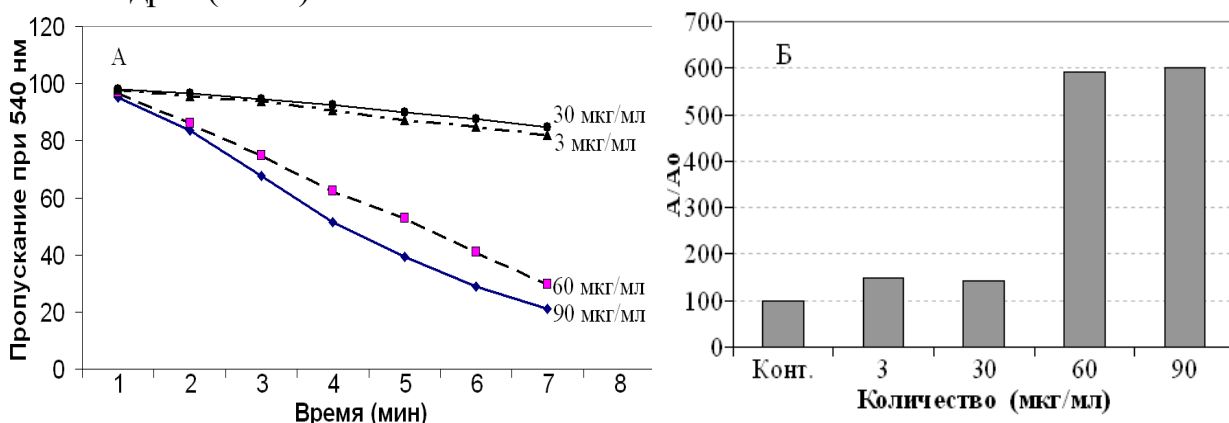


Рис.7. Концентрационная зависимость энергозависимого набухания митохондрий в присутствии капсаициноидов. А (оригинал записи), Б – гистограммы скорости набухания митохондрии  $A/A_0$ , где  $A$  скорость набухания митохондрий в присутствии и ( $A_0$ ) отсутствии КО (контроль). Содержание белка в митохондриях составляло 0,5мг белка/мл.

Следует отметить, что дозозависимого эффекта СКО нами обнаружено не было. Так, внесение 3 мкг СКО вызывало увеличение проницаемости мембран на 58,3% по отношению к контролю. Увеличение концентрации СКО до 30мкг вызывало более слабый эффект, который составил 41,6%. Максимальное набухание в исследуемом диапазоне концентрации было зарегистрировано при концентрации СКО 60 мкг/мл, что в 5,9 раз превысило контрольный уровень. Более высокая концентрация СКО – 90 мкг/мл, также вызывала такое же резкое изменение скорости набухания ( $\approx 6,0$  раз) относительно контроля. Набухание митохондрий в присутствии СКО свидетельствует о нарушении барьерных свойств внутренних мембран митохондрий. Это может иметь место за счет

образования СКО дефектов в мембране и, следовательно, происходит их набухание за счет проникновения молекул воды.

## 9. Изучение противовоспалительных свойств капсаициноидов на модели каррагенинового отека

Противовоспалительные свойства КО были изучены на модели каррагенинового отека (таб. 7). опыты проводили на крысах. При этом противовоспалительный эффект оценивали по уменьшению отека и выражали в процентах к контролю (этиловый спирт).

Таблица 7

Антиэкссудативная активность СКО на модели каррагенинового отека у крыс

Концентрация мг/мл	Исход		Через 5 часов		Через 24 часа	
	см <sup>3</sup>	%	см <sup>3</sup>	A (%)	см <sup>3</sup>	A (%)
Контроль	0,9±0,09	100	2,25±0,2	0	2,0±0,2	0
0,25	1,0±0,01	100	1,75±0,2	44,44	1,63±0,15	57,27
0,5	1,0±0,1	100	1,21±0,12	84,21	1,12±0,1	89,09
1	0,9±0,09	100	0,99±0,09	93,23	0,92±0,1	98,18
1,2	1,0±0,01	100	1,1±0,16	92,48	1,05±0,1*	95,45
1,5	1,0±0,1	100	1,15±0,11	88,72	1,08±0,15	92,73

Под действием раствора СКО с концентрацией 0,25 мг/мл, через 5 часов отек уменьшался на 44,44%, спустя 24 часа - на 57,27% по отношению к контролю. В этом интервале времени влияние раствора СКО с концентрацией 0,5 мг/мл составило 84,21 и 89,09% соответственно. Максимальный эффект был получен под действием раствора с концентрацией 1 мг/мл, и под его действием отек лапки уменьшился на 93,23 и 98,18% соответственно. Применение СКО более высокой концентрации также способствовало уменьшению отека лапки, вызванного каррагенином, но их эффект был наравне с раствором, имеющей концентрацию 1 мг/мл.

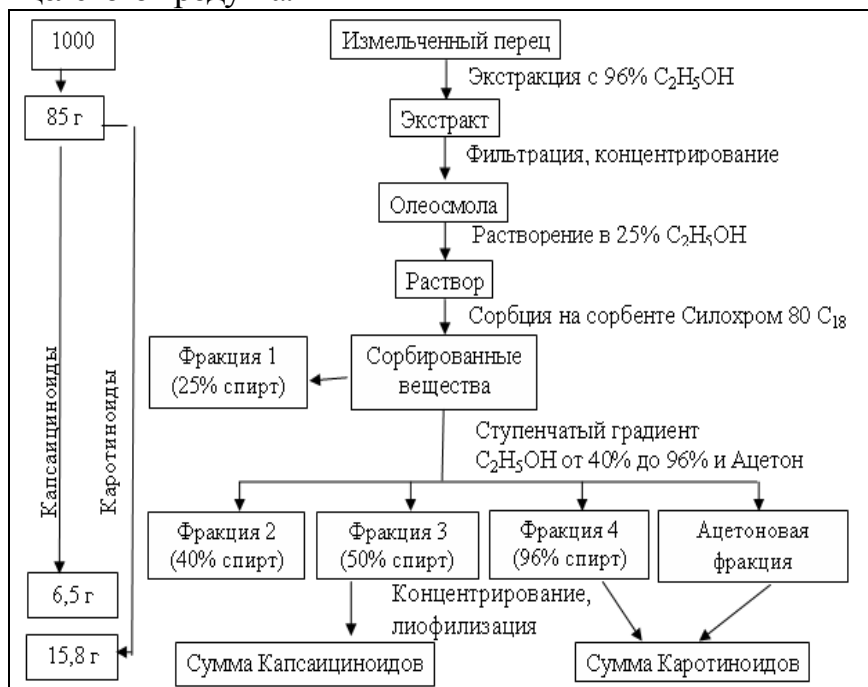
Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о выраженном противовоспалительном действии капсаициноидов на модели каррагенинового отека.

На основе полученных результатов нами установлено, что СКО обладает антирадикальной, мембранотропной и противовоспалительной активностями. Поэтому, опираясь на биологические свойства СКО, дальнейшей задачей наших исследований явилось разработка препаративного метода выделения СКО, характеристика субстанции и создание лекарственного средства для наружного применения.

## 10. Разработка препаративного способа выделения суммы капсаициноидов

Нами разработан новый, усовершенствованный метод выделения СКО. На схеме 2 представлены этапы производства СКО из красного стручкового перца *C. annuum L.* При этом выход СКО составил 0,65±0,05%, а суммарный выход каротиноидов составил 1,58±0,04% по отношению к сухому весу исходного материала. Следует отметить, что в результате использования сорбента Силохром 80С<sub>18</sub> вместо Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> выход СКО увеличился с 0,34% до 0,65% (в 1,9 раз). Для производства СКО из красного стручкового перца в препаративных количествах разработана пилотная установка, состоящая из измельчителя тканей; экстрактора, снабженного якорной мешалкой, фильтром, обогревательной

рубашкой; перегонной системы «Simax», колонки с сорбентом; роторного испарителя, лиофильной сушилки. Определен оптимальный размер помола перца (3-4 мм), гидромодуля (1/10 - кг/кг) и время экстракции (24 часа с двукратной сменой растворителя через 3 и 8 часов с периодическим перемешиванием). При этом из сырья извлекается 92,36% целевого продукта.



На пилотной установке из зрелых и высушенных плодов перца *S. annuum L.* наработаны 5 серий субстанции, названной «Капсаициноиды» которую в дальнейшем использовали для создания лекарственной формы противовоспалительного препарата наружного применения.

## 11. Разработка метода стандартизации суммы капсаициноидов

Субстанция «Капсаициноиды» представляет собой лиофилизированный порошок от светло - оранжевого до тёмно – оранжевого цвета, сильно горького вкуса со специфическим запахом перца, нерастворимый в воде и водных растворах солей. Растворим в щелочах и 50% водных растворах этилового, метилового и пропилового спиртов. рН водного извлечения составляет от 3,2 до 6,0. Потеря в массе при высушивании не превышает 4%, зольность – не более 1.0%. Подлинность и количественное определение проводили методом ВЭЖХ и по времени удерживания веществ в колонке определяли НДК, К и ДК (см. таблицу 4). Метрологическая характеристика количественного определения капсаициноидов приведена в таблице 8.

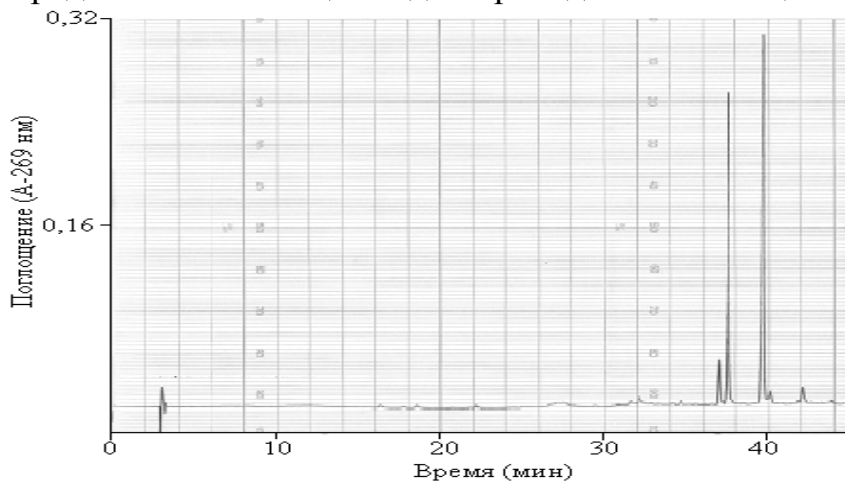


Рис.8. ВЭЖХ – анализ субстанции «Капсаициноиды». Колонка 4,6 x 250 мм Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 5μm. Раствор А: 0,1% CF<sub>3</sub>COOH, В:CH<sub>3</sub>CN. Градиент концентрации %В/мин: 5/0-5; 70/35-40; 5/45. Скорость потока 1мл/мин, поглощение 269 нм.

Как видно из таблицы 8, граничные значения доверительного интервала составляют  $91,378 \pm 0,348$  при доверительной вероятности 95%. Таким образом, установлено, что содержание капсаициноидов в субстанции варьирует в пределах от 90% до 92%.

Таблица 8

Метрологическая характеристика количественного определения капсаициноидов в 5-ти сериях субстанции «Капсаициноиды»

№ серии	Содержание СКО, %	Метрологическая характеристика
01. 02.08.2007	91,32	$f=4$ $S_x=0,125$ $S=0,280$
02. 10.09.2007	91,83	$X_{cp}=91,378$ $\Delta X=0,348$
03. 11.10.2007	91,37	$\Delta X_{cp}=0,155$ $\varepsilon=0,8497\%$
04. 15.11.2007	92,31	$\varepsilon_{cp}=0,38\%$ $P=95\%$
05. 20.12.2007	91,06	

Образцы 5 серий субстанции, проект ВФС и пояснительная записка с обоснованием всех статей проекта были переданы в ГУККЛС и МТ МЗ РУз и после рассмотрения ВФС зарегистрирована под № 42 Уз – 1470 – 2009.

## 12. Разработка противовоспалительного препарата на основе субстанции «Капсаициноиды»

В качестве основы для многих препаратов может служить масло из косточек винограда (*Oleum Vitis viniferae*) (ВМ). ВМ является одним из ценных растительных масел, оказывает положительное действие на регуляцию уровня холестерина, лечит воспалительные процессы и благоприятно влияет на жировой обмен. Исходя из этих соображений, нами разработан метод получения ВМ из косточек винограда с целью использования его в качестве основы в создаваемом противовоспалительном препарате.

### 12.1. Получение масла из косточек винограда

Масло из косточек винограда *Vitis viniferae* получали по ТУ Уз 10-59-97 с некоторыми модификациями. Измельченные косточки винограда (0,20-0,25 мм) экстрагировали бензином (гидромодуль 3:1) в течение 18 часов (3 раза, двукратной сменой растворителя) при температуре 60-65<sup>0</sup>С. После концентрирования мицеллы промывали 0,1 М раствором NaOH, водой, высушивали с помощью MgSO<sub>4</sub>. Выход масла составил 10% от исходной массы косточек.

Очистка ВМ методом промывки 0,1 М раствором NaOH улучшает ее технические показатели по сравнению с ТУ Уз 10-59-97. Цвет масла от желто-зеленого изменился на желтый. Кислотное число от «более 6» уменьшилась до «менее 5», массовая доля не жирowych примесей с 0,5% уменьшилась до 0,3%, а массовая доля не омыляемых веществ составила 1% вместо 2%.

Для определения жирно-кислотного состава ВМ проводили его этерификацию с помощью метанола в щелочных условиях. Идентификацию полученных метиловых эфиров жирных кислот осуществляли с помощью GC/MS на приборе «Hewlett Packard» HP 5972 с HP-5 MS детектором. Полученные масс – спектрометрические данные обрабатывали по базам данных масс - спектров «Wiley 275». В результате проведенных исследований определены следующие жирные кислоты: миристиновая - 0,412%,

пальмитиновая - 0,386%, пальмитолеиновая - 0,377%; стеариновая - 6,867%; олеиновая - 11,525%; линолевая - 79,697% и линоленовая - 0,736%.

Среди обнаруженных жирных кислот наблюдалось достоверное увеличение линолевой кислот на 7,7%-21%, не обнаружены арахидоновая и гадолеиновые кислоты, содержание остальных жирных кислот находились в пределах литературных данных.

Результаты жирно-кислотного состава ВМ позволили провести ее стандартизацию методом GC/MS по линолевой кислоты, содержание которого в ВМ колеблется в пределах 80%.

Исследование витаминного состава виноградного масла проводили методом ВЭЖХ. Профиль элюции и условия хроматографии приведены на рис. 9.

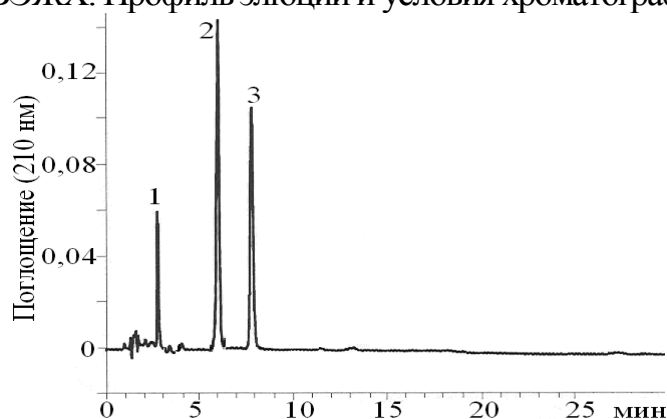


Рис.9. Анализ витаминов виноградного масла. Колонка Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub>, 3,5μm (4,6x75 мм). Раствор А: Вода. В:CH<sub>3</sub>CN. Изократический режим - 95% CH<sub>3</sub>CN. Скорость потока 1мл/мин, поглощение при 210 нм. Витамины: 1.Ретинол, 2. Холекальциферол (D<sub>3</sub>), 3. α-Токоферол (E).

В результате проведенных экспериментов в составе 100 г ВМ обнаружен Ретинол (витамин А) – 6,5 мг, Холекальциферол (витамин D<sub>3</sub>) – 7,0 мг, α – Токоферол (витамин Е) – 12,5 мг.

С целью выяснения эффективности ВМ, в качестве основы создаваемого лекарственного препарата, необходимо было изучить ее влияние на проницаемость капилляров кожи. Эксперименты проводили по стандартной методике на кроликах – альбиносах и белых беспородных мышцах. Опыты показали, что проницаемость капилляров кожи у кроликов, под влиянием ВМ повысилось на 62% (p>0,01) со сравнению с контролем, а у мышей – на 35% (p>0,01). Из полученных результатов видно, что ВМ обладает свойством повышать проницаемость капилляров кожи и может обеспечить эффективное проникновение под кожу лекарственных средств.

## 12.2. Подбор оптимальных соотношений ингредиентов противовоспалительного препарата и разработка лекарственной формы

Для создания нового отечественного препарата для лечения ЗОДА использовали субстанцию «Капсаициноиды», пчелиный яд, метилсалицилат и ВМ. В целях изучения синергизма приготовлены 13 композиций, состоящих из вышеперечисленных ингредиентов как по отдельности (варианты 1-3), так и в различных композициях (варианты 4-13). Исследование противовоспалительной активности приготовленных линиментов проводили на модели острого экссудативного воспаления вызванного каррагенином. В качестве контроля использовали линимент, приготовленный без действующих активных веществ. Составы композиции и их активность приведены в таблице 9.

В ходе проведенных исследование установлено, что наибольшим противовоспалительным эффектом (77,78%) обладает образец, состоящий из 3 мг пчелиного яда, 1 г

КО, 8 г метилсалицилата и 6 г виноградного масла. Также показано синергетическое действие компонентов композиции, которое выражается в повышении противовоспалительного эффекта по сравнению с линиментами приготовленных только из пчелиного яда (17,77% эффект), или метилсалицилата (21,11% эффект), или КО (23,88% эффект) в виноградном масле. На основе полученных результатов разработана лекарственная форма противовоспалительного препарата, наработаны и охарактеризованы 5 серии лекарственной формы препарата. Линимент назван «АПИКАПСАЛВИН».

Таблица 9

Подбор ингредиентного состава композиций

№	Состав композиции				Противовоспалительный эффект
	СКО	Пчелиный яд	Метилсалицилат	ВМ	
	г	мг	г	г	%
1	0	3	0	6	17,77
2	0	0	8	6	21,11
3	1	0	0	6	23,88
4	0,6	2	4	6	35,56
5	0,5	1	4	4	21,10
6	0,5	1	4	3	26,11
7	0,7	1,5	5	5	45,55
8	0,6	2	7	6	37,22
9	0,5	1	6	4	27,77
10	0,5	2	6	5	45,55
11	1	3	8	6	77,78
12	0,8	1	7	4	61,11
13	1	2	6	3	72,22

### 13. Разработка метода стандартизации лекарственной формы линимента "Апикапсалвин"

Для разработки метода стандартизации препарата проводили исследование по определению подлинности, рН водного раствора, микробиологической чистоты, определения качественного и количественного состава ингредиентов препарата.

Подлинность и количественное определение компонентов препарата, определяли методом ВЭЖХ. Профиль элюции и условия разделения приведены на рисунке 10.

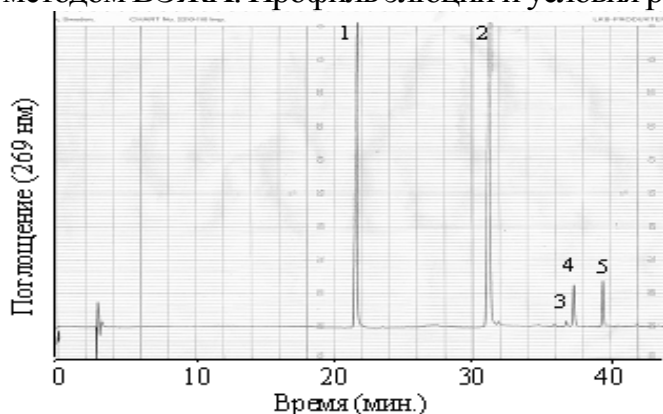


Рис.10. ВЭЖХ - анализ 0,1% раствора Апикапсалвина в этиловом спирте. Хроматограф DU PONT (США), колонка ZORBAX 300SB-C<sub>18</sub>, 5 мкм, (4,6x250мм). Подвижная фаза: Раствор А: 0,1% раствор ТФУК; Раствор В: MeCN. Условия градиента концентрации MeCN: 1) 5 мин. 5%; 2) 30 мин. 5%-60%; 3) 5 мин. 60%; 4) 5 мин. 60%-5%. Скорость потока 1 мл/мин, детектирование при 269 нм.

Для определения подлинности препарата должны выявиться пики со временем удерживания: 20,0 – 22,0 мин – сорбиновая кислота (1); 31,0 – 32,0 мин – метилсалицилат (2); 36,0 – 40,0 мин – КО (3-5).

Метрологическая характеристика количественного определения капсаициноидов и метилсалицилата в препарате «Апикапсалвин» приведены в таблице 10.

Таблица 10

Метрологическая характеристика количественного определения капсаициноидов и метилсалицилата

№	СКО, %	Метрологичес. хар-ка	Метилсалицилат, %	Метрологичес. хар-ка
1	0,99	f=4 S <sub>x</sub> =0,009	8,0	f=4 S <sub>x</sub> =0,039
2	0,97	S=0,019 X <sub>cp</sub> =0,978	7,88	S=0,086 X <sub>cp</sub> =7,938
3	0,98	ΔX=0,024 ΔX <sub>cp</sub> =0,011	7,84	ΔX=0,107 ΔX <sub>cp</sub> =0,048
4	1,00	ε=5,46%	7,92	ε=3,01% ε <sub>cp</sub> =1,347%
5	0,95	ε <sub>cp</sub> =2,442% P=95%	8,05	P=95%

Таким образом, граничные значения доверительных интервалов для капсаициноидов и метилсалицилата составляют  $0,978 \pm 0,024\%$  и  $7,938 \pm 0,107\%$  соответственно, с доверительной вероятностью 95%.

#### 14. Исследование специфической фармакологической активности и токсичности препарата «Апикапсалвин»

Доклиническое изучение фармако–токсикологии линимента «Апикапсалвин» было проведено в Лаборатории фармакологии ИБОХ АН РУз м.н.с. Д.С.Казанцевой. В качестве препарата сравнения использовали коммерческий препарат Апизартрон (Eparma GmbH, Германия). В качестве контроля использовали линимент, приготовленный только из эмульгатора и спирта.

Противовоспалительное действие линимента «Апикапсалвин» исследовали по стандартным методикам на каррагениновой, серотониновой и альбуминовой моделях на крысах (таблице 11).

Таблица 11

Антиэкссудативная активность «Апикапсалвина» (n=7, M±m)

Препараты	Прирост объема конечностей, % относительно исходного			Антиэкссудативная активность, %		
	Серотонин	Альбумин	Каррагенин	Серотонин	Альбумин	Каррагенин
Контроль	48±2,4	53±2,7	67±4,5			
Апикапсалвин	40±2,2	31±2,0	14±1,8	24±1,4	46±2,6	81±4,8
Апизартрон	35±2,4	33±2,1	25±1,8	28±1,6	37±2,0	62±4,6

Следует отметить что линимент «Апикапсалвин» примерно на 20% превосходит антиэкссудативные действие Апизартрона.

Также проведены доклиническое исследование фармако–токсикологии лекарственной формы линимента «Апикапсалвин». При этом изучено влияние на адьювантный отек, анальгезирующее действие, на сосудистую проницаемость кожи, изучена острая токсичность, кумулятивные свойства, кожно-резорбтивное действия, аллергические свойства, хроническая токсичность, проведены патоморфологические исследования, а

также проведено изучение «острой» токсичности и противовоспалительного действия линимента в зависимости от срока хранения.

На основании полученных результатов доклинических исследований линимента «Апикапсалвин» составлен доклинический фармако–токсикологический отчет, который принят ГУККЛС и МТ МЗ РУз. На разработанную лекарственную форму препарата «Апикапсалвин» на основании приказа №329 МЗ РУз от 30 октября 2009 года получено разрешение для практического применения и ВФС зарегистрирована в ГУККЛС и МТ МЗ РУз под № 42 Уз – 1471 – 2009.

## ВЫВОДЫ

1. Впервые методом ВЭЖХ изучен капсаициноидный, каротиноидный и витаминный состав спиртового экстракта красного стручкового перца *Capsicum annuum L.*, культивируемого в климатических условиях Ферганской долины (Коканд). Показано, что содержание основных капсаициноидов в экстракте составляет 4,05%, а содержание каротиноидов достигает 0,14% от веса олеосмолы. В составе экстракта обнаружены витамины С, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, А, причем, наличие витамина В<sub>6</sub> установлено впервые.

2. Впервые, методом ВЭЖХ, из суммы капсаициноидов выделены в индивидуальном состоянии 11 основных и минорных капсаициноидов. С использованием методов масс-спектрометрии (LC-MS), установлено строение всех выделенных компонентов.

3. Исследованы антирадикальные, мембранотропные и антиэкссудативные свойства суммы капсаициноидов. Установлено, что капсаициноиды эффективно перехватывают свободные радикалы, образуют дефекты, как в искусственных мембранах, так и в мембранах митохондрий и подавляют отек, вызванный каррагенином. Биологический эффект во всех случаях усиливается с ростом концентрации капсаициноидов.

4. Разработан препаративный метод, создана пилотная установка для выделения суммы капсаициноидов из перца *Capsicum annuum L.* Выход продукта составил 0,63% по отношению к сухому весу исходного материала.

5. Методами хромато масс-спектрометрии (GC-MS) и ВЭЖХ изучен жирнокислотный и витаминный состав виноградного масла, извлеченного из косточек местных сортов винограда, которое использовалось в качестве основы при создании лекарственной формы. Показано, что 79,7% жирных кислот составляет линоленовая кислота, также определено присутствие витаминов А, D<sub>3</sub> и Е в различных соотношениях.

6. На основе субстанции «Капсаициноиды», виноградного масла, пчелиного яда и метилсалицилата разработан противовоспалительный препарат «Апикапсалвин». Приказом МЗ РУз №329 от 30 октября 2009 года получено разрешение на широкое применение в медицинской практике препарата и его субстанции. ВФС зарегистрированы в ГУККЛС и МТ МЗ РУз под № 42 Уз – 1470 – 2009 и № 42 Уз – 1471 – 2009.

## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Зиявитдинов Ж.Ф., Ишимов У.Ж. Разработка метода стандартизации субстанции капсаициноидов выделенного из плодов красного стручкового перца *Capsicum annuum L.* // «Ўзбекистонда табиий бирикмалар кимёсининг ривожига ва келажагига» илмий конференция материаллари. Тошкент, 27-28 апрель 2007. – С. 91-92.
2. Ishimov U.J., Ziyavitdinov J.F., Ruzmetova D.T. Standardization of drug form of antiphlogistic preparate «APICAPSALVIN» // 50 years anniversary S. Yunusov Institute of the Chemistry of plant Substances 7<sup>th</sup> International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Tashkent, 16-18 October 2007. – P. 259.
3. Зиявитдинов Ж.Ф., Ишимов У.Ж. Разработка метода стандартизации субстанции Капсаициноидов выделенных из плодов красного стручкового перца *Capsicum annuum L.* // Фармацевтический журнал. №1. 2009. – С. 29-33.
4. Зиявитдинов Ж.Ф., Сагдиев Н.Ж., Ишимов У.Ж., Aisa H.A., Yili A. Исследование минорных компонентов субстанции капсаициноидов методом масс – спектрометрии // Конференция Актуальные проблемы химии природных соединений. Ташкент, 18-19 марта 2009. – С. 156.
5. Зиявитдинов Ж.Ф., Ишимов У.Ж., Камалова Д.К., Солиев Т.С. Изучение противовоспалительной эффективности и переносимости препарата «АПИКАПСАЛВИН» // Фармацевтикада таълим, фан ва ишлаб чиқаришнинг долзарб масалалари, илмий-амалий анжуман материаллари. Тошкент, 2009. – С. 301.
6. Зиявитдинов Ж.Ф., Казанцева Д.С., Ишимов У.Ж. Виноградное масло, как основа новых противовоспалительных средств для наружного применения // Фармацевтический журнал. №1. 2010. – С. 59-62.
7. Ишимов У.Ж., Зиявитдинов Ж.Ф., Сагдиев Н.Ж. Исследование минорных компонентов суммы капсаициноидов *Capsicum annuum L.* // Журнал Химия природных соединений. №6. 2010. – С. 854-855.
8. Ишимов У.Ж., Зиявитдинов Ж.Ф., Сагдиев Н.Ж. Минорные компоненты суммы капсаициноидов // Актуальные проблемы развития Биоорганической химии. Международная научная конференция. Ташкент, 20-21 сентября 2010. – С. 63.
9. Ишимов У.Ж., Зиявитдинов Ж.Ф. Каротиноиды красного стручкового перца *Capsicum annuum L.* // Актуальные проблемы развития Биоорганической химии. Международная научная конференция. Ташкент, 20-21 сентября 2010. – С. 62.
10. Ишимов У.Ж., Сонькина С.Н., Зиявитдинов Ж.Ф., Салахутдинов Б.А. Влияние суммы капсаициноидов на проводимость бислойных мембран // Конференция молодых ученых, посвященной памяти акад. С.Ю. Юнусова. Ташкент, 17 марта 2011. – С. 55.

**Кимё фанлари номзоди илмий даражасига талабгор Ишимов Учқун  
Жомурадовичнинг 02.00.10 – Биоорганик кимё ихтисослиги бўйича “*Capsicum  
annuum L.* капсаициноидлари ва улар асосида яллиғланишга қарши таъсирга эга  
бўлган дори воситасини яратиш” мавзусидаги диссертацияси  
РЕЗЮМЕСИ**

**Таянч сўзлар:** *Capsicum annuum L.*, капсаицин, капсаициноидлар, дигидрокапсаицин, каротиноидлар, витаминлар, ЮССХ, LC-MS, GC-MS, идентификация, дори воситаси, стандартлаш, фармакология.

**Тадқиқот объектлари:** *Capsicum annuum L.* қизил қаламчасимон қалампир.

**Ишнинг мақсади:** Маҳаллий *Capsicum annuum L.* қизил қаламчасимон қалампирдан ажратилган капсаициноидлар суммасининг асосий ва минор компонентларини аниқлаш, ажратилган сумманинг биологик ҳамда фармакологик хусусиятларини ўрганиш ва улар асосида дори воситаси ишлаб чиқиш.

**Тадқиқот услублари:** Тадқиқот жараёнида биоорганик кимё, фармакология, фармако-пея усулларидан фойдаланилган.

**Олинган натижалар ва уларнинг янгилиги:** Биринчи марта Фарғона водийси иқлим шароитида етиштирилган *Capsicum annuum L.* қизил қаламчасимон қалампир таркибидаги капсаициноидлар, каротиноидлар ва витаминлар таркиби ЮССХ усулида ўрганилди. Капсаициноидлар суммасининг антирадикал, мембранатроп ва антиэкссудатив хусусиятлари ўрганилди. *Capsicum annuum L.* қалампирдан капсаициноидлар суммасининг препаратив усулини ажратиб олиш учун пилот қурилма ишлаб чиқилди. Биринчи марта *Capsicum annuum L.* қизил қаламчасимон қалампир таркибидаги капсаициноидларни LC-MS усулида сифат ва миқдор таркиби ўрганилди. Қизил қаламчасимон қалампир таркибида 11 капсаициноидларнинг турли хил нисбатларда бўлиши аниқланди. Капсаициноидлар суммаси асосида субстанция ишлаб чиқилди. Маҳаллий узум навларининг данакларидан ажратиб олинган узум ёғидаги ёғ кислоталари ва витаминлар таркиби GC-MS ва ЮССХ усуллари ёрдамида ўрганилди.

**Амалий аҳамияти:** “Капсаициноидлар” субстанцияси, узум ёғи, асалари захари ва метилсалицилат асосида яллиғланишга қарши “Апикапсалвин” препарати ишлаб чиқилди. “Капсаициноидлар” субстанцияси ва “Апикапсалвин” линиментининг ВФМ лари ЎзР ССВ ТТ ва ДВСНҚББ да 42 Уз –1470 – 2009 ва 42 Уз –1471 – 2009 рақамлари билан рўйхатга олинди.

**Татбиқ этиш даражаси ва иқтисодий самарадорлиги:** “Капсаициноидлар” субстанцияси ва “Апикапсалвин” линименти ЎзР ССВ нинг 2009 йил 30 октябридаги 329 – сонли буйруғига асосан тиббиёт амалиётида кенг қўллашга рухсат берилган.

**Қўлланиш соҳаси:** биоорганик кимё, фармацевтика ва тиббиёт.

## РЕЗЮМЕ

диссертации Ишимова Учкун Жамурадовича на тему «Капсаиноиды *Capsicum annuum L.*, создание на их основе лекарственного средства противовоспалительного действия» на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия.

**Ключевые слова:** *Capsicum annuum L.*, капсаицин, капсаиноиды, дигидрокапсаицин, каротиноиды, витамины, ВЭЖХ, LC-MS, GC-MS, идентификация, лекарственные средства, стандартизация, фармакология.

**Объекты исследования:** красный стручковый перец *C. annuum L.*

**Цель работы:** Исследование основных и минорных компонентов суммы капсаиноидов выделенных из местных сортов красного стручкового перца *Capsicum annuum L.*, изучение их биологических, а так же фармакологических свойств и создание на их основе лекарственного препарата.

**Методы исследования:** При проведении исследований использовали методы биоорганической химии, фармакологии и фармакопеи.

**Полученные результаты и их новизна:** Впервые методом ВЭЖХ изучен капсаиноидный, каротиноидный и витаминный состав красного стручкового перца *C. annuum L.* культивированного в климатических условиях Ферганской долины. Исследованы антирадикальный, мембранотропный и антиэкссудативные свойства суммы капсаиноидов. Разработана пилотная установка, а также препаративный метод выделения СКО из перца *C. annuum L.* Впервые методом LC-MS изучен качественный и количественный состав капсаиноидов, выделенных из красного стручкового перца *C. annuum L.* Обнаружено присутствие 11 капсаиноидов в составе красного стручкового перца в различных соотношениях. Разработана субстанция на основе суммы капсаиноидов. Методами GC-MS и ВЭЖХ изучен жирно-кислотный и витаминный состав виноградного масла выделенного из косточек местных сортов винограда.

**Практическая значимость:** На основе субстанции «Капсаиноиды», виноградного масла, пчелиного яда и метилсалицилата разработан противовоспалительный препарат «Апикапсалвин». ВФС для субстанции «Капсаиноиды» и линимента «Апикапсалвин» зарегистрированы в ГУККЛС и МТ МЗ РУз под № 42 Уз –1470 – 2009 и № 42 Уз –1471 – 2009 соответственно.

**Степень внедрения и экономическая эффективность:** Для субстанции «Капсаиноиды» и линимента «Апикапсалвин» приказом МЗ РУз №329 от 30 октября 2009 года получено разрешение к широкому применению в медицинской практике.

**Область применения:** биоорганическая химия, фармацевтика и медицина.

## RESUME

**Thesis of Ishimov Uchqun Jamuradovich on the scientific degree competition of the doctor of philosophy in chemistry on specialty 02.00.10. – bioorganic chemistry, subject: “*Capsicum annuum L. capsaicinoids* and creation on their base drug mean with anti-inflammatory action”**

**Key words:** *Capsicum annuum L.*, capsaicin, capsaicinoids, dihydrocapsaicin, carotino-ids, vitamins, HPLC, LC-MS, GC-MS, identification, drug means, standardization, pharmacology.

**Subjects of research:** red pepper *Capsicum annuum L.*

**Purpose of work:** Investigation of the basic and minor components of sum of capsaicinoids which isolated from local red pepper *Capsicum annuum L.* sorts, study of their biological, pharmacological properties and creation on their base medicinal preparate.

**Methods of research:** During investigation bioorganic chemistry, pharmacology and pharmacopea methods were used.

**The results obtained and their novelty:** Capsaicinoid, carotinoid and vitamin composition of the *Capsicum annuum L.* red pepper which cultivated in climatic conditions at the Fergana valley was studied for the first time by method HPLC. Antiradical, membranetrope and anti-exudative properties of the sum of capsaicinoids were investigated. A pilot instrument and preparative method for isolation the sum of capsaicinoids from the *Capsicum annuum L.* red pepper is created. Quantative and qualitative composition of capsaicinoids which were isolated from the *Capsicum annuum L.* red pepper were studied by LC-MS method for the first time. In the red pepper 11 capsaicinoids at different quantities were revealed. On the base of the sum of capsaicinoids substance is created. Fatty acid and vitamin composition of the grape oil which isolated from the local grape seeds are studied by methods of GC-MS and HPLC.

**Practical value:** On the base of the substance “Capsaicinoids”, grape oil, bee venom and methylsalysilate an anti-inflammatory preparate “Apicapsalvin” is created. The temporary pharmacological papers for the substance of “Capsaicinoids” and for the linimentum “Apicapsalvin” were registered by the main office of the quality control medicinal drugs and medicinal techniques of Ministry of Health, Republic of Uzbekistan (№ 42 Uz –1470 – 2009 and № 42 Uz –1471 – 2009 respectively).

**Degree of embed and economic effectivity:** The substance of “Capsaicinoids” and linimentum of “Apicapsalvin” are ordered by the Ministry of Health, Republic of Uzbekistan (№329 from 30 October, 2009) for widely using in medicinal practice.

**Field of application:** bioorganic chemistry, pharmaceutics and medicine.