

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ
Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра промислової фармації

Дипломна магістерська робота

на тему: «Розробка показників ідентифікації сировини
Циміцифуги галузистої»

Виконав: студентка групи МГЗХФ-20
спеціальності 226«Фармація, промислова
фармація»
освітньої програми Промислова фармація
Марія БОНДАРЕНКО

Керівник к.б.н., доц. Ольга НІКІТІНА

Рецензент к.б.н., Анна ХАРИТОНЕНКО

Київ 2021

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій

Кафедра промислової фармації

Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація

Освітня програма Промислова фармація

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри промислової фармації

д.фарм.н, проф. Владислав СТРАШНИЙ

“ 14 ” грудня 2021 року

З А В Д А Н Н Я

НА ДИПЛОМНУ МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТА

Бондаренко Марії Віталіївни

1. Тема роботи «Розробка показників ідентифікації сировини Циміцифуги галузистої»
Науковий керівник: Нікітіна Ольга Олександрівна, кандидат біологічних наук, доцент
затверджені наказом вищого навчального закладу від “04” жовтня 2021 р. №286
2. Строк подання студентом роботи 14 грудня 2021
3. Вихідні дані до роботи науково-інформаційні джерела, навчально-методична література, патенти, каталоги технологічного обладнання, міжнародні та вітчизняні нормативно-правові акти та стандарти щодо розробки та виробництва лікарських засобів
4. Зміст дипломної роботи (перелік питань, які потрібно розробити) вступ; огляд літератури; дослідницько-аналітична частина; проектно-рекомендаційна частина; висновок; список використаних джерел

5. Консультанти розділів дипломної магістерської роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Вступ	Нікітіна Ольга к.б.н., доцент		
Розділ 1	Нікітіна Ольга к.б.н., доцент		
Розділ 2	Нікітіна Ольга к.б.н., доцент		
Розділ 3	Нікітіна Ольга к.б.н., доцент		
Висновки	Нікітіна Ольга к.б.н., доцент		

6. Дата видачі завдання _____ 20 вересня 2021 _____

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів дипломної магістерської роботи	Терміни виконання етапів	Примітка про виконання
1	Вступ	20.09. – 27.09.2021	
2	Розділ 1 ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД	28.09. – 11.10.2021	
3	Розділ 2 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	12.10. – 25.10.2021	
4	Розділ 3 МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СІРОВИНИ РОСЛІН РОДУ <i>Cimicifuga</i>	26.10. - 08.11.2021	
6	Висновки	09.11.-15.11.2021	
7	Оформлення дипломної магістерської роботи (чистовий варіант)	16.11.-22.11.2021	
8	Здача дипломної магістерської роботи на кафедру для рецензування (за 14 днів до захисту)	23.11.-02.12.2021	
9	Перевірка дипломної магістерської роботи на наявність ознак плагіату (за 10 днів до захисту)	03.12.-05.12.2021	
10	Подання дипломної магістерської роботи у відділ магістратури для перевірки виконання до індивідуального навчального плану (за 10 днів до захисту)	05.12.-07.12.2021	
11	Подання дипломної магістерської роботи на затвердження завідувачу кафедри (за 7 днів до захисту)	08.12.-10.12.2021	

Студент

_____ Марія БОНДАРЕНКО
(підпис)

Науковий керівник роботи

_____ Ольга НІКІТНА
(підпис)

Директор НМЦУПФ

_____ Олена ГРИГОРЕВСЬКА
(підпис)

АНОТАЦІЯ

Бондаренко М.В. Розробка показників ідентифікації сировини Циміцифуги галузистої. – Рукопис.

Дипломна магістерська робота за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2021 рік.

Дипломну магістерську роботу присвячено фармакогностичному аналізу нової лікарської рослинної сировини *Cimicifugae rhizoma*, препарати якої використовуються для лікування клімактеричних розладів.

Проведено аналіз препаратів циміцифуги галузистої, що наявні на фармацевтичному ринку України. Визначено основні діагностичні ознаки сировини, проведено фітохімічний аналіз та досліджено проблематику ідентифікації лікарської сировини. Представлено фармакологічні механізми дії на організм людини основних біологічно активних компонентів рослини, також проведено аналіз проблематики щодо можливої гепатотоксичності.

Запропоновані макроскопічні та мікроскопічні показники ідентифікації сировини Циміцифуги галузистої (*Cimicifuga racemosa*) та запропоновано якісні реакції, що можуть стати основою для подальшої хроматографічної ідентифікації і ідентифікації фітопрепаратів з використанням екстрактів циміцифуги галузистої кореневищ.

Виконано теоретичний аналіз наявних способів визначення видів лікарських рослин роду *Cimicifugae*, що використовуються в Америці і Азії.

Ключові слова: ідентифікація, циміцифуга галузиста, фармакогностичний аналіз, клімактеричні розлади.

ABSTRACT

Bondarenko M. Development of raw material identification indicators for *Cimicifuga racemosa*.

Master's thesis in the specialty 226 «Pharmacy, Industrial Pharmacy» - Kyiv National University of Technology and Design, Kyiv, 2021.

The master's thesis is devoted to the pharmacognostic analysis of a new medicinal plant material, *Cimicifugae rhizoma*, whose preparations are used to treat menopausal disorders.

The analysis of the preparations of the branchy cimicifuga available on the pharmaceutical market of Ukraine has been carried out. The main diagnostic signs of raw materials have been determined, phytochemical analysis has been carried out, and the problems of identification of medicinal raw materials have been investigated. The pharmacological mechanisms of action of the main biologically active components of the plant on the human body are presented, and the analysis of the problems of possible hepatotoxicity is also carried out.

Macroscopic and microscopic indicators of identification of raw material of *Cimicifuga racemosa* are proposed and qualitative reactions are proposed, which can become the basis for further chromatographic identification and identification of phytopreparations using extracts.

A theoretical analysis of the available methods for determining the species of medicinal plants of the genus *Cimicifugae* used in America and Asia is carried out.

Key words: *identification, Cimicifuga racemosa, pharmacognostic analysis, climacteric disorders.*

ЗМІСТ

ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД.....	11
1.1. Введення Циміцифуги галузистої в наукову практику	11
1.2. Ботанічна характеристика рослини <i>Cimicifuga racemosa</i>	14
1.2.1. Проблеми систематики рослин роду <i>Cimicifuga</i>	14
1.2.2. Особливості морфологічної будови рослини	20
1.3. Культивування і заготівля ЛРС.....	22
1.4. Основні біологічно активні сполуки ЛРС (<i>Cimicifuga racemosa</i>)	23
1.5. Фармакологічні аспекти використання ЛРС (<i>Cimicifuga racemosa</i>).....	30
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1.....	51
РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	52
2.1. Матеріали і методи досліджень	52
2.2. Результати та обговорення.....	64
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 2.....	78
РОЗДІЛ 3. ІДЕНТИФІКАЦІЯ ВИДІВ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН РОДУ <i>Cimicifuga</i> З АМЕРИЦІ ТА АЗІЇ.....	79
3.1. Потенційна плутанина північноамериканських видів циміцифуг.....	79
3.2. Ідентифікація за допомогою методів ДНК аналізу.....	80
3.3. Ідентифікація за допомогою хроматографічних методів аналізу.....	85
3.3.1. Ідентифікація за хімічною диференціацією видів	86
3.3.2. Комбіновані методи автентифікації	89
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3.....	94
ВИСНОВКИ.....	96
ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ.....	99

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРЧЕНЬ

АФК – активні форми кисню

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ДФУ – державна фармакопея України

МАТК – мегакаріоцит-асоційована тирозинкіназа

НПЗЗ – не стероїдні протизапальні засоби

ЗГТ – замісно гормональна терапія

ЛРС – лікарська рослинна сировина

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

ВЕТШХ – високоефективна тонкошарова хроматографія

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

УФ – ультрафіолет

ФМ – фотометрія

ЯМР – ядерно магнітний резонанс

РХ-МС – рідинна хроматографія-мас-спектрометрія

РКД – рандомізовані клінічні дослідження

ГАМК – гамма-аміномасляна кислота

АНРА – Американська асоціація рослинних продуктів

GMP – належна виробнича практика

FDA – управління продовольства та медикаментів США

ЕМЕА – європейське агентство лікарських засобів

НМРС – комітет з лікарських засобів рослинного походження

NHP – натуральні продукти для здоров'я

НИН – національний інститут здоров'я

TGA – Австралійська адміністрація терапевтичних товарів

UIC – університет Чикаго Ілінойс

USP – фармакопейна конвенція Сполучених Штатів

DSI-EC – комітет експертів з інформації про дієтичні добавки

USP-NF – фармакопея США

ВСТУП

Актуальність теми. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я на даний час понад 10 % населення земної кулі становлять жінки в клімактеричному періоді. Щороку кількість таких жінок зростає на 25 млн. і прогнозується, що до 2030 року їх чисельність становитиме понад 1 мільярд – це приблизно шоста частина населення планети. Серед українських жінок, зокрема, в періоді постменопаузи, перебуватиме близько 13,2 млн. Нині фармацевтичний ринок приділяє мало уваги препаратам які містять у своєму складі лікарську рослинну сировину. Але такі засоби з кожним роком стають все популярніші серед населення.

Лікування клімактеричних розладів здійснюється призначенням замісної гормональної терапії, яка впливає на більшість пов'язаних з менопаузою патологічних процесів і покращує фізіологічний стан пацієнтки. При виборі засобу і схеми застосування враховується вік, анамнез, наявність екстрагенітальної патології і проведених раніше оперативних втручань, покази та протипокази у зв'язку із побічними реакціями, вартість, тощо. Окрім того, існує ряд відносних і абсолютних протипоказів щодо призначення гормональних засобів. У зв'язку з цим, актуальним і доцільним є проведення комплексних досліджень щодо розробки та стандартизації вітчизняних рослинних засобів для лікування клімактеричних розладів. Серед таких перспективних рослин є клопогін китичний (*Cimicifuga racemosa* L.).

Кореневище циміцифуги галузистої та її препарати привертають значний інтерес міжнародного ринку, науки та споживачів протягом понад 60 років, протягом останніх 15 років інтерес збільшився у Європі та Сполучених Штатах, та не оминув Україну.

Можливість вирощування циміцифуги галузистої в кліматичній зоні України доведено науковими дослідженнями співробітників кафедри промислової фармації КНУТД разом з лабораторією медичної ботаніки Національного ботанічного саду України ім. М.М. Гришка. На даний момент існує необхідність розробки показників ідентифікації *Cimicifugae rhizoma* вітчизняного походження.

Мета дослідження. Метою роботи є проведення комплексного фармакогностичного вивчення сировини Циміцифуги галузистої і встановлення показників ідентифікації *Cimicifugae rhizoma*.

Завдання дослідження.

- навести ботанічну, фітохімічну і фармакологічну характеристику сировини Циміцифуги галузистої;
- за допомогою якісних реакцій ідентифікувати біологічно активні речовини, що наявні в досліджуваних зразках;
- за допомогою макроскопічного і мікроскопічного аналізу встановити основні діагностичні ознаки лікарської рослинної сировини;
- опрацювати світовий досвід з ідентифікації лікарських рослин роду *Cimicifuga*, що використовуються для виготовлення лікарських засобів в Америці та Азії.

Об'єкт дослідження. Кореневища та корені циміцифуги галузистої, що було зібрано на ділянці лікарських рослин Національного ботанічного саду України ім. М.М. Гришка.

Предмет дослідження. Вивчення методів та показників ідентифікації циміцифуги галузистої.

Методи дослідження. Застосовані методи інформаційного пошуку, аналізу та узагальнення літературних даних, використані загальноприйняті якісні реакції на біологічно активні речовини природного походження, макроскопічні та мікроскопічні методи аналізу ЛРС.

Практична цінність. Проведені дослідження можуть бути підставою для розробки вітчизняних стандартів на лікарську рослинну сировину *Cimicifugae rhizoma*.

Елементи наукової новизни. Встановлено діагностичні ознаки сировини Циміцифуги галузистої, за допомогою якісних реакцій підтвержено наявність основних груп біологічно активних речовин, проведено аналіз наявних методів та показників ідентифікації препаратів на основі Циміцифуги галузистої.

РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1. Введення Циміцифуги галузистої в наукову практику

Циміцифуга галузиста (*Cimicifuga racemosa*) вважалася стародавнім лікарським препаратом у індіанців Канади, Вісконсіну та Міссурі, який вони застосовували проти наслідків зміїних укусів та полегшували пологи, як свідчать про загальноприйняті в Америці назви «зміїний корінь» та «скварут» [1].

Кореневища та корені *циміцифуги галузистої* та препарати на їх основі вже понад 60 років, та особливо протягом останніх 15 років у Європі та Північній Америці, викликають значний науковий інтерес, інтерес з боку виробників і споживачів.

З середини 1950-х до 1990-х років було опубліковано великий обсяг літератури, за основу використовували ринковий досвід та клінічне застосування *циміцифуги галузистої* в Німеччині. З кінця 1990-х років було опубліковано значний обсяг нової аналітичної хімічної, фармакогностичної, фармакологічної та клінічної наукової літератури щодо ідентичності, фармакології, токсикології та клінічного застосування *циміцифуги галузистої*.

Її клінічна ефективність і безпека при клімактеричних симптомах оцінювалися в декількох дослідженнях із переважно позитивними результатами. У дикому вигляді *циміцифуга галузиста* росте у Північній Америці й на даний час систематично вирощується в Європі. Екстракти *циміцифуги галузистої* зареєстровані й представлені на ринку Німеччини з 1956 року, а наукові знання про цю лікарську рослину були узагальнені в декількох монографіях, у тому числі значною мірою в монографії Європейської наукової асоціації з фітотерапії (ESCOP), що призвело до публікації статті в монографії ВООЗ про лікарські рослини «Community Herbal Monograph on *Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt. Rhizoma» Комітетом лікарських рослинних препаратів Європейського агентства лікарських засобів (EMA Herbal Medicinal Products).

Найбільш раннє описання рослини було зафіксоване 1705 роком королівським професором ботаніки Леонардом Плукнетом в каталозі *Amalthem Botanicum* (шостої, заключної частини його «Фітографії»). Цей учений, за

сумісництвом служив садівником при дворі королеви Марії II, та назвав рослину «*Christopheriana facie, Herba spicata, ex Provincia Floridana*».

Наприкінці 17 століття *циміцифугу галузисту* вперше ботанічно описав Моррісон, який дав назву *Christophoriana canadensis* [2]. У 1743 році Колден рекомендував корені у формі катаплазми в шведському журналі для розбиття цирозних виразок.

Основоположник біномінальної номенклатури Карл Лінней в роботі «*Species plantarum*» (1753) класифікував рослину як *Actaea racemosa*, і, ґрунтуючись на подібній будові суцвіття і насіння, поставив її в один ряд з представниками родини Жовтецевих. Американець Фредерік Пурш на свій розсуд описав вид, у виданні «*Flora Americae Septentrionalis*» (1814) назвавши рід рослин *Cimicifuga serpentaria* (рід *Cimicifuga*, було виділено ще Ліннеєм, однак автор не став додавати в нього описуваний вид). Нарешті, англійський ботанік Томас Наттолл в роботі «*The Genera of North American Plants*» (1818) об'єднав родовий епітет Пурша і видовий епітет Ліннея, позначивши рослини як *Cimicifuga racemosa*.

Стала назва домінувала в ботанічній літературі аж до кінця ХХ століття. В 1998 році фахівці з британського Університету Редінгу провели ревізію сімейства, ґрунтуючись на результатах власних генетичних досліджень. Вони об'єднали роди *Actaea*, *Cimicifuga* та *Souliea*, зберігши найбільш ранній епітет *Actaea*. Таким чином, до циміцифуги галузистої повернулася одвічна наукова назва *Actaea racemosa*, дана ще Ліннеєм.

Також перші американські автори повідомляли, що *Cimicifuga racemosa* можна використовували для широкого спектру захворювань включаючи: холеру, періодичні судоми, епілепсію, нервову збудливість, астму, білу гарячку (відміна алкоголю), різні спазми, кашель, невралгію, виразки та золотуху (Браун, 1867). Вуд (1896) стверджував, що корінь і кореневище використовували для лікування віспи, кору та скарлатини. Траву зазвичай використовували для знеболювання та лікували ревматичні розлади. Настоянку кореневища і кореня використовували для лікування запалення нервів, ревматизму та старих виразок (Браун, 1867).

Також згадувалося, що рослина має властивості відлякувати клопів, коли листя наносилися місцево, отже, *Cimicifuga*, що походить від «*sim*», клоп і «*fugo*», щоб відганяти (Браун, 1867).

Паралельно з використанням у індіанців, *Cimicifuga racemosa* була добре відома в американських будинках у 1800-х роках жінки асоціювали рослину з дітонародженням і менструальним циклом. Браун (1867) стверджував, що циміцифуга була дуже цінною при лікуванні аменореї, дисменореї, лейкорей та інших менструальних і маткових станів, відзначаючи особливу спорідненість з маткою. У тому ж 19 столітті лікарська рослина стала відомою в широких медичних колах і вважалася своєрідним чудодійним засобом для лікування туберкульозу, гарячкового ревматизму та хореї (танець святого Віта) [3, 4]. Лікарі Сімпсон, Варіс та Девіс вважали використання коренів циміцифуги галузистої специфічним засобом для ревматизму та хореї, тоді як Колвін та Нокс виступали за їх використання як стимулятора для підвищення працездатності.

У своєму *Physiomedical dispensatory* (1869) Кук стверджував, що *Cimicifuga racemosa* володіє як заспокійливими, так і відхаркуючими властивостями, завдяки чому вона може зменшувати біль і спазм локально за допомогою заспокійливих тканин, а також використовується як відхаркувальний засіб. Лайл (1897) зауважив, що форма препарату суттєво вплинула на клінічні результати. Наприклад, сиропи з коренів діють як альтернативні засоби при висипних захворюваннях та золотусі, якщо доза достатньо висока, тоді як еквівалентна доза рідких екстрактів впливає на центральну нервову систему і може викликати запаморочення. Лайл також показав *Cimicifuga racemosa* при дисменореї, аменореї, пологах, маткових спазмах і загальному дисбалансі менструальної функції. Клаймер (1905), учень Лайла, дає конкретні вказівки для використання циміцифуги галузистої як жіночого засобу від «невралгії яєчників, ревматичної дисменореї і судом в результаті нервового збудження, відчуття тяжкості в крижовому і поперековому відділах, істеричних спазмів перед або під час менструації, меланхолії і глибокого відчуття депресії; тупого ниючого головного болю».

Оскільки під час дозування коренів *циміцифуги галузистої* дозу занадто перевищували (відповідно до звичаїв того часу), вживання лікарської рослини часто супроводжувалося неприємними побічними ефектами, такими як головний біль або нудота.

Можливо, через ці побічні ефекти про *циміцифугу галузисту*, як лікарську рослину в Європі всі вже забули.

Вивчивши детальну картину гомеопатичного препарату, *циміцифуга галузиста* отримала репутацію важливих ліків від жіночих недуг.

Нині вона використовується в народній медицині та гомеопатії при артритях, бронхіальних інфекціях, депресіях, головних болях, болях у шлунку та кишечнику, менструальних болях, ревматизмі та симптомах менопаузи [5].

Будучи сухим екстрактом у готових лікарських засобах, *циміцифуга галузиста* успішно та науково доведено, що її можна використовувати для полегшення симптомів менопаузи. Області застосування включають припливи та піт, психологічні скарги, розлади сну, сечового міхура та сечовивідних шляхів та профілактику розвитку менопаузального остеопорозу.

1.2. Ботанічна характеристика рослини (*Cimicifuga racemosa*)

1.2.1. Проблеми систематики і таксономії рослин роду *Actaea*

Рід *Actaea* включає 28 видів з Північної півкулі [6]. Джеймс Комптон та інші вчені [7-9] проаналізували морфологічні та генетичні дані та підтримали поєднання родових концепцій *Actaea*, *Cimicifuga* та *Souliea* по суті, повернувшись до концепції роду *Actaea* Ліннея 1753 року. Раніше основною морфологічною основою для відділення *циміцифуги* від актеї (чернець; воронець) був тип плоду. У *Actaea* плоди, схожі на ягоду, а у *циміцифуги* сухий фолікул.

Різні азіатські види *Actaea* є вихідними рослинами традиційної китайської медицини шен-ма (шенма). Три види *Actaea/Cimicifuga* є офіційними вихідними рослинами шен-ма: *A. Heracleifolia* (*C. heracleifolia*, також відома як *da-san-ye sheng-ma*), *A. dahurica* (*C. dahurica*, *C. dahurica* var. *Simplex*, вона ж *-gan sheng-ma*), і *A. cimicifuga* (*C. foetida*, вона же *sheng-ma*). *Actaea simplex* (*A. cimicifuga* var. *simplex*, *C. simplex*, *C. foetida* var. *simplex*) відома як *ye-sheng-ma*.

Actaea simplex - це найбільш часто культивований азіатський вид, що відноситься до циміцифуги галузистої в американському садівництві, і є чудовим прикладом заплутаної номенклатури родичів циміцифуги галузистої в комерційній торгівлі, що виходить за межі постачання інгредієнтів ботанічних харчових добавок.

Actaea simplex відома багатьма ботанічними синонімами, включаючи “*Cimicifuga ramosa*”, що не є помилковим написанням “*C. racemosa*”. Сорти «*Cimicifuga ramosa*» широко доступні як багаторічні рослини в американському садівництві, особливо селекції з «групи атропурпур», які мають пурпурно-бронзове листя. Назви сортів виражаються як наукова назва, за якими слід позначення сорту в одинарних лапках. Наприклад, одним сортом є *Cimicifuga ramosa* «James Compton», названий на честь ботаніка і систематика Джеймса Комптона, доктора філософії, нещодавнього монографа роду *Actaea* [8]. Щоб ще більше заплутати питання, багато розплідників пропонують сорти «*Actaea ramosa*» з бронзовим листям, хоча назва «*Actaea ramosa*» ніколи не була опублікована як наукова назва для жодної рослини. Тут назва роду «*Actaea*» просто була використана для заміни назви роду *Cimicifuga* без спроби визначити правильну ботанічну назву для цієї рослини. Простий пошук у Google за «*Cimicifuga ramosa*» покаже численні сайти, де перераховані сорти *A. simplex* з бронзовим листям як «*Cimicifuga racemosa*» або «*Actaea ramosa*». Цей приклад дуже показує плутане розуміння та застосування біномів у номенклатурному комплексі роду *Actaea/Cimicifuga*.

Корінь *Vernonia aspera* також відома як *Vernonia cinerea* (*Asteraceae*; також відомий як вернонія попеляста) — це вже незрозуміла китайська народна медицина, відома як *hei-sheng-ma* [10], що перекладається як «чорний кохош» (хей = чорний). Зустрічається на відкритих трав'янистих схилах у горах висотою понад 3000 футів на півдні Китаю (провінції Гуйчжоу, Хайнань та Юньнань), а також Індії, Лаосу, М'янми, Непалу, Таїланду та В'єтнаму, і відома принаймні 12 ботанічними синонімами в шести родах [11, 12].

Пошук в PubMed з використанням усіх 13 імен у ботанічній літературі не дав результатів наукових досліджень, опублікованих на *Vernonia aspera*, або будь-якого із синонімів. Також не знайдено жодних згадок про *Vernonia aspera* в жодному з хімічних аналітичних досліджень щодо фальсифікації *Actaea/Cimicifuga*. Існує фактична нестача наукової літератури про *Vernonia aspera*, але є численні посилання на оптові китайські веб-сайти де вказано, що рослина є джерелом «екстракту чорного кохошу».

У монографії Американської трав'яної фармакопеї при пошуку чорного кохошу також згадується гуанг-дон шен-ма як поширений заміник шен-ма на азіатському ринку [13]. *Serratula chinensis* (Серпій китайський, syn. *Rhaponticum chinense*, *Centaurea missionis*; *Asteraceae*) зустрічається на трав'янистих схилах, заростях і узліссях у західній частині Аньхой, Фуцзянь, південно-східній частині Ганьсу, на півночі та північному сході Гуандун, Гуйчжоу, Хубэ Хейнань, провінції Цзянсу, Цзянсі, південь Шеньсі, Сичуань, Юньнань та південному Чжецзяні в Китаї [14].

За словами професора, доктора філософії Де-Ан Го, директора Шанхайського центру модернізації традиційної китайської медицини, хей-шен-ма також відноситься до *Serratula chinensis*, яку можуть збирати китайські експортери, оскільки вона має таку ж назву (китайською мовою) чорний кохош. Він зазначив, що, наскільки він може визначити, у Китаї немає комерційного вирощування *A. racemosa*. Наукова література про *Serratula chinensis* також надзвичайно мізерна. Пошук в системі PubMed знайшов лише одну цитату. А саме дослідження 2007 року, в якому доктор Лінг та інші повідомляли про виділення та структуру нового цереброзиду з виду (перше повідомлення про появу цереброзидів у роду *Serratula*) [15].

Згідно з номенклатурним посиланням АНРА's Herbs of Commerce, єдиним прийнятним видом, до якого застосовується загальна назва «чорний кохош», є *Actaea racemosa* (син. *Cimicifuga racemosa*).

У нас в країні назва *Actaea racemosa* - чорни кохош, не поширена замість неї вживають циміцифуга галузиста *Cimicifuga racemosa*. У літературі існує ряд

синонімів *Cimicifuga racemosa*, клопогін китичний, чорний зміїний корінь, чорний кохош, жіночий корінь та *Christophoriana canadensis racemosa*. Найпоширеніші назви в Україні – циміцифуга галузиста та клопогін китичний.

Рід *Cimicifuga* належить до родини *Ranunculaceae* (Жовтецеві) і зустрічається переважно в Північній Америці та Азії. Рід рослин поділяється на різні види, які в основному зростають в азіатському регіоні. До них належать *Cimicifuga heracleifolia*, *Cimicifuga dahurica*, *Cimicifuga simplex*, *Cimicifuga japonica*, *Cimicifuga foetida* та *Cimicifuga americana*.



Рис. 1 *Cimicifuga racemosa*. Зліва рослина; угорі праворуч китицеподібне суцвіття; квітка внизу праворуч

В Європі поширена лише *Cimicifuga racemosa*. Існує значна кількість клінічних даних, що підтверджують ефективність препаратів цього виду щодо симптомів менопаузи, а також передменструального болю та дисменореї [16-20].

Cimicifuga racemosa в своєму природньому ареалі зустрічається у вологих, змішаних широколистяних східних лісах Північної Америки та на узліссях, часто в гірській місцевості від Массачусетса на південь до Джорджії; на захід, на північний захід та північ центрального Арканзасу та прилеглих територій озера Озарк штат Міссурі; на північ через долину річки Огайо до півдня Онтаріо. Незважаючи на те, що на національному рівні не виникає суттєвого занепокоєння щодо збереження даного виду рослин. На краях природного ареалу рослину

можна вважати рідкістю на державному рівні. За останні два століття рослина також оселилася і поширилася в Європі.

Беннет і Балік у статті 2008 року підкреслюють той факт, що в області досліджень лікарських рослин, якщо рослину не можна однозначно ідентифікувати, відтворюваність — фундаментальна основа науки — є невизначеною. Щоб підвищити відтворюваність, збережений зразок гербарію, до якого застосовано правильну наукову назву, має бути депонований у належним чином підпорядкованій колекції.

Двома поширеними проблемами, зазначають вони, є часте зловживання біномами у публікаціях про лікарські рослини та відсутність авторських цитат для біномів. Під час пошуку в системі PubMed у 100 назвах або рефератах про лікарські рослини вони виявили, що 20% містять помилки у ботанічній назві, підкреслюючи, що орфографічне написання двочленів є невиправданою помилкою [21]. Наприклад, пошук у PubMed з помилкою «Actea» (а не правильно написаний *Actaea*) дає три цитати.

Практика в літературі про лікарські рослини, якої часто не дотримуються, полягає в тому, що кожне дослідження має посилатися на відповідний науковий зразок і вказувати, де зразок курирується для довідки. Сам ваучер важливіший за правильну ідентифікацію, оскільки помилкова наукова назва, приписана ваучеру, може бути виправлена або змінена пізніше.

Відповідно до Міжнародного кодексу ботанічної номенклатури існує лише одна прийнята наукова назва таксону. Однак Беннет і Балік використовують чорний кохош як відомий приклад, до якого застосовуються синоніми. Вибір наукової назви залежить від інтерпретації даним фахівцем таксономічних даних. Наприклад, при трактуванні *Ranunculaceae* (сімейство жовтець) у флорі Північної Америки зберігається поділ родів *Actaea* і *Cimicifuga* [22, 23].

Подібним чином, у 2001 році під час трактування *Ranunculaceae* у флорі Китаю, *Actaea*, *Cimicifuga* та *Souliea* [24, 25, 26] було розглянуто окремо застереження: «В одному місці, *Cimicifuga* було перенесено до Актей. Однак, на

даний момент, як і в FRPS [Flora Reipublicae Popularis Sinicae], деякі вчені з вважають за краще зберігати *Cimicifuga* як роздільний рід» [25].

У випадку чорного кохоша та його родичів дослідники повинні знати відповідні синоніми при пошуку наукових статей, опублікованих за останні 15 років.

У науковій літературі легко сплутати назви рослин, пов'язані з чорним кохошем та його родичами. Деякі дослідницькі групи посилаються на досліджувані види під таксономічною концепцією *Cimicifuga*, в той час як інші охоплюють ширшу загальну концепцію *Actaea*, як визначено Комптоном та його колегами у своїй рекласифікації 1998 року [8]. Практичне застосування таксономії не так просто, як проста заміна назви роду «*Actaea*» на «*Cimicifuga*», коли йдеться про види під назвами будь-якого роду.

Наприклад, К. Ма та інші (2011) надали методи автентифікації та диференціації видів *Actaea* за (ВЕРХ у поєднанні з часопротітною мас-спектрометрією з іонізацією електророзпиленням (HPLC-TOF-ESI-MS) [27]. У дослідженні зазначено, що крім *A. racemosa* є ще вісім Північно-Американських видів *Actaea*. Проте автори включають як *A. podocarpa*, так і *A. americana*, остання є синонімом *A. podocarpa*. *Actaea podocarpa* раніше була відома як *Cimicifuga americana*, і виявляється, що в цьому випадку назва роду *Actaea* була помилково замінена на *Cimicifuga*. На щастя, хімічні профілі для *A. podocarpa* та передбачуваної *A. americana* у дослідженні практично ідентичні. Таким чином, існує лише вісім північноамериканських видів *Actaea*, а не дев'ять, як припускають К. Ма та інші [27].

Крім того, досліджуючи історичні записи, також необхідно знати про додаткові складнощі номенклатури. Назва роду «*Macrotrys*», встановлена Константином Рафінеском в 1808 році як нове позначення для *Cimicifuga racemosa*, згодом була неправильно написана «*Macrotys*» (без другої «r») у кількох із восьми видань популярного «*Керівництва з ботаніки*» Еймаса Ітона. (1776-1842), що виходив з 1817-1840 рр. І широко використовувався як стандартна польова довідка до середини 19 століття.

Чорний кохош був прийнятий як лікарський засіб еkleктичним медичним рухом у середині 19 століття, і еkleктики майже повсюдно називали цей препарат під неправильно написаною назвою роду «*Macrotrys*», увічнюючи помилку Ітона. Загальноприйнята назва чорний кохош в Північній Америці не набула широкого вживання до кінця 19 століття. Приблизно до 1900 року як звичайні назви чорного кохошу широко використовували макротис і чорний зміїний корінь [28, 29].

1.2.2. Особливості морфологічної будови рослини

Actaea racemosa L. – багаторічна трав'яниста рослина з прямостоячим стеблом заввишки до 2 м, що виростає із щільно вкоріненого кореневища. Листя потрійно перисті; кінцеві листки трилопатеві, довжиною 6-15 см, шириною 6-16,5 см і мають три основні жилки, що відходять від основи. Листки біля основи серце- або клиноподібні, 4-12 см завдовжки, 3-8 см завширшки, голі або рідко волохаті на нижній стороні жилок листка. Краї листя зубчасті глибоко врізані. Маленькі, білі квітки стоять у довгому вузькому суцвітті, складеному з кількох гроновидних часткових суцвіть [30, 31].

Суцвіття складається з чотирьох зеленувато-білих чашолистиків і дуже дрібних пелюсток, які відразу ж відпадають, коли розкриваються. Пелюстки дуже дрібні і коротші за численні тичинки (55-110 штук). Квітка має маточку з верхніми зав'язями з часом цвітіння з червня по вересень. Неприємний запах квітів відганяє деякі види комах, включаючи клопів. Розвиваються яйцеподібні фолікули довжиною 5-10 мм, які містять численні коричнево-чорні плоскі насінини.

Висушене кореневище з коренями використовують як основу лікарських препаратів. Корені та кореневище збирають після дозрівання плодів. Ціле кореневище має довжину до 15 см, діаметр 0,5-3 см, темно-коричневе, вузлувате і злегка звивисте. На верхній стороні є округлі, часто чашоподібні рубці та залишки попередніх стебел. Внизу кореневище вкрите тонкими, поздовжньо борознами, темно-коричневого кольору, 3-16 см завдовжки та 1-5 мм шириною коренців, які легко обламуються. Висохле кореневище має роговий волокнистий розрив [30].

Свіже кореневище на розрізі неправильної форми, які зазвичай мають мають темно-коричневу воскоподібну серцевину діаметром 3-5 мм. Темно-коричнева деревина товщиною 4-5 мм, у якій клини ксилеми чергуються з серцевинними променями, оточена темно-зеленою або коричневою вузькою корою шириною 1 мм. Тонкі коренці мають круглий переріз і мають темно-коричневу до чорної кору навколо зірчастої, світло-коричневої або жовтої деревини. Кореневище має своєрідний, затхлий, різкий неприємний запах і гіркий, різкий, терпкий смак.

Ботаніка описує кореневище (грец. ῥίζωμα = кореневище, що «вкорінене») як видозміну пагону, що входить у систему підземних органів.

У фармакогнозії кореневищем називають висушені або свіжозібрані підземні органи рослин. Як частина системи відростків, кореневище має свої типові риси, такі як короткі, потовщені міжвузля, рубці як на листі та розташування судинних пучків, ідентичне пагону. Крім того, кореневища не мають каліптри порівняно з кореннями [32].

Фактично корені опускається від кореневища, а пагони листя - вгору. Кореневище часто оточене лускатими нижніми листками, в яких зберігаються запасні речовини.

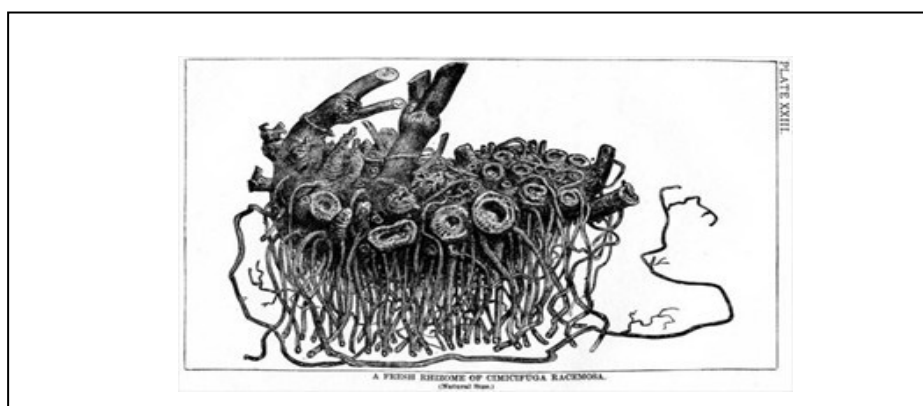


Рис. 2 - *Cimicifuga rhizoma*

1.3. Культивування і заготівля ЛРС

Традиційно циміцифугу збирають лише тоді, коли рослина є родючою, що має місце у культивованих рослин через 2-8 років, залежно від техніки вирощування. Кореневище та корені слід збирати восени, коли рослина не росте, оскільки вміст води в підземних органах в цей час нижчий, ніж в інші сезони. Збір

врожаю восени також дозволяє насінню достигати, що в свою чергу дозволяє рослинам розмножуватися до того, як вони будуть викорчовані. Частину кореневища з видимою брунькою слід залишити в землі, щоб вона знову зросла в наступному році.

Циміцифугу можна розмножувати в культурі посівом або діленням кореневищ. Якщо рослина виросте з частин кореневища, вона зможе розмножуватися через 2-3 роки; якщо виростає з насіння, посіяного в теплиці або коли його висаджують, тоді потрібно 4-6 років; для рослин, що посіяні безпосередньо в ґрунт (мається на увазі не тепличний догляд) потрібно 6-8 років.

Обробка починається відразу після збору врожаю з ретельного промивання кореневищ і коренів. Потім їх викладають на сушку, а потім ріжуть при 35-45° С і сушать на відкритому повітрі. Корені та кореневища можна вважати повністю сухими, коли шматки легко ламаються і не видно слідів вологи.

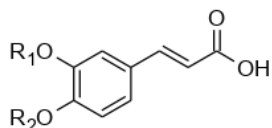
Пакують висушену сировину в герметичні контейнери, які захищені від світла, тепла, вологи та зараження комахами. Для вирощування, збору та зберігання слід дотримуватись Головних принципів щодо належної сільськогосподарської та збиральної практики (GACP) щодо вихідних матеріалів рослинного походження Європейського агентства з лікарських засобів [33].

Упаковану сировину можна зберігати 2 роки.

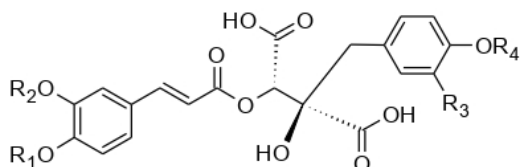
1.4. Основні біологічно активні сполуки ЛРС (*Cimicifuga racemosa*)

Компоненти циміцифуги можна розділити на 4 групи, причому група вуглеводів становить найбільшу частку у вмісті кореневища. Інші групи речовин поділяються на фенілпропаноїди, тритерпенові глікозиди та алкалоїди, які більш докладно описані нижче [34].

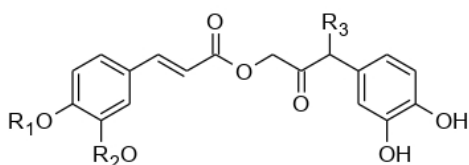
Структурні формули:



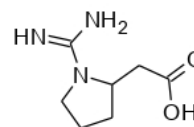
- 1 R1 = R2 = H: Caffeic acid
 2 R1 = Me, R2 = H: Ferulic acid
 3 R1 = H, R2 = Me: Isoferulic acid



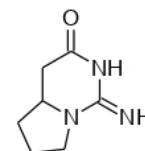
- 4 R1 = R2 = H, R3 = OH, R4 = H: Fukinolic acid
 5 R1 = H, R2 = Me, R3 = OH, R4 = H: Cimicifugic acid A
 6 R1 = Me, R2 = H, R3 = OH, R4 = H: Cimicifugic acid B
 7 R1 = R2 = R3 = R4 = H: Cimicifugic acid D
 8 R1 = Me, R2 = R3 = R4 = H: Cimicifugic acid E
 9 R1 = H, R2 = Me, R3 = R4 = H: Cimicifugic acid F
 10 R1 = Me, R2 = Me, R3 = OH, R4 = H: Cimicifugic acid G



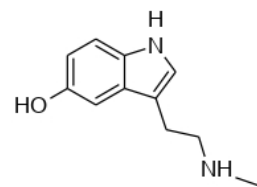
- 11 R1 = Me, R2 = R3 = H: Cimicifhenol/ Cimiracemat A
 12 R1 = H, R2 = Me, R3 = H: Cimiracemat B
 13 R1 = Me, R2 = H, R3 = OMe: Cimiracemat C
 14 R1 = H, R2 = Me, R3 = OMe: Cimiracemat D
 15 R1 = R2 = H: Petasiphenon



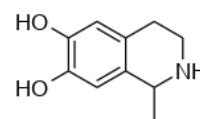
16 Cimipronidine



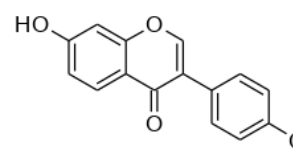
17 Cyclocimipronidine



18 Nω-Methylserotonin



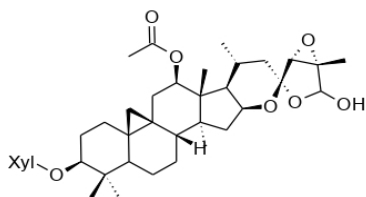
19 Salsolinol



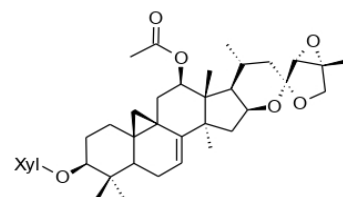
20 Formononetin

1	Кофеїнова кислота	11	Циміцифенол / Цимірацemat A
2	Ферулова кислота	12	Цимірацemat B
3	Ізоферулова кислота	13	Цимірацemat C
4	Фукінолова кислота	14	Цимірацemat D
5	Циміцифугінова кислота A	15	Петасифенон
6	Циміцифугінова кислота B	16	Циміпронідин
7	Циміцифугінова кислота D	17	Циклоциміпронідин
8	Циміцифугінова кислота E	18	Nω-Метилсеротонін
9	Циміцифугінова кислота F	19	Сальсолінол
10	Циміцифугінова кислота G	20	Формононетин

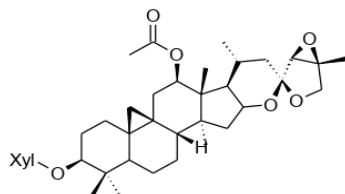
Структурні формули (продовження):



21 Acteine

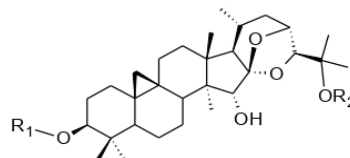


27 26-Deoxycimicifugoside



22 R = xyloside: 27-deoxyacteine

23 R = arabinoside: Cimircemoside N



28 R1 = xyloside, R2 = H: Cimigenol-3-O-β-D-xylopyranoside

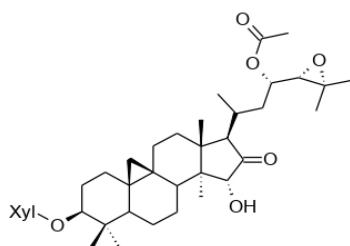
29 R1 = arabinoside, R2 = H: Cimircemoside C

30 R1 = xyloside, R2 = Ac: 25-O-Acetylcimigenol-3-O-β-D-xyloside

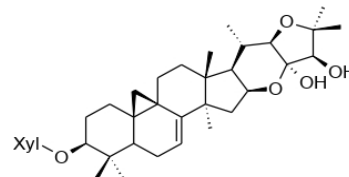
31 R1 = arabinoside, R2 = Ac: 25-O-Acetylcimigenol-3-O-α-L-arabinoside

32 R1 = xyloside, R2 = Me: 25-O-Methylcimigenol-3-O-β-D-xyloside

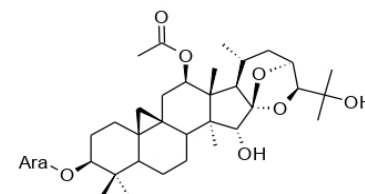
33 R1 = arabinoside, R2 = Me: 25-O-Methylcimigenol-3-O-α-L-arabinoside



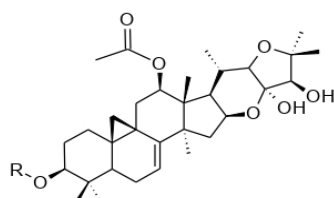
24 23-O-Acetylshengmanol-3-O-β-D-xylopyranoside



34 Cimiaceroside A

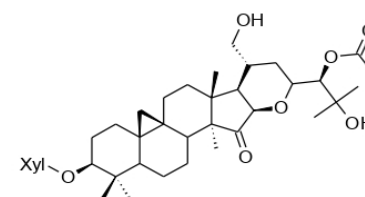


35 Cimircemoside D



25 R = xyloside: Cimircemoside F

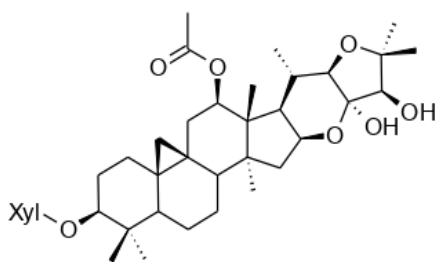
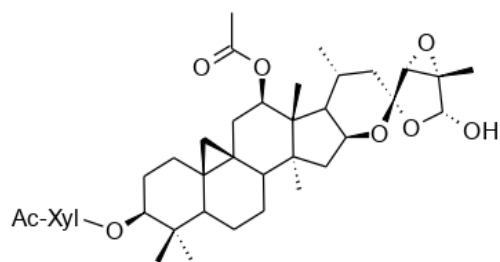
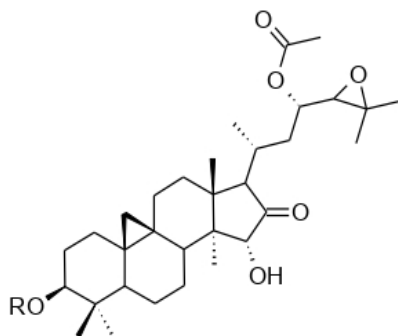
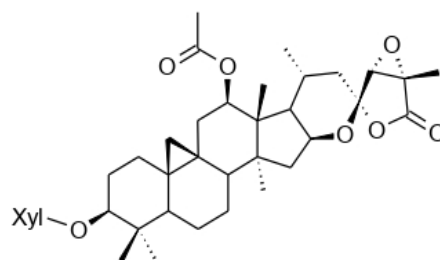
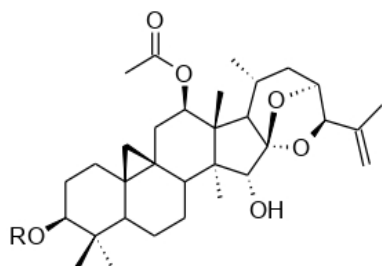
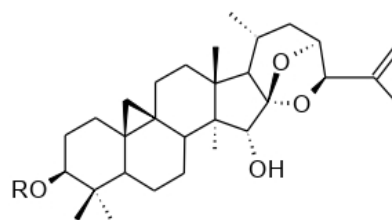
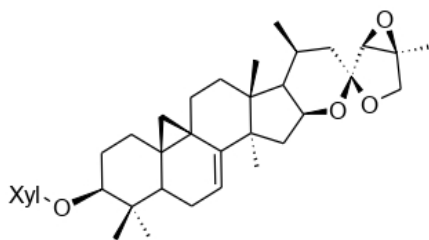
26 R = arabinoside: Cimircemoside G



36 Cimircemoside E

21	Актеїн	29	R1 = арабінозид, R2 = Н: цимірацемозид С
22	R = ксилозид: 27-деоксиактеїн	30	R1 = ксилозид, R2 = Ас: 25-О-ацетилцимігенол-3-О-β-D-ксилозид
23	R = арабінозид: цимірацемозид N	31	R1 = арабінозид, R2 = Ас: 25-О-ацетилцимігенол-3-О-α-L-арабінозид
24	23-О-ацетилшенгманол-3-О-β-D-ксилопіранозид	32	R1 = ксилозид, R2 = Ме: 25-О-метилцимігенол-3-О-β-D-ксилозид
25	R = ксилозид: Цимірацемозид F	33	R1 = арабінозид, R2 = Ме: 25-О-метилцимігенол-3-О-α-L-арабінозид
26	R = арабінозид: цимірацемозид G.	34	Циміацерозид А
27	26-дезоксциміцифугозид	35	Цимірацемозид Д
28	R1 = ксилозид, R2 = Н: цимігенол-3-О-β-D-ксилопіранозид	36	Цимірацемозид Е

Структурні формули (продовження):

**37** Cimracemoside H**43** Cimracemoside O**38** R = acetylarabinoside: Cimracemoside L**39** R = acetylxylside: Cimracemoside M**44** Cimracemoside P**40** R = arabinoside: Cimracemoside J**41** R = xyloside: Cimracemoside K**45** R = arabinoside: 25-O-Anhydrocimigenol-arabinoside**46** R = xyloside: 25-O-Anhydrocimigenol-xyloside**42** Cimracemoside I

37	Цимірацемозид Н	42	Цимірацемозид І
38	R = ацетиларабінозид: Цимірацемозид L	43	Цимірацемозид O
39	R = ацетилксилозид: Цимірацемозид M	44	Цимірацемозид P
40	R = арабінозид: Цимірацемозид J	45	R = арабінозид: 25-O-Ангідроцимігенол-арабінозид
41	R = ксилозид: Цимірацемозид K	46	R = ксилозид: 25-O-Ангідроцимігенол-ксилозид

Вуглеводи – біохімічні сполуки, які утворюються в рослинах як первинні продукти фотосинтезу та є важливою складовою частиною живих організмів.

Вуглеводи за хімічною будовою - це поліоксиальдегіди, поліоксикетони, їх полімери та похідні. Назва «Вуглеводи» не відповідає хімічній будові і поряд з нею вживаються інші: «Цукри», «Сахариди», «Глікани». Вуглеводи поділяють на моносахариди (прості цукри), олігосахариди (олігомери, що складаються з кількох залишків моносахаридів) та полісахариди (полімери, що складаються з багатьох залишків моносахаридів).

Кореневища широко відомі як органи зберігання у рослин. Вони використовуються для вегетативного розмноження та для зберігання запасних матеріалів (наприклад, крохмалю та інуліну). Тому не дивно, що в кореневищі циміцифуги можна знайти до 60% вуглеводів. Найбільшу частку займає дисахарид - сахароза (47) потім йде моносахарид глюкози (48). Також виявлені інші резервні вуглеводи, а саме фруктоза (49), міо-інозитол (50) та трисахарид рафіноза (51).

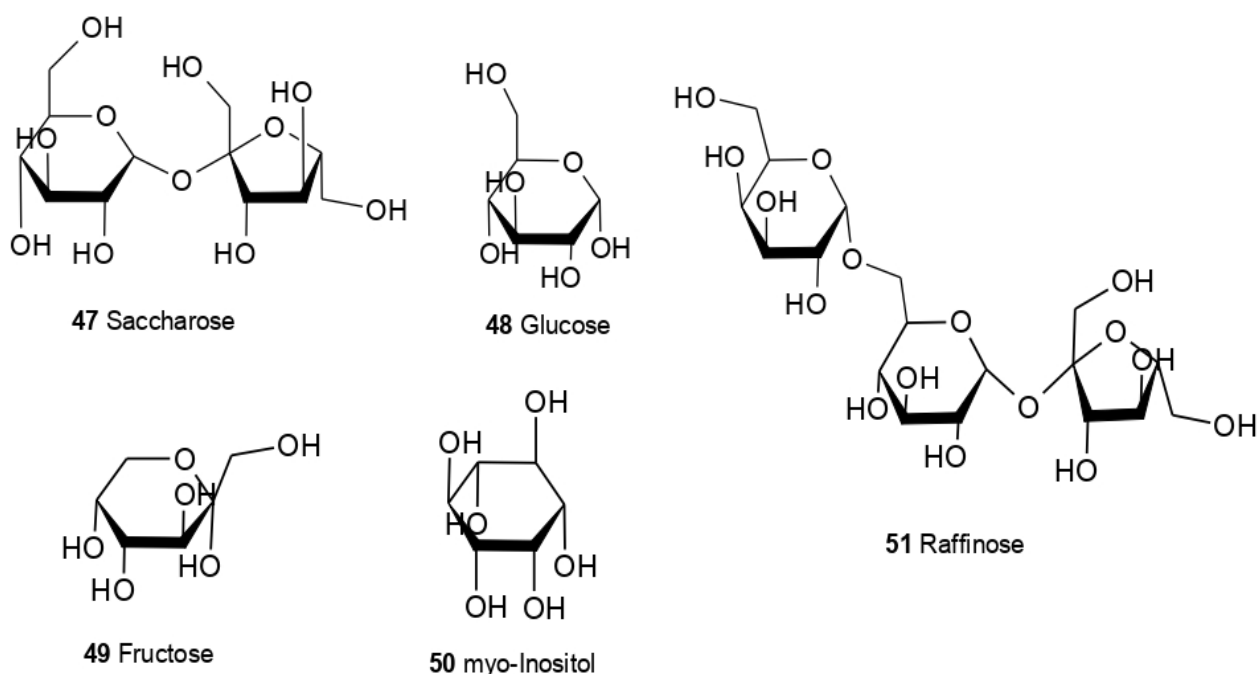


Рис. 3 Структурні формули вуглеводів

Фенольні сполуки — це група біологічно активних речовин та їх похідних, які містять ароматичне кільце з однією або декількома гідроксильними групами. Поліфеноли мають у молекулі дві та більше гідроксильних груп. До фенольних сполук належать прості феноли, фенолкарбонові кислоти, кумарини, хромони, флавоноїди, лігнани, ксантони, хінони, дубильні речовини та їх похідні. Фенольні сполуки в рослинах частіше представлені у вигляді естерів або глікозидів, ніж у вільному стані.

Фенольні кислоти — це сполуки, які мають фенольні гідроксильні групи і карбоксильну групу, зв'язані з ароматичним кільцем. Похідні кислот бензойної та гідроксикоричної мають найбільш вагоме значення, вони можуть бути як попередниками більш складних сполук, так і самостійно брати участь у метаболічних процесах. Тільки незначна частина фенольних кислот існує у вільному стані, а більшість приєднані через глікозидний, естерний, етерний, ацетальний зв'язок до структурних компонентів рослин (наприклад, лігнін, целюлоза), або до більш складних поліфенольних сполук (флавоноїди, дубильні речовини), або до простих молекул (глюкоза, кислота винна), або інших природних продуктів (терпени).

Фенольні кислоти часто зустрічаються в рослинах у вигляді депсидів — міжмолекулярних естерів, утворених в результаті конденсації двох або більше молекул однакових або різних фенольних кислот. У результаті чого карбоксильна група однієї молекули приєднана до фенольного гідроксилу іншої молекули. Ці сполуки (кислоти розмаринова, хлорогенова, елагова, м-дигалова, цетрарієва, леканорієва) містяться в лишайниках та квітучих рослинах. Найчастіше в рослинах міститься кислота хлорогенова.

Але в кореневищах циміцифуги виявлено похідні гідроксикоричної кислоти і це є характерним для цієї лікарської рослини [35, 36].

В кореневищах рослини переважають прості фенольні сполуки, переважно ефіри кофеїнової кислоти **(1)**, такі як ферулова **(2)** та ізоферулова кислота **(3)**. Але також до складу входять такі незвичайні сполуки, як похідні дигідроксицинамової кислоти з фенольною бікарбоновою кислотою, спиртом фуцієвої кислоти або

пісцидової кислоти. Вони також є характерними інгредієнтами препарату з кореневища. Сюди також входять фукінолова кислота (**4**) та циміцифугінові кислоти (**5-10**), а також складні ефіри дигідроксифенілкарбонової кислоти, також відомі в літературі як цимірацемати (**11-14**) [37].

Сапоніни — це група природних органічних сполук, які мають гемолітичну та поверхневу активність і є токсичними для холонокровних тварин (риби, жаби).

Залежно від хімічної будови аглікону (сапогеніну) сапоніни поділяють на тритерпенові (тетрациклічні та пентациклічні) і стероїдні (спіростанолові та фуростанолові).

Основні типи тетрациклічних сапонінів представлені похідними ланостану, циклоартану та дамарану.

Одна з основних складових груп циміцифуги це тритерпенові глікозиди С30 типу 9,19, що являються похідними циклоартану (**21-42**), які біогенетично подібні до циклоартенолу. Характерним для цих сполук є циклопропанове кільце, яке утворене атомами вуглецю C₉, C₁₀ і C₁₉. Однак головними відмінностями є структура E-кільця. До компонентів цукру належать β-D-ксилоза та α-L-арабіноза. Основними сполуками цієї групи інгредієнтів є актеїн (**21**) 27-деоксиактеїн (**22**), цимігенол ксилопіранозид (**28**) та 26-дезоксциміцифугозид (**27**). Крім того, слід згадати цимірацемозиди та тритерпени типів шенгманол та цимігенол [38-41].

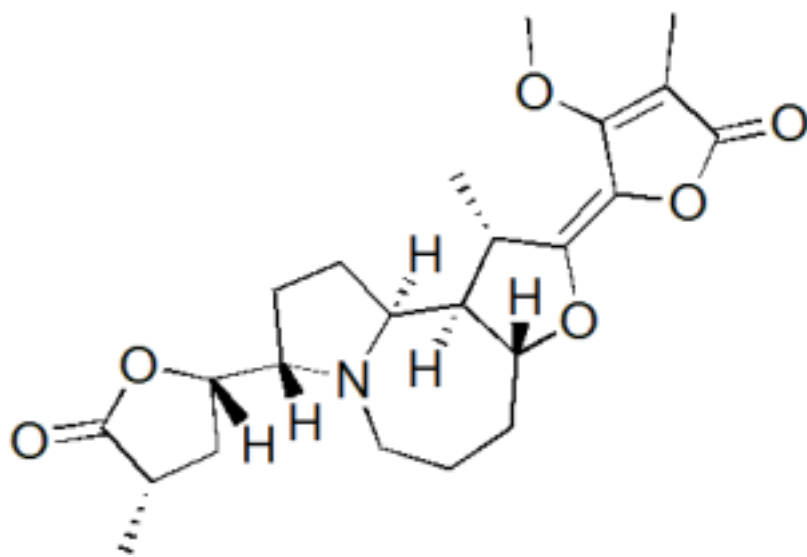


Рис. 4 - Основна структура молекули типу 9, 19
циклоартан

Алкалоїди – це складні органічні азотовмісні сполуки основного характеру, рослинного (рідше тваринного) походження, більшість яких чинить виражену фізіологічну дію на організм. Назва «алкалоїд» походить від арабського «alkali» – луг і грецького «eidos» – подібний. Алкалоїди – продукти вторинного обміну речовин, вони не є продуктами розпаду білка. Всі алкалоїди містять азот, частіше в складі гетероциклу. Первинними попередниками більшості алкалоїдів є амінокислоти (орнітин, лізин, аспарагінова кислота, тирозин і триптофан). А попередниками пуринових алкалоїдів: кофеїну, теофіліну, теоброміну виступають не амінокислоти, а проміжні продукти біосинтезу нуклеїнових кислот.

Алкалоїди займають власну підгрупу у складі кореневищ циміцифуги. Серед іншого були описані алкалоїди циміпронідин (**16**) та циклоциміпронідин (**17**). Які Пауел С.Л. та Годаке Т. та інші ідентифікували за допомогою реакції Пікте-Шпенглера, а також N ω -метилсеротонін (що також міститься в рослині) (Рис. 5) [42, 43].

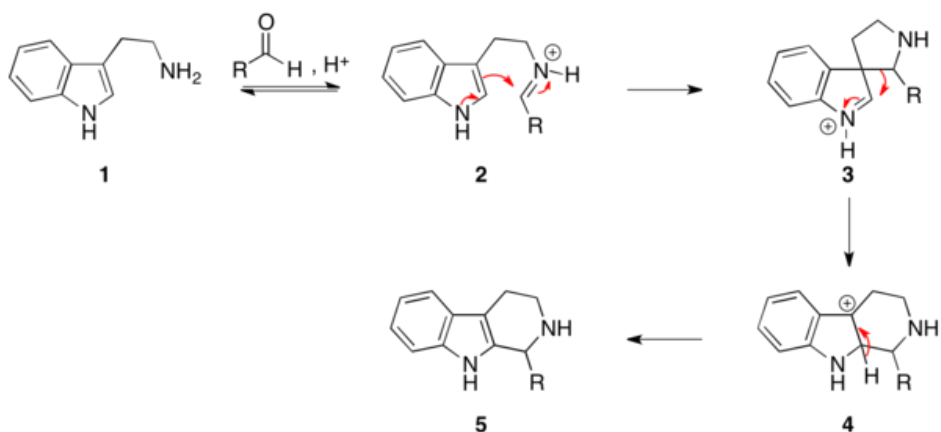


Рис.5 Реакція Пікте-Шпенглера

Група алкалоїдів належить до вторинних інгредієнтів лікарської рослини, які містяться лише у дуже невеликих кількостях, але деякі з цих сполук є високоефективними в серотонінергічній та дофамінергічній системі, так що ця група речовин могла б пояснити спосіб дії циміцифуги.

1.5. Фармакологічні аспекти використання ЛРС (*Cimicifuga racemosa*)

Корінь і кореневище циміцифуги галузистої продаються цілими, напівцілими, подрібненими, порізними і просіяними, сухими порошками, а також рідкими та сухими екстрактами.

Вони широко доступні у вигляді харчових добавок і фітолікарських препаратів у Сполучених Штатах, Канаді, Європі, Австралії та інших країнах. У сучасній фітотерапії препарати циміцифуги галузистої використовуються переважно для лікування симптомів менопаузи, включаючи припливи, серцебиття, нервозність, дратівливість, порушення сну, шум у вухах, запаморочення, надмірне потовиділення та депресивні стани, пов'язані з менопаузою, а також для передменструального періоду при дискомфорті і хворобливих менструаціях [44].

Історично вважалося, що рослинний препарат пов'язаний з нервовою системою і маткою, і використовувався для лікування багатьох розладів нервової системи, а також як тонізуючий і спазмолітичний засіб для матки [5].

Форми продуктів з найбільшим ринковим досвідом та оцінкою у клінічних дослідженнях у світі - це Remifemin[®], пероральний препарат, стандартизований до тритерпенових глікозидів, із ізопропанольного екстракту циміцифуги галузистої, та Menopret[®] (Klimadynon[®]) етаноловий екстракт. Реміфемін виробляється компанією Schaper & Brümmer GmbH & Co [45, 46].

Сучасне терапевтичне використання *C. racemosa* відображає як клінічні дослідження, так і традиційне використання. Циміцифугу галузисту можна застосувати при тягучих і м'язових болях у попереку, спині та стегнах, болях у плечах та ригідності ший. Її також використовували при менінгіті після того, як минули гострі симптоми. Але сучасне в більшості використання робить акцент на гінекологічних показаннях, але ширше застосування *C. racemosa* все ще зустрічається сьогодні. Німецька комісія E (The German Commission E) [45] схвалила використання циміцифуги галузистої для лікування: передменструального дискомфорту, дисменореї або клімактеричних (менопаузальних) нейровегетативних захворювань. Ромм у 2010 пропонував

подібне використання, але до переліку він також додав: сучасні ознаки остеопорозу, а також традиційні ознаки болю в яєчниках, кістково-м'язовий біль та кашель.

Фармакокінетику тритерпеноїдів *C. racemosa* вивчали у клінічному дослідженні фази I на здорових жінках у менопаузі, які отримували пероральні дози 75% етанольного екстракту, стандартизованого на вміст 3,64 мг загальних тритерпенів і 1,4 мг 23-епі-26-дезоксактеїну [47]. Було виявлено, що 23-епі-26-дезоксактеїн легко всмоктується в кров з періодом напіввиведення близько 2 годин. Було також відзначено, що екскреція сполуки із сечею була незначною, що свідчить про альтернативний шлях виведення, наприклад, з жовчю та [47]. Біодоступність актеїну була продемонстрована у щурів Sprague-Dawley, досягаючи пікової концентрації 2,4 мкг/мл через 6 годин [48].

Було відносно мало досліджень щодо традиційного використання *C. racemosa*. Більшість досліджень було зосереджено на впливі на симптоми менопаузи та на гормональні профілі, зокрема на естроген. Багато досліджень засновані на європейському запатентованому ізопропановому екстракті Remifemin®, стандартизованому на мінімальні рівні тритерпеноїдних глікозидів. Є кілька оглядів експериментальних і клінічних досліджень, тому далі є узагальнення та оновлення цих оглядів на додаток до оцінки досліджень *C. racemosa*, не пов'язаних з менопаузою [49, 50].

Хоча є хороші клінічні докази на підтримку застосування *C. racemosa* для деяких симптомів менопаузи, на сьогоднішній день немає чітко встановленого механізму дії. Більшість досліджень не виявили прямого зв'язування двох основних класів рецепторів естрогену (ER α , ER β). Однак є докази селективного впливу на такі тканини, як кістка, що свідчить про те, що *C. racemosa* може діяти як селективний модулятор естрогенових рецепторів (SERM) [13, 51]. У дослідженнях на тваринах і на людях також є докази інгібування лютеїнізуючого гормону (ЛГ) [52], хоча ця асоціація не є загально визнаною. Існують чіткі клінічні докази кореляції між підвищеним рівнем ЛГ і припливами у жінок у постменопаузі [53], які, як вважають, виникають у ЦНС [52].

Використовуючи ліпофільну фракцію, Болле та його співробітники продемонстрували ефект SERM *in vitro*, але не *in vivo*, і висунули гіпотезу про існування неідентифікованого рецептора естрогену, який може бути пов'язаний з модуляцією запалення [54]. Інші дослідники применшують значення естрогеноподібних ефектів і зосереджуються на альтернативних механізмах, таких як антиоксидантна дія, пригнічення шляхів запалення, вплив на центральну нервову систему та зв'язування з іншими типами рецепторів, такими як серотонінергічні, дофамінергічні та опіатні [50, 55].

При відсутності сучасної інформації про склад екстрактів циміцифуги вважалося, що ефективність екстрактів *C. racemosa* обумовлена вмістом деяких фітоестрогенів. Відомо, що застосування естрогеноподібних речовин, виділених з різних рослин, дійсно ефективно в корекції перименопаузальний розладів і для лікування гіпоестрогених станів [56, 57]. Однак сучасні дослідження показали, що фітоестрогени (наприклад, ізофлавіон формонетин) містяться в екстрактах циміцифуги якщо не у невеликій, то все-таки в дуже малих кількостях. Тому в даний час активно вивчаються можливі естрогеномоделючі властивості тритерпенових глікозидів, які складають основну масу хімічних компонентів екстрактів циміцифуги.

Біофізичне моделювання взаємодії 11 молекулярних компонентів екстрактів циміцифуги (циміцифугінові кислоти типу А, В, G, F; циміцифенол, цимірабат, цимірабат А, В, С, D і фуколінова кислота) з естрогеними рецепторами людини ER α і ER β показали, що найсильнішу спорідненість до обох типів рецепторів естрогенів проявляли циміцифугінова кислота F, цимірабат В і цимірабат D [58].

Проте прямих і експериментально верифікованих даних про вплив екстрактів циміцифуги на рецептори естрогенів немає. Наприклад, експериментальне дослідження спиртових екстрактів циміцифуги показало, що вони не активували або НЕ інгібували рецептори естрогенів типу ER α в досить широкому діапазоні концентрацій - 0,005-0,5 мг/мл [59].

Більш того, наявні дані вказують навіть на можливість існування антиестрогенної активності екстрактів *C. racemosa*. Незважаючи на широке використання і незаперечну ефективність стандартизованих екстрактів *C. racemosa* для лікування менопаузального синдрому, практично немає інформації, що вказує безпосередньо активацію рецепторів естрогену компонентами екстрактів *C. racemosa*.

Наприклад, естрогенні та антиестрогенні ефекти етанольних та ізопропанольних екстрактів *C. racemosa* тестувалися по відношенню до проліферації клітин пухлин молочної залози MCF-7. Естрогенні властивості екстрактів *C. racemosa* не змогли бути підтверджені при аналізі впливу на проліферацію естроген-залежної лінії клітин MCF-7 або при аналізі експресії естроген залежних генів. Навпаки, екстракти *C. racemosa* проявляли антиестрогенні ефекти: індукована естрадіолом проліферація клітин MCF-7 інгібувати при досить низьких концентраціях екстрактів *C. racemosa* (1 мкг/мл), а експресія естрогензалежних генів придушувалася екстрактами *C. racemosa* в дозах 100-1000 мкг/мл [60].

Зокрема, ні етанольний екстракт, ні ізопропанольний екстракт циміцифуги не індукував активність транскрипції, пов'язаної з активацією рецепторів естрогенів, тоді як обробка клітин естрадіолом дійсно індукувати активність транскрипції.

Встановлена на сьогодні неадекватність гіпотези про естрогеноподібну дію екстрактів циміцифуги і неоднозначність результатів експериментів, в яких досліджувалася активація рецепторів естрогену компонентами екстрактів *C. racemosa*, цілком зрозумілі. Дійсно, є суттєві відмінності в структурі тритерпенових глікозидів екстрактів *C. racemosa* і естрогенів. Так, естрогени містять так зване естрогенове «ядро», що складається з чотирьох сполучених кілець, причому одне з них бензольне кільце, що позначається трьома подвійними зв'язками, воно додає жорсткість всій структурі естрогенового «ядра». Молекулярні компоненти екстрактів *C. racemosa* містять подібний фрагмент, але без бензольного кільця. Крім того, актеїн і інші компоненти екстрактів *C.*

racemosa істотно більше за розміром, ніж стероїдне ядро, що буде істотно ускладнювати взаємодію молекул в складі екстрактів *C. racemosa* з рецепторами естрогену.

Таким чином, спираючись на сучасні дані, зниження припливів у жінок, що вживають стандартизовані екстракти *C. racemosa*, пов'язано не стільки з естрогеноподібною дією, скільки з серотонінергічною і ГАМК-ергічною активністю екстрактів.

Враховуючи відсутність остаточного способу підтвердження фітоестрогенних заяв щодо *C. racemosa*, здатність серотоніну (5-НТ) частково зменшувати припливи стала предметом дослідницького інтересу. Бюрдет та інші вчені [61] у 2003 році поставили за мету визначити структурні маркери, які могли б допомогти пояснити його ефекти. Вони виявили, що пропанололові екстракти *C. racemosa* продемонстрували інгібуючу дію на субрецептори 5-НТ 1А, 1D і 7. Ці підтипи знаходяться в гіпоталамусі, області, відомої своїми терморегуляторними ефектами [42].

Пауелл та інші виявили нову складову *C. racemosa*, N^ω-метилсеротонін, який, як вважають, потенціює серотонінергічні фактори, пов'язані з його регуляторними ефектами на симптоми менопаузи. Ця сполука має високу спорідненість у аналізі зв'язування рецепторів 5-НТ7, що призводить до підвищення рівня 5-НТ, що у свою чергу, може призвести до змін настрою, що полегшує симптоми депресії. Подальші дослідження полярних компонентів *C. racemosa* не виявили інших сполук із серотонінергічною активністю [42, 62].

N^ω-метилсеротонін з екстрактів *C. racemosa* є агоністом рецепторів серотоніну 5-НТ1А і 5-НТ7. Пригнічення рецептора 5-НТ1А вказує на гіпотермічний ефект, який може показати нам зменшення вазомоторних симптомів. Існують специфічні 5-НТ-рецептори, які закінчуються безпосередньо на нейронах ЛГ-релізинг-гормону (ЛГРГ), що призводить до пригнічення секреції ЛГ гіпофізом. Припливи характеризуються низьким рівнем естрогену та підвищенням рівня ЛГ і фолікулостимулюючого гормону (ФСГ). *C. racemosa* селективно інгібує ЛГ *in vivo*.

Основний шлях метаболізму цього з'єднання в організмі полягає в біотрансформації в ацетальдегід-5-гідроксиіндол за допомогою моноаміноксидази А [63]. Показано, що екстракти *C. racemosa* діють як часткові агоністи серотонінового рецептора. Наприклад, 40% пропаноловий екстракт *C. racemosa* тестували на 10 підтипів серотонінового рецептора. У складі екстрактів були встановлені з'єднання, що характеризуються сильним зв'язуванням з рецепторами підтипів 5-HT_{1A} (протитривожна дія, регуляція апетиту, артеріальний тиск, терморегуляція, поліпшення пам'яті і сну), 5-HT_{1D} (протитривожна дія, регуляція артеріального тиску, терморегуляція) і 5-HT₇ (протитривожна дія, терморегуляція, поліпшення пам'яті і сну).

Компоненти екстракту *C. racemosa* функціонують як конкурентні ліганди серотонінових рецепторів, які також підвищують рівні циклічного аденозинмонофосфату (тобто є частковими агоністами серотонінових рецепторів) [61]. Оскільки всі перераховані типи серотонінових рецепторів залучені до процесів терморегуляції, активація цих рецепторів молекулами екстрактів *C. racemosa* буде істотно збільшувати адаптаційний резерв терморегуляторного зони кори, сприяючи зниженню частоти та інтенсивності припливів.

Роль естрогену в мінеральній щільності кісткової тканини викликала занепокоєння жінок у постменопаузі з ризиком розвитку остеоперозу. Чан і його співробітники спостерігали за анаболічними ефектами екстрактів *C. racemosa* на формування кісткових вузликів в остеобластах, надавши докази захисних ефектів проти втрати мінералів кісткової тканини, які зазвичай спостерігаються у жінок у пост менопаузі [64]. Один тритерпеноїдний глікозид, ідентифікований в *C. racemosa* – 25-ацетилцимігенол ксилопіранозид (АССХ), блокує *in vitro* остеокластогенез, індукований цитокінами, такими як фактор некрозу пухлин (TNF α), одночасно інгібуючи прозапальні сигнальні шляхи і NF- κ B.

Як тритерпенові глікозиди, так і фенольні компоненти сприяють антиоксидантній активності *C. racemosa* [65]. Використовуючи фракціонування, орієнтоване на біоаналіз виявив, що дев'ять фенольних сполук продемонстрували антиоксидантну дію в аналізі DPPH, і шість з них (найпотужнішим з яких був

метилкафеат) зменшували спричинене менадіоном пошкодження ДНК у клітинах раку молочної залози.

Різні лабораторні дослідження показують, що екстракти *C. racemosa* пригнічують проліферацію як естроген-позитивних, так і естроген-негативних клітин раку молочної залози людини [66, 67]. В одному дослідженні екстракт не тільки уповільнював ріст естрогензалежних пухлин, але також пригнічував перетворення естрону сульфату в активний естрадіол [68]. Було виявлено, що метанольні екстракти *C. racemosa*, а також тритерпеновий складовий актеїн активують гени, які сприяють апоптозу клітин раку молочної залози. Подібні цитотоксичні та апоптотичні ефекти спостерігалися як на андрогензалежних, так і на незалежних клітинах карциноми простати, що підтверджує результати попередніх досліджень на імунодефіцитних мишах [67]. Морфологічним змінам клітинної структури допомогли Хостанська та інші вчені які визначили апоптотичний фактор, що призводить до загибелі клітин [67]. У нещодавній програмі протипухлинного скринінгу з використанням клітин злоякісної нейробластоми було виявлено, що екстракти *C. racemosa* мають помірний протипухлинний ефект. Дослідження *in vivo* вказують на біодоступність актеїну, достатню для синергії з хімотерапевтичними засобами [67]. Об'єднані результати цих досліджень показують, що *C. racemosa* є потенційно корисним агентом для інгібування проліферації ракових клітин молочної залози, простати та інших ракових клітин, хоча для підтвердження цієї активності необхідні моделі *in vivo*.

Протизапальна дія екстрактів *C. racemosa* опосередковується цимірацематом А, який пригнічує індуковану ліпополісахаридом (1 нг / мл) продукцію прозапальних цитокінів фактора некрозу пухлини α (ФНП- α) в макрофагах крові (на $47 \pm 19\%$ при концентрації в 140 мкм), а також секрецію прозапальних інтерлейкінів - ІЛ-6 та ІЛ-23. Протизапальна активність молекули цимірацетату А опосередкованаю модуляцією внутрішньоклітинної передачі сигналу через мітогенактивовані протеїнкінази (МАР) і пригніченням активності прозапального фактора транскрипції NF- κ B. Імовірно, цимірацетат А пригнічує рецептор ФНП- α , що пояснює вплив цимірацетата А на активність ФНП- α , МАР,

NF- κ B. Тритерпен дезоксиактеїн-23-епі-26-деоксиактеїн в складі екстрактів *C. racemosa* також пригнічує індуковану цитокінами активацію макрофагів [69].

Протизапальні ефекти екстрактів *C. racemosa* обумовлені в тому числі і дією гідроксикоричних кислот (кофеїнова, фукінолова, ферулова, ізоферулова, циміцифугінові кислоти А, В, Е і F). Гідроксикоричні кислоти інгібують активність еластази нейтрофілів [70].

Серед молекулярних компонентів екстрактів *C. racemosa* були ідентифіковані 4 циклоартанові глікозиди, які стимулюють активацію рецепторів γ -аміномасляної кислоти А (ГАМК_А - рецепторів), які складаються з субодиниць $\alpha(1)$, $\beta(2)$ і $\gamma(2S)$. Так, 23-О-ацетилшенгманол-3-О- β -d-ксилопіранозид в складі екстрактів *C. racemosa* в концентрації 100 мкМ істотно посилював перебіг через ГАМК_А-рецептори (на $+1692 \pm 201\%$) в присутності ГАМК. Інші молекули (актеїн, цимігенол 3-О- β -d-ксилопіранозид, 25-О-ацетилцимігенол-3-О- α -1-арабінопіранозид) посилювали перебіг через ГАМК_А-рецептори в значно меншому ступені. У той же час при впливі молекулярних компонентів екстрактів *C. racemosa* за відсутності ГАМК спостерігалось лише невелике збільшення перебігу іонів Cl⁻ через ГАМК-рецептори (<1%). Отже, тритерпенові глікозиди в екстрактах циміцифуги сприяють аллостеричній активації ГАМК-рецепторів. Циклоартан 23-О-ацетилшенгманол-3-О- β -d-ксилопіранозид з екстракту *C. racemosa* не тільки модулює ГАМК_А-рецептори, але і індукує седативну реакцію у мишей [71].

Нормалізація обміну цукрів, який становить один з найважливіших різновидів енергетичного метаболізму, вельми важлива для терапії патології перименопаузи. Тритерпенові глікозиди екстрактів циміцифуги вносять істотний внесок в нормалізацію обміну цукрів і знижують глікозилювання ендогенних білків. Продукти глікозилювання білків сприяють розвитку хронічного запалення, що посилює пошкодження клітин підшлункової залози [72].

У моделі метилгліоксалу моделі ураження β -клітин підшлункової залози дезоксиактеїн з екстракту *C. racemosa* активує біогенез мітохондрій і захищає β -клітини підшлункової залози від оксидативного стресу і патологічного впливу

глікозилювання білків. Нагадаю, що метилгліоксаль - один з основних попередників продуктів глікозилювання, асоційованих з розвитком ускладнень діабету. В експерименті попередня (до впливу метилгліоксалу) обробка β -клітин деоксиактеїном значно зменшувала рівні внутрішньоклітинних АФК, ІЛ-1 β , перекисного окислення фосфоліпідів кардіоліпіну та накопичення глікозилюваних білків в β -клітинах.

Крім деоксиактеїну ізоферулова кислота в складі екстрактів циміцифуги також запобігає глікозилюванню білків і пов'язаному з цим пошкодження клітинної ДНК.

Антидіабетичні ефекти екстрактів циміцифуги доповнюються ефектами меланіну. Меланін є антиоксидантом і сприяє нейтралізації пероксиданіонів та інших АФК. Крім ролей у підтримці забарвлення шкірних покривів меланін сприяє підвищенню резервів адаптації організму [73].

Протягом останнього десятиліття спостерігається зростання суспільного попиту на альтернативи ЗГТ, особливо після негативних побічних ефектів, які виникли під час дослідження «Ініціативи зі здоров'я жінок», яке було передчасно припинено. Крім видів бобових, що містять ізофлавонони, такі як соя, найбільший інтерес зосереджено навколо *C. racemosa*, що в свою чергу призвело до помітного збільшення продажів екстрактів цього виду в Європі, США та інших країнах. У монографії American Herbal Pharmacopoeia сказано що для *C. racemosa* було розглянуто 16 клінічних досліджень з лікування симптомів менопаузи, включаючи припливи, стоншення піхви та депресію, датовані 1957-2001 роками. У всіх, окрім двох, використовувався запатентований екстракт Реміфеміну. Хоча якість досліджень була різною, загальний висновок рецензента був на підтримку використання *C. racemosa* для симптомів менопаузи [74].

Протягом останніх років було проведено кілька нових досліджень. У недавньому системному огляді було виявлено 72 клінічних дослідження, що стосуються симптомів менопаузи, з яких 25 були рандомізованими дослідженнями (РКД). Лише шість із них відповідали критеріям включення. Шість РКД представляли загалом понад 1100 жінок у період менопаузи та

постменопаузи, і всі вони отримали щонайменше 3/5 балів за шкалою Джадада, що вказує на задовільний рівень засліплення учасників та лікування. Автори дійшли висновку, що *C. racemosa* зменшила вираженість симптомів менопаузи, що вимірюється за допомогою перевірених індексів, використаних у цих дослідженнях, однак не було визначено, чи зменшилася частота симптомів [75].

На противагу цьому, системний огляд в журналі «*Drugs and Aging*» виявив 16 відповідних клінічних досліджень симптомів менопаузи. Їхні висновки були менш позитивними, зосереджуючись переважно на суперечливих висновках різних досліджень, а також на недоліках методології багатьох із них [76]. Морган у 2011 зазначив, що в ряді досліджень використовувалися дози екстракту 40 мг на добу, що є нижньою межею діапазону доз, що рекомендує Британська трав'яна фармакопея [77].

Починаючи з 2002 року, а саме з кількох повідомлень про випадки з Австралії, де було зафіксовано ураження печінки, дані ураження, пов'язують прийомом продуктів до складу яких входить циміцифуга галузиста. Сповідання від регуляторних органів під час оцінки причин даних випадків надавали перевагу кількості випадків над якістю даних про випадки [78]. 22 листопада 2004 року NIH, Національний центр додаткової та нетрадиційної медицини NIH (NCCAM) та Бюро дієтичних добавок (ODS) NIH скликали семінар з безпеки циміцифуги галузистої під час клінічних досліджень у відповідь на повідомлення про виявлені випадки гепатотоксичності.

Семінар об'єднав експертів, які займалися міждисциплінарними дослідженнями циміцифуги галузистої, щоб краще зрозуміти зареєстровану гепатотоксичність у людей, та для зосередження уваги на питаннях, що стосуються досліджень циміцифуги галузистої, що фінансуються NIH. Професор Фарнсворт, посилаючись на дослідження його лабораторії в UIC, підкреслив, що зростає стурбованість тим, що деякі продукти які містять циміцифугу галузисту, що продаються в США, можуть в своєму складі містити не циміцифугу галузисту, а один (або декілька) китайських видів *Actaea*. Під час семінару було висловлено консенсус, що, враховуючи змінні параметри підготовки та можливу

фальсифікацію та/або забруднення, одержувачі грантів НІН повинні мати допустимі бюджетні витрати на перевірку матеріалів дослідження. Один із 40 учасників семінару, доктор медичних наук Вольфганг Вуттке з Університету Геттінгена в Німеччині — і головний дослідник кількох клінічних випробувань Клімадинону — заявив, що його огляди клінічної літератури про циміцифугу галузисту виявили незначний вплив на печінку, якщо він взагалі був, і був здивований рівнем занепокоєння з приводу гепатотоксичності, пов'язаної з циміцифугою галузистою у США [79].

Австралійська адміністрація терапевтичних товарів (TGA) була першим регулюючим органом, який вимагав попереджувальне маркування за допомогою етикетки для продуктів циміцифуги галузистої. У 2005 р. TGA перевірила безпеку циміцифуги галузистої щодо можливих випадків токсичності печінки, яка на той час включала 47 міжнародних повідомлень про випадки ураження/захворювання, дев'ять з яких були з Австралії. Станом на лютий 2006 року, TGA вимагала, щоб продукти з циміцифугу галузисту включали наступну заяву на етикетці: «Попередження: циміцифуга галузиста може пошкодити печінку у деяких людей. Використовувати під наглядом лікаря ». Після первинного огляду безпеки TGA скликала експертно-консультативну групу, яка дійшла висновку, що існує зв'язок із продуктами, позначеними як «циміцифуга галузиста» і захворюваннями печінки, але це було дуже рідко. У переглянутому попередженні говорилося: «У дуже рідкісних випадках, циміцифуга галузиста асоціюється з печінковою недостатністю. Якщо у вас пожовтіння шкіри або очей, темна сечу, нудота, блювота, незвичайна втома, слабкість, біль у животі та/або втрата апетиту, припиніть використання цього продукту та зверніться до лікаря» [80].

У липні 2006 року Агентство з регулювання лікарських засобів та медичних товарів Великобританії (MHRA) випустило попередження на етикетці продукту разом з публічною заявою Європейського агентства з лікарських засобів/Комітет з лікарських засобів рослинного походження (EMA/HMPC). Вони радять пацієнтам та медичним працівникам знати про токсичність для печінки, пов'язану з продуктами на які нанесено маркування циміцифуга галузиста. Із 42 погано

задокументованих повідомлень про дані випадки, які були оцінені у світовій літературі, у чотирьох випадках було створено асоціацію тимчасової причинності. Міністерство охорони здоров'я Канади опублікувало коротке повідомлення у випуску Канадського інформаційного бюлетеня про негативні реакції за липень 2005 року, закликаючи медичних працівників, виробників та громадськість бути в курсі міжнародних повідомлень про токсичність для печінки, пов'язану з циміцифугою галузистою [81]. 18 серпня 2006 року було опубліковано додаткове повідомлення для споживачів про можливий зв'язок між продуктами для здоров'я, що містять трав'яні ліки циміцифуги галузистої, і пошкодженням печінки.

Постійні повідомлення ЗМІ та попередження регуляторних органів щодо можливої асоціації циміцифуги галузистої та гепатотоксичності призвели до неминучих — судових позовів. Грант і Бек проти Pharmavite and Nutraceutical Corporation розглядали випадок 50-річної жінки, яка стверджувала, що приймала 500 мг продукту циміцифуги галузистої на день перед появою жовтяниці, що призвело до діагнозу аутоімунний гепатит. Хворому потрібна трансплантація печінки. Про випадок повідомляли Левицький та інші у 2005 році у випуску *Digestive Diseases and Sciences* [82]. У тому ж журналі в 2008 році була опублікована помилка до статті. Один з авторів, Майкл Ф. Соррелл, доктор медичних наук, гастроентеролог, був одним із лікарів співпозивачки Сьюзен М. Гранти, і був залучений як свідок-експерт. Згідно з судовими документами, лише після того, як доктор Соррелл був залучений як свідок-експерт, він подав для публікації звіт про справу Грант, який нібито пов'язував її захворювання печінки з циміцифугою галузистою. Опублікований звіт про справу включав заяву про те, що пацієнт «не вживав алкоголь і не вживав заборонених наркотиків, а також не вживав жодних ліків, включаючи інші рослинні ліки, ацетамінофен та нестероїдні протизапальні препарати». Однак свідчення позивача показали, що вона регулярно вживала вино, регулярно вживала ібупрофен (НПЗЗ), і їй призначили противірусний препарат валацикловір, що може сприяти захворюванню печінки.

Суд виніс відповідачам судове рішення у спрощеному порядку, що призвело до звільнення [83].

У прес-релізі USP від 26 червня 2007 року повідомлялося, що Комітет експертів з інформації про дієтичні добавки (DSI-EC) проголосував за те, щоб вимагати нового маркування, що свідчить про потенційний зв'язок між циміцифугою галузистою і ураженням печінки. Пропоноване проміжне оголошення про перегляд із застереженням щодо циміцифуги галузистої було опубліковано у Фармакопейному форумі на 60-денний період громадського обговорення [84].

У прес-релізі від 11 січня 2008 р. АНРА закликала USP відмовитися від застережень щодо етикетки щодо циміцифуги галузистої, відзначаючи наступне: «USP не розглянув повний асортимент продуктів, які можуть містити різноманітність різних форм циміцифуги галузистої або що запропонована обережність фактично виправдана для всіх доз і моделей використання», і «Що потреба в застережній заяві була заснована на невідповідно вузькому огляді повідомлень про випадки, які без підтверджуючих даних є недостатніми для виправдання запропонованого застережливого маркування» [85].

У 2008 році USP DSI-EC опублікував ретельний огляд передбачуваних повідомлень про випадки гепатотоксичності циміцифуги галузистої, а також нормативних заходів та реакцій. У широкому огляді повідомлень про побічні явища зазначено, що DSI-EC помітив, що зв'язок між циміцифугою галузистою і повідомленнями про ураження печінки був слабким і з невизначеною причиною. Слабкими сторонами розглянутих даних було виявлено неповну інформацію про випадки та невідомі продукти, потенційно змішуючи змінні, такі як вживання алкоголю та інших ліків, а також наявні фактори ризику захворювання печінки. Незважаючи на ці та інші обмеження доступних даних, DSI-EC вирішила перекласифікувати циміцифугу галузисту як «Клас 2» для цілей монографії USP, вимагаючи застереження на етикетці із зазначенням наступного: «Припиніть використання та проконсультуйтеся з лікарем, якщо у вас є захворювання печінки або з'являються симптоми захворювання печінки, такі як біль у животі, темна

сеча або жовтяниця». Застереження на етикетці стосується лише продуктів, які представлені як ті що відповідають специфікаціям офіційної монографії USP-NF [86].

Гепатотоксичність комерційних продуктів, позначених як такі, що містять «циміцифугу галузисту», пов'язана з помилковою ідентифікацією видів рослин.

Незважаючи на численні випадки повідомлень про гепатотоксичність, пов'язану з продуктами, позначеними які містять циміцифугу галузисту, принаймні 82 випадки, зареєстровані у всьому світі на початок 2010 року, причинно-наслідкові зв'язки залишаються спірними. 23 березня 2010 р. на симпозиумі під назвою «Розвиток досліджень ботанічних харчових добавок з 1994 по сьогодні», організований Фармацевтичним коледжем UIC на честь 80-річчя від дня народження професора Фарнсворта Робін, доктор філософії Дж. Марлес та його колеги з різних відділень Міністерства охорони здоров'я Канади представили звіт про зв'язування гепатотоксичності комерційних продуктів, позначених як циміцифуга галузиста, пов'язано з невірною ідентифікацією видів рослин. У березні 2010 року доктор Марлес та його колеги з Міністерства охорони здоров'я Канади повідомили, що згідно з канадськими законами агенція ліцензувала принаймні 78 натуральних продуктів для здоров'я (NHP), що містять циміцифугу галузисту, і що невідома кількість додаткових несанкціонованих продуктів на ринку ще не відповідала правилам NHP.

Доктор Марлес та його колеги отримали однакові партії циміцифуги галузистої в роздрібних торгових точках та від виробника чотирьох продуктів тієї ж марки, що мають маркування циміцифуги галузистої, включаючи продукт з маркуванням, що містить лише циміцифугу галузисту, а також 3 додаткові комбіновані продукти які випускаються виробником. Дані продукти були пов'язані з ймовірними побічними реакціями печінки. Еталонні стандарти актеїну, 23-епі-26-доексіактеїну та порошку циміцифуги галузистої були отримані з USP. Цимірацемозид С та циміфугін були придбані у ChromaDex (Санта-Ана, Каліфорнія). Для аналізу продуктів використовували РХ-МС (рідинна хроматографія-мас-спектрометрія) з детектором фотодіодних масивів. Аналіз

Міністерства охорони здоров'я Канади трьох продуктів і аналіз виробника четвертого продукту показали, що в продуктах немає справжньої циміцифуги галузистої в порівнянні з стандартними хімічними стандартами. Вірогідною спорідненою речовиною, як повідомлялося, була *A. cimicifuga (C. foetida)*, але, як повідомляється, їх постачальник сировини вважав, що це *A. dahurica (C. racemosa)* виходячи з сусіднього складського зберігання двох китайських видів. Знову ж таки, ці продукти були пов'язані з випадками ймовірних побічних реакцій з боку печінки.

Після завершення тестування доктор Марлес та інші повідомили, що Міністерство охорони здоров'я Канади зв'язалося з усіма ліцензіатами на продукти з циміцифуги галузистої, з яких було встановлено, що 52 використовували відповідний метод аутентифікації (не зазначено які саме методи використовували ліцензіати), сім ліцензіатів подали запит на скасування своєї ліцензії, п'ятеро не надали достатньо інформації для визначення відповідності, а двоє не відповіли. 11 ліцензіатів використовували лабораторію третьої сторони, яка, як повідомлялося, використовувала неперевірений метод, який повертав хибно-позитивні результати [87].

Пеінтер та його колеги у 2010 повідомляли про канадські продукти, пов'язані з шістьма випадками гепатоксичності печінки, пов'язаними з продуктами, позначеними як циміцифуга галузиста. Продукти були проаналізовані відповідно до методів, описаних доктором Марлесом та його колегами, і було виявлено, що вони містять види *Actaea*, які відмінні від циміцифуги галузистої. У двох інших випадках передбачуваної токсичності печінки циміцифуги галузистої, пов'язаних з продуктами, не ліцензованими Міністерством охорони здоров'я Канади, продукти, пов'язані з цими випадками, не були отримані для хімічного аналізу. Вони запропонували більшу пильність у повідомленні про реакції печінки на продукти, які позначені що містять циміцифугу галузисту [88].

У червні 2007 року NIH ODS зібрала семінар-практикум щодо поточного стану знань про циміцифугу галузисту в Гейтерсбурзі, штат Меріленд. У

короткому змісті результатів семінару Бетц та його колеги у 2009 відзначили, що на відміну від повідомлень про побічні явища, у клінічних випробуваннях та інших дослідженнях на людях, в яких брали участь понад 3000 суб'єктів, у жодному з випробувань не було жодного повідомлення про серйозні проблеми з печінкою. У двох випадках повідомлялося про незначне підвищення рівня печінкових ферментів, але його було визнано клінічно незначним [89].

Під час детальної, ретельної оцінки причинно-наслідкових зв'язків — з використанням діагностичного алгоритму — чотирьох випадків передбачуваної токсичності печінки циміцифуги галузистої, підозрюваних ЕМЕА/НМРС, Тешке зі своєю командою у 2009 не знайшли доказів причинно-наслідкового зв'язку між циміцифугою галузистою і ураженням печінки. Аналіз, огляд якості та причинно-наслідкові зв'язки всіх опублікованих повідомлень про випадки, а також спонтанних повідомлень про ймовірну токсичність циміцифуги галузистої, оцінених за шкалою Ради міжнародних організацій наук (CIOMS), показали відсутність причинно-наслідкового зв'язку для циміцифуги галузистої у всіх випадках. У цьому огляді Тешке та його колеги дійшли висновку, що справжня циміцифуга галузиста не може викликати явної гепатотоксичної дії, але проблеми з якістю деяких продуктів можуть вимагати додаткових нормативних специфікацій якості. Вони писали, що основна увага має бути зосереджена на специфікаціях якості, щоб гарантувати виявлення будь-яких проблем, пов'язаних із домішками, помилковими ідентифікаціями та фальсифікацією продуктів циміцифуги галузистої [78, 90].

Борреллі та Ернст у 2008 провели огляд небажаних явищ, пов'язаних з продуктами циміцифуги галузистої та виявили, що клінічні дослідження свідчать про безпечність циміцифуги галузистої. Автори зауважили, що повідомлення про випадки, для яких причинно-наслідковий зв'язок є проблематичним, потребують негайного подальшого дослідження [75].

В інших дослідженнях не спостерігалось утворення потенційно токсичних метаболітів фази I у жінок у перименопаузі, які приймали *C. racemosa*, і не було повідомлень про несприятливі зміни профілів ліпідів, фібриногену, глюкози та

інсуліну у 310 пери- і постменопаузних жінок після трьох місяців регулярного прийому (200 мг на добу). При оцінці 400 жінок у постменопаузі не було жодних ознак проліферації ендометрії або значних побічних ефектів, пов'язаних з гінекологією, за оцінкою методу біопсії, а також не спостерігалось збільшення щільності грудей після одного року лікування *C. racemosa*. Хоча ферменти печінки також не зазнали впливу, спостерігалось збільшення загального холестерину та тригліцеридів [47, 51].

Було показано, що шість тритерпеноїдних глікозидів *C. racemosa* *in vitro* інгібують CYP3A4, основний фермент цитохрому (CYP) P-450, пов'язаний з метаболізмом ліків фази I [91]. Цей висновок не був підтверджений у клінічному дослідженні 19 здорових дорослих, де добавка стандартизованого екстракту *C. racemosa* протягом 14 днів не призвела до значних змін у сироваткових рівнях відомого субстрату CYP3A. В окремому дослідженні за участю 12 здорових добровольців *C. racemosa* викликала зміни у співвідношеннях фенотипових ознак CYP, що вказує на помірне пригнічення CYP2D6. Однак подальше дослідження за участю 16 здорових дорослих людей не продемонструвало значного пригнічення CYP2D6. У ході дослідження можливої взаємодії між екстрактом *C. racemosa* та лікарським засобом дигоксином у 16 людей концентрація в сироватці крові не виявила змін у фармакокінетиці дигоксину після 14 днів прийому добавок. Враховуючи, що дигоксин є відомим субстратом для транспортера P-глікопротеїну (P-gp), автори дійшли висновку, що існує невеликий ризик опосередкованої P-gp лікарської взаємодії з *C. racemosa* [92].

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1

Отже після проведення аналізу літературних джерел можна зробити висновок, що циміцифуга галузиста – це важлива лікарська рослина, особливо для жінок які відчули дію менопаузальних симптомів.

Вважається, що основним механізмом дії екстрактів циміцифуги (*C. racemosa*) є естрогенна активність. У тей же час результати сучасних досліджень молекулярного складу екстрактів циміцифуги і молекулярних механізмів дії компонентів екстрактів вказують на такі вкрай важливі механізми дії, як активація серотонінергічних і ГАМК-ергічних шляхів нейротрансмісії, протизапальних і протидіабетичних ефектів, . Наявність у стандартизованих екстрактів *C. racemosa*, імуномодельючого (протипухлинного) ефекту робить перспективним використання препаратів на основі екстрактів *C. racemosa* для супроводу замісної гормональної терапії естрогенами.

Але не обійшлося без проблем. Виробники рослинної сировини навмисно або ненависно фальсифікують рослинну сировину. Це відбувається через те що у світі фітопрепарати користуються великою популярністю. Внаслідок чого є величезний обсяг пропозицій на ринку та різні діапазони цін, різноманітні специфікації, методики контролю та різні види рослин, особливо види зазначені в китайських джерелах як «екстракт чорного кохошу». Найбільше фальсифікацій стається через те що замість *C. racemosa* використовують інші Північно-Американські види, які не несуть загрози здоров'ю, але мають іншу ефективність та хімічний профіль. Але частіше виробники ліків купують сировини в Китаї через банальну дешевизну. Як показує практика в більшості випадків звідти приїжджає не *C. racemosa*, а її азіатські види, становлять гіпотетичну небезпеку через можливість ураження печінки.

Таким чином для забезпечення виробників та покупців від фальсифікацій необхідно точно ідентифікувати *C. racemosa* від інших видів, але через спорідненість видів це зробити досить складно. Тому необхідно використовувати точні методи для підтвердження автентичності.

РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТІЛЬНА ЧАСТИНА

2.1. Матеріали і методи досліджень

Ботанічна мікроскопія особливо цінна для виявлення домішок неорганічних матеріалів, які не можна виявити за допомогою стандартної хімічної оцінки, наприклад наявність бруду змішується з кореневим матеріалом. Так само мікроскопія може також виявити, коли в зразку присутні дві різні частини однієї рослини.

Наприклад, хімічні профілі кореня і листя жовтокореню (*Hydrastis canadensis*) дуже подібні, тому забруднення необхідного кореневого матеріалу листом можна легко уникнути за допомогою стандартних хімічних тестів (наприклад, ВЕРХ/ВЕТШХ). І навпаки, мікроскопічно визначити наявність забруднення листям дуже легко, оскільки структурні відмінності між кореневими та листковими тканинами легко помітні.

У деяких випадках здатність виявляти сліди домішок за допомогою ботанічної мікроскопії є значною.

Наприклад, китайський ринок трав зіткнувся з довгостроковою проблемою фальсифікації кількох видів відносно нетоксичних рослин (наприклад *Akebia*, *Clematis* та *Stephania*) з рослинами, які містять високо нефротоксичну та канцерогенну сполуку аристолохієву кислоту (наприклад, *Aristolochia fangchi*, *Aristolochia manshuriensis*). За допомогою мікроскопічного аналізу фальсифікацію вищезгаданих трьох видів рослин, що містять аристолохієву кислоту, можна виявити за лічені хвилини за наявністю кристалів, які характерні для рослин, що містять аристолохієву кислоту, але відсутні в інших. Аналогічно можна діяти з різними забруднювачами, такими як бруд, частини комах і волоски гризунів, хоча їх здебільшого не можливо виявити за допомогою стандартної хімічної оцінки, але всі ці забруднювачі легко виявляються під мікроскопом.

Ботанічна мікроскопія також знайшла значну користь у таких галузях, як судова експертиза, коли знайдені фрагменти рослин можна простежити в різних місцях, або в історичних дослідженнях, таких як відстеження походження Туринської плащаниці завдяки наявності уламків рослин і пилку.

З впровадженням електронної та ближньої інфрачервоної мікроскопії в цю дисципліну, ботанічна мікроскопія продовжує еволюціонувати завдяки техніці. За допомогою електронної мікроскопії можна отримати ще більші рівні збільшення, специфічності та виявлення, а за допомогою мікроскопії інфрачервоної мікроскопії можна легко ідентифікувати навіть органічний вміст клітин.

Для цілей ботанічної ідентифікації найвищого рівня впевненості в ідентичності можна досягти за допомогою морфологічного аналізу. Однак, загалом, офіційна ботанічна ідентифікація широко не використовується під час торгівлі лікарськими рослинами. Дуже рідко виробники знаходять постачальників інгредієнтів, які можуть надати затвердження свідчення про ботанічну автентичність, що піднімає питання про справжність рослин у торгівлі.

Початковий набір фармакогностичних засобів, що використовуються для оцінки якості частин лікарських рослин, — це макро і мікроанатомія та органолептичний аналіз (сенсорна оцінка), а саме розмір, вигляд, колір, форма, консистенція, смак і аромат.

Морфологічний та органолептичний аналізи пропонують набір тестів, які в руках підготовлених осіб можуть дати оцінку найтонших характеристик, що сприяють ідентифікації та підтвердженню справжності якості рослини, а мікроскоп дозволяє оцінити рослинний матеріал на клітинному рівні.

Як аналітичний інструмент, ботанічна мікроскопія може бути самостійною для встановлення ідентичності, чистоти, а іноді й загальної якості лікарської рослини; це може допомогти вказати, що саме хімік має шукати, і може допомогти підтвердити результати хімічної оцінки. За відсутності відповідної ботанічної ідентифікації, макроскопічні та мікроскопічні ознаки є одними з найбільш «стабільних» характеристик рослини, коли справа доходить до ідентифікації. У багатьох випадках ботанічна мікроскопія може підтвердити ідентичність рослин і виявити фальсифікати, коли одна хімія не може. Найчастіше набір аналітичних інструментів є найкращим для загальної оцінки якості ботанічних матеріалів. Раніше висловлені Кремером екстравагантні твердження про широку корисність ботанічної мікроскопії були обмежені тогочасною

наукою. Тим не менш, вони показали практичну цінність мікроскопії для оцінки багатьох різних аспектів ідентичності рослин, чистоти та якості за допомогою одного аналітичного методу.

Основним набором навичок, необхідних для ідентифікації, є ботаніка, яку необхідно повніше інтегрувати в індустрію ботанічних продуктів на момент збору врожаю. Заміни можуть бути ненавмисними або навмисними, для прикладу нижче наведено таблицю прикладів підробок через ботанічні заміни та фальсифікації (табл. 1).

Приклади підробок через ботанічні заміни та фальсифікації Таблиця 1

Звичайна назва та сировина	Ботанічна назва	Фальсифікація	Ботанічна фальсифікація	Наслідок
Альбіція іранська (кора і квіти)	<i>Albizia julibrissin</i>	Квіти магнолії	Види магнолії	Різна дія
Американський женьшень (корені)	<i>Panax quinquefolius</i>	Ціла рослина, відпрацьований матеріал	н/з	Знижує та змінює співвідношення гінсенозидів; неефективний
Фрукт амли (алманакі)	<i>Phyllanthus emblica</i>	Зіпсовані плоди	н/з	Медикаментозно менш ефективний; потенційне мікробне забруднення та бруд
Дягель (корені)	<i>Angelica archangelica</i>	Корінь любистку	<i>Levisticum officinale</i>	Дія схожа; хімічно схожі
Арніка гірська (квіти)	<i>Arnica montana</i>	Помилкова арніка, нагідки лікарські	<i>Heterotheca inuloides</i> , <i>Calendula officinalis</i>	Медикаментозно різні; інший профіль безпеки
Ашваганда (корені)	<i>Withania somnifera</i>	Лист ашваганди, інші види <i>Withania</i>	<i>Withania somnifera</i> , <i>W. coagulans</i>	<i>W. coagulans</i> різна ефективність та безпека
Чорниця звичайна (Екстракт плодів чорниці)	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Інша Види <i>Vaccinium</i> , пігменти або барвники амаранту, шовковиця, шкірка чорної квасолі та синтетичні барвники змішані з виноградними кісточками	<i>Vaccinium corymbosum</i> , <i>V. uliginosum</i> , <i>V. vitis-idaea</i>	Інші види <i>Vaccinium</i> можуть бути схожі лікарською дією; підробка з пігментами є шахрайським продуктом
Циміцифуга галузита (чорний)	<i>Actaea racemosa</i>	Інші Північно-Американські та	<i>Actaea pachypoda</i> ,	Інші види <i>Actaea</i> не використовуються

Звичайна назва та сировина	Ботанічна назва	Фальсифікація	Ботанічна фальсифікація	Наслідок
кохош) (корені)		азіатські види циміцифуги	<i>A. podocarpa</i> , <i>A. rubra</i> , <i>A. cimicifuga</i> , <i>A. dahurica</i> , <i>A. heracleifolia</i>	таким же чином; деякі види можуть бути токсичними; Азіатські види мають дуже відмінний хімічний профіль
Кордицепс китайський (Мицелій)	<i>Cordyceps chinensis</i>	Інші види <i>Cordyceps</i> , пшеничне борошно	н/з	Інші види <i>Cordyceps</i> можуть мати еквівалентну лікарську дію; матеріал виготовлений з борошна є шахрайським
Калина звичайна (кора, стебло і корінь)	<i>Viburnum opulus</i>	Калина сливолиста	<i>Viburnum prunifolium</i>	<i>V. prunifolium</i> значно дешевша, ніж <i>V. opulus</i> менш ефективна
Ехінацея пурпурна (Корінь, лист, надземні частини)	<i>Echinacea purpurea</i>	Піретріум американський	<i>Parthenium integrifolium</i>	<i>P. integrifolium</i> не володіє такою ж імуностимулюючою активністю
Елеутерокок колючий (корінь, кореневище)	<i>Eleutherococcus senticosus</i>	Китайська шовкова лоза	<i>Periploca sepium</i>	<i>P. sepium</i> має андрогенні властивості, що призвело до принаймні одного випадку гірсутизму у немовляти; також містить серцеві глікозиди
Хамеліріум лютеум (корені)	<i>Chamaelirium luteum</i>	Алетріс	<i>Aletris farinosa</i>	<i>Chamaelirium</i> дорожчий чим <i>Aletris</i>
Женьшень звичайний (корені)	<i>Panax ginseng</i>	інші рослини, листи женьшеню в екстрактах, відпрацьований матеріал, наповнювачі (наприклад, дикальцій фосфат)	н/з	Змінюється або зменшується вміст гінсенозиду

Фармакопейні стандарти окреслюють дуже специфічний набір тестів на ідентичність та чистоту та встановлюють мінімальні стандарти якості, яким

повинен відповідати рослинний препарат. Фармакопеї різних країн розрізняються щодо розробки цих стандартів на основі як філософських основ, так і легкодоступних аналітичних методологій.

Для мінімальної оцінки ідентичності використовують набір тестів, який складається з класичних методологій оцінки фармакогнозії та включає в себе макроскопічні, органолептичні та мікроскопічні характеристики.

Для стандартів чистоти зазвичай застосовують випробування на сторонні речовини; визначення загальної золи, яка є мірою органічних і неорганічних сторонніх речовин; втрата в масі при висушуванні; іноді екстрактивні речовини; а іноді й інші характеристики. Для якості більшість фармакопей вимагають, щоб рослинний матеріал містив мінімальну кількість певного компонента, який безпосередньо корелює з активністю (наприклад саліцин у корі верби *Salix spp.*), який може бути сурогатним маркером ефективності (наприклад *кастицин* у вітексі священному, *Vitex agnus-castus*), або служить маркером стійкості матеріалу (наприклад гіперіцин у звіробої, *Hypericum perforatum*).

У деяких випадках можуть бути прийняті більш традиційні якісні маркери, такі як значення гіркоти кореню тирлича (*Gentiana spp.*) або індекс набухання для рослин, багатих слизом, таких як внутрішня кора в'яза слизького (*Ulmus rubra*) або корінь алтеї (*Althaea spp.*). Інші тести можуть включати прості тести на колірну реакцію, наприклад для диференціації китайського зірчастого анісу (*Illicium verum*) від його звичайного зірчастого анісу (*Illicium anisatum*) (Рис. 8) (останній, як відомо викликає судоми у дітей) або індекс піноутворення для рослин, багатих на сапоніни.

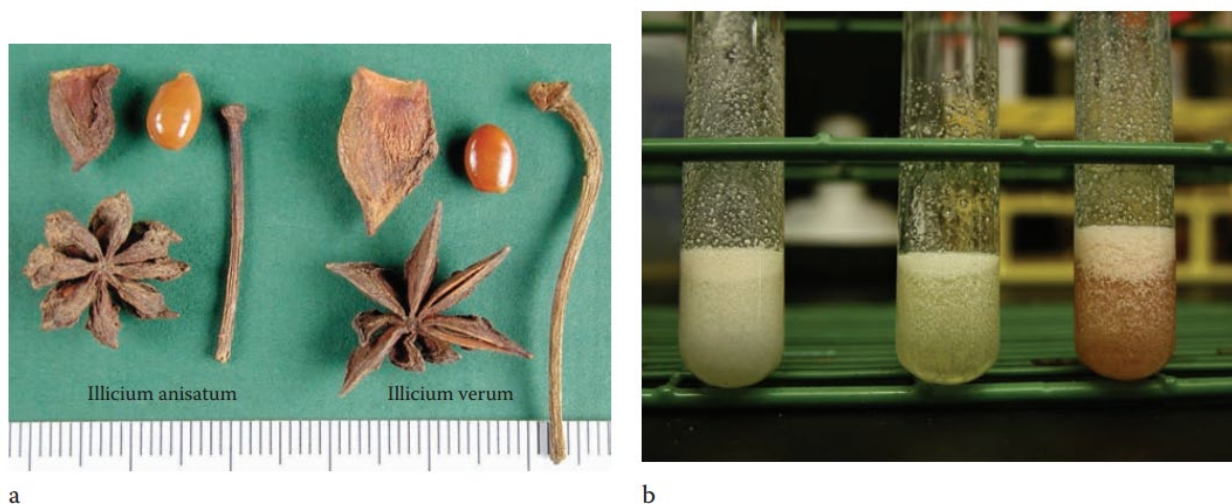


Рис. 8 (а) Порівняння двох різних видів анісу: фолікули японського зірчастого анісу (*Illicium anisatum*, ліворуч) та китайського зірчастого анісу (*I. verum*, праворуч). (б) Колориметричний аналіз Phang (1962), який показує червоне забарвлення китайського зірчастого анісу (*I. verum*, праворуч), жовтувате забарвлення японського зірчастого анісу (*I. anisatum*, посередині) та контрольний зразок (ліворуч).

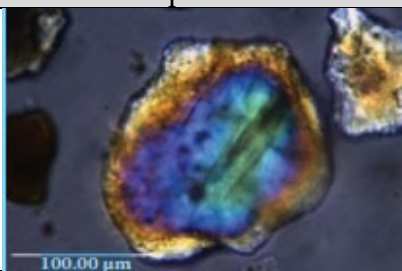

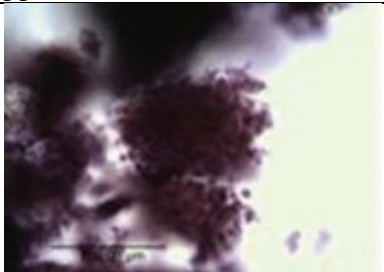
Фармакопеї встановлюють стандарти, які на думку експертів, є відповідними для якісної оцінки лікарської рослини і надають рекомендації щодо проведення цих тестів. Таким чином, вони створюють незалежну основу для якісних інгредієнтів і препаратів рослинного походження. Для відповідності офіційної фармакопейної монографії необхідно дотримуватися всіх тестів у монографії [94].

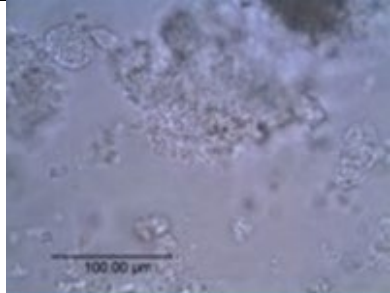
Для ЛРС виробники зобов'язані розробляти стандарти ідентичності, чистоти, міцності та складу та виготовляти продукт таким чином, щоб запобігти фальсифікації. Рослинні лікарські препарати піддаються таким самим вимогам GMP, що й звичайні фармацевтичні препарати.

Основною метою поточних стандартів GMP є забезпечення автентичності використовуваної сировини. Кожен виробник зобов'язаний провести принаймні один «науково обґрунтований» тест, щоб переконатися в ідентичності ЛРС. Це означає, що виробники не можуть покладатися на паперову документацію від постачальника, як це було в минулому. Крім того, критично важливо, щоб тест мав достатній ступінь специфічності, щоб зробити таке визначення з упевненістю.

Дуже рідко ідентифікацію та впевненість у відсутності домішок чи добавок можна визначити хімічно або за допомогою будь-якого іншого більш складного тесту. Наприклад, як було зазначено раніше щодо жовтокореню, інші рослини, що містять берберин або листя жовтокореню можуть бути змішані з коренем, таким чином даючи очікуваний хімічний профіль. Як варіант, відповідна частина може включати певний відсоток забруднення через неправильне очищення - це залишиться непоміченим у типовому хімічному аналізі, але його легко розпізнати за допомогою макроскопічних або мікроскопічних оцінок за допомогою візуального спостереження та колірних реакцій (Таблиця 2).

Приклади кольорових реакцій Таблиця 2

Домішка	Реагент	Реакція	Зображення
Пісок	Хлоралгідрат	Кольори веселки з поляризованим світлом	
Крохмаль	Гліцерин	Мальтійський хрест з поляризацією	 Мальтійський хрест у крохмальному зерні <i>Solanum Spp</i>
Рисовий крохмаль	Йод	Блакитно-чорний колір	

Домішка	Реагент	Реакція	Зображення
Рисовий крохмаль	Етанол і гліцерин	Полігональні діаметром 2–10 мкм; прості або складені	

2.2. Результати досліджень

Кореневище Циміцифуги галузистої було зібрано на ділянці лікарських рослин Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України.

Кореневище темно-коричневого кольору, жорстке, півциліндричне та вузлувате; в діаметрі 1,5-2,5 см та завдовжки від 2 до 15 см. На ньому виявляються численні тісно розташовані прямі або перекручені пагони, кожен з них закінчується залишками бруньки або круглим чашоподібним рубцем. Злам грубий, на поперечному зрізі виявляється тонка зовнішня кора, що оточує круг численних блідих, вузьких, клиноподібної форми ділянок провідної тканини, які чергуються з темнішими серцевинними променями також є велика центральна порожнина. Кореневище представлено на рисунку 9.



Рис. 9 - Ціла сировина

Корені відходять від нижньої поверхні кореневища, вони легко відламуються та залишають рубці круглої форми. Корені мають темно-коричневий колір, 1-3 мм в діаметрі, крихкі, майже циліндричні або тупо-квадратні та подовжньо-зморшкуваті. На зламі рівні, на поперечному зрізі добре вирізняється широка зовнішня кора та темно-коричневий циліндр. Центральна

частина циліндру складається із 3-6 світліших ділянок провідної тканини, що з'єднуються з центром широкими нездерев'янілими серцевинними променями.

Фрагментована сировина складається з більш або менш кутастих, нерівних шматочків кореневища та циліндричних шматочків коренів. Тверді та грубі шматочки фрагменти кореневища, звичайно темно-коричневі на зовнішній поверхні, деякі часто смугасті, світло-коричнева поверхня відповідає зрізу. Темно-коричневі корені, більш або менш циліндричні фрагменти коренів поздовжньо зморшкуваті [95]. Подрібнена сировина представлена на рисунку 10.



Рис. 10 Подрібнена сировина

Для мікроскопічного аналізу виконували зрізи за допомогою леза. Для просвітлення сировини її підігрівали у просвітлювальній рідині: розчин хлоралгідрату та 5% розчин натрію гідроксиду.

Мікроскопічну будову вивчали за допомогою тринокулярного мікроскопу фірми ULAB при збільшенні в 40, 100 та 400 разів. Для отримання фотознімків використовували дзеркальну фотокамеру Sony Alpha a7 III.

Поперечний зріз: Темно-коричневий епідерміс; кора безбарвної паренхіми з потовщеними кутами клітин і невеликими трикутними міжклітинними проміжками між більшістю клітин; судинні пучки розташовані радіально навколо великої центральної серцевини і розділені широкими медулярними променями;

флоема з тангенціально витягнутих, стиснутих клітин; випадкові волокна та склереїди вбудовані до зовнішньої сторони кожного пучка флоєми; вторинні судини ксилеми мають діаметр до 60 мкм з облямованими ямками або сітчастим потовщенням і пов'язані з волокнами; злегка потовщені медулярні променеві клітини, з частими трикутними або прямокутними міжклітинними проміжками.

Поперечний розріз: екзодерма з темно-коричневих папілозних клітин з товстими поперечно-смугастими зовнішніми стінками; кора товстостінна паренхіма; добре виражена ендодерма; тетрархна стела з великими ділянками вторинної ксилеми які чергуються з малими ділянками первинної ксилеми; паренхіма в тканині ксилеми повністю заміщена волокнами.

Крохмаль: багато в кореневищах і коренях; прості, сферичні гранули, діаметром до 10 мкм; складні з'єднання з двох-трьох гранул зустрічаються рідко.

Порошок: містить фрагменти волокон ксилеми і судин з облямованими ямками або сітчастими потовщеннями; волокна флоєми і склереїди в поздовжньому вигляді; клітини паренхіми; крохмаль.

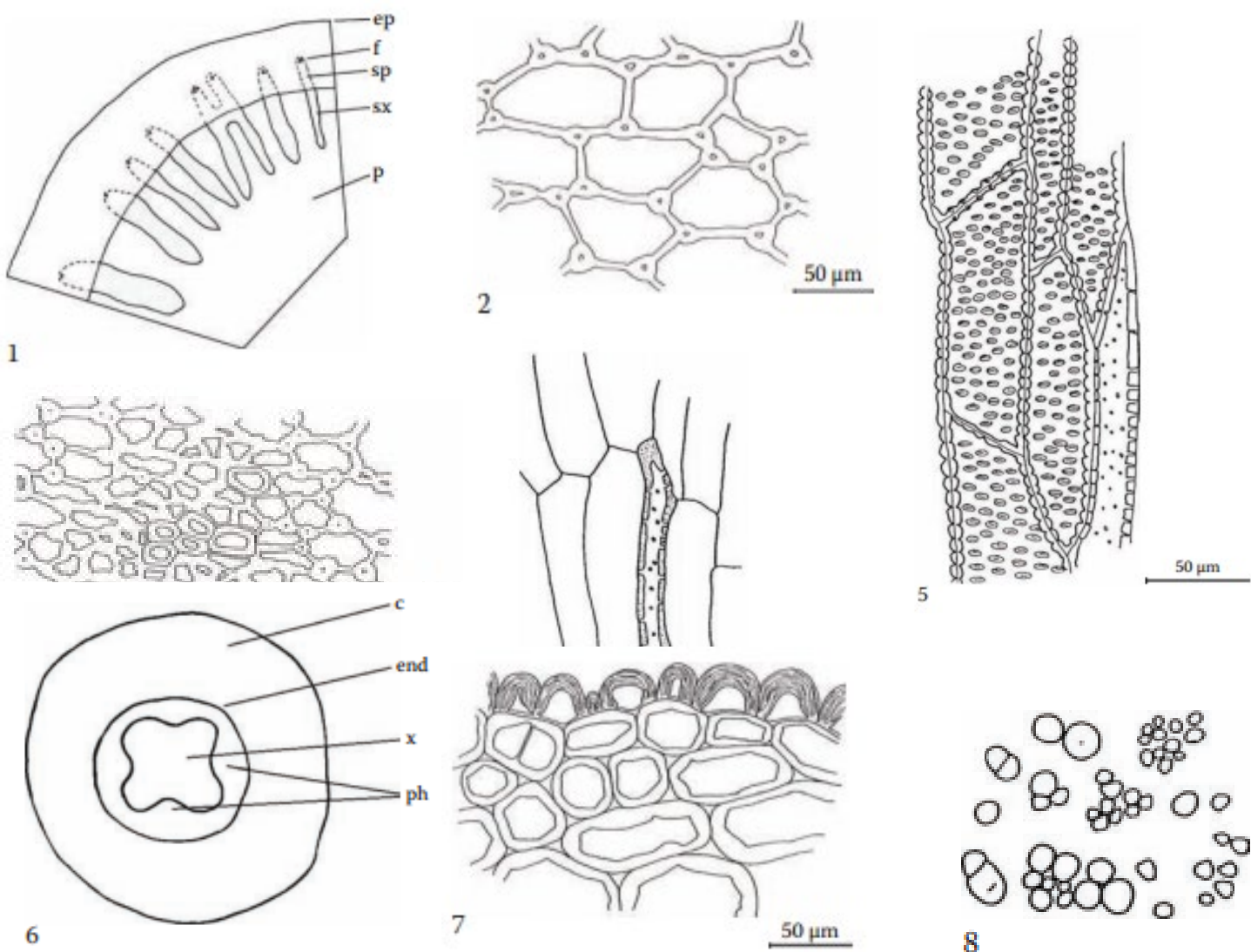


Рис. 11 – Анатомічна будова *Cimicifuga rhizoma*

1. Поперечний розріз кореневища: епідерміс (ep), волокна (f), вторинна флоема (sp), вторинна ксилема (sx) і серцевина (p).

2. Фрагменти паренхіми кореневища з рівномірно потовщеними оболонками і трикутними міжклітинниками.

3. Флоемні волокна в кореневище.

4. Тангенально видовжені клітини флоєми з окремими довгими склереїдами.

5. Короткі судини з облямованими порами та з прилеглими дрібнопористими волокнами ксилеми.

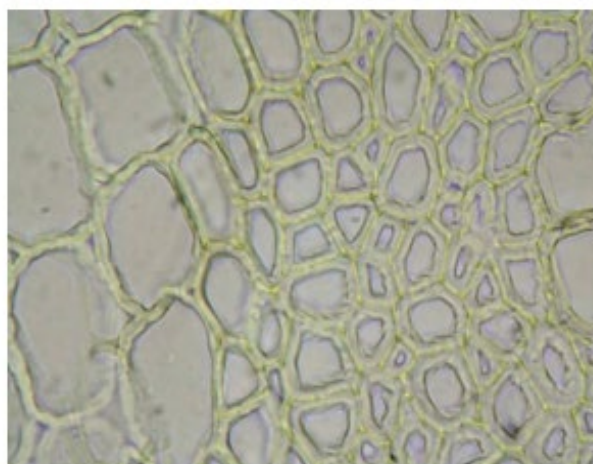
6. Поперечний зріз кореня: кора (c), ендодерма (кінець), флоєма (ph) і ксилема (x).

7. Фрагменти епідерми вкриті темною кутикулою.

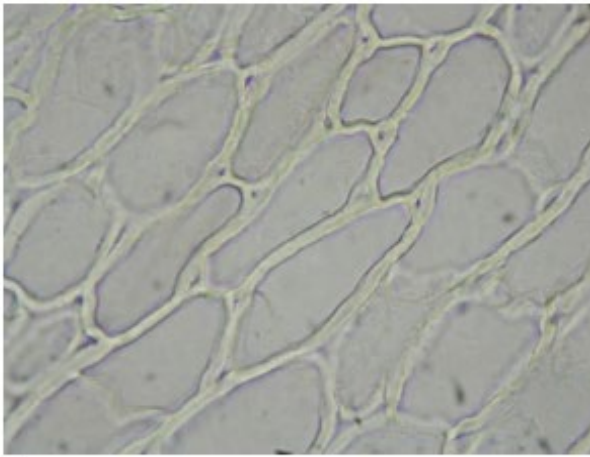
8. Крохмальні зерна кулясті або багатокутні прості і складні (3-6 компонентні), окремі з щілеподібним центром утворення.



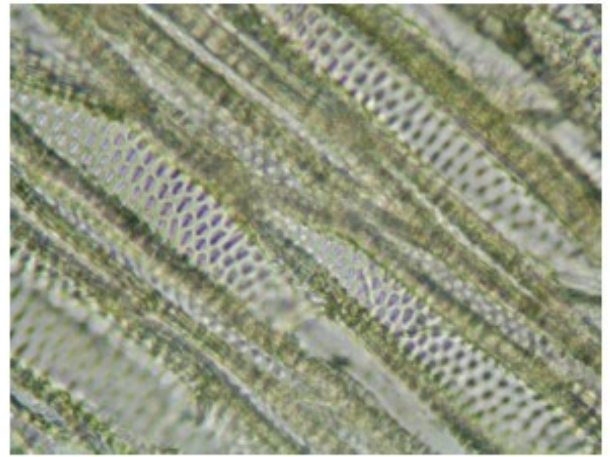
1



2

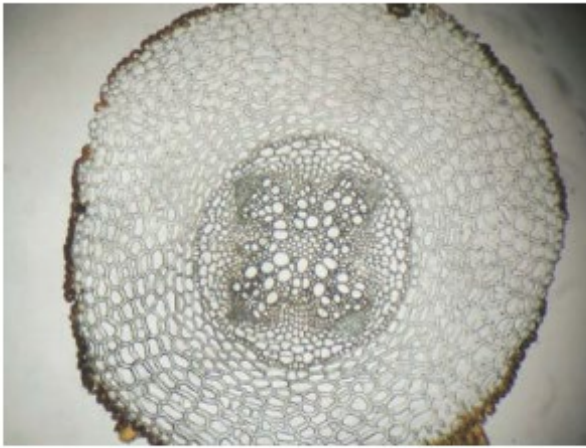


3

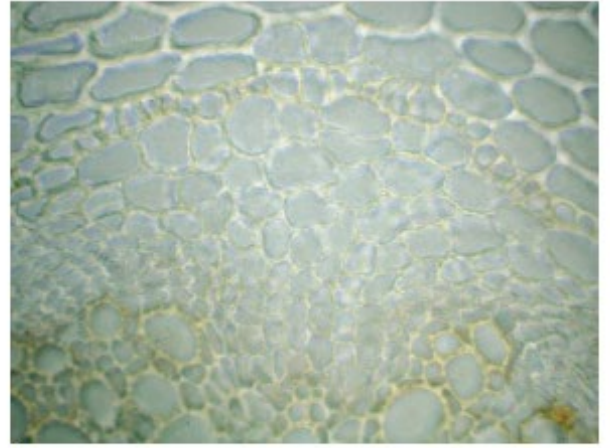


4

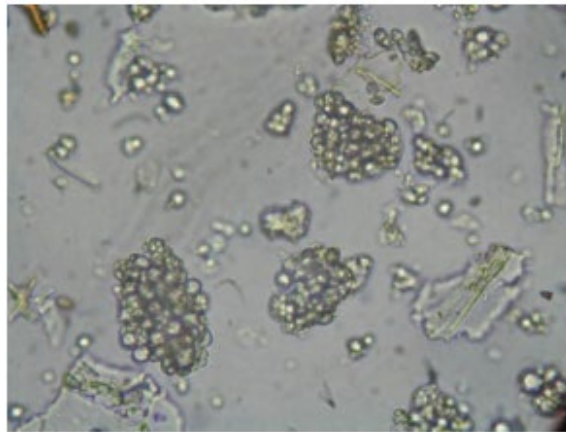
Рис. 12 - *Cimicifuga rhizoma* мікроскопія



5



6



7

Рис. 12 - *Cimicifuga rhizoma* мікроскопія (продовження)

1. Поперечний розріз кореневища: вузькі нитки судин і волокон, широкі медулярні промені, вторинна флоема з невеликими пучками волокон зовні ситовидних клітин.

2. Паренхима серцевини.

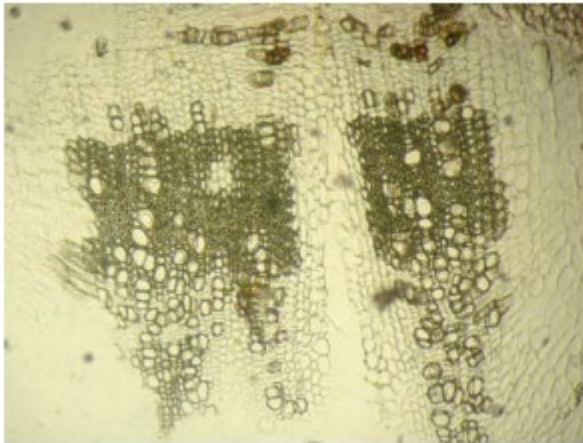
3. Коркова паренхіма кореневища.
4. Посудини з облямованими ямками в кореневище.
5. Поперечний зріз кореня.
6. Ендодерма кореня.
7. Крохмальні зерна.



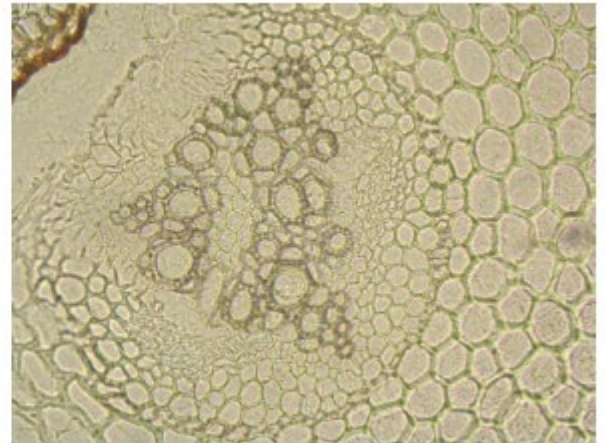
1



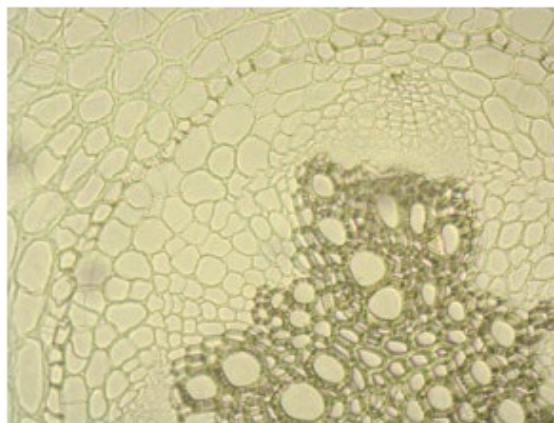
2



3



4



5

Рис. 13 – Мікроскопія близькоспоріднених до *Actea racemose* L. видів

1. *C. pachypodarhizome* поперечний розріз.

2. Поперечний зріз кореня *C. pachypoda* з тетрархними судинними пучками та ендодерми.

3. *C. podocarparhizome* поперечний розріз.

4. Молодий корінь *C. podocarpa* із триархним судинним пучком та ендодермою.

5. Старий корінь *A. podocarpa*, із тетрархним судинним пучком і широкою ендодермою.

Для проведення фітохімічних реакцій використовували попередньо висушену та подрібнену в ступці та фракційовану ЛРС.

Проведення якісних реакцій, що дозволяють виявити сапоніни в рослинному екстракті. Для цього 5,0 г подрібненої сировини поміщаємо в конічну колбу вміст 100 мл, доливаємо 50 мл 50%-вого спирту, далі гріли вміст колби зі зворотним холодильником на киплячій водяній бані протягом 15 хвилин. Витяг охолоджували та фільтрували. 20 мл фільтрату випарювати на водяній бані поки в колбі не лишилося 10 мл (доти не видалили зайвий спирт). Отриманий водний витяг в подальшому буде використано для проведення проби піноутворення, деяких осадових реакцій і визначення хімічної природи сапонінів, спиртоводний витяг - для інших якісних реакцій, також даний витяг можна використовувати для хроматографічного аналізу.

Проба піноутворення дозволяє встановити наявність сапонінів, для цього 2-3 мл водного витягу енергійно струшували протягом 1 хв. Спостерігали утворення утворення рясної і стійкої піни (Рис. 14).



Рис. 14 - Проба піноутворення

Для визначення хімічної природи сапонінів в одну з двох мірних пробірок налили 5 мл 0,1 н хлористоводневої кислоти, а в другу – 5 мл 0,1 н розчину натрію гідроксиду. В обидві пробірки додали по 3 краплини водного витягу і збовтували протягом 1 хв. При наявності в сировині тритерпенових сапонінів в обох пробірках утворилася піна однакового об'єму і стійкості, а коли присутні

сапоніни стероїдної групи, то в лужному середовищі об'єм піни та її стійкість набагато більші. Спостереження. Утворилася стійка піна у лужному середовищі (Рис. 14), що свідчить про наявність стероїдних сапонінів.



Рис. 14 – Визначення природи сапонінів

При проведенні реакції з ацетатом свинцю (до 1 мл водного витягу додали 3-4 краплі 10%-вого розчину свинцю ацетату) спостерігали потімнення витягу і кристалічний осад- (Рис. 16).



Рис. 16 - Реакція осадження ацетатом свинцю

При проведенні реакції Лафона до 2 мл спирто-водного витягу в пробірці додавали 1 краплю 10%-вого розчину купрум сульфату та 1 мл кислоти сірчаної концентрованої і обережно нагрівали. Витяг в пробірці змінив колір на зелений з відтінками синього (Рис. 17).



Рис. 17 - Реакція Лафона

При проведенні реакції Сальківського до 2 мл спиртоводного витягу в пробірці додали 1 мл чотирихлористого вуглецю і 5-6 крапель концентрованої сірчаної кислоти. Спостереження: органічний шар забарвився в помаранчевий колір

При проведенні реакції Саньє до 2 мл спиртоводного витягу в пробірці додали 1 мл 0,5%-вого спиртового розчину ваніліну, 3-4 краплі концентрованої сірчаної кислоти і нагрівали на водяній бані при температурі 60° С. Спостерігали жовте забарвлення.

Для виділення флавоноїдів з ЛРС для проведення якісних реакцій на флавоноїди і в з можливістю використання даного витягу для хроматографічного аналізу.

Виконання досліду. 3-5 г подрібненої ЛРС залили 30-50 мл 70% -вого розчину спирту в колбу зі зворотним холодильником і проводили екстракцію на водяній бані протягом 20-30 хв. Далі витяг охолодили, профільтрували через 4 шари марлі або фільтрувальну папір. Отриманий фільтрат нанесли на колонку діаметром 1 см, яка заповнена 1,0 г поліамідного сорбента, промивали 50 мл води і виконували елюювання флавоноїдів колонки 70% -вим етанолом, відбираючи фракцію, забарвлену в жовтий колір. Отриманий елюат упарювали до 1/2 обсягу і далі його можна використовувати для проведення якісних реакцій і хроматографічного аналізу флавоноїдів.

Примітка. Елюювання - це розділення двох або більше адсорбованих речовин у хроматографічній колоні для промивання придатним розчинником.

Ціанідінову реакцію проводили шляхом додавання до 1 мл витягу 2-3 крапель кислоти хлористоводневої концентрованої і 1-2 щіпки металевого цинку. Спостерігали червоне забарвлення.

При проведенні модифікованої ціанідінової реакції по Бріанту до забарвленого продукту ціанідінової реакції додали 1/3 частини октанолу (можна також використовувати бутанол) за обсягом, розбавили водою до поділу шарів, струшували після чого відбувся перехід пігментів у водну та органічну фази.

Пігменти глікозидів залишилися у воді, а аглікони перейшли у шар органічного розчинника (Рис. 21).



Рис. 21 – Ціанідінова реакція за Бріантом

Реакцію з лугом проводили додаванням до 1 мл витягу 1-2 краплі 10%-вого спиртового розчину калію гідроксиду. Розчин посилив природне жовте забарвлення.

При проведенні реакції з алюмінієм хлоридом до 1 мл витягу додали 1 мл 2%-вого спиртового розчину алюмінію хлориду. Колір у пробірці набув жовтого забарвлення.

Реакцію із заліза (III) хлоридом проводили наступним чином до 1 мл витягу додали 2-3 краплі 1%-вого спиртового розчину заліза хлориду. Утворилося темно-зелене забарвлення.

Реакція Вільсона дозволяє встановити наявність 5-оксифлавонів та 5-оксифлавонолів спостерігаємо за появою яскраво-жовтого забарвлення. До 2 мл витягу додали 1 мл 2%-вого розчину борної кислоти і 1 мл 2%-вого спиртового розчину кислоти лимонної (можна також використовувати щавлеву). Спостерігали незначне посвітління витягу.

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 2.

Майже всі країни мають право розкривати ідентичність інгредієнтів у продуктах. Для цілей ботанічної ідентифікації найвищого рівня впевненості в ідентичності можна досягти за допомогою морфологічного аналізу. Однак, загалом, офіційна ботанічна ідентифікація не використовується широко в торгівлі лікарськими рослинами. Дуже рідко виробники знайдуть постачальників інгредієнтів, які можуть надати аффідевіт про ботанічну автентичність, що піднімає питання про справжність рослин у торгівлі. Однак ботанічна ідентифікація є специфічною лише для ідентифікації і не підходить для оцінки якості або оцінки екстрактів.

Початковим набором фармакогностичних інструментів, які використовуються для оцінки якості частин лікарської рослини, є макро- і мікроанатомія та органолептичний аналіз (сенсорна оцінка), а саме розмір, форма, колір, форма, консистенція, смак і аромат.

Морфологічний та органолептичний аналізи пропонують набір тестів, які у підготовлених осіб можуть дати оцінку найтонших характеристик, що сприяють ідентифікації та справжній якості рослини; мікроскоп дозволяє оцінити рослинний матеріал на клітинному рівні.

Як аналітичний інструмент, ботанічна мікроскопія може бути самостійною для встановлення ідентичності, чистоти, а іноді й загальної якості лікарської рослини; це може допомогти вказати, що хімік має шукати, і може допомогти підтвердити результати хімічної оцінки. За відсутності відповідної ботанічної ідентифікації, макроскопічні та мікроскопічні ознаки є одними з найбільш «стабільних» характеристик рослини, коли справа доходить до ідентифікації. У багатьох випадках ботанічна мікроскопія може підтвердити ідентичність рослин і виявити фальсифікати, коли одна хімія не може. Найчастіше набір аналітичних інструментів є найкращим для загальної оцінки якості ботанічних матеріалів.

РОЗДІЛ 3. МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СІРОВИНИ РОСЛИН РОДУ *Cimicifuga*

3.1. Потенційна плутанина північноамериканських видів циміцифуг/актей

Випадкова фальсифікація *C. racemosa* або ненавмисне домішування до комерційних партій може статися з кількома північноамериканськими видами *Actaea*, які мають одне місце проживання та чиї ареали межують між собою. *Actaea podocarpa* (син. *C. americana*, *A. americana*) зустрічається у вузькому хребті центральних Аппалачських гір від Пенсільванії на південь до Джорджії. Аппалачський багбан або циміцифуга галузиста чи чорний кохош (*A. cordifolia*, син. *C. cordifolia*, *C. rubifolia*, *C. racemosa* var. *Cordifolia*, *A. rubifolia*) має вузький ареал, обмежений кількома округами в Пенсільванії, Вірджинії, Теннессі, Алабамі, Кентуккі та на півдні штатів Іллінойс та Індіана. *Actaea pachypoda* і *A. Rubra* також мають ареали проживання які частково збігаються з ареалом *A. racemosa*. Відомо, що всі п'ять видів зустрічаються в одному середовищі існування, часто в стерильних популяціях, з кількома відмінними рисами, якщо квіти та/або плоди недоступні. Це може призвести до ненавмисної домішки одного або декількох вищевказаних видів у комерційних партіях *A. Racemosa* [28].

Професор Флетчер зазначив, що з практичної точки зору в Аппалачії *A. Podocarpa* (жовтий кохош) - вид, який найбільше нагадує чорний кохош (циміцифугу галузисту). Збирачі диких рослин обходять інші види *Actaea*, оскільки корені/кореневища менші та мають трішки іншу форму, і вони знають, що покупці не будуть купувати інші види *Actaea*. Однак, коли кореневище висохне, то його візуально важче розрізнити.

У монографії АНР Black Cohosh Rhizome припускають, що жовтий кохош (*A. podocarpa*) ненавмисно, але зазвичай змішується з *A. racemosa* на основі подібності надземних морфологічних ознак. У монографії АНР зазначено таблицю, яка показує унікальні візуальні ознаки, які забезпечують відмінність між *A. racemosa* і *A. podocarpa*. У свіжому стані корінь чорного кохоша чорний, а жовтого кохоша корінь жовтого кольору, хоча після висихання їх важче

диференціювати. Крім того, *A. podocarpa* зацвітає приблизно на три тижні пізніше, ніж *A. Racemosa* [74].

3.2. Ідентифікація за допомогою методів ДНК аналізу

Було опубліковано кілька досліджень ДНК для рослин виду *Actaea*, які відрізняють *A. racemosa* від інших видів *Actaea*, а також підвищують обізнаність про географічне та хімічне різноманіття роду.

У вичерпному документі, що пояснює штрих-кодування ДНК у зв'язку з точністю ідентифікації лікарських рослин, опублікованому у HerbalGram, Ma та інші Canadian Phytopharmaceutical Corporation, припускають, що штрих-кодування ДНК стає корисною методологією в наборі інструментів контролю якості, щоб допомогти зменшити неправильну ідентифікацію та підробку лікарських рослин. Практичне застосування штрих-кодування ДНК для ідентифікації рослин – це сфера, що розвивається, обмежена ключовими обмежуючими факторами, такими як мінімалізм стандартизації та масштабованість. У тварин фрагмент одного гена (цитохром С оксидаза 1) є прийнятим стандартом для простоти диференціації видів. Однак жодна область ДНК рослин не забезпечує універсальну якість послідовності та видову дискримінацію рослин, що призводить до розробки різних запропонованих методів або комбінації методів для правильної ідентифікації рослин на основі їх штрих-кодів ДНК.

Автори документу пояснили, що необхідна лише коротка область ДНК використовується для ідентифікації видів у штрих-кодуванні ДНК. По-перше, з зразків необхідно вилучити невелику пробу ДНК. По-друге, вибрана область штрих-коду піддається ампліфікації полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР або PCR) — експериментальний метод молекулярної біології, спосіб значного збільшення малих концентрацій бажаних фрагментів ДНК в біологічному матеріалі (пробі). Результат ПЛР очищають і секвенують; потім послідовність ДНК порівнюється з бібліотекою/базою даних для ідентифікації виду [96].

Дослідники в Китаї з Інституту розвитку лікарських рослин у Пекіні та Інституту китайської медицини при Китайському університеті Гонконгу взяли на

себе провідну роль у міжнародному розробці штрих-кодування ДНК рослинних інгредієнтів, включаючи лікарські рослини та їх добавки. Наприклад, база даних штрих-кодів ДНК лікарських матеріалів, охоплює 1658 видів рослин. Фармакопея Китайської Народної Республіки 2015 року, ймовірно, може бути першою національною фармакопеєю, яка містить докладні протоколи ДНК для автентифікації лікарських рослин [97].

Щоб розрізнити симпатричні східно-американські види *Actaea*, кілька дослідницьких груп ефективно застосували методи ДНК-дактилоскопії. Вчені у 2003 році виявили, що аналіз випадкової ампліфікованої поліморфної ДНК (RAPD) може відрізнити *A. racemosa*, *A. podocarpa* і *A. cordifolia*, коли не було доступних порошкоподібних рослинних матеріалів[98].

Зерега та інші у 2002 використовуючи метод дактилоскопії ДНК з ампліфікованим поліморфізмом довжини фрагментів (AFLP) для аналізу зв'язків циміцифуги галузистої з її родичами які ростуть в тих самих ареалах. Метод був застосований до комерційних продуктів циміцифуги галузистої, і в двох продуктах підтверджено наявності *A. racemosa* разом з відсутністю інших східно-американських видів *Actaea*. Однак використання цього методу не дозволило перевірити наявності або відсутності видів *Actaea* в пакетиках чаю циміцифуги галузистої та в таблетках покритих оболонкою. Такі змінні, як температура сушіння кореневища, умови зберігання, технології обробки, вік та якість зберігання готової продукції, могли окремо або разом сприяти деградації ДНК із втратою маркерів AFLP, підкреслюючи обмеження методу. Результати також підтверджують об'єднання циміцифуги з *Actaea*. Комптон та інші припускають, що морфологічно несхожі *A. racemosa* та *A. pachypoda* є найбільш близькими генетично східними північноамериканськими видами *Actaea* [8, 99].

Дактилоскопія AFLP була застосована для ідентифікації генетичного різноманіття всередині та між географічними регіонами [100]. Згодом генетичний скринінг *A. racemosa* виявив 70 унікальних генів, які, як вважають, беруть участь у вторинному метаболізмі, включаючи дві генні послідовності, пов'язані з метаболізмом серотоніну рослин [101].

Пате та інші у 2012 застосували ізолюючі локуси мікросателітної ДНК для розробки молекулярних маркерів для *A. racemosa* з живих зразків у всьому географічному ареалі рослини. Мета дослідження полягала в тому, щоб виміряти генетичну різноманітність у всьому ареалі виду як інструмент для вивчення потенційного генетичного виснаження на південному сході Сполучених Штатів і забезпечити контекст для виявлення можливих генетичних варіацій у виробництві тритерпенових глікозидів. Характеристики семи мікросателітних регіонів забезпечують порівняльну генетичну бібліотеку для використання в майбутній оцінці структури популяції та генетичних зв'язків, що також може допомогти в оцінці генетичних змінних для виробництва активних сполук [99].

Бейкер та його колеги у 2012 застосували інший метод ідентифікації двох нуклеотидів МАТК з послідовностей ДНК (штрих-кодів) циміцифуги галузистої, який послідовно та однозначно відрізняє циміцифугу галузисту від усіх споріднених видів. У вибірці з 40 харчових добавок, позначених як «чорний кохош», довільно придбаних в Інтернеті та в магазинах різних районів Нью-Йорка, дослідники виявили, що з 36 проб, послідовно виділених, 27 (75%) точно відповідають циміцифусі галузистій. Дев'ять зразків (25%) мали послідовності, ідентичні трьом видам азіатських *Actaea* (*A. cimicifuga*, *A. dahurica* та *A. simplex*). *Actaea simplex* широко доступна в американському садівництві, але часто помилково позначена, що додає потенційної плутанини.

Важливо, що жоден із досліджуваних зразків не містив жодного північноамериканського виду *Actaea*, крім *A. racemosa*, що свідчить про те, що дикі колекціонери, покупці зібраного в диких умовах північноамериканського матеріалу та процедури контролю якості їхніх клієнтів досягають успіху у підтримці правильної ідентичності автентичного *A. racemosa* в запасах циміцифуги галузистої, що постачається з Північної Америки.

Чотири харчові добавки не вдалося ідентифікувати за допомогою протоколу ПЛР-ампліфікації лабораторії, ймовірно через те, що ДНК деградувала, можливо під час застосування тепла під час обробки. Тим не менш, метод, описаний Бейкером у статті із використанням послідовності МАТК, доповненої nrITS2,

може послідовно й однозначно диференціювати цимицифугу галузисту, припускаючи, що ДНК не деградує [102].

Приклад виявлення *A. racemosa* за допомогою ДНК маркерів у порівнянні з іншими видами *Actaea/Cimicifuga* наведено на Рис. 24.

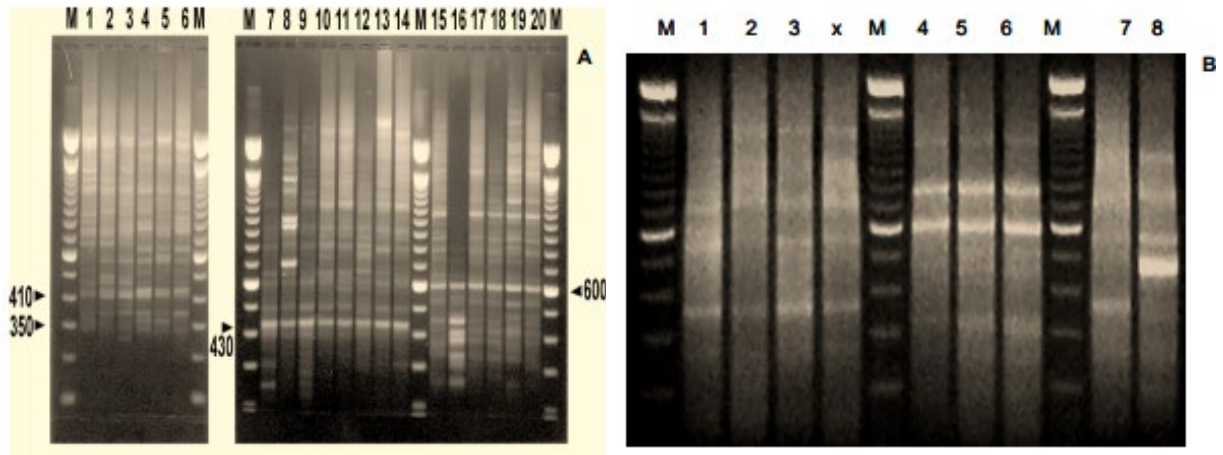


Рис. 24 ПЛР північноамериканських видів цимицифуги

На рис. 24А показано профілі видів *Cimicifuga*, ампліфіковані праймером ОРА-10. Лінії 1-6 *C. racemosa*; лінії 7-14 *C. americana*; лінії 15-20 *C. rubifolia*.

На рис. 24В показано профілі видів *Cimicifuga*, ампліфіковані праймером ОРА-15. Лінії 1-3 *C. racemosa*; лінії 4-6 *C. americana*; лінія 7 комерційна *C. racemosa* та лінія 8 *C. rubifolia*.

Далі показано ПЛР-профілі з використанням різних праймерів, щоб відрізнити *C. racemosa* від потенційних добавок (Рис. 25).

Були досліджені наступні зразки: корені які використовуються в комерції, підтвержені корені *C. racemosa*, аутентифіковані корені *C. simplex*, аутентифіковані корені *C. dahurica*, аутентифіковані корені *C. acerina*, аутентифіковане листя *C. americana*.

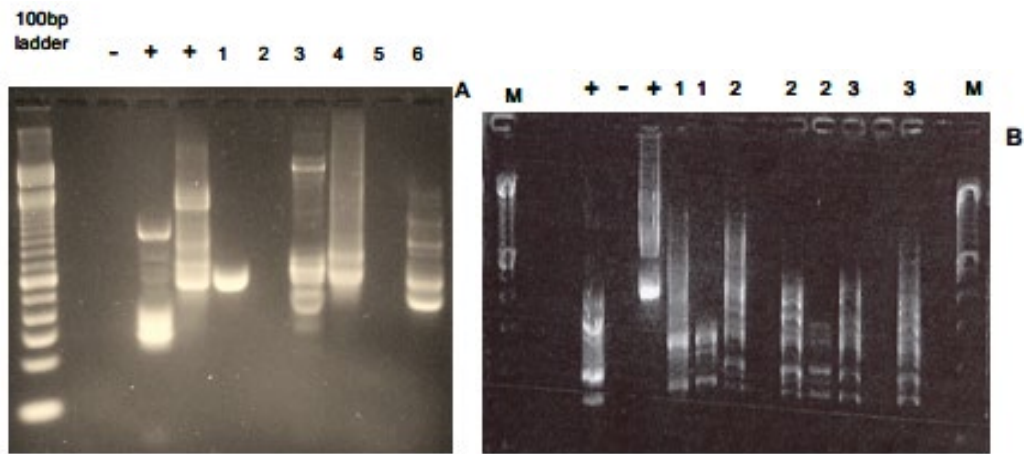


Рис. 25

На рис. 25А показано випадкову ампліфікацію поліморфних профілів ДНК видів *Camicifuga*, ампліфікованих праймером ОРА-05. Лінія 1 - *C. acerina*, 2 - *C. heraclefolia*, 3 - *C. dahurica*, 4 - *C. simplex*, 5 - *C. racemosa*, 6 - Чистий матеріал *C. racemosa*, + позитивний контроль ДНК (*S. cerevisiae* та), - негативний контроль.

На рис. 25В показано випадкову ампліфікацію поліморфних профілів ДНК видів *Camicifuga*, ампліфікованих праймером ОРА-19. Лінія 1 - *C. americana*, 2 - *C. racemosa*, 3 – комерції зразки *C. racemosa*, + позитивний контроль ДНК (*S. cerevisiae* та), - негативний контроль.

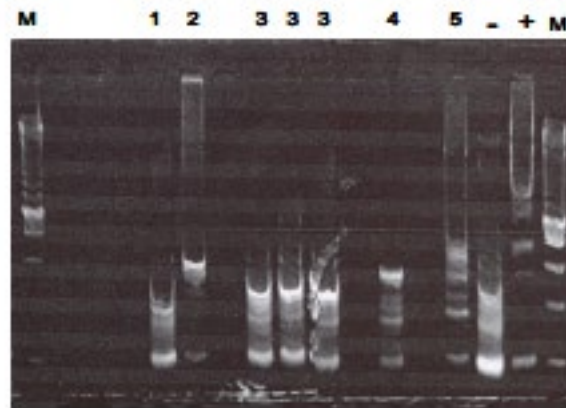


Рис. 26

На рис. 26 показано випадкову ампліфікацію поліморфних профілів ДНК видів *Camicifuga*, ампліфікованих праймером ОРА-15. Лінія 1 - *C. dahurica*, 2 - *C. simplex*, 3 – *C. americana*, 4 - *C. racemosa*, 5 – комерційний матеріал *C. racemosa* + позитивний контроль ДНК (*S. cerevisiae*), - негативний контроль.

3.3. Ідентифікація за допомогою хроматографічних методів аналізу

Хроматографія – фізико-хімічний метод розділення речовин біоматеріалу, що базується на різниці їх коефіцієнтів розподілу між рухомою (мобільною) і нерухомою (стаціонарною) фазами хроматографічної системи. Основний принцип хроматографічного методу полягає у розділенні речовин на основі різниці їх фізичної або хімічної спорідненості до певних сполук, які є основою хроматографічної системи. Розподіл відбувається у процесі переміщення рухомої фази шляхом спонтанної або примусової дифузії вздовж нерухомої у певному напрямку та з певною швидкістю. Метод хроматографії використовується для вирішення трьох основних завдань:

1. Ідентифікація - якісне та кількісне визначення сполук у біоматеріалі як аналітичний метод,
2. Виділення - одержання відносно великих кількостей чистих речовин, як препаративний метод,
3. Очистка - розділення окремих компонентів суміші або позбавлення від домішок.

Використання хроматографічного методу дає цілу низку переваг. По-перше, речовини під час розділення, в основному, не змінюються, що є дуже важливим для подальших біохімічних досліджень. По-друге, цей метод цілком придатний для розділення рідких та газоподібних сполук. По-третє, він може бути використаний для фракціонування сумішей речовин, які близькі за біохімічним складом, властивостями та будовою. По-четверте, хроматографія має високу точність розділення речовин, є відносно простою у використанні та доступною для будь-якої лабораторії.

Типова хроматографічна система базується на розподілі компонентів між двома фазами, одна з них є нерухомою - стаціонарна з великою поверхнею, а інша переміщується відносно першої – рухома фаза. Як нерухома фаза використовується тверда речовина або рідина, яка наноситься на спеціальний твердий носій. Компоненти, що розділяються, разом з рухомою фазою, яка являє собою рідину або газ, проходять крізь нерухому. Розділення речовин пов'язано з

сорбційно-десорбційним процесами і можливе тільки у випадку, якщо нерухома фаза, або так званий сорбент, характеризується різною абсорбційною здатністю щодо кожної з речовин, що піддаються розділенню. При цьому під абсорбцією розуміють будь-який процес, що пов'язаний з накопиченням того чи іншого компонента в нерухомій фазі або на межі розподілу фаз.

Класифікація методів хроматографії на сьогодні значно розширилася і може базуватися на декількох основних принципах. За апаратним забезпеченням виділяють колоночну та площинну (планарну) хроматографію, остання, у свою чергу поділяється на паперову та тонкошарову. В той же час, за агрегатним станом рухомої фази, хроматографія може бути рідинною або газовою. Нарешті, за видом і механізмом розподілу речовин, що розділяються, методи хроматографії діляться на адсорбційну, куди відносяться йонообмінна, гідрофобна, афінна хроматографії, та неадсорбційну хроматографію, до якої відноситься хроматографія, що поділяє за розміром. Спеціальними методиками хроматографічного розділення вважаються хроматографія оберненої фази, хроматографія високого та низького тисків, швидка хроматографія білків, двовимірна, піролітична, протиточна та хіральна хроматографії.

3.3.1. Ідентифікація за хімічною диференціацією видів *Actaea*

Різні дослідження хімічних складових циміцифуги галузистої показують, що дві основні групи сполук у рослині - це тритерпенові глікозиди (щонайменше 43 зареєстровані на сьогоднішній день) та поліфенольні похідні, які були основним фокусом аналізу та характеристики продуктів чорного кохошу. Однак, намагаючись остаточно визначити методи стандартизації на основі активних сполук та біологічної активності, дослідницька група професора Фарнсфорта в університеті Ілінойсу в Чикаго повідомила про нові потенційні біоактивні сполуки з циміцифуги галузистої. Фабрикант та його група у 2005 році, працюючи над створенням стандартизованого екстракту, який можна використовувати для використання в клінічних випробуваннях УІЛ, повідомили про виділення та характеристику нового циклічного гуанідинового алкалоїду, циміпронідину та першого гуанідину, виділеного з рослини в Лютикові

(*Ranunculaceae*) [103]. Гьодеке та його група у 2009 виділили та охарактеризували три нових алкалоїди гуанідину, включаючи цило-циміпронідин і метиловий ефір циміпронідину (обидва аналоги циміпронідину), а також новий алкалоїд, який отримав тривіальну назву допаргін, похідне дофаміну. Ці та інші сполуки, включаючи 3-гідрокситирозол 3-О-глюкозид, можуть сприяти значній біологічній активності в полярних фракціях екстракту, виробленого для використання в клінічних випробуваннях, і вони продовжують досліджувати їх шляхи до рецепторів серотоніну та можливу дію на центральну нервову систему і антиоксидантна активність[43].

Що стосується поліфенольних сполук, у 2006 році Нунтанакорн повідомив про ідентичність 17 поліфенолів, включаючи похідні гідроксициннамової кислоти (кавова кислота, ферулова кислота та ізоферулова кислота); похідні фукієвої кислоти (фукінолова кислота та циміцифугінова кислоти А і В); та похідні ефіру пісцидової кислоти (циміцифугінові кислоти Е і F). Крім того, вперше повідомили про наявність шести додаткових фенольних сполук, включаючи протокатехову кислоту, протокатеховий альдегід, р-кумарову кислоту, 1-ізоферулоїл- β -D-глюкопіранозид, ферулат-1-метиловий ефір та циміцифугінову кислоту D. Також виділили дві нові сполуки, лігнін - актаелактон - та похідне ефіру фенілпропаноїду - циміцифугієву кислоту G - зі структурами, визначеними на основі аналізу спектроскопії ЯМР [35].

У 2007 році Нунтанакорн та співавтори опублікували метод розрізнення різних східно-американських видів *Actaea* на основі дактилоскопії фенольних компонентів. Метод високоефективної рідинної хроматографії з оберненою фазою із виявленням діодної матриці корисний для розрізнення видів північноамериканської *Actaea*: *A. pachypoda*, *A. podocarpa*, *A. racemosa* та *A. rubra* на основі поліфенольних компонентів. Описаний як простий, надійний і зручний метод, менш складний, ніж розрізнення відбитків тритерпенових глікозидів, метод забезпечує якісні та кількісні поліфенольні відбитки для надійного розрізнення цих чотирьох видів. Метод був перевірений щодо чутливості, лінійності, правильності, точності та відновлення.

На рис. 27 показано приклад аналізу циміцифуги галузистої з використанням методу ВЕРХ із виявленням діодної матриці, а саме вимивання фукінолових кислот. Для аналізу використовували напівпрепаративне виділення ВЕРХ 1 (циміпронідин-R2) з фракції, сканували детектором ФМ з (300 мг-6 запусків), швидкість потоку-10,0 мл/хв, ізократичність 10% MeOH. Для зменшення мертвого об'єму використовувався час мертвої дії 2,0 хвилини.

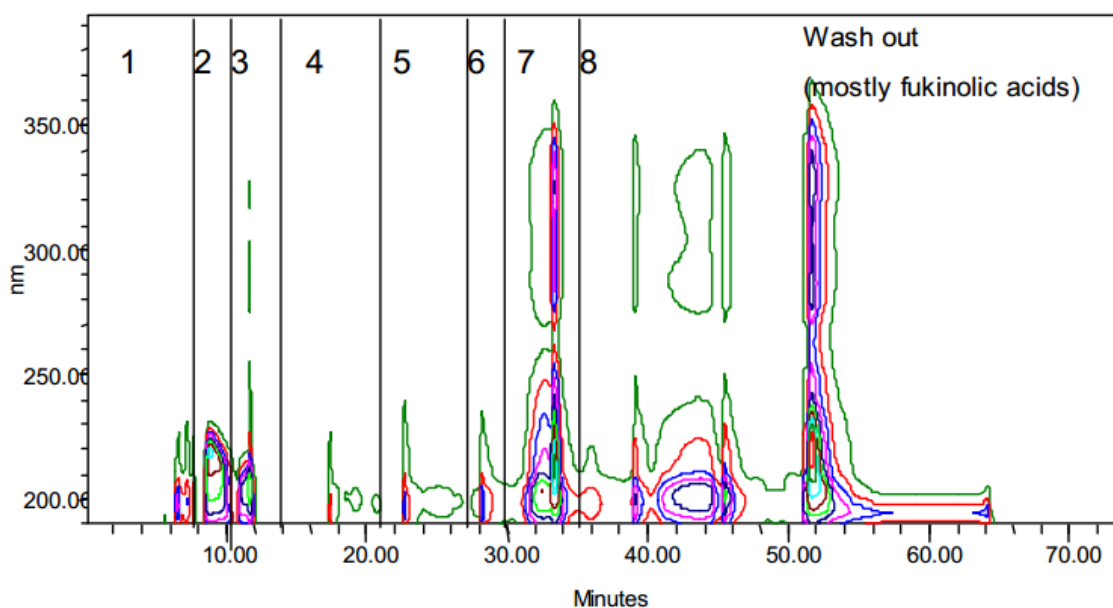


Рис. 27 Визначення фукінолових кислотом методом ВЕРХ

Вісім виявлених поліфенольних сполук включали кавову кислоту, ферулову кислоту, ізоферулову кислоту, фукінолову кислоту та циміцифугінові кислоти А, В, Е та F. *Actaea racemosa* містить усі вісім поліфенольних сполук. *Actaea rubra* має подібний фенольний профіль до *A. racemosa*, але відрізняється співвідношенням поліфенолів з більш високим вмістом циміцифугінових кислот А та В як переважаючих поліфенолів, тоді як фукінолова кислота є найбільш поширеним поліфенолом у *A. racemosa*. Циміцифугінова кислота F не виявлена в *A. rubra*. У *A. pachypoda* ізоферулова кислота та циміцифугінова кислота А є єдиними двома переважаючими поліфенолами. *Actaea podocarpa* містить циміцифугінові кислоти А і В як єдині два переважаючі поліфеноли. Симпатричний східний північноамериканський вид *A. cordifolia* (син. *C. cordifolia*) схоже, не було перевірено. Було досліджено додаткові вісім популяцій чорного кохошу/циміцифуги галузистої від Нью-Йорка до Північної Кароліни та

Теннессі, усі з яких мали схожі профілі поліфенольних складових. Повторення методу можна застосувати до більшої кількості колекцій видів північноамериканських *Actaea* [104].

3.3.2 Комбіновані методи ідентифікації

Аналітичні інструменти та методи, які забезпечують належну ідентифікацію чорного кохошу/циміцифуги галузистої (*A. racemosa* syn. *C. racemosa*), численні, точні та широко відомі фахівцям у сфері торгівлі травами та дослідницькій спільноті природних продуктів. Комбінація використання кількох аналітичних методів може знадобитися для належної автентифікації чорного кохоша та для виключення економічної фальсифікації або ненавмисної домішки споріднених видів.

У своєму керівному документі з циміцифуги галузистої АНРА виступає за відносно недорогий метод високоефективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ), посилаючись на методологію Вербицького (2008) для автентифікації чорного кохошу порівняно з іншими північноамериканськими видами *Actaea/Cimicifuga*. Лабораторія САМАГ з Швейцарії пропонує методи ВЕТШХ для виявлення фальсифікації чорного кохошу з китайських видів *Actaea/Cimicifuga* [105]. Члени Асоціації ВЕТШХ можуть отримати доступ до додаткової інформації про ці методи через веб-сайт організації (без відкритого доступу)[106].

У 2011 К. Ма та його колеги надали додаткові методи для автентифікації та диференціації видів *Actaea*, використовуючи ВЕТШХ у поєднанні з методикою з тандемною мас-спектрометрією. Вони ідентифікували 15 хімічних маркерів, включаючи три маркерні сполуки, які були однозначно ідентифіковані за допомогою автентичних стандартів, і додаткові 12 маркерних сполук, умовно ідентифікованих за структурою фрагментації, якщо порівнювати з раніше повідомленими даними.

Описані в роботі аналітичні методи, які розрізняють 15 маркерних сполук, повідомляють про відмінності між чотирма видами *Actaea*, класифікованими

наступним чином: (1) види, крім *A. racemosa*, (2) азіатські види *Actaea*, (3) *Actaea racemosa* та (4) Північноамериканські види, крім *A. racemosa*.

Слід зазначити, що три похідні циміфугіну та тритерпеновий маркер класу 16,23-дикетошенманол були визнані корисними для диференціації видів, відмінних від *A. racemosa*. Наприклад, похідне циміфугіну прім-О-циміфугін було присутнім у азіатських та північноамериканських видів, за винятком *A. laciniata*, *A. podocarpa* та *A. racemosa*; отже, присутність цієї сполуки в продукті «чорний кохош» буде вказувати на фальсифікацію.

Було виявлено, що алкалоїд циміцифугаїн (син. Циміцифін А) є унікальним для азіатських видів *Actaea* (включаючи *A. heracleifolia*, *A. mairei*, *A. dahurica* та *A. yunnanensis*). Наявність цього алкалоїду корисна для визначення присутності азіатських видів *Actaea*, і якщо його виявити в продукті, позначеному як «чорний кохош», це знову вказує на фальсифікацію.

Поодинокі сполука, 12 β , 21-дигідроксицимигенол-3-ОL-арабінозид, була виявлена у високій концентрації у *A. racemosa*, але відсутня у всіх інших досліджуваних видах північноамериканських та азіатських *Actaea*; тому вона корисна для виявлення непідробного продукту *A. racemosa* [27].

Інша сполука, цимигенол-3-ОaL-арабінозид (син. цимирацемозид С, циміцифугозид М), була описана у 2000 і є унікальною для *A. racemosa* і, отже, повідомляється як корисна маркерна сполука для *A. racemosa* [107]. Однак Ма та інші, використовуючи високочутливі методи часопротітного мас-спектрометричного аналізу, виявили дане з'єднання в трьох додаткових північноамериканських видах і одному різновиді *Actaea*, а також у трьох азіатських видах *Actaea*.

Крім того, інші опубліковані аналітичні методи для однозначної ідентифікації чорного кохошу включають метод ВЕРХ. Далі на рисунку 28 наведено приклад хроматографи при використанні методу ВЕРХ із детектором світлорозсіювання.

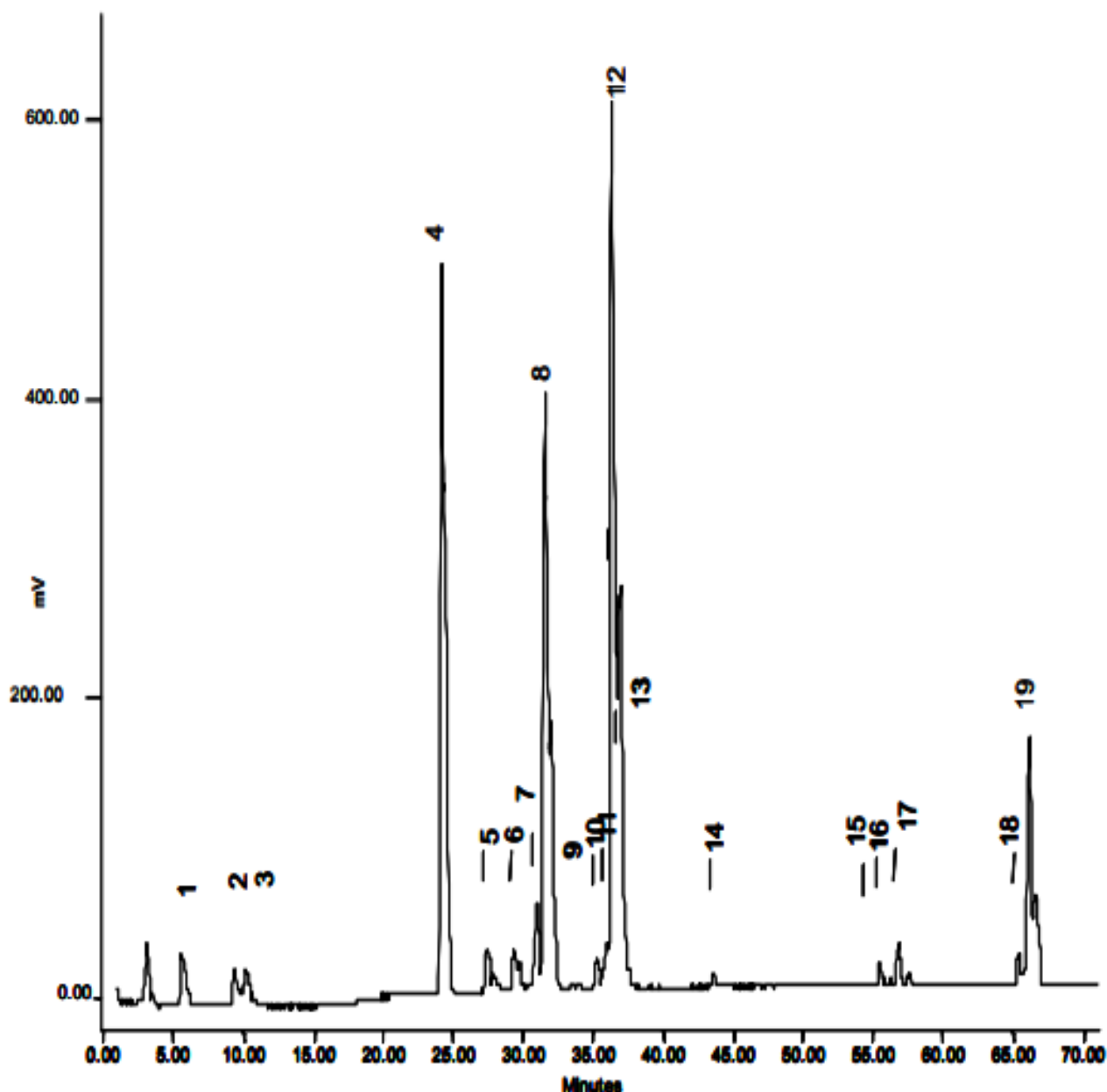


Рис. 28 ВЕРХ хроматограма із детектором світлорозсіювання ВЕРХ-ELSD
хроматограма з використанням змішаного стандарту з 19 сполук

Сполуки на Рис. 36: 1) кавова кислота; 2) ферулова кислота; 3) ізоферулова кислота; 4) циміцифугозид Н-2; 5) кемпферол; 6) цимірацемозид А; 7) формонетин; 8) циміцифугозид Н-1; 9) актеїн (26R); 10) 26-дезоксцимціфугозід; 11) актеїн (26S); 12) 23-ОАс-шенманол-3-Оβ-D-ксилозід; 13) 23-епі 26-дезоксиактеїн (24S,25S); 14) 26-дезоксиактеїн (24R,25R); 15) 25 ОАс-цимігенол-3-О-β-D-ксилозід (24R); 16) 25-ОАцимігенол- 3-О-α-L арабінозид(24R), 17) 25-ОАс-цимігенол-3-О-β-Dхулозид(24S), 18) цимігенол-3-О-α-L-арабінозид, 19) цимігенол-3 -О-β-Dксилозид.

Авула та його команда у 2009 році надали 2 нові методи для ідентифікації *A. racemosa*, а саме: ультра ефективну рідинну хроматографію з ультрафіолетовим випарним світлорозсіюванням (UPLC/UV/ELSD) та ідентифікація за допомогою надзвичайної рідинної хроматографія/мас-спектрометрія (UPLC-MS) [108]. Метод рідинної хроматографії / турбо-іонної спреї / мас-спектрометрії (LC/TIS/MS), розроблений доктором Вангом у 2006, використовує за основу представлені маркери шести комерційних продуктів циміцифуги галузистої разом із шістьма спорідненими азіатськими видами. Метод генерує маркери сполук РХ/МС, які забезпечують надійні та відтворювані методи, корисні для ідентифікації видів *Actaea/Cimicifuga* та валідації комерційної продукції [109].

Гафнер у 2006 році відзначив, що оцінка хімічних маркерів за допомогою комбінації методів особливо корисна для контролю якості циміцифуги галузистої, оскільки більшість тритерпенових глікозидів *A. racemosa* також зустрічається у кількох інших видів *Actaea*. Процедури ідентифікації, заснованої на кількох маркерних сполуках, може бути недостатньо, щоб виключити кожен фальсифікат. Вони порівнювали ВЕРХ-УФ, ВЕРХ-МС, ВЕРХ-ВІРС і ВЕТШХ маркери п'яти *Actaea* видів (*A. racemosa*, *A. rubra*, *A. pachypoda*, *A. podocarpa*, і китайських видів *Actaea*, що продаються в якості *A. Heracleifolia*). ВЕТШХ дає хороше розділення фенольних і тритерпенових глікозидів, але *A. rubra*, *A. podocarpa* та *A. pachypoda* показали дуже схожі маркери на *A. racemosa*, в результаті чого автори дійшли висновку, що важко ідентифікувати *A. racemosa* за допомогою ВЕТШХ. ВЕРХ-УФ показала чіткі відмінності між *A. racemosa* та китайськими видами *Actaea*, але було мало відмінностей між *A. racemosa* та *A. podocarpa*, а також *A. rubra* та *A. pachypoda* демонстрували майже однакові сліди ВЕРХ-УФ. Однак ВЕРХ-ВІРС у поєднанні з ВЕРХ-МС забезпечили однозначну ідентифікацію *A. racemosa*, на думку авторів жодна з методик не змогла однозначно розрізнити два близькоспоріднені північноамериканські види *A. rubra* та *A. pachypoda* [110].

Дослідницька група доктора Кеннеллі в Коледжі Лемана при Міському університеті Нью-Йорка разом із дослідниками, що співпрацюють у різних установах, опублікувала серію статей про ідентичність компонентів циміцифуги

галузистої та автентифікацію. Примітно, що Цзян та його команда у 2005 виявили, що 85-річний зразок чорного кохошу, зібраний Х. Х. Расбі в 1919 році, мав майже таку ж якість і кількість чотирьох тритерпенових глікозидів і шести фенольних складових, у порівнянні з сучасним рослинним матеріалом, що підтверджує потенційну стабільність цих компонентів при зберіганні [104]. Цзян у 2006, проаналізував 11 комерційних продуктів із США, позначених як чорний кохош / циміцифуга галузиста за допомогою ВЕРХ-ДМ+РХ-МС виявив, що три продукти містили маркерну сполуку циміфугін (а не цимірацемозид С), що вказує на те, що вони містили азіатські види *Actaea*, а не справжню циміцифугу галузисту, і один продукт містив суміш циміцифуги галузистої та виду азійської *Actaea* [111]. У нещодавній роботі 2011 року Цзян для цієї ж групи використав ВЕРХ/РХ-МС аналіз для розрізнення маркерів ВЕРХ як для поліфенолів, так і для тритерпенових глікозидів із зразків 15 видів *Actaea*, включаючи вісім видів з Північної Америки та сім видів з Азії. Слід зазначити, що циміфугін був виявлений у всіх досліджених азіатських видів, а також у трьох американських видах *Actaea*, але був відсутній у *A. racemosa*, а також у трьох близькоспоріднених північноамериканських видів (*A. podocarpa*, *A. pachypoda* і *A. rubra*) [112].

Крім того USP опублікувала методи автентифікації чорного кохошу/циміцифуги галузистої [113]. Монографія Health Canada, монографія Європейського агентства з лікарських засобів ЄС та пов'язані з нею документи містять подальші вказівки щодо оцінки якості, аутентифікації та використання вказівок для продуктів циміцифуги галузистої [114, 115].

ВИСНОВОК ДО РОЗДІЛУ 3.

Численні монографії, такі як монографії ДФУ, АНР, USP, Health Canada та інші видані не менш авторитетними офіційними та неофіційними організаціями, надають деталі, необхідні для однозначної автентифікації справжнього північноамериканського чорного кохошу син. циміцифуги галузистої (*Actaea racemosa*, syn. *Cimicifuga racemosa*) з використанням відносно простих органолептичних, макроскопічних та мікроскопічних класичних методів фармакогнозії у поєднанні з відносно недорогими та широко доступними хімічними аналітичними методами, такими як ВЕРХ та ВЕТШХ. Наприклад використовуючи метод ВЕТШХ та використовуючи як маркер алкалоїд циміцифугаїн (син. Циміцифін А), який є унікальним для азіатських видів *Actaea* і який не виявлено у *Cimicifuga racemosa*, можна визначати сировину з домішками азіатських видів або ж підроблену сировину де замість циміцифуги галузистої використовують види з Азії.

З раціональної точки зору найкраще використовувати відносно недорогий метод ВЕТШХ на який у своєму керівному документі з циміцифуги галузистої посилається АНРА для автентифікації чорного кохошу порівняно з іншими північноамериканськими видами *Actaea/Cimicifuga*. Також швейцарська лабораторія САМАГ пропонує методи засновані на ВЕТШХ для виявлення фальсифікації циміцифуги галузистої з Азії.

Крім того за останні 15 років, особливо з 2006 року, в хімічній аналітичній літературі були опубліковані більш дорогі, складні та, можливо, менш доступні хімічні аналітичні методи. Наприклад ВЕРХ-УФ, ВЕРХ-МС, ВЕРХ-ВІРС, що використовують новітні технології, що забезпечують однозначну інформацію, ідентифікацію та аутентифікацію.

Однак навіть використання декількох сучасних та новітніх методів не можуть гарантувати 100% ідентифікацію *Cimicifuga racemosa* через подібність між собою північноамериканських видів. І тут в нагоді можуть стати методи ДНК-аутентифікації. Наприклад метод заснований на ідентифікації двох нуклеотидів МАТК з послідовностей ДНК (штрих-кодів) циміцифуги галузистої,

послідовно та однозначно відрізняє циміцифугу галузисту від усіх споріднених північноамериканських видів.

ВИСНОВКИ

1. Проведено огляд лікарських рослин роду *Cimicifuga*, які використовуються як джерело фітопрепаратів, проблеми їх таксономії і номенклатури, що вирішує питання можливої плутанини при їх використанні виробниками.

2. Проаналізовано біологічно активні речовини Циміцифуги галузистої, які обумовлюють фармакологічну дію. Найбільше практичне значення мають сапоніни і флавоноїди.

3. Встановлено, що у якості діагностичних ознак *Cimicifuga rhizoma* можуть бути використані макроскопічні діагностичні ознаки:

Товарний вигляд – цілісне кореневище з коренями;

Кореневища:

Форма – напівциліндричне,

Поверхня – вузлувата з круглими чашоподібними рубцями від залишків стебел;

Злам – нерівний з тонкою корою і чисельними блідими кліноподібними ділянками провідної тканини;

Серцевинні промені – темніші за провідну тканину;

Серцевина – відсутня;

Розміри – діаметр 1,5-2,5 см; довжина від 2 до 15 см;

Колір поверхні – брунатно-сірий.

Корені:

Форма - циліндричні;

Поверхня - подовжньо-зморшкуваті;

Злам – рівний, широка зовнішня кора та темно-коричнева серцевина, з широкими нездерев'янілими серцевинними променями;

Розміри - 1-3 мм в діаметрі, довжина від 3 до 5 см;

Колір - темно-коричневий колір.

Мікроскопічні діагностичні ознаки:

- Фрагменти паренхіми кореневища з рівномірно потовщеними оболонками і трикутними міжклітинниками;
- Тангенально видовжені клітини флоєми з окремими довгими склереїдами;
- Короткі судини з облямованими порами та з прилеглими дрібнопористими волокнами ксилеми;
- Фрагменти епідерми вкриті темною кутикулою;
- Крохмальні зерна кулястої або багатокутної форми прості і складні (3-6 компонентні), окремі з щілеподібним центром утворення.

4. Найбільш інформативними для ідентифікування сапонінів виявилися якісні реакції: Санье і Лафона, що можуть бути використані для хроматографічного аналізу. Позитивний результат на наявність флавоноїдів спостерігали у цианідиновій пробі, реакції з залізо хлоридом і алюмінію хлоридом.

5. Аналіз методів ідентифікації сировини *Cimicifuga rhizomata* показав, що численні монографії ДФУ, АНР, USP, Health Canada та інші надають для ідентифікації відносно прості органолептичні, макроскопічні та мікроскопічні класичні методи фармакогнозії у поєднанні з відносно недорогими та широко доступними хімічними аналітичними методами, такими як ВЕРХ та ВЕТШХ. Існує кілька публікацій стосовно досліджень ДНК для рослин виду *Actaea*, які відрізняють *A. racemosa* від інших видів *Actaea*, що може додати інформації для банку ДНК лікарських рослин і сприяти ідентифікації ЛРС за допомогою ДНК скрінінгу.

Проведено аналіз препаратів циміцифуги галузистої, що наявні на фармацевтичному ринку України. Визначено основні діагностичні ознаки сировини, проведено фітохімічний аналіз та досліджено проблематику ідентифікації лікарської сировини. Представлено фармакологічні механізми дії на організм людини основних біологічно активних компонентів рослини, також проведено аналіз проблематики щодо можливої гепатотоксичності.

Запропановані макроскопічні та мікроскопічні показники ідентифікації сировини Циміцифуги галузистої (*Cimicifuga racemosa*) та запропановано якісні реакції, що можуть стати основою для подальшої хроматографічної ідентифікації і ідентифікації фітопрепаратів з використанням екстрактів циміцифуги галузистої кореневищ.

Виконано теоретичний аналіз наявних способів визначення видів лікарських рослин роду *Cimicifugae*, що використовуються в Америці і Азії.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

1. Prendy, M.L.D.A., Patricia; Chaimberlain, James L. , Black Cohosh *Actaea racemosa*: an annotated bibliography. Gen. Tech. Rep. SRS 97; Asheville, NC: U.S. Departement fo Agriculture Forest Service, Southern Research Station, 2006. 99 p.
2. Ersfeld, A., Hahn, G., *Cimicifuga racemosa*: Traubensilberkerze. *Naturheilpraxis*, 1990. 11: p. 1218 - 1227.
3. Stiegele, A., In: *Klinische Homöopathie*. Hippokrates Verlag, Stuttgart, 1948. 19: p.223, 227, 232.
4. Bradley, P.R., *British Herbal Compedium*. 1992: British Herbal Medicine Association.
5. Upton R, Graff A, Jolliffe G, Länger R, Williamson E (eds). *Botanical Pharmacognosy—Microscopic Characterization of Botanical Medicines*. Boca Raton, Florida: CRC Press; 2011
6. Mabberley D. *Mabberley’s Plant-Book: A Portable Dictionary of Plants, Their Classification and Uses*. 3rd ed. Cambridge, England: Cambridge University Press; 2008.
7. Compton JA, Culham A, Gibbings JG, Jury SL. Phylogeny of *Actaea* including *Cimicifuga* (Ranunculaceae) inferred from nrDNA ITS sequence variation. *Biochemical Systematics and Ecology*. 1998; 26: 185-197.
8. Compton JA, Culham A, Jury SL. Reclassification of *Actaea* to include *Cimicifuga* and *Souliea* (Ranunculaceae): phylogeny inferred from morphology, nrDNA ITS, and cpDNA trnL-F sequence variation. *Taxon*. 1998; 47: 593-633.
9. Compton JA, Hedderson TAJ. A morphometric analysis of the *Cimicifuga foetida* L. complex (Ranunculaceae). *Botanical Journal of the Linnaean Society*. 1997;123:1-23.
10. Jiangsu New Medical College, eds. *Dictionary of Traditional Chinese Medicine*. (Zhong Yao Da Ci Dian). 3 vols. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishing Co., 1977–1979; 1978; Vol. 2, #4943.
11. *Vernonia aspera*. In: Wu ZY, Raven PH. *Flora of China Asteraceae*. Vols. 20-21, advance publication on the web (not yet in print):

www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=200024613. Accessed March 19, 2013.

12. *Vernonia aspera*. The Plant List website. Available at: www.theplantlist.org/tpl/record/gcc-17823. Accessed March 19, 2013.

13. Upton R (ed). Black Cohosh Rhizome, *Actaea racemosa* L., syn. *Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt.: Standards of Analysis, Quality Control, and Therapeutics. Santa Cruz, CA: American Herbal Pharmacopoeia; 2002

14. *Rhaponticum chinense*. In: Wu ZY, Raven PH. Flora of China Asteraceae. Vols. 20-21, advance publication on the web (not yet in print): www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=250097445. Accessed March 22, 2013.

15. Ling TJ, Xia T, Wan XC, Li DX, Wei XY. Cerebrosides from the roots of *Serratula chinensis*. *Molecules*. 2007;11(9):766-83.

16. Wuttke, W., D. Seidlova-Wuttke, and C. Gorkow, The *Cimicifuga* preparation BNO 1055 vs. conjugated estrogens in a double-blind placebo-controlled study: effects on menopause symptoms and bone markers. *Maturitas*, 2003. 44 Suppl 1: p. S67-77.

17. Seidlova-Wuttke, D., et al., Pharmacology of *Cimicifuga racemosa* extract BNO 1055 in rats: bone, fat and uterus. *Maturitas*, 2003. 44 Suppl 1: p. S39-50.

18. Jarry, H. and G. Harnischfeger, Studies on the endocrine effects of the contents of *Cimicifuga racemosa*. *Planta Med*, 1985. 51(1): p. 46-49.

19. Lieberman, S., A review of the effectiveness of *Cimicifuga racemosa* (black cohosh) for the symptoms of menopause. *J Womens Health*, 1998. 7(5): p. 525-9.

20. Duker, E.M., et al., Effects of extracts from *Cimicifuga racemosa* on gonadotropin release in menopausal women and ovariectomized rats. *Planta Med*, 1991. 57(5): p.420-4.

21. Bennett B, Balick M. Phytomedicine 101: Plant taxonomy for preclinical and clinical medicinal plant researchers. *Journal of the Society for Integrative Oncology*, 2008;6(4):150-157.

22. Ramsey GW. *Cimicifuga*. In: Committee FoNAE, ed. *Flora of North America North of Mexico: Magnoliophyta: Magnoliidae and Hamamelidae*. Vol. 3. New York,

NY: Oxford University Press; 1997;177-181.

23. Ford BA. Actaea. In: Committee FoNAE, ed. Flora of North America North of Mexico: Magnoliophyta: Magnoliidae and Hamamelidae. Vol. 3. New York, NY: Oxford University Press; 1997;181-183.

24. Li LQ, Tamura M. Actaea. In: Wu ZY, Raven PH. Flora of China: Caryophyllaceae through Lardizabalaceae. Vol. 6. Beijing and St. Louis: Science Press and Missouri Botanical Garden; 2001;147.

25. Li LQ, Brach AR. Cimicifuga. In: Wu ZY, Raven PH. Flora of China: Caryophyllaceae through Lardizabalaceae. Vol. 6. Beijing and St. Louis: Science Press and Missouri Botanical Garden; 2001;144-147.

26. Li LQ, Tamura M. Souliea. In: Wu ZY, Raven PH. Flora of China: Caryophyllaceae through Lardizabalaceae. Vol. 6. Beijing and St. Louis: Science Press and Missouri Botanical Garden; 2001;143

27. Ma C., Kavalier A. R., Jiang B., Kennelly E. J. Metabolic profiling of Actaea species extracts using high performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. Journal of Chromatography. Mar. 18 2011;1218(11):1461-1476.

28. Foster S. Black Cohosh: Cimicifuga racemosa. A literature review. HerbalGram. 1999;45:35-50.

29. Lloyd JU, Lloyd CG. Drugs and Medicines of North America Vol. 1. Ranunculaceae Cinninati: J.U. & C.G. Lloyd, 1884-1885.

30. Blaschek W., E.S., Hackenthal E., Holzgrabe U., Keller K., Reichling J., Schulz V., HagerRom DVD 2011, Hagers Handbuch der Drogen und Arzneistoffe. 2011: Springer-Verlag.

31. Wichtl M., Teedrogen und Phytopharmaka. Ein Handbuch für die Praxis auf wissenschaftlicher Grundlage. 2002: deutscher Apotheker Verlag.

32. Nultsch W., Allgemeine Botanik. 2001: Thieme

33. Agency, E.M., Guideline on good agricultural and collection practice (GACP) for starting materials of herbal origin. 2006

34. Schuh, M.I., D.; Abel, G.; Blaschek, W., The detailed chemical characterisation

of the special extract BNO 1055 from *Actaea racemosa* L. In preparation, 2013

35. Nuntanakorn, P., et al., Polyphenolic constituents of *Actaea racemosa*. *J Nat Prod*, 2006. 69(3): p. 314-8.

36. Stromeier, S., F. Petereit, and A. Nahrstedt, Phenolic esters from the rhizomes of *Cimicifuga racemosa* do not cause proliferation effects in MCF-7 cells. *Planta Med*, 2005. 71(6): p. 495-500.

37. Chen, S.N., et al., Cimiracemates A-D, phenylpropanoid esters from the rhizomes of *Cimicifuga racemosa*. *Phytochemistry*, 2002. 61(4): p. 409-13.

38. He, K., et al., *Cimicifuga* species identification by high performance liquid chromatography-photodiode array/mass spectrometric/evaporative light scattering detection for quality control of black cohosh products. *J Chromatogr A*, 2006. 1112(1-2): p. 241-54.

39. Lai, G.F., et al., Triterpenoid glycoside from *Cimicifuga racemosa*. *J Asian Nat Prod Res*, 2005. 7(5): p. 695-9.

40. Chen, S.N., et al., Isolation, structure elucidation, and absolute configuration of 26-deoxyactein from *Cimicifuga racemosa* and clarification of nomenclature associated with 27-deoxyactein. *J Nat Prod*, 2002. 65(4): p. 601-5.

41. Shao, Y., et al., Triterpene glycosides from *Cimicifuga racemosa*. *J Nat Prod*, 2000. 63(7): p. 905-10

42. Powell, S.L., et al., In vitro serotonergic activity of black cohosh and identification of N(omega)-methylserotonin as a potential active constituent. *J Agric Food Chem*, 2008. 56(24): p. 11718-26.

43. Godecke, T., et al., Guanidine alkaloids and Pictet-Spengler adducts from black cohosh (*Cimicifuga racemosa*). *J Nat Prod*, 2009. 72(3): p. 433-7.

44. Blumenthal M, Hall T, Goldberg A, et al. (eds.). *ABC Clinical Guide to Herbs*. Austin, TX: American Botanical Council; 2003.

45. Blumenthal M, Busse WR, Goldberg A, Gruenwald J, Hall T, Riggins CW, et al. (eds.), Klein S, Rister RS. *Trans. The Complete German Commission E Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines*. Austin, TX: American Botanical Council; Boston, MA: Integrative Medicine Communications; 1998.

46. Liske E. Therapeutic efficacy and safety of *Cimicifuga racemosa* for gynecologic disorders. *Advances in Therapy*. Jan.-Feb. 1998;15 (1):45-53.
47. Van Breemen, R.B., Liang, W., Banuvar, S., Shulman, L.P., Pang, Y.... Farnsworth, N.R. (2010). Pharmacokinetics of 23-epi-26-deoxyactein in women after oral administration of a standardized extract of black cohosh. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 87(2), 219-225.
48. Einbond, L.S., Soffritti, M., Espoti, D.D., Park, T., Cruz, E.... Vladimirova, A. (2009). Actein activates stress- and statin-associated responses and is bioavailable in Sprague-Dawley rats. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 23, 311-321.
49. Kronenberg, F. & Fugh-Berman, A. (2002). Complementary and alternative medicine for menopausal symptoms: A review of randomized, controlled trials. *Annals of Internal Med*, 37(10), 805-814.
50. Viereck, V., Emons, G., & Wuttke, W. (2005). Black cohosh: Just another phytoestrogen? *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 16(5), 214-221.
51. Jarry, H., Metten, M., Spengler, B., Christoffel, V., & Wuttke, W. (2003). In vitro effects of the *Cimicifuga racemosa* extract BNO 1055. *Maturitas*, 44, Supplement (0), S31-S38.
52. Düker, E.-M., Kopanski, L., Jarry, H., & Wuttke, W. (1991). Effects of extracts from *Cimicifuga racemosa* on gonadotropin release in menopausal women and ovariectomized rats. *Planta Medica*, 57, 420-424.
53. Meldrum, D. R., Tataryn, I. V., Frumar, A. M., Erlik, Y., Lu, K. H., & Judd, H. L. (1980). Gonadotropins, estrogens, and adrenal steroids during the menopausal hot flash. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 50(4), 685-689.
54. Bolle, P., Mastrangelo, S., Perrone, F., & Evandri, M. G. (2007). Estrogen-like effect of a *Cimicifuga racemosa* extract sub-fraction as assessed by in vivo, ex vivo and in vitro assays. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 107(3-5), 262-269.
55. Farnsworth, N.R., & Mahady, G.B. (2009). Research highlights from the UIC/NIH Center for Botanical Dietary Supplements Research for Women's Health: Black cohosh from the field to the clinic. *Pharmaceutical Biology*, 47(8), 755-760.

56. Жидкова Е.В., Лесиовская Е.Е., Линде В.А. Эффективность фитоэстрогенов в коррекции климактерических расстройств. Проблемы репродукции. 2012; 5: 115–9.
57. Балан В.Е. Применение фитоэстрогенов для лечения гипоестрогенных состояний. Рус. мед. журн. 2000; 8 (3): 56–61.
58. Powers C.N., Setzer WN. A molecular docking study of phytochemical estrogen mimics from dietary herbal supplements. In Silico Pharmacol 2015; 3: 4.
59. Park J., Shim M., Rhyu MR, Lee Y. Estrogen receptor mediated effects of *Cimicifuga* extracts on human breast cancer cells. Pharmazie 2012; 67 (11): 947–50.
60. Zierau O., Bodinet C., Kolba S. et al. Antiestrogenic activities of *Cimicifuga racemosa* extracts. J Steroid Biochem Mol Biol 2002; 80 (1): 125–30.
61. Burdette, J. E., Liu, J., Chen, S.-n, Fabricant, D. S., Piersen, C. E., Barker, E. L., Bolton, J.L. (2003). Black cohosh acts as a mixed competitive ligand and partial agonist of the serotonin receptor. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(19), 5661-5670.
62. Göedecke, T., Nikolic, D., Lankin, D. C., Chen, S.-N., Powell, S. L., Pauli, G.F. (2009). Phytochemistry of cimicifugic acids and associated bases in *cimicifuga racemosa* root extracts. Phytochemical analysis, 20(2), 120-133.
63. Nikolic D, Li J, van Breemen RB. Metabolism of Nomega -methylserotonin, a serotonergic constituent of black cohosh (*Cimicifuga racemosa*, L. (Nutt.)), by human liver microsomes. Biomed Chromatogr 2014; 28 (12): 1647–51
64. Chan, B. Y., Lau, K. S., Jiang, B., Kennelly, E.J., Kronenberg, F., & Kung, A. W. C. (2008). Ethanolic extract of *Actaea racemosa* (black cohosh) potentiates bone nodule formation in MC3T3-E1 preosteoblast cells. Bone, 43(3), 567-573.
65. Jiang, B., Yang, H., Nuntanakorn, P., Balick, M. J., Kronenberg, F., & Kennelly, E.J. (2005). The value of plant collections in ethnopharmacology: a case study of an 85-year-old black cohosh (*Actaea racemosa* L.) sample. Journal of Ethnopharmacology, 96(3), 521-528.
66. Einbond, L. S., Shimizu, M., Xiao, D., Nuntanakorn, P., Lim, J. T. E., Suzui, M., Weinstein, I.B. (2004). Growth inhibitory activity of extracts and purified

components of black cohosh on human breast cancer cells. *Breast Cancer Research and Treatment*, 83(3), 221-231.

67. Hostanska, K., Nisslein, T., Freudenstein, J., Reichling, J., & Saller, R. (2004). *Cimicifuga racemosa* extract inhibits proliferation of estrogen receptor-positive and negative human breast carcinoma cell lines by induction of apoptosis. *Breast Cancer Research and Treatment*, 84(2), 151-160.

68. Rice, S., Amon, A., & Whitehead, S. (2007). Ethanolic extracts of black cohosh (*Actaea racemosa*) inhibit growth and oestradiol synthesis from oestrone sulphate in breast cancer cells. *Maturitas*, 56(4), 359-367.

69. Ruhlen RL, Sun GY, Sauter ER. Black Cohosh: Insights into its Mechanism(s) of Action. *Integr Med Insights* 2008; 3: 21–32.

70. Loser B., Kruse S. O., Melzig M. F., Nahrstedt A., Inhibition of neutrophil elastase activity by cinnamic acid derivatives from *Cimicifuga racemosa*. *Planta Med* 2000; 66 (8): 751–3.

71. Strommer B., Khom S., Kastenberger I. et al. A cycloartane glycoside derived from *Actaea racemosa* L. modulates GABA_A receptors and induces pronounced sedation in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2014; 351 (2): 234–42.

72. Торшин И.Ю., Громова О.А., Лиманова О.А. «Быстрый эффект» бета-аланина при приливах: сравнительное исследование взаимодействий бета-аланина, таурина и глицина с глициновыми рецепторами. *Гинекология*. 2012; 14 (2): 65–9.

73. Suh KS, Choi EM, Jung WW et al. Deoxyactein protects pancreatic betacells against methylglyoxal-induced oxidative cell damage by the upregulation of mitochondrial biogenesis. *Int J Mol Med* 2017; 40 (2): 539–48.

74. Upton, R. (Ed.) 2002. *Black cohosh rhizome, monograph*. Santa Cruz, CA: American Herbal Pharmacopoeia.

75. Borrelli, F., & Ernst, E. (2008). Black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) for menopausal symptoms: A systematic review of its efficacy. *Pharmacological Research*, 58(1), 8-14.

76. Palacio, C., Masri, G., & Mooradian, A. D. (2009). Black cohosh for the

management of menopausal symptoms: A systematic review of clinical trials. *Drugs & Aging*, 26, 23-36.

77. Morgan, M. (2011). Herbs for the treatment of the symptoms of menopause. *A Phytotherapists Perspective*, 51 (May), 1-3.

78. Teschke R., Schwarzenboeck A., Schmidt-Taenzer W., Wolff A, Hennermann K. H., Herb induced liver injury presumably caused by black cohosh: a survey of initially purported cases and herbal quality specifications. *Annals of Hepatology*. 2011; 10(3):249-259.

79. NIH Workshop on the Safety of Black Cohosh in Clinical Studies. NIH, Bethesda, MD, November 22, 2004. 40 pp.

80. Chow E. C., Teo M., Ring J. A., Chen J.W., Liver failure associated with the use of black cohosh for menopausal symptoms. *The Medical Journal of Australia*. 2008; 188(7):420-422.

81. Sheehy C., Murty M., Pilon K., Black cohosh: international reports of liver toxicity. *Canadian Adverse Reactions Newsletter*. 2005; 15(3):2.

82. Levitsky J., Alli T. A., Wisecarver J., Sorrell M. F., Fulminant liver failure associated with the use of black cohosh. *Digestive Diseases and Sciences*. 2008; 53(3):869.

83. Strom L. E., Memorandum opinion in the United States District Court for the District of Nebraska, Grant and Beck v. Pharmavite and Nutraceutical Corp. Case: 8:05-cv-00066-LES-TDT, Document #149, September 8, 2006; 1-12.

84. USP issues caution statements on green tea extracts and black cohosh dietary supplement labels [press release]. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention; June 26, 2007.

85. American Herbal Products Association. AHPA urges USP to drop label cautions on black cohosh and green tea. *AHPA Update*. January 1, 2008.

86. United States Pharmacopeial Convention. Black Cohosh. In: USP 34-NF 29. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention. 2012;1083-1085.

87. Marles R.J., Omar S., Jordan S., Murty M., Perwaiz S., Bertrand R. and Lacroix P. Species misidentification of black cohosh products in Canada. *Developments in*

Botanical Dietary Supplements Research from 1994 to Today. College of Pharmacy, University of Illinois at Chicago. Scientific Poster Session. March 23, 2010.

88. Painter D., Perwaiz S., Murty M. Black cohosh products and liver toxicity: update. Canadian Adverse Reaction Newsletter. Jan. 2010; 20(1):12.

89. Betz J. M., Andersen L., Avigan M. I., Barnes J., Farnsworth N. R., et al. Issues for the 2010 Dietary Guidelines: black cohosh considerations of safety and benefit. Nutrition Today. 2009;44(4):155-162.

90. Teschke R., Schwarzenboeck A. Suspected hepatotoxicity by *Cimicifugae racemosae* rhizoma (black cohosh, root): critical analysis and structured causality assessment. Phytomedicine. 2009; 16(1):72-84.

91. Tsukamoto, S., Aburatani, M., & Ohta, T. (2002). Isolation of CYP3A4 Inhibitors from the Black Cohosh (*Cimicifuga racemosa*). ECAM, 2(2), 223-226.

92. Gurley, B. J., Barone, G.G., Williams, D. K., Carrier, J., Breen, P., Cheboyina, S. (2006). Effect of milk thistle (*Silybum marianum*) and black cohosh (*Cimicifuga racemosa*) supplementation on digoxin pharmacokinetics in humans. Drug Metabolism and Disposition 34, 69-74.

93. American Herbal Products Association (AHPA). (2007). Tonnage survey of select North American wild-harvested plants, 2004-2005. Silver Spring, MD: The American Herbal Products Association.

94. USP 29-NF 24 (United States Pharmacopeia 29—National Formulary 24). 2006. Rockville, MD: United States Pharmacopoeial Convention, 794 pp.

95. Державна Фармакопея України. / Держ. служба України з лік. засобів, Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів. — 2-ге вид. — Доповнення 1. - Харків : Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів, 2016. — 360 с

96. Medicinal Material DNA Barcode Database. Institute of Chinese Medicine, The Chinese University of Hong Kong. Available at: www.cuhk.edu.hk/icm/mmdbd.htm.

97. Xu H., Fabricant D. S., Piersen C. E., et al. A preliminary RAPD-PCR analysis of *Cimicifuga* species and other botanicals used for women's health. Phytomedicine. Dec 2002; 9 (8): 757-762.

98. Zerega NJC, Mori S., Lindqvist C., Zhen QY, Motley, T. J. Using amplified

fragment length polymorphisms (AFLP) to identify black cohosh (*Actaea racemosa*). *Economic Botany*. 2002; 56 (2): 154-164.

99. Pate S. J., Clement J. A., McCoy J. A., Lance S. L., Mathews K.G. Development and characterization of microsatellite markers for *Actaea racemosa* (black cohosh, Ranunculaceae). *American Journal of Botany*. 2012; 99(7): 274-276.

100. Lueck, L., Craker, L., & Motley, T. (2003). Black cohosh: Genetic diversity of a medicinal plant at risk. *Hortscience*, 38, 1265 - 1299

101. Spiering, M. J., Urban, L. A., Nuss, D. L., Gopalan, V., Stoltzfus, A., & Eisenstein, E. (2010) Gene identification in black cohosh (*Actaea racemosa* L.): expressed sequence tag profiling and genetic screening yields candidate genes for production of bioactive secondary metabolites. *Plant Cell Reports*, 30(4), 613-629.

102. Baker D. A., Stevenson D. W., Little D. P., DNA barcode identification of black cohosh herbal dietary supplements. *Journal of AOAC International*. 2012; 95 (4): 1023-1034.

103. Fabricant D. S., Nikolic D., Lankin D. C., et al. Cimipronidine, a cyclic guanidine alkaloid from *Cimicifuga racemosa*. *Journal of Natural Products*. 2005; (68):1266-1270.

104. Nuntanakorn P., Jiang B., Yang H., Cervantes-Cervantes M., Kronenberg F., Kennelly E. J. Analysis of polyphenolic compounds and radical scavenging activity of four American *Actaea* species. *Phytochemical Analysis*. 2007; 18(3):219-228.

105. Ankli A., Reich E., Steiner M. Rapid high-performance thin-layer chromatographic method for detection of 5% adulteration of black cohosh with *Cimicifuga foetida*, *C. heracleifolia*, *C. dahurica*, or *C. americana*. *Journal of AOAC International*. Nov.-Dec. 2008; 91(6):1257-1264.

106. HPTLC Black cohosh rhizome (*Cimicifuga racemosa*). HPTLC Association website. Available at: www.hptlc-association.org/about.cfm. Accessed March 27, 2013.

107. He K., Zheng B., Kim C. H., Rogers L., Zheng Q. Direct analysis and identification of triterpene glycosides by LC/MS in black cohosh, *Cimicifuga racemosa*, and in several commercially available black cohosh products. *Planta Medica*. 2000; 66(7):635-640.

108. Avula B., Wang Y. H., Smillie T. J., Khan I. A. Quantitative determination of triterpenoids and formononetin in rhizomes of black cohosh (*Actaea racemosa*) and dietary supplements by using UPLC-UV/ELS detection and identification by UPLC-MS. *Planta Medica*. Mar. 2009; 75(4):381-386.
109. Wang H. K., Sakurai N., Shih C. Y., Lee K. H. LC/TIS-MS fingerprint profiling of *Cimicifuga* species and analysis of 23-epi-26-deoxyactein in *Cimicifuga racemosa* commercial products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53(5):1379-1386.
110. Gafner S., Sudberg S., Sudberg E. M., Villinski J. R., Gauthier R., Bergeron C. Chromatographic fingerprinting as a means of quality control: distinction between *Actaea racemosa* and four different *Actaea* species. In: Khan IA et al. (eds.) *Proceedings of the IVth International Conference on Quality and Safety in Botanicals*. *Acta Horticulturae*. 2006; (720); 83-94.
111. Jiang B., Kronenberg F., Nuntanakorn P., Qiu M.H., Kennelly E. J. Evaluation of the botanical authenticity and phytochemical profile of black cohosh products by high-performance liquid chromatography with selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006;54(9):3242-3253.
112. Jiang B., Ma C., Motley T., Kronenberg F., Kennelly E. J. Phytochemical fingerprinting to thwart black cohosh adulteration: a 15 *Actaea* species analysis. *Phytochemical analysis: PCA*. 2011;22(4):339-351.
113. Black Cohosh. In: USP 34-NF 29. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention. 2011;1083-1085.
114. Health Canada, Drugs & Health Products, Natural Health Products Ingredients Database. Monograph: Black Cohosh (updated September 19, 2008).
115. Committee on Herbal Medicinal Products, European Medicines Agency. Community monograph on *Cimicifuga racemosa* (L.) Nutt., rhizoma. 2011; November 25, 2010; EMA/HMPC/600717/2007 Corr.

ФАРМАЦЕВТИЧНІ НАУКИ / ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

Марія Бондаренко
(Київ, Україна)

ФІТОПРЕПАРАТ НА ОСНОВІ ЦИМІЦИФУГИ ГАЛУЗИСТОЇ

Жінки шукають альтернативу замісниковій гормональній терапії для полегшення клімактеричних симптомів, особливо припливів – в ідеалі препарати без естрогенного впливу на матку і молочну залозу, такі, що не підвищують згортання крові. Для цього ідеально підійдуть препарати на основі Циміцифуги галузистої. В статті проведено аналіз фармацевтичного ринку на препарати які містять у своєму складі Циміцифугу галузисту та описано хімічний склад лікарської рослинної сировини та фармакологічний ефект.

Ключові слова: циміцифуга галузиста, фітопрепарат, менопауза, Клімактоплан, Ременс, Клімадинон, Сімідона.

Women are looking for an alternative to hormone replacement therapy to relieve menopausal symptoms, especially hot flashes - ideally drugs without estrogenic effects on the uterus and breast, which do not increase blood clotting. For this purpose preparations on the basis of Tsimitsifuga branch are ideally suited. The article analyzes the pharmaceutical market for drugs that contain Cimicifuga branch and describes the chemical composition of medicinal plant raw materials and pharmacological effect.

Key words: cimicifuga branched, phytopreparation, menopause, Klimaktoplan, Remens, Klimadinon, Simidona.

Вступ. Нинішній фармацевтичний ринок приділяє мало уваги замісниковій гормональній терапії. Потребуючою групою такого сегменту фармацевтичного ринку є жінки перед та клімактеричного віку, що знаходяться під впливом дефіциту ендогенних естрогенів. У зв'язку з цим, у жінок прогресують інволютивні, дегенеративні процеси органів та тканин, що призводить до значного погіршення якості життя.

Синтетична гормональна терапія має багато недоліків, тому сьогодні все більше уваги приділяється розробці препаратів на основі натуральної сировини. Багато рослин мають у своєму складі фітоестрогени. Фітоестрогени – об'єднана група хімічних речовин, що проявляють в організмі людини подібну до ендогенних естрогенів дію. За хімічною структурою вони не є стероїдами. Фітоестрогени представлені ізофлавонами (дайдзеїн, геністеїн), куместанами (куместіол, тріфоліол), тритерпеноїдними сапонінами, лігнанами, тощо.

Основна частина. Фітоестрогени у порівнянні із ендогенними естрогенами, проявляють у порядку 100 разів слабшу дію, що дає можливість варіювати дозування та безпечно коригувати гормональний фон у жінок.

Фітоестрогени у великій кількості знаходяться у рослинах родів *Linum*, *Medicago*, *Glycyrrhiza*, *Salvia*, *Humulus*, *Origanum*, *Ranunculaceae* тощо. Окрім фітоестрогенів, у цих рослинах міститься багато інших груп речовин, що надає рослинам більш широкий спектр фармакологічної дії.

Саме до роду *Ranunculaceae* належить циміцифуга галузиста або клопогон китицеподібний (*C. racemosa*).

Циміцифуга – це багаторічна трав'яниста рослина 1–2,5 м заввишки. Листки складні, перисті, до 7 см завдовжки; листочки по краю пилчасті, біля основи серце або клиноподібні, з гладенькою поверхнею. Квітки дрібні, білі, зібрані у китиці. Плід – кістянка з 5–8 насінинами.

Найбільш вираженими лікарськими властивостями володіють розгалужені багатоглаві кореневища. Кореневища темно-коричневі, циліндричні, частково вузлуваті, завдовжки до 15

Тенденції та перспективи розвитку науки і освіти в умовах глобалізації

см, у діаметрі 1–2,5 см. Корені темно-коричневі, 1–3 мм у діаметрі, тендітні, циліндричні, поздовжньо-зморшкуваті, відходять від нижньої поверхні кореневища. Заготівля їх починається після дозрівання плодів, тобто не раніше кінця серпня. Викопане кореневище слід обтрусити від землі, ретельно вимити й подрібнити. Сушка проводиться при температурі близько 60 градусів. Підходить для сушки духовка або сушарка. Зберігати коріння потрібно при низькій вологості повітря. Висушені кореневища мають слабкий неприємний запах, смак гіркий. Зберігати сировину можна 2 роки.



Рис. 1 Загальний вигляд циміцифуги галузистої та коренів

Лікарська рослинна сировина є компонентом препаратів: Клімадинон, Клімактоплан, Ременс, Клімаксан гомеопатичний, Клімакто-Гран, Мулімен, які застосовуються при психоемоційних та вегетосудинних порушеннях у перед та клімактеричний періоди; Шведська гіркота Др. Тайсс – при захворюваннях ШКТ; Хомвіо-Ревман, Дискус Композитум – для лікування опорно-рухового апарату; Сон-Норма, Успокой – седативні засоби; Вес-Норма – для корекції надлишкової маси тіла. Фітозасоби клопогону мають протизапальну та естрогенну активність.



Рис. 2. Препарати, що містять циміцифугу

Основні хімічні компоненти тритерпенові сапоніни – похідні циклоартану (актеол, ацетилактеол, цимігенол, актеїн, циміцифу-гозиди, цимірацемозиди); хінолізидинові алкалоїди (цитизин, N-метилцитизин); флавоноїди (формононетин); органічні кислоти. Результати досліджень показують, що основні активні компоненти *C. racemosa* представлені у вигляді тритерпенових сполук [2, 3]. Більшість знайдених в складі екстрактів *C. racemosa* біологічно активних сполук являються тритерпеновими глікозидами. Основні молекулярні компоненти екстрактів *C. racemosa* вказані в таблиці 1.

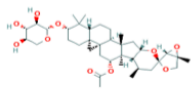
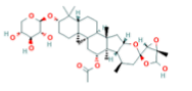
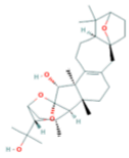
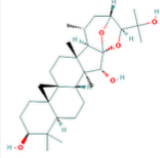
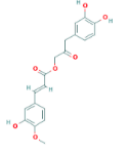
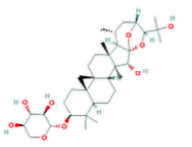
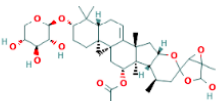
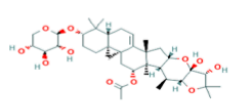
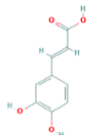
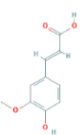
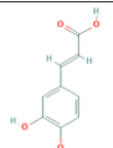
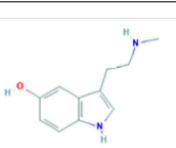
Рослини роду *Cimicifuga* є багатим джерелом тритерпенових сапонінів типу цимігенолу, шенгманолу, цимірацегогеніну, циміфугеніну та актеїну, фетидінолу та інших. Дані

Тенденції та перспективи розвитку науки і освіти в умовах глобалізації

молекули відрізняються не тільки загальною структурою молекули, але і моносахаридними замісниками (ксилоза, арабіноза, глюкоза, галактоза), які можуть приєднуватися практично до кожної ОН-групи в структурах відповідних молекул.

Таблиця 1

Основні молекулярні компоненти екстрактів *C. racemosa*

Деоксиактеїн		Актеїн	
Ацеринол		Цимігенол	
Цимірацемат А		Цимігенозид	
Циміцифугозид		Цимірацемозид А	
Кофеїнова кислота		Ферулова кислота	
Ізоферулова кислота		Но-метилсеротонін	

Другою групою сполук, найбільш широко представлених в складі екстрактів циміцифуги є гідроксикоричні кислоти, включаючи кофеїнову, ферулову та ізоферулову. Крім того в складі екстрактів виявлені невеликі кількості фенольних кислот: похідні фукоїнової кислоти, включаючи циміцифугові кислоти А-Ж, циміметикати А-Д, які подібно терпеновим глікозидам є характерними хімічними складовими екстрактів циміцифуги.

Всі інші сполуки (такі, як лігнани, акталактон, ізоларіцирезинол-3-О-β-D-глюкопіранозид; ізофлавіон формонетин, 4α-метилстероїд цимістерол А) представлені в складі відомих екстрактів циміцифуги в невеликій кількості. Основою хімічного складу препаратів з циміцифуги є екстракт циміцифуги (а саме тритерпенові глікозиди і гідроксикоричні кислоти). Молекулярно-фармакологічні властивості молекулярних компонентів екстрактів циміцифуги розглянуті далі.

Ефективність дії екстрактів *C. racemosa* пов'язана з особливостями їх хімічного складу. Дослідження 7 видів рослин циміцифуги призвело до ідентифікації більше 450 з'єднань. Фармакологічні дослідження продемонстрували антиоксидантний, адаптогенний, протівірусний, протипухлинний та інші ефекти екстрактів *C. racemosa*. Було показано, що для досягнення максимальних ефективності і безпеки необхідно використовувати стандартизовані екстракти циміцифуги [4].

Тенденції та перспективи розвитку науки і освіти в умовах глобалізації

Пропонується кілька механізмів дії екстрактів *C. racemosa*, серед яких слід виділити наступні [5]:

- 1) виборча модуляція рецепторів естрогену;
- 2) активація серотонінергічних шляхів нейротрансмісії;
- 3) активація ГАМК-ергічних шляхів;
- 4) активація протизапальних шляхів;
- 5) нормалізація обміну цукрів і протидіабетичні ефекти.

Рецептори естрогенів та молекулярні компоненти екстрактів *C. racemosa*.

При відсутності сучасної інформації про склад екстрактів циміцифуги вважалося, що ефективність екстрактів *C. racemosa* обумовлена вмістом деяких фітоестрогенів. Відомо, що застосування естрогеноподібних речовин, виділених з різних рослин, дійсно ефективні при корекції перименопаузальний розладів [6, 7] і для лікування гіпоестрогених станів [8, 9]. Однак сучасні дослідження показали, що фітоестрогени (наприклад, ізофлавіон формонетин) містяться в екстрактах циміцифуги якщо не у невеликій, то все-таки в дуже малих кількостях [4]. Тому в даний час активно вивчаються можливі естрогеномодельючі властивості тритерпенових глікозидів, які складають основну масу хімічних компонентів екстрактів циміцифуги.

Біофізичне моделювання взаємодії 11 молекулярних компонентів екстрактів циміцифуги (циміцифугових кислот типу А, В, G, F; цименіфенолу, циміраматы, цимірацетату А, В, С, D і фуколінової кислоти) з естрогенами рецепторами людини ER α і ER β показали, що найсильнішу спорідненість до обох типів рецепторів естрогенів проявляли циміцифугова кислота F, цимірабат В і цимірацетат D [10].

Проте прямих і експериментально верифікованих даних про вплив екстрактів циміцифуги на рецептори естрогенів немає. Наприклад, експериментальне дослідження спиртових екстрактів циміцифуги показало, що вони не активували або НЕ інгібували рецептори естрогенів типу ER α в досить широкому діапазоні концентрацій - 0,005-0,5 мг / мл [11].

Більш того, наявні дані вказують навіть на можливість існування антиестрогенної активності екстрактів *C. racemosa*. Незважаючи на широке використання і незаперечну ефективність стандартизованих екстрактів *C. racemosa* для лікування менопаузального синдрому, практично немає інформації, що вказує безпосередньо активацію рецепторів естрогену компонентами екстрактів *C. racemosa*.

Наприклад, естрогенні та антиестрогенні ефекти етанольних та ізопропанольних екстрактів *C. racemosa* тестувалися по відношенню до проліферації клітин пухлин молочної залози MCF-7. Естрогенні властивості екстрактів *C. racemosa* не змогли бути підтверджені при аналізі впливу на проліферацію естроген-залежної лінії клітин MCF-7 або при аналізі експресії естроген залежних генів. Навпаки, екстракти *C. racemosa* проявляли антиестрогенні ефекти: індукована естрадіолом проліферація клітин MCF-7 інгібувати при досить низьких концентраціях екстрактів *C. racemosa* (1 мкг/мл), а експресія естрогензалежних генів придушувалася екстрактами *C. racemosa* в дозах 100-1000 мкг/мл [12].

Встановлена на сьогодні неадекватність гіпотези про естрогеноподібну дію екстрактів циміцифуги і неоднозначність результатів експериментів, в яких досліджувалася активація рецепторів естрогену компонентами екстрактів *C. racemosa*, цілком зрозумілі. Дійсно, є суттєві відмінності в структурі тритерпенових глікозидів екстрактів *C. racemosa* і естрогенів. Так, естрогени містять так зване естрогенове «ядро», що складається з чотирьох сполучених кілець, причому одне з них бензольне кільце, що позначається трьома подвійними зв'язками, воно додає жорсткість всій структурі естрогенового «ядра». Молекулярні компоненти екстрактів *C. racemosa* містять подібний фрагмент, але без бензольного кільця. Крім того, актеїн і інші компоненти екстрактів *C. racemosa* істотно більше за розміром, ніж стероїдне ядро, що буде істотно ускладнювати взаємодію молекул в складі екстрактів *C. racemosa* з рецепторами естрогену.

Тенденції та перспективи розвитку науки і освіти в умовах глобалізації

Таким чином, спираючись на сучасні дані, зниження припливів у жінок, що вживають стандартизовані екстракти *C. racemosa*, пов'язано не стільки з естрогеноподібною дією, скільки з серотонінергічною і ГАМК-ергічною активністю екстрактів.

Серотонінові рецептори та молекулярні компоненти екстрактів *C. racemosa*.

N ω -метилсеротонін з екстрактів *C. racemosa* є агоністом рецепторів серотоніну 5-HT_{1A} і 5-HT₇. Основний шлях метаболізму цього з'єднання в організмі полягає в біотрансформації в ацетальдегід-5-гідроксиіндол за допомогою моноаміноксидази А [13]. Показано, що екстракти *C. racemosa* діють як часткові агоністи серотонінового рецептора. Наприклад, 40% пропраноловий екстракт *C. racemosa* тестували на 10 підтипів серотонінового рецептора. У складі екстрактів були встановлені з'єднання, що характеризуються сильним зв'язуванням з рецепторами підтипів 5-HT_{1A} (протитривожна дія, регуляція апетиту, артеріальний тиск, терморегуляція, поліпшення пам'яті і сну), 5-HT_{1D} (протитривожна дія, регуляція артеріального тиску, терморегуляція) і 5-HT₇ (протитривожна дія, терморегуляція, поліпшення пам'яті і сну). Модель взаємодії N ω -метилсеротоніну з серотоніновими рецепторами показана на рис. 3

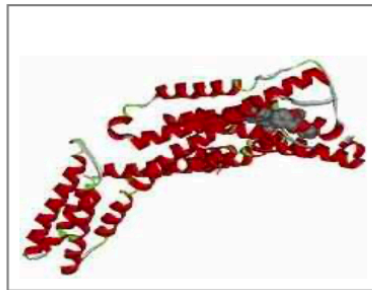


Рис.3 Просторова структура серотонінового рецептора типу 5-HT_{1A} (Модель на основі PDB 4iaq), що взаємодіє з N ω -метилсеротоніном екстрактів циміцифуги (сферична модель)

Компоненти екстракту *C. racemosa* функціонують як конкурентні ліганди серотонінових рецепторів, які також підвищують рівні циклічного аденозинмонофосфату (тобто є частковими агоністами серотонінових рецепторів) [14]. Оскільки всі перераховані типи серотонінових рецепторів залучені до процесів терморегуляції, активація цих рецепторів молекулами екстрактів *C. racemosa* буде істотно збільшувати адаптаційний резерв терморегуляторної зони кори, сприяючи зниженню частоти та інтенсивності припливів.

Рецептори γ -аміномасляної кислоти і молекулярні компоненти екстрактів *C. racemosa*.

Серед молекулярних компонентів екстрактів *C. racemosa* були ідентифіковані 4 циклоартанові глікозиди, які стимулюють активацію рецепторів γ -аміномасляної кислоти А (ГАМК_A - рецепторів), які складаються з субодиниць α (1), β (2) і γ (2S). Так, 23-О-ацетілшенгманол-3-О- β -d-ксилопіранозид в складі екстрактів *C. racemosa* в концентрації 100 мкМ істотно посилював перебіг через ГАМК_A-рецептори (на +1692 \pm 201%) в присутності ГАМК. Інші молекули (актеїн, цимігенол 3-О- β -d-ксилопіранозид, 25-О-ацетилцимігенол-3-О- α -1-арабінопіранозид) посилювали перебіг через ГАМК_A-рецептори в значно меншому ступені. У той же час при впливі молекулярних компонентів екстрактів *C. racemosa* за відсутності ГАМК спостерігалось лише невелике збільшення перебігу іонів Cl⁻ через ГАМК-рецептори (<1%). Отже, тритерпенові глікозиди в екстрактах циміцифуги сприяють аллостеричній активації ГАМК-рецепторів [15]. Циклоартан 23-О-ацетилшенгманол-3-О- β -d-ксилопіранозид з екстракту *C. racemosa* не тільки модулює ГАМК_A-рецептори, але і індукує седативну реакцію у мишей [16].

Протизапальна дія молекулярних компонентів екстрактів *C. racemosa*

Протизапальну дію екстрактів *C. racemosa* опосередковується цимірацетатом А (див. табл. 1), який пригнічує індуковану ліпополісахаридом (1 нг / мл) продукцію прозапальних цитокінів фактора некрозу пухлини α (ФНП- α) в макрофагах крові (на 47 \pm 19% при концентрації в 140 мкМ), а також секрецію прозапальних інтерлейкінів - ІЛ-6 та ІЛ-23.

Тенденції та перспективи розвитку науки і освіти в умовах глобалізації

Протизапальна активність молекули цимірацетату А опосередкована модуляцією внутрішньоклітинної передачі сигналу через мітогенактивовані протеїнкінази (МАР) і пригніченням активності прозапального фактора транскрипції NF-κB [17]. Імовірно, цимірацетат А пригнічує рецептор ФНП-α, що пояснює вплив цимірацетата А на активність ФНП-α, МАР, NF-κB (рис.4). Тритерпен дезоксиактеїн-23-епі-26-деоксиактеїн в складі екстрактів *C. racemosa* також пригнічує індуковану цитокінами активацію макрофагів [5].

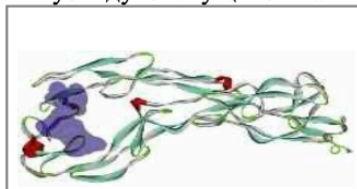


Рис. 4. Модель просторової структури рецептора ФНП-α. Синім вказано частину рецептора, який зв'язується цимірацетатом А

Протизапальні ефекти екстрактів *C. racemosa* обумовлені в тому числі і дією гідроксикоричних кислот (кофеїнової, фукоїнолової, ферулової, ізоферулової, циміцифугової кислоти А, В, Е і F). Гідроксикоричні кислоти інгібують активність еластази нейтрофілів.

Протидіабетичні ефекти молекулярних компонентів екстрактів *C. racemosa*.

Нормалізація обміну цукрів, який становить один з найважливіших різновидів енергетичного метаболізму, вельми важлива для терапії патології перименопаузи [18]. Тритерпенові глікозиди екстрактів циміцифуги вносять істотний внесок в нормалізацію обміну цукрів і знижують глікозилювання ендогенних білків. Продукти глікозилювання білків сприяють розвитку хронічного запалення, що посилює пошкодження клітин підшлункової залози.

У моделі метилгліоксалу моделі ураження β-клітин підшлункової залози дезоксиактеїн з екстракту *C. racemosa* активує біогенез мітохондрій і захищає β-клітини підшлункової залози від оксидативного стресу і патологічного впливу глікозилювання білків. Нагадаємо, що метилгліоксаль - один з основних попередників продуктів глікозилювання, асоційованих з розвитком ускладнень діабету. В експерименті попередня (до впливу метилгліоксалу) обробка β-клітин дезоксиактеїном значно зменшувала рівні внутрішньоклітинних активних форм кисню (АФК), ІЛ-1β, перекисного окислення фосфоліпідів кардіоліпіну та накопичення глікозилюваних білків в β-клітинах [19].

Крім дезоксиактеїну ізоферулова кислота в складі екстрактів циміцифуги також запобігає глікозилюванню білків і пов'язаному з цим пошкодження клітинної ДНК [20].

Антидіабетичні ефекти екстрактів циміцифуги доповнюються ефектами меланіну. Меланін є антиоксидантом і сприяє нейтралізації пероксиданіонів та інших АФК. Крім ролей у підтримці забарвлення шкірних покривів меланін сприяє підвищенню резервів адаптації організму [1].

Висновки. Вважається, що основним механізмом дії екстрактів циміцифуги (*C. racemosa*) є естрогенна активність. У тей же час результати сучасних досліджень молекулярного складу екстрактів циміцифуги і молекулярних механізмів дії компонентів екстрактів вказують на такі вкрай важливі механізми дії, як активація серотонінергічних і ГАМК-ергічних шляхів нейротрансмісії, протизапальних і протидіабетичних ефектів. Наявність у стандартизованих екстрактів *C. racemosa*, імуномодельюючого (протипухлинного) ефекту робить перспективним використання препаратів на основі екстрактів *C. racemosa* для супроводу замісної гормональної терапії естрогенами.

ДЖЕРЕЛА ТА ЛІТЕРАТУРА

1. Громова О.А., Торшин І.Ю., Лиманова О.А., Лапочкіна Н.П. *Систематический анализ фармакологии стандартизированных природных экстрактов цимицифуги для поддержки женского здоровья*. 2017.

2. Gai YY, Liu WH, Sha CJ et al. *Pharmacokinetics and bioavailability of cimicifugosides*

Тенденції та перспективи розвитку науки і освіти в умовах глобалізації

- after oral administration of *Cimicifuga foetida* L. extract to rats. *J Ethnopharmacol* 2012; 143 (1): 249–55.
3. Chen JY, Li PL, Tang XL et al. *Cycloartane Triterpenoids and Their Glycosides from the Rhizomes of Cimicifuga foetida*. *J Nat Prod* 2014; 77 (9): 1997–2005.
 4. Guo Y, Yin T, Wang X et al. *Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of the genus Cimicifuga: A review*. *J Ethnopharmacol* 2017; 209: 264–82.
 5. Ruhlen RL, Sun GY, Sauter ER. *Black Cohosh: Insights into its Mechanism(s) of Action*. *Integr Med Insights* 2008; 3: 21–32.
 6. Жидкова Е.В., Лесиовская Е.Е., Линде В.А. *Эффективность фитоэстрогенов в коррекции климактерических расстройств. Проблемы репродукции*. 2012; 5: 115–9.
 7. Татарчук Т.Ф., Ефименко О.А. *Фитотерапия ранних менопаузальных расстройств*. *Репродуктивная эндокринология*. 2012; 3: 41–4.
 8. Балан В.Е. *Применение фитоэстрогенов для лечения гипоэстрогенных состояний*. *Рус. мед. журн.* 2000; 8 (3): 56–61.
 9. Никитин А.И. *Фитоэстрогены (лекция). Проблемы репродукции*. 2000; 3.
 10. Powers CN, Setzer WN. *A molecular docking study of phytochemical estrogen mimics from dietary herbal supplements*. *In Silico Pharmacol* 2015; 3: 4.
 11. Park J, Shim M, Rhyu MR, Lee Y. *Estrogen receptor mediated effects of Cimicifuga extracts on human breast cancer cells*. *Pharmazie* 2012; 67 (11): 947–50.
 12. Zierau O, Bodinet C, Kolba S et al. *Anti-estrogenic activities of Cimicifuga racemosa extracts*. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002; 80 (1): 125–30.
 13. Nikolic D, Li J, van Breemen RB. *Metabolism of N-methylserotonin, a serotonergic constituent of black cohosh (Cimicifuga racemosa, L. (Nutt.)), by human liver microsomes*. *Biomed Chromatogr* 2014; 28 (12): 1647–51.
 14. Burdette JE, Liu J, Chen SN et al. *Black cohosh acts as a mixed competitive ligand and partial agonist of the serotonin receptor*. *J Agric Food Chem* 2003; 51 (19): 5661–70.
 15. Cicek SS, Khom S, Taferner B et al. *Bioactivity-guided isolation of GABA(A) receptor modulating constituents from the rhizomes of Actaea racemosa*. *J Nat Prod* 2010; 73 (12): 2024–8.
 16. Strommer B, Khom S, Kastenberger I et al. *A cycloartane glycoside derived from Actaea racemosa L. modulates GABA_A receptors and induces pronounced sedation in mice*. *J Pharmacol Exp Ther* 2014; 351 (2): 234–42.
 17. Yang CL, Chik SC, Li JC et al. *Identification of the bioactive constituent and its mechanisms of action in mediating the anti-inflammatory effects of black cohosh and related Cimicifuga species on human primary blood macrophages*. *J Med Chem* 2009; 52 (21): 6707–15.
 18. Торшин И.Ю., Громова О.А., Лиманова О.А. *«Быстрый эффект» бета-аланина при приливах: сравнительное исследование взаимодействий бета-аланина, таурина и глицина с глициновыми рецепторами*. *Гинекология*. 2012; 14 (2): 65–9. /
 19. Suh KS, Choi EM, Jung WW et al. *Deoxyactein protects pancreatic beta-cells against methylglyoxal-induced oxidative cell damage by the upregulation of mitochondrial biogenesis*. *Int J Mol Med* 2017; 40 (2): 539–48.