

О. А. Попова¹, Н. Д. Бунятян^{1,2,*}, Г. М. Бобизода³, И. П. Ремезова⁴,
А. Б. Прокофьев^{1,2}, В. А. Евтеев¹

СТАНДАРТИЗАЦИЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОМПОЗИЦИИ ТИМОГАРА И СУХОГО ЭКСТРАКТА СМОЛЫ *Ferula assa-foetida*

¹ ФГБУ "Научный центр экспертизы средств медицинского применения" Минздрава России, Россия, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8.

² ФГАОУ ВО "Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова" Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2.

³ Таджикский государственный педагогический университет им. С. Айни, Республика Таджикистан, 734003, Душанбе, проспект Рудаки, 121.

⁴ Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, Россия, 357500, Пятигорск, пр. Калинина, 11.

* e-mail: ndbun@mail.ru

Получен сухой экстракт камед-смолы *Ferula assa-foetida* L. и разработана композиция на основе этого экстракта и препарата тимогар. Для качественного определения сложных эфиров использовали реакцию с 1 % раствором ванилина в концентрированной серной кислоте; полисахаридов — реакцию с фенолом в присутствии концентрированной серной кислоты; кумаринов — метод ТСХ с использованием в качестве свидетеля умбеллиферона; тимогара — УФ-спектрофотометрию. Количественное определение проводили по содержанию тимогара, суммарного содержания фенольных соединений и флавоноидов. Для количественного определения тимогара использовали УФ-спектрофотометрию, суммарного содержания фенольных соединений — метод Фолина — Чикольте. Стандартизацию композиции проводили по параметрам: описание, растворимость, потеря в массе при высушивании, тяжелые металлы, подлинность (тимогар, сложные эфиры, полисахариды, кумарины), количественное содержание (тимогар, суммарное содержание фенольных соединений, флавоноиды). Содержание тимогара составило 0,009–0,011 %, суммарного содержания фенольных соединений — не менее 75 %. Для количественного определения флавоноидов использовали спектрофотометрический метод по реакции с раствором алюминия хлорида 10 %. В качестве стандарта использовали циннарозид. Содержание флавоноидов должно быть не менее 89 % в пересчете на циннарозид. На основании экспериментальных исследований по определению острой и хронической токсичности показано, что разработанная композиция является мало токсичной и может быть отнесена к 6 классу опасности (относительно безвредные вещества). Иммуностимулирующая активность композиции превышала таковую тимогара в 1,3 раза.

Ключевые слова: сухой экстракт; *Ferula assa-foetida* L.; тимогар; стандартизация.

Растения рода *Ferula* считаются одними из наиболее перспективных для разработки на их основе лекарственных препаратов вследствие того, что содержащиеся в них большое количество различных органических соединений обеспечивает широкий спектр фармакологической активности их различных частей и камед-смолы, выделяемой из корней [1, 2].

Растения этого рода еще с древних веков применяются в качестве лекарственных. Смола ферул использовалась для лечебных целей. Еще Теофраст (370–285 до н.э.) писал о ее медицинском применении [3].

В традиционной медицине восточных народов с древних времен широко используется камед-смола из ферулы вонючей при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, неврозах, судорогах и т.д. [4].

Имеются новые официальные данные о фармакологической активности камед-смолы ферулы: антиоксидантной, антилейшманиозной, противораковой, антиконвульсантной, антидиабетической, противоспазматической, гипотензивной и антиноцицептивной [5, 6].

Многолетними исследованиями ученых разных стран в камед-смоле ферул обнаружены биологически активные вещества (БАВ) различных классов: гемитерпеновые кумарины, монотерпены, сесквитерпе-

ны, эфиры кумаринов, дигидрофурановые кумариновые эфиры, производные бензойной кислоты, сесквитерпеновых хромонов, сесквитерпенов, серосодержащих соединений [7]. В ГФ СССР VII издания была включена камед-смола ферулы ассафоетида [8], которая также в настоящее время входит в Китайскую фармакопею [9].

В последние годы во многих странах ведутся как разработки новых лекарственных препаратов на основе различных органов ферул, так и исследования по стандартизации самого растения. Были стандартизированы ферула кухистанская [10] и ферула изменчивая [11]. В ходе этих исследований была предложена качественная реакция на сложные эфиры (реакция с ванилином в серной кислоте спиртового экстракта) и разработана методика их количественного определения в корнях ферулы [12].

Очень часто при получении препаратов из смолы ферулы использовался ее спиртовый экстракт [13, 14], вследствие чего он может быть использован в качестве фармацевтической субстанции. В работе [15] приведены результаты исследований по изучению биологической активности композиции на основе иммуномодулирующего препарата тимогар (дипептид изолейцил-триптофан), лекарственных растений подорожника

большого (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperita* L.).

Целью настоящего исследования стала разработка и стандартизация композиции из сухого экстракта смолы ферулы и иммуномодулирующего препарата тимогар.

Экспериментальная химическая часть

Получение сухого экстракта камедо-смолы Ferula assa-foetida L. Экстракцию проводили этиловым спиртом (95 %) методом перколяции при комнатной температуре. Экстракт упаривали досуха под вакуумом.

Получение композиции. Композицию сухого экстракта ферулы с препаратом тимогар получали смешиванием порошков экстракта и тимогара до концентрации дипептида 0,01 %.

Потерю в массе при высушивании определяли по методике ОФС.1.2.1.0010.15 (способ 1).

Растворимость определяли по методике ОФС.1.2.1.0005.15.

Тяжелые металлы определяли по методике ОФС.1.2.2.2.0012.15.

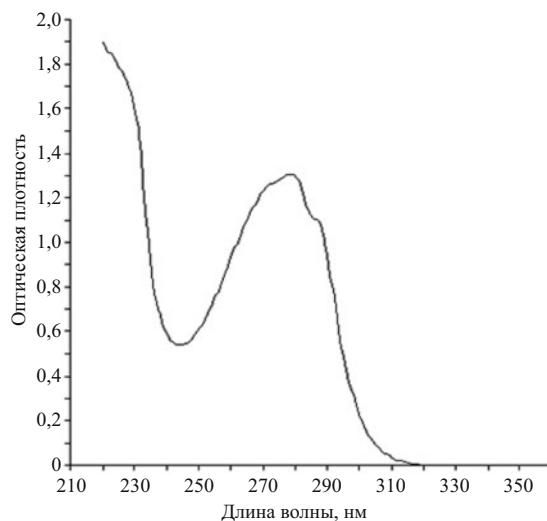
Обнаружение суммы сложных эфиров: 1 мл спиртового раствора композиции 1 % помещали в пробирку, добавляли 0,1 мл раствора ванилина в серной кислоте 1 %, результате наблюдалось сине-зеленое окрашивание, характерное для эсквитерпенов.

Обнаружение водорастворимых полисахаридов: к 0,5 мл водного раствора композиции 1 % добавляли 0,5 мл 0,5 % раствора фенола, затем постепенно добавляли 2,5 мл концентрированной серной кислоты. Образуется темно-коричневое окрашивание (полисахариды).

Качественное определение кумаринов. На хроматографическую пластину “Силуфол” УФ-254 (10 × 15) нанесли 0,05 мл полученной композиции, рядом — 0,05 мл (100 мкг) раствора СО умбеллиферона. Пластину с нанесенными пробами высушивали на воздухе в течение 1 ч и хроматографировали восходящим способом в камере, предварительно насыщенную смесью растворителей хлороформ — метанол — уксусная кислота (4:2:2), в течение 30 мин. После прохождения фронта растворителей 10 см, пластину вынимали из камеры, сушили на воздухе 10 – 15 мин и просматривали в УФ-свете (λ 254 нм). На уровне пятна свидетеля должно проявиться пятно умбеллиферона.

Качественное определение тимогара. 1 г композиции экстрагировали три раза по 15 мл водой очищенной и каждое извлечение фильтровали в мерную колбу на 200 мл. Доводили объем водой до метки и измеряли УФ-спектр в области 230 – 350 нм. На УФ-спектре водного извлечения должен наблюдаться максимум при 278 ± 2 нм (рисунок).

Количественное определение фенольных соединений. Использовали метод спектрофотометрии [16]. Готовили 1 % водный раствор композиции. К 0,5 мл раствора прибавляли 2,5 мл 0,2 н. реагента Фолина — Чикольте и затем 2 мл раствора натрия карбоната (75 г/л). Оставляли на 2 ч при комнатной температуре и затем измеряли оптическую плотность при 760 ± 2 нм. Параллельно проводили опыт с галловой кислотой.



УФ-спектр поглощения водного извлечения из композиции.

Результат выражали в эквивалентах галловой кислоты.

Приготовление реагента Фолина — Чикольте. 100 г натрия ваннадата ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) и 25 г натрия молибдата ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) растворяли в 700 мл дистиллированной воды. К раствору добавляли 50 мл концентрированной HCl и 50 мл 85 % фосфорной кислоты. Полученный раствор нагревали в течение 10 ч, охлаждали и добавляли 150 г $\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ [17, 18].

Приготовление раствора галловой кислоты. 50 г галловой кислоты растворяли в мерной колбе вместимостью 1000 мл в 700 мл дистиллированной воды и затем доводили до метки водой очищенной.

Приготовление раствора натрия карбоната (75 г/л). 75 г натрия карбоната растворяли в мерной колбе вместимостью 1000 мл в 700 мл дистиллированной воды и затем доводили до метки водой очищенной.

Количественное определение тимогара. Измеряли оптическую плотность при 278 ± 2 нм полученного при качественном определении водного извлечения композиции и раствора СО тимогара с концентрацией 0,005 %. Расчет содержания тимогара проводили по формуле:

$$X = A_1/A_0 \cdot 100$$

где A_1 — оптическая плотность исследуемого раствора; A_0 — оптическая плотность раствора СО.

Содержание тимогара должно составлять 0,009 – 0,011 %.

Экспериментальная биологическая часть

Определение средней летальной дозы исследуемых комплексов осуществляли по общепринятому методу [19]. В исследовании использованы 60 беспородных мышей обоего пола массой 18 – 22 г. Животных разделили на 5 групп: 4 группы экспериментальные — по 10 животных в каждой (5 самцов и 5 самок), 20 особей составляли группу контроля. Композицию в виде суспензии на 1 % крахмальном клейстере вводили перорально (дробно по 0,2 мл с интервалом 1 ч в течение 3 ч) животным 1 – 4 групп в дозах 1500, 2500, 3500,

5000 мг/кг, соответственно. Животным 5 группы (контроль) перорально дробно по 0,2 мл в суммарном объеме 0,6 мл вводили 1 % крахмальный клейстер. Всех животных содержали на стандартном рационе. В течение 2 недель после введения композиции вели наблюдения за мышами и о токсичности композиции судили по гибели мышей и общей картине интоксикации: поведение, прием пищи, изменение веса, двигательной активности, состояние шерстного покрова и слизистых оболочек.

В течение всего эксперимента не наблюдалось каких-либо изменений или отклонений в поведении животных после введения композиции. Все мыши были клинически здоровы, павших животных не было.

Токсичность при повторном введении изучали на 40 кроликах, которых разделили на 4 группы по 10 особей в каждой. Композицию вводили перорально один раз в день в течение 10 дней по 5 мл на 1 % крахмальном клейстере в дозах: животным первой группы — 300 мг/кг, второй — 500 мг/кг, третьей — 700 мг/кг, животные контрольной группы получали 5 мл 1 % крахмального клейстера. Наблюдение за животными осуществляли в течение 28 дней. В конце этого периода в крови животных определяли содержание гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов.

При изучении специфической активности композиции использовали коммерческую вакцину инактивированную комбинированную против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной болезни, вирусной диареи и пастереллеза крупного рогатого скота (КОМБОВАК-Р) (рег. 77-1-5.12-0589 № ПВР-1-2.6/01656 от 14.03.12, производитель ООО «Ветбиохим», Россия).

Для установления напряженности иммунитета у телят после применения коммерческой вакцины были отобраны по принципу аналогов 20 телят 30-дневного возраста, которых разделили на 4 группы по 5 голов в каждой. Животных первой группы не вакцинировали. Животным второй группы внутримышечно вводили вакцину в дозе 2 см³/гол., животным третьей группы дополнительно с вакциной перорально вводили композицию в дозе 0,1 мг на 100 кг живого веса по дипептиду. Телятам четвертой группы внутримышечно вводили тимогар в дозе 1 мл на 100 кг. Ревакцинировали животных через 20 дней, согласно инструкции по применению вакцины. Кровь для серологических исследований брали на 20, 60, 120 и 180 день после вакцинации.

Титр антител определяли по реакции нейтрализации (РН), согласно ГОСТ 25755–91 Крупный рогатый скот «Методы лабораторной диагностики инфекционного ринотрахеита на перевиваемой линии культуры клеток МДВК с использованием вакцинного штамма «ТК-А (ВИЭВ)-В2» герпесвируса-1 крупного рогатого скота».

Антидиабетическую активность композиции изучали на 50 крысах-альбиносах массой 165 – 180 г, которых содержали на стандартной диете для грызунов и поили питьевой водой. Диабет вызывали введением стрептозоцина (STZ) в дозе 45 мг/кг, растворенном в

0,1 М цитратном буфере, pH 4,5 после голодания в течение 16 ч. Через 3 суток после инъекции STZ крысы с уровнем гипергликемии крови натощак (FBG) выше 200 мг/дл считались диабетиками.

Животных разделили на пять равных групп по 10 голов в каждой.

Группа 1: нормальные контрольные крысы получали физиологический раствор в дозе 5 мл/кг.

Группа 2: контрольные крысы с диабетом, не получавшие лечения, получали физиологический раствор в дозе 5 мл/кг.

Группы 3, 4: диабетические крысы получали композицию (400 и 800 мг/кг, соответственно).

Группа 5: диабетические крысы получали глибенкламид (0,6 мг/кг).

В крови животных определяли содержание глюкозы натощак (FBG), инсулина, гемоглобина (Hb), гликозилированного гемоглобина (Гл-Hb), триглицеридов (ТГ) и общего холестерина (ОХ).

Результаты и их обсуждение

В первую очередь, согласно требованиям ГФ СССР VII издания [8] и китайской фармакопеи [9], подтверждалась подлинность камедь-смолы. Было установлено, что камедь-смола соответствует необходимым требованиям и из нее можно получать сухой экстракт.

С целью определения оптимальной концентрации спирта, используемого при получении экстракта, оценивали выход экстрактов со спиртом этиловым концентрации от 70 до 95 %, в результате чего была установлена оптимальная концентрация спирта этилового — 95 %, с использованием которого при последующем его удалении под вакуумом можно получить сухой экстракт камедь-смолы *Ferula assa-foetida* L.

Нормы качества сухого экстракта устанавливали согласно требованиям фармакопейной статьи «ОФС.1.4.1.0021.15. Экстракты»: описание, растворимость, потеря в массе при высушивании, насыпной объем, тяжелые металлы. Подлинность полученного экстракта устанавливали по наличию сложных эфиров, полисахаридов и кумаринов. Количественное определение проводили по суммарному содержанию суммы фенольных соединений и флавоноидов.

Композицию сухого экстракта ферулы с препаратом тимогар получали смешиванием порошков экстракта и тимогара до концентрации дипептида 0,01 %.

Поскольку сухой экстракт ферулы плохо растворим в воде, то концентрацию дипептида можно определять в водном экстракте после его извлечения водой. Поэтому на первом этапе исследований было изучено влияние количества экстракций на полноту извлечения дипептида. Для этого 1 г композиции обрабатывали порциями воды по 15 мл и доведением объема раствора до 200 мл после фильтрования (концентрация дипептида 0,005 %). Спектр поглощения водного извлечения представлен на рисунке.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в УФ-спектре водного извлечения из композиции на-

блюдается максимум в области 280 ± 2 нм и минимум в области 245 ± 2 нм.

Как видно из табл. 1, оптимальной является трехкратная экстракция дипептида.

Остаток, полученный после водной экстракции, был растворен в спирте 95 %. Полученный спиртовой раствор идентифицировали на наличие сложных эфиров, полисахаридов, кумаринов. Также в спиртовом растворе проводили количественное определение суммарного содержания суммы фенольных соединений и флавоноидов.

Известно [12], что сложные эфиры ароматических кислот дают ряд реакций, обусловленных ароматическим ядром. Основной является реакция азосочетания. Сложные эфиры сесквитерпеновых спиртов не имеют специфических качественных реакций. Однако они на пластинках ТСХ дают окрашенные зоны с различными проявителями, более удобным из которых является 1 % раствор ванилина в концентрированной серной кислоте, образующий различные цветные соединения с ненасыщенными соединениями.

Раствор ванилина в концентрированной серной кислоте образует окрашенные соединения и со сложными эфирами, и со сесквитерпенами. Поэтому в качестве аналитического реагента мы выбрали раствор вани-

Таблица 1
Полнота извлечения дипептида из композиции

Количество экстракций	Оптическая плотность раствора	Полнота извлечения, %
1 × 15 мл	0,544	74
2 × 15 мл	0,610	83
3 × 15 мл	0,735	100
4 × 15 мл	0,735	100
5 × 15 мл	0,735	100

лина в концентрированной серной кислоте 1 %, образующий при взаимодействии с экстрактом сине-зеленое окрашивание.

Качественное определение кумаринов проводили методом ТСХ с использованием в качестве свидетеля умбеллиферона. Количественное определение фенольных соединений проводили с использованием метода Фолина — Чикольте. Для количественного определения флавоноидов использовали реакцию с алюминия хлоридом 10 %. Определение тимогара в композиции проводили спектрофотометрическим методом.

Проведенные исследования позволили разработать параметры стандартизации разработанной композиции, которые приведены в табл. 2.

Таблица 2
Параметры стандартизации композиции сухого экстракта ферулы и тимогара

№	Показатели	Нормы	Серия				
			1	2	3	4	5
1	Описание	Порошок от светло-кремового до коричневого цвета	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
2	Потеря в массе при высушивании	Не более 5,0 %	4,6	4,3	4,7	4,8	4,2
4	Тяжелые металлы	Не более 0,01 %	0,008	0,007	0,009	0,006	0,008
5	Растворимость	Растворим в спирте, плохо растворим в воде	Растворим в спирте, плохо растворим в воде	Растворим в спирте, плохо растворим в воде	Растворим в спирте, плохо растворим в воде	Растворим в спирте, плохо растворим в воде	Растворим в спирте, плохо растворим в воде
6	Подлинность: Сложные эфиры	Должно наблюдаться сине-зеленое окрашивание	Наблюдается сине-зеленое окрашивание	Наблюдается сине-зеленое окрашивание	Наблюдается сине-зеленое окрашивание	Наблюдается сине-зеленое окрашивание	Наблюдается сине-зеленое окрашивание
	Полисахариды	Должно наблюдаться темно-коричневое окрашивание	Наблюдают темно-коричневое окрашивание	Наблюдают темно-коричневое окрашивание	Наблюдают темно-коричневое окрашивание	Наблюдают темно-коричневое окрашивание	Наблюдают темно-коричневое окрашивание
	Кумарины	На хроматограмме должна обнаруживаться зона адсорбции после обработки УФ-светом (254 нм) со значением $R_f = 0,48$, что соответствует умбеллиферону. Допускается обнаружение другой зоны адсорбции	Обнаруживается зона адсорбции после обработки УФ-светом (254 нм) со значением $R_f = 0,48$	Обнаруживается зона адсорбции после обработки УФ-светом (254 нм) со значением $R_f = 0,48$	Обнаруживается зона адсорбции после обработки УФ-светом (254 нм) со значением $R_f = 0,48$	Обнаруживается зона адсорбции после обработки УФ-светом (254 нм) со значением $R_f = 0,48$	Обнаруживается зона адсорбции после обработки УФ-светом (254 нм) со значением $R_f = 0,48$
	Тимогар	УФ-спектр водного извлечения должен иметь максимум при 278 ± 2 нм	УФ-спектр водного извлечения имеет максимум при 278 ± 2 нм	УФ-спектр водного извлечения имеет максимум при 278 ± 2 нм	УФ-спектр водного извлечения имеет максимум при 278 ± 2 нм	УФ-спектр водного извлечения имеет максимум при 278 ± 2 нм	УФ-спектр водного извлечения имеет максимум при 278 ± 2 нм
7	Количественное определение: Суммарное содержание фенольных соединений	Не менее 75 %	76,2	76,0	76,3	76,1	76,2
	Флавоноиды	Не менее 89 % в пересчете на циннарозид	90,3	90,5	90,2	90,1	90,0
	Тимогар	0,009 – 0,011 %	0,009	0,01	0,01	0,009	0,009

Гематологические показатели крови кроликов в конце эксперимента

Показатель	Группа животных				Норма
	1	2	3	4	
Гемоглобин, г/л	113 ± 9,9	117 ± 11,2	114 ± 10,8	115 ± 10,2	105 – 125
Эритроциты, 10 ¹² /л	6,1 ± 0,54	6,4 ± 0,52	6,5 ± 0,58	6,7 ± 0,61	4,5 – 7,5
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	8,3 ± 0,78	8,2 ± 0,75	8,4 ± 0,79	8,5 ± 0,81	6,5 – 9,5

Таким образом, нами разработаны параметры стандартизации композиции сухого экстракта ферулы и тимогара. При изучении хронической токсичности было установлено, что введение композиции в дозах 300, 500 и 700 мг/кг/сут в течение 10 дней не оказывало отрицательного воздействия на состояние и поведение животных. Результаты гематологических исследований приведены в табл. 3, из которой видно, что все исследуемые показатели крови находились в пределах физиологической нормы.

Таким образом, на основании полученных экспериментальных данных по изучению токсичности, разработанную композицию можно отнести к классу 4 – “мало опасным” веществам согласно [20] и к классу 6 – “относительно безвредным” веществам согласно [21].

Результаты определения напряженности иммунитета у телят после вакцинации приведены в табл. 4.

Как видно из табл. 4, до вакцинации против инфекционного ринотрахеита в крови животных антител практически не наблюдалось. Через 20 дней после первичной вакцинации титр антител составил во второй группе $2,70 \pm 0,22 \log_2$, в третьей — в $2,26$ раза

выше, в четвертой — в $1,75$ раза выше, чем во второй. Через 60 дней после первичной вакцинации и через 40 дней после вторичной, титр антител увеличился во второй группе в $1,9$ раза по сравнению с таковым через 20 дней после первичной вакцинации, в третьей — в $1,93$, в четвертой — в $1,91$ раза.

В течение последующего времени наблюдений (120 дней) отмечалось снижение титра антител по сравнению с титром антител через 60 дней: во второй группе — в $1,21$ раза, в третьей группе — в $1,23$ раза, в четвертой — в $1,25$ раза.

Через 180 дней после первичной вакцинации титр антител незначительно превышал таковой через 20 дней ($3,5 - 4,1$ %).

Таким образом, применение разработанной композиции и тимогара при вакцинации телят против инфекционного ринотрахеита способствовало увеличению титра антител в $2,26$ и $1,75$ раза, то есть иммуностимулирующая активность композиции превышала таковую для тимогара в $1,3$ раза.

Результаты исследования антидиабетической активности композиции приведены в табл. 5.

В данном исследовании введение композиции (400 и 800 мг/кг) крысам с диабетом вызывало значительное повышение уровней инсулина и значительное снижение уровней FBG на 14 и 28 дни лечения по сравнению со значениями диабетических контрольных крыс. У гипергликемических животных содержание гемоглобина снижено по сравнению с нормальными крысами. Крысы, получавшие композицию (400 и 800 мг/кг), показали повышенные уровни Hb, что свидетельствовало о наличии у композиции гипогликемического эффекта.

Диабетические крысы показали повышенный уровень Гл-Нб по сравнению с нормальным контролем. У диабетических крыс, получавших композицию (400 и 800 мг/кг) наблюдалось заметное снижение уровней

Таблица 4
Напряженность иммунитета у телят при применении коммерческой вакцины, разработанной композиции и тимогара ($M \pm m$), $n = 20$

Группа животных	Срок исследования			
	20 дней	60 дней	120 дней	180 дней
	Титр антител в РН на ИРТ, (\log_2)			
1 группа	$0,2 \pm 0,01$	$0,2 \pm 0,015$	$0,2 \pm 0,02$	$0,2 \pm 0,015$
2 группа	$2,70 \pm 0,22$	$5,10 \pm 0,27$	$4,20 \pm 0,24$	$2,80 \pm 0,24$
3 группа	$6,10 \pm 0,71$	$11,60 \pm 1,02$	$9,40 \pm 0,89$	$6,60 \pm 0,68$
4 группа	$4,70 \pm 0,39$	$9,00 \pm 0,53$	$7,20 \pm 0,51$	$5,10 \pm 0,41$

Таблица 5

Показатели крови у крыс

Группа	Глюкоза в крови натощак (FBG), мг/дл		Инсулин, ед/л		Hb, мг/дл	Гл-Нб, мг/дл	ТГ, мг/дл	ОХ, мг/дл
	14 день	28 день	14 день	28 день				
1	$97,3 \pm 3$	$102,1 \pm 2,27$	$17,5 \pm 0,4$	$17,9 \pm 0,4$	$14,4 \pm 0,7$	$4,8 \pm 0,2$	$41,6 \pm 2,6$	$49,4 \pm 2,8$
2	$303,8 \pm 9,5$	$317,3 \pm 9,6$	$9,4 \pm 0,3$	$9,0 \pm 0,3$	$10,1 \pm 0,5$	$13,3 \pm 0,4$	$74,2 \pm 2,4$	$70,2 \pm 3,2$
3	$175,6 \pm 5,7$	$173,3 \pm 6,3$	$13,2 \pm 0,5$	$13,7 \pm 0,8$	$12,6 \pm 0,6$	$7,3 \pm 0,2$	$62,8 \pm 2,6$	$61,7 \pm 2,4$
4	$166,7 \pm 5,7$	$160,5 \pm 5,6$	$15,6 \pm 0,7$	$15,4 \pm 0,6$	$12,9 \pm 0,5$	$7,1 \pm 0,3$	$58,3 \pm 3,8$	$56,5 \pm 2,7$
5	$137,2 \pm 4,4$	$131,3 \pm 5,1$	$17,1 \pm 0,7$	$16,8 \pm 0,5$	$13,9 \pm 0,6$	$5,2 \pm 0,3$	$72,6 \pm 3,7$	$59,3 \pm 3,3$

Гл-Нв, которое могло быть связано с гипогликемической активностью обоих экстрактов. Улучшение уровней Гл-Нв было предсказуемо как результат снижения гликемии после лечения композицией.

В настоящем исследовании было отмечено увеличение уровней ТГ, ОХ в плазме крови крыс с диабетом. Разработанная композиция в дозах 400 и 800 мг кг/г значительно снижала уровни ТГ, ОХ в плазме. Это означает, что композиция способна уменьшить осложнения гиперлипидемии, часто наблюдаемые при диабете, существующей одновременно с гиперхолестеринемией.

Таким образом, разработанная композиция обладает антидиабетической активностью, свойственной растениям рода ферула.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. Г. Саидова, Г. Х. Кодирова, И. Дж. Кароматов, *Биология и интегративная медицина*, № 9, 58 – 77 (2017).
2. А. А. Иманбаева, К. Н. Сарсенбаев, М. С. Сагындыкова, *Сибирский экологический журнал*, № 6, 899 – 908 (2015).
3. С. Рахимов, *Биолого-морфологическая характеристика *Ferula foetidissima* Regelet Schmalh и ее выращивание в Таджикистане*, Институт ботаники АН Республики Таджикистан, Душанбе (2009).
4. Т. М. Зубайдова, Дж. Н. Джамшедов, М. Ходжиматов и др., *Вестник Таджикского национального университета. Серия естественных наук*, № 1/2 (106), 202 – 212 (2013).
5. S. M. Bagheri, H. Mohammadsadeghi, M. H. Dashti-R, et al., *Indian J. Nephrol.* [serial online], 26, 419 – 422 (2016).
6. M. Mohammadhosseini, A. Venditti, S. D. Sarker, et al., *Industrial Crops & Products*, (129), 350 – 394 (2019).
7. G. Özek, I. A. Schepetkin, G. A. Utegenova, et al., *J. Leukoc. Biol.*, (101), 1361 – 1371 (2017).
8. *Государственная фармакопея СССР 7 издания*, Ст. 247, Gummi-resina asafoetida. Асафетида. Вонючая камедь, Москва (1937).
9. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, Beijing (2010), Vol. 1, 2.
10. М. А. Маматханова, Х. Ахмедова, Л. Д. Котенко и др., *Ўзбекистон фармацевтик хабарномаси*, № 4, 18 – 23 (2017).
11. Л. Д. Котенко, М. А. Маматханова, Р. М. Халилов, А. У. Маматханов, *Химия растит. сырья*, № 4, 151 – 154 (2009).
12. Л. Д. Котенко, Р. М. Халилов, А. У. Маматханов, *Химия растит. сырья*, № 1, 89 – 92 (2009).
13. A. A. Dehpour, M. A. Ebrahimzadeh, N. S. Fazel, N. S. Mohammad, *Grasas y Aceites*, 60(4), 405 – 412 (2009).
14. K. N. Mala, Jestin Thomas, Das S. Syam, et al., *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 2018 (2018); doi: 10.1155 / 2018 / 4813601.
15. У. М. Хусейнов, *Дис. ... канд. биол. наук*, Душанбе (2019).
16. А. В. Куркина, А. Е. Савельева, В. А. Куркин, *Хим.-фарм. журн.*, 55(2), 46 – 50 (2021); *Pharm. Chem. J.*, 55(2), 165 – 169 (2021).
17. Р. Г. Фархутдинов, Н. В. Кудашкина, Р. А. Зайнуллин и др., *Основы фитохимического анализа*, РИЦ БашГУ, Уфа (2016).
18. J. C. Sanchez-Rangel, J. Benavides, J. B. Heredia, et al., *Anal. Methods*, (5), 5990 – 5999 (2013).
19. А. Н. Миронов (ред.), *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Гриф и К, Москва (2012), Ч. 1.
20. ГОСТ 12.1.007–76. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.
21. Н. Ф. Измеров, И. В. Саноцкий, К. К. Сидоров, *Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии*, Медицина, Москва (1977).

Поступила 29.06.21

STANDARDIZATION OF THE COMPOSITION OF TIMOGAR AND *Ferula assa-foetida* DRY RESIN EXTRACT AND ITS BIOLOGICAL ACTIVITY

O. A. Popova¹, N. D. Bunyatyan^{1,2,*}, G. M. Bobizoda³, I. P. Remezova⁴, A. B. Prokof'ev^{1,2}, and V. A. Evteev¹

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, 127051 Russia

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991 Russia

³ S. Aini Tajik State Pedagogical University, Dushanbe, 734003 Republic of Tajikistan

⁴ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, Branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, 357500 Russia

* e-mail: ndbun@mail.ru

A dry extract of *Ferula assa-foetida* L. gum-resin was obtained and a composition was developed on the basis of this extract and timogar composition. For the qualitative determination of esters, a reaction with 1% solution of vanillin in concentrated sulfuric acid was used; for polysaccharides – a reaction with phenol in the presence of conc. sulfuric acid; and for coumarins – a TLC method using umbelliferone as the witness. Timogar was determined by UV spectrophotometry and the total content of phenolic compounds was determined using the Folin-Ciocalteu method. The composition was standardized according to the following parameters: description, solubility, weight loss on drying, heavy metal content, authenticity (timogar, esters, polysaccharides, and coumarins), quantitative content (timogar, total phenolic compounds, flavonoids). The content of timogar was within 0.009 – 0.011 %, the total content of phenolic compounds was at least 75 %, and the content of flavonoids (determined by UV spectrophotometry upon the reaction with 10% aluminum chloride solution) in terms of cinnaroside as a standard was at least 89%. Experimental studies of acute and chronic toxicity showed that the proposed composition was nontoxic and could be classified as hazard class 6 (relatively harmless). Study of the specific activity made it possible to judge on the effectiveness of the plant gum-resin and timogar composition in the vaccination of calves against infectious rhinotracheitis, which contributed to increase in the antibody titer by 2.26 and 1.75 times, so that the immunostimulating activity of the composition exceeded 1.3 times that of timogar alone.

Keywords: dry extract; *Ferula assa-foetida* L.; timogar; standardization.