

МЫЗНИКОВА ОЛЬГА АЛЕКСАНДРОВНА

**ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ
ХАТЬМЫ ТЮРИНГЕНСКОЙ ТРАВЫ, ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ НА
ТЕРРИТОРИИ АЛТАЙСКОГО КРАЯ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук**

Пермь – 2019

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор фармацевтический наук, профессор **Федосеева Людмила Михайловна**

Официальные оппоненты:

Бубенчикова Валентина Николаевна – доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакогнозии и ботаники, заведующий кафедрой;

Ханина Миниса Абдуллаевна – доктор фармацевтических наук, профессор, государственное образовательное учреждение высшего образования Московской области «Государственный гуманитарно-технологический университет», кафедра химии, заведующий кафедрой.

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа.

Защита диссертации состоится «26» февраля 2019 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (614990, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2, тел. (342) 233-55-01)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46) и на сайте (<http://www.pfa.ru>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «__» _____ 201_ г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук

Замараева Татьяна Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Растения семейства Мальвовые (*Malvaceae* Juss.) применяются в народной медицине как отхаркивающие, противовоспалительные, обволакивающие средства. В научной медицине для лечения простудных и острых респираторных заболеваний используют алтей лекарственный (*Althaea officinalis* L.) и алтей армянский (*Althaea armeniaca* Ten.), трава и корни которых содержат полисахаридный комплекс, но их ареал распространения на территории Алтайского края ограничен. Возникает необходимость поиска дополнительных сырьевых источников среди близкородственных видов. Одно из таких растений – хатьма тюрингенская (*Lavatera thuringiaca* L.). Преимуществами данного вида являются структурное разнообразие комплекса биологически активных соединений (БАС) (полисахариды, фенольные соединения) и широкое распространение на территории Алтайского края.

Степень разработанности темы исследования. Фитохимическому изучению хатьмы тюрингенской посвящены работы зарубежных и отечественных учёных: I. Matlawska (1999), P. Mašković (2018), В.Г. Беликов (2005, 2007), С.В. Меньков (2006), А.Ф. Абрамова (2013).

Цель и задачи исследования. Цель работы – фитохимическое изучение, установление показателей доброкачественности, специфической активности, перспектив использования в качестве лекарственного растительного сырья и стандартизация хатьмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края.

Для реализации поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Провести морфолого-анатомическое изучение хатьмы тюрингенской травы, выявить диагностические признаки.
2. Изучить фитохимический состав БАС хатьмы тюрингенской травы и корней.
3. Провести выделение, идентификацию и количественное определение БАС (водорастворимых полисахаридов, аминокислот, органических кислот, флавоноидов, фенолокислот, дубильных веществ, кумаринов) в лекарственном растительном сырье (ЛРС).
4. Провести сравнительный анализ состава БАС надземных и подземных органов хатьмы тюрингенской.
5. Изучить острую токсичность и специфическую активность настоя травы хатьмы тюрингенской.
6. Провести предварительные исследования запасов хатьмы тюрингенской травы в окрестностях села Новиково Бийского района Алтайского края.

7. Установить показатели доброкачественности хатьмы тюрингенской травы. Провести анализ ЛРС, собранного в разные сроки и из разных мест произрастания.
8. Установить сроки годности и сроки заготовки хатьмы тюрингенской травы.
9. Разработать проект НД «Хатьмы тюрингенской трава цельная».

Методология и методы исследования. Исследование проводилось в период с 2015 по 2018 гг. с использованием комплекса современных физико-химических методов анализа и последующей статистической обработкой результатов. Теоретическую основу исследования составляли труды зарубежных и отечественных учёных по макроскопическому, микроскопическому и фитохимическому анализу лекарственного растительного сырья.

В качестве объектов исследования использовали хатьмы тюрингенской траву, заготовленную в фазы бутонизации, цветения и плодоношения, и корни, заготовленные весной и осенью. Заготовку сырья проводили в 2015-2017 гг. на территории Алтайского края в 7 районах, различающихся по климатическим условиям и уровню техногенной нагрузки (Бийский, Быстроистокский, Калманский, Красногорский, Первомайский, Солтонский, Целинный районы).

В процессе исследования использованы фармакогностические, фармакологические, химические, физико-химические методы анализа (спектрофотометрия (СФМ), тонкослойная хроматография (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)).

Научная новизна. Впервые проведено комплексное фармакогностическое исследование хатьмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края. Установлено, что в состав комплекса БАС исследуемого ЛРС входят моносахариды (арабиноза, галактоза, глюкоза); водорастворимые полисахариды (слизи); пектиновые вещества; гемицеллюлозы А и Б; органические кислоты (винная, щавелевая, лимонная); свободные аминокислоты (α -аланин, β -аланин, метионин, аспарагиновая кислота); тритерпеновые сапонины; конденсированные и гидролизуемые дубильные вещества; оксикоричные кислоты (производные кофейной, хлорогеновой, кумаровой, феруловой кислот); флавоноиды (группы флавона, флавонола, катехина); кумарины (производные умбеллиферона). Определено количественное содержание водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ, гемицеллюлоз, органических кислот, свободных аминокислот, фенолокислот, дубильных веществ, флавоноидов, кумаринов.

Проведены исследования по определению острой токсичности, установлена противовоспалительная активность настоя травы хатьмы тюрингенской.

Установлены показатели подлинности и доброкачественности ЛРС.

Практическая значимость работы. В результате проведённых исследований показана возможность расширения ассортимента ЛРС за счёт использования хатьмы тюрингенской травы. Установлено наличие противовоспалительной активности настоя травы хатьмы тюрингенской при остром воспалении. Исследованы заросли хатьмы тюрингенской, расположенные в

окрестностях села Новиково Бийского района Алтайского края. Определены урожайность, эксплуатационный запас, возможный объём ежегодных заготовок. Разработан проект нормативной документации (НД) «Хатьмы тюрингенской трава цельная».

Степень внедрения. Теоретические положения и результаты экспериментальных исследований используются в учебном процессе кафедры фармации АГМУ; на фармацевтическом предприятии ЗАО «Эвалар». Акт внедрения в работу ЗАО «Эвалар» от 28 марта 2018 г.

Связь задач исследования с проблемным планом. Работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России. Номер государственной регистрации темы исследования АААА-А18-118041190036-2. Тема утверждена на заседании научно-координационного совета ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России (протокол №3 от 19 ноября 2015 г.).

Основные положения, выносимые на защиту: результаты фитохимического, фармакогностического исследования хатьмы тюрингенской травы; определение острой токсичности и специфической активности настоя травы хатьмы тюрингенской.

Степень достоверности и апробация результатов. Основные результаты исследований доложены на научно-практических конференциях: XVII городская научно-практическая конференция молодых учёных «Молодёжь – Барнаулу» (г. Барнаул, 2015 г.), XVI научно-практическая конференция АГМУ, посвящённая Дню Российской Науки (г. Барнаул, 2016 г.), II Итоговая научно-практическая конференция НОМУИС АГМУ (г. Барнаул, 2017 г.), I Всероссийский межвузовский GxP-саммит с международным участием «Выбор лучших. Время вперёд» (г. Тула, 2017 г.), XIX городская научно-практическая конференция молодых учёных «Молодёжь – Барнаулу» (г. Барнаул, 2017 г.), Научно-практическая конференция «Современная медицинская наука: достижения и перспективы» в рамках Недели науки АГМУ 2018 (г. Барнаул, 2018 г.), III Итоговая научно-практическая конференция научного общества молодых учёных, инноваторов и студентов (г. Барнаул, 2018 г.).

Публикации по теме исследования. Основные результаты исследований изложены в 17 научных статьях, 3 из которых – в изданиях, рецензируемых ВАК.

Личный вклад автора в получение результатов. Вклад автора в работу является определяющим и заключается в непосредственном участии во всех этапах исследования, в написании глав диссертации и научных статей. Автор самостоятельно освоил методы и методики работы. Провёл статистическую обработку полученных данных.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия,

фармакогнозия. Область исследования и полученные результаты соответствуют пунктам 2, 5, 6 паспорта специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Объём и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 156 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, четырёх глав, отражающих результаты собственных экспериментальных исследований, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, приложений. Работа иллюстрирована 33 таблицами и 29 рисунками. Список литературы включает 158 источников, из них – 31 зарубежный.

Во введении изложена актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, обозначена новизна и практическая значимость проведённых исследований; описаны положения, выносимые на защиту.

Первая глава содержит аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы: ботаническую характеристику изучаемого вида; данные по его распространению на территории России и Алтайского края; информацию об использовании растения в различных сферах человеческой деятельности, в т.ч. в научной и народной медицине; информацию о химическом составе хатмы тюрингенской травы.

Вторая глава посвящена описанию объектов, методов и методик исследования.

В третьей главе приведены результаты фитохимического изучения и сравнительного анализа комплексов БАС хатмы тюрингенской корней и травы.

В четвёртой главе изложены результаты определения острой токсичности и специфической (противовоспалительной) активности настоя травы хатмы тюрингенской.

В пятой главе описаны исследования запасов хатмы тюрингенской травы в окрестностях села Новиково Бийского района Алтайского края.

В шестой главе приведены результаты морфологического, микроскопического анализа, установлены показатели подлинности и доброкачественности сырья, использованные для разработки проекта НД. Установлены срок заготовки и срок годности сырья.

В приложении представлены результаты изучения качества сырья при хранении, проект НД, основные документы, подтверждающие внедрение результатов диссертационной работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали хатмы тюрингенской траву, заготовленную в фазы бутонизации, цветения и плодоношения; корни, заготовленные весной и осенью. Заготовку сырья проводили в 2015–2017-х гг. на территории Алтайского края в семи

районах, различающихся по климатическим условиям и уровню техногенной нагрузки (Бийский, Быстроистокский, Калманский, Красногорский, Первомайский, Солтонский, Целинный районы).

Микроскопический анализ проводили с помощью микроскопов Микромед-2 и Биолам, с увеличением окуляра 7х, 10х, объективов – 4х, 10х, 40х, 90х, 100х. Фотосъёмку объектов проводили с помощью фотонасадки «DCM800 SCOPE». Снимки редактировали в программе Adobe Photoshop 8.0.

Для идентификации и количественного определения БАС применяли качественные реакции, спектрофотометрию («Schimadzu UV-mini 1240»), титриметрические и хроматографические методы: ТСХ («Sorbfil ПТСХ-П-В»), ВЭЖХ («МилиХром А-02» с УФ-детектором). Для исследований применяли стандартные образцы (СО) «ВЕКТОН», «Сигма-Алдрич Рус»: рутин, кверцетин, кемпферол, апигенин, кумаровая кислота, кумарин, умбеллиферон, галловая кислота, глюкоза, галактоза, арабиноза, аргинин, α -аланин, β -аланин, метионин, яблочная кислота, янтарная кислота, щавелевая кислота, винная кислота и др.

Острую токсичность настоя травы хатьмы тюрингенской определяли на здоровых, интактных белых мышах обоего пола, масса которых составляла 19–21 г. Животным внутрижелудочно вводили настой в дозах 1000 мг/кг, 1500 мг/кг, 2000 мг/кг, 2500 мг/кг.

Определение противовоспалительной активности проводили на модели острого воспаления. Использовали лабораторных крыс линии Wistar обоего пола массой 200–250 г, которым в течение 2-х недель внутрижелудочно вводили настой травы хатьмы тюрингенской в дозе 100 мг/кг. Острое экссудативное воспаление индуцировали субплантарным введением 0,1 мл раствора каррагинена 1%. Измерение объёма правой задней конечности проводили с помощью цифрового плетизмометра LE 7500 («Panlab S.L.», Италия) через 60 мин, 120 мин и 240 мин после инъектирования флогистика.

Исследование запасов хатьмы тюрингенской травы проводили в окрестностях села Новиково Бийского района Алтайского края. Урожайность определяли методом учётных площадок. Рассчитывали эксплуатационный запас и возможный объём ежегодных заготовок.

Статистическую обработку полученных результатов проводили в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи (ГФ) XIII издания.

Фитохимическое исследование хатьмы тюрингенской травы и корней

На основании качественных реакций установили, что хатьмы тюрингенской трава и корни содержат моносахариды, полисахариды (слизи), аминокислоты, тритерпеновые сапонины, конденсированные дубильные вещества, флавоноиды, кумарины. В корнях обнаружен крахмал.

Дальнейшую идентификацию соединений проводили с помощью физико-химических методов: ТСХ, ВЭЖХ, СФМ.

Состав моносахаридов хатмы тюрингенской травы и корней изучали методом ТСХ в системе растворителей спирт *n*-бутиловый – уксусная кислота – вода (БУВ) (4:1:5). Идентифицировали арабинозу, галактозу, глюкозу.

Аминокислотный состав хатмы тюрингенской травы исследовали методом ТСХ в системе растворителей БУВ (4:1:1). Обнаружили α -аланин, β -аланин, метионин, аспарагиновую кислоту.

Анализ состава органических кислот хатмы тюрингенской травы методом ТСХ в системе растворителей спирт этиловый 96% – аммиака раствор (16:4,5) показал наличие винной, щавелевой, яблочной кислот.

Далее исследовали состав комплекса фенольных соединений хатмы тюрингенской травы и корней. Получали спиртовые извлечения, в качестве экстрагента используя спирт этиловый 70%. Соотношение «сырьё – экстрагент» – 1:10. Время экстракции – 30 мин при нагревании на водяной бане с обратным холодильником. Полученные извлечения исследовали методом ВЭЖХ на микроколоночном жидкостном хроматографе «МилиХром А-02» с УФ-детектором.

Условия анализа: хроматографическая колонка 2,0 × 75 мм; сорбент NucleoSIL-120-5-C18 с размером частиц 5 мкм; элюент А – раствор кислоты трифторуксусной водный 0,01%, элюент Б – ацетонитрил. Скорость подачи элюента – 100 мкл/мин, объём пробы – 2 мкл, температура колонки 35°C; градиент 5-55% элюента Б за 30 мин. Детектирование веществ проводили при длинах волн 220; 254; 268; 300; 324; 360 нм. Соединения идентифицировали по временам удерживания (τ) и спектральным характеристикам (λ_{\max}) путём сравнения с аналогичными показателями СО и литературными данными.

В спиртовом извлечении корней идентифицировали: 1 – производное хлорогеновой кислоты ($\tau=9,5$ мин; $\lambda_{\max}=212$; 235пл; 305пл; 330 нм); 2 – производное умбеллиферона ($\tau=12,2$ мин; $\lambda_{\max}=220$ пл; 315 нм); 3 – производное кофейной кислоты ($\tau=13,1$ мин; $\lambda_{\max}=219$; 235 пл; 330 нм); 4 – производное умбеллиферона ($\tau=13,6$ мин; $\lambda_{\max}=218$ пл; 330 нм) (рисунок 1).

В спиртовом извлечении травы идентифицировали: 1 – производное хлорогеновой кислоты ($\tau=9,6$ мин; $\lambda_{\max}=213$; 235пл; 305пл; 330 нм); 2 – флавоноид группы флавона ($\tau=11,5$ мин; $\lambda_{\max}=202$; 268; 330 нм); 3-5 – соединения кумаринового ряда ($\tau=12,0$ мин; $\lambda_{\max}=198$; 215пл; 270; 328 нм; $\tau=12,5$ мин; $\lambda_{\max}=196$; 213пл; 275; 298пл; 330 нм; $\tau=13,5$ мин; $\lambda_{\max}=198$; 212пл; 270; 328 нм); 6 – производное катехина ($\tau=14,8$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 270 нм); 7-10 – флавоноиды группы флавона ($\tau=15,3$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 270; 335 нм; $\tau=15,7$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 270; 330 нм; $\tau=16,5$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 270; 330 нм; $\tau=16,7$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 268; 335 нм); 11-12 – производные катехина ($\tau=18,0$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 275 нм; $\tau=18,3$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 270 нм); 13-14 – флавоноиды группы флавона ($\tau=21,0$ мин; $\lambda_{\max}=222$ пл; 268; 315 нм; $\tau=21,5$ мин; $\lambda_{\max}=268$; 310 нм) (рисунок 2).

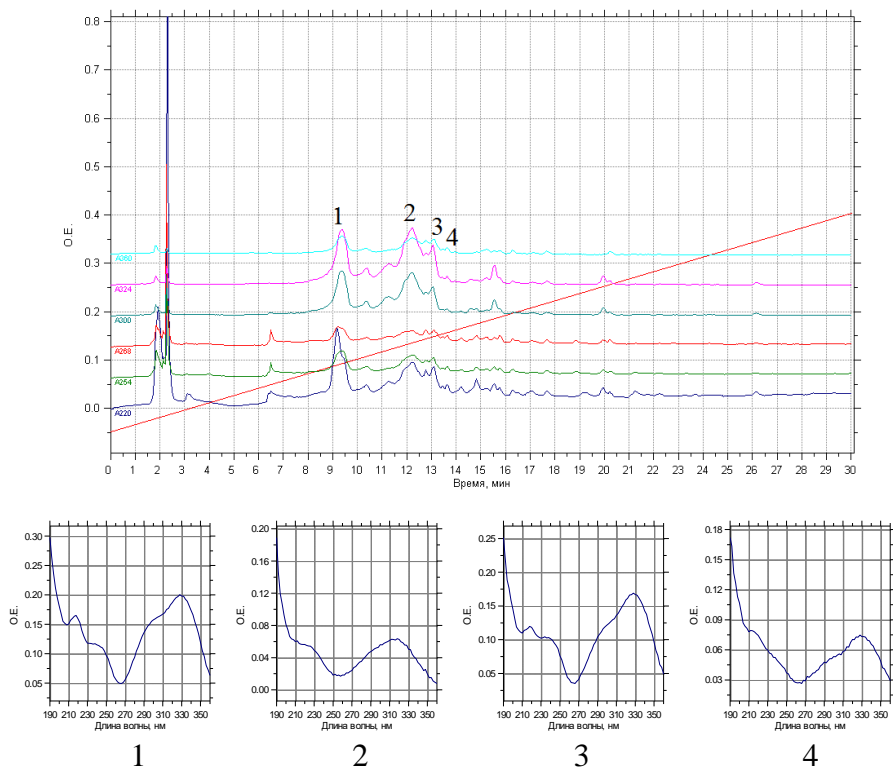


Рисунок 1 – Хроматограмма и спектры поглощения некоторых фенольных соединений спиртового извлечения хатьмы тюрингенской корней

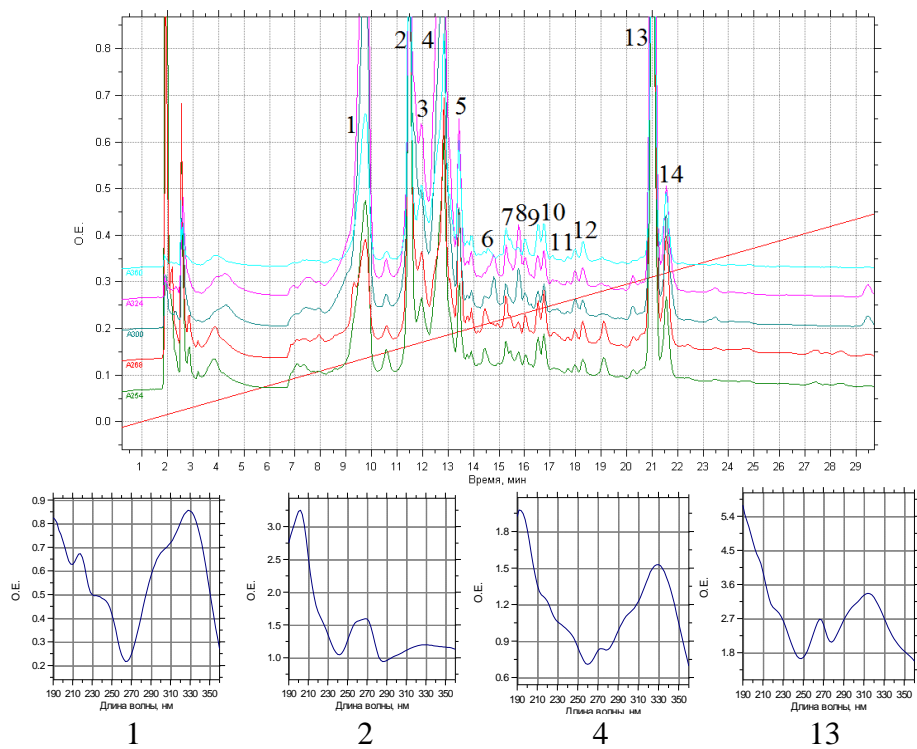


Рисунок 2 – Хроматограмма и спектры поглощения некоторых фенольных соединений спиртового извлечения хатьмы тюрингенской травы

Для разделения фенольных соединений на фракции проводили последовательную обработку спиртового извлечения хатмы тюрингенской травы эфиром диэтиловым, этилацетатом, спиртом н-бутиловым. Для изучения флавоноидов-гликозидов осуществляли кислотный гидролиз спиртового извлечения (рисунок 3).



Рисунок 3 – Схема разделения фенольных соединений хатмы тюрингенской травы на фракции

В эфирной фракции идентифицированы: 1 – кофейная кислота ($\tau=11,9$ мин; $\lambda_{\max}=216$; 235пл; 300пл; 325 нм); 2 – производное кумаровой кислоты ($\tau=14,4$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 225; 310 нм); 3 – производное феруловой кислоты ($\tau=15,5$ мин; $\lambda_{\max}=218$; 235; 300пл; 325 нм); 4 – агликон триметоксифлавона ($\tau=20,8$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 220пл; 267; 320 нм); 5 – агликон флавона ($\tau=21,3$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 264; 320 нм); 6 – производное изофлавона ($\tau=27,2$ мин; $\lambda_{\max}=268$; 310пл нм); 7 – производное халкона ($\tau=29,2$ мин; $\lambda_{\max}=222$; 318 нм) (рисунок 4).

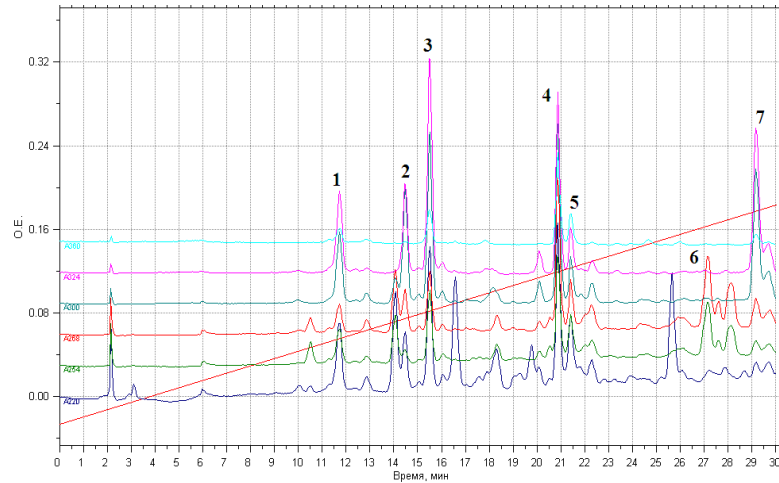


Рисунок 4 – Хроматограмма эфирной фракции спиртового извлечения хатьмы тюрингенской травы

Соединения этилацетатной фракции: 1 – кофейная кислота ($\tau=11,9$ мин; $\lambda_{\max}=216$; 235пл; 300пл; 325 нм); 2 – производное галловой кислоты ($\tau=14,5$ мин; $\lambda_{\max}=218$; 280 нм); 3 – производное феруловой кислоты ($\tau=15,5$ мин; $\lambda_{\max}=218$; 235; 300пл; 325 нм); 4 – флавоноид группы флавона ($\tau=16,5$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 267; 350 нм); 5 – флавоноид группы флавона ($\tau=18,2$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 220пл; 270; 350 нм); 6 – агликон триметоксифлавона ($\tau=20,8$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 220пл; 267; 320 нм); 7 – агликон флавона ($\tau=21,3$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 267; 320 нм) (рисунок 5).

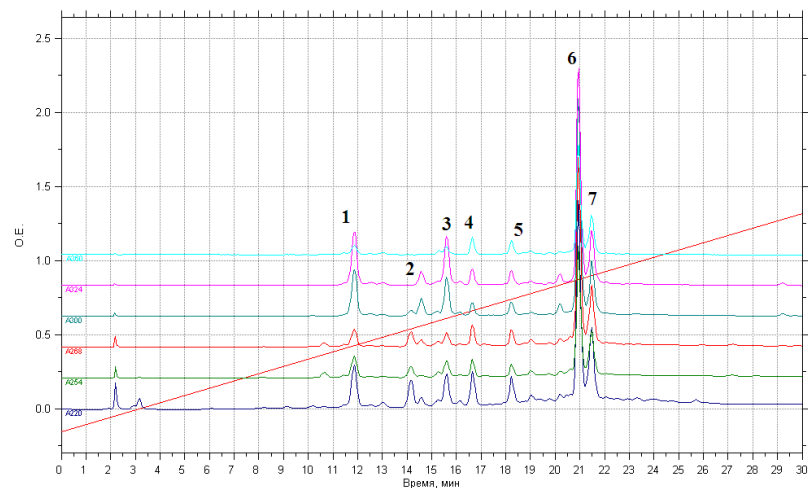


Рисунок 5 – Хроматограмма этилацетатной фракции спиртового извлечения хатьмы тюрингенской травы

Соединения бутанольной фракции: 1 – производное катехина ($\tau=11,5$ мин; $\lambda_{\max}=205$; 279 нм); 2 – производное апигенина ($\tau=12,4$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 220пл; 270; 335 нм); 3 – производное катехина ($\tau=13,0$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 269 нм); 4 – производное катехина ($\tau=13,5$ мин; $\lambda_{\max}=205$; 275 нм); 5 – производное катехина ($\tau=17,3$ мин; $\lambda_{\max}=203$; 272 нм); 6 – производное катехина

($\tau=17,6$ мин; $\lambda_{\max}=203; 276$ нм); 7 – флавоноид группы флавона ($\tau=20,5$ мин; $\lambda_{\max}=200$ нм; 215нм; 268; 315 нм); 8 – производное катехина ($\tau=21,1$ мин; $\lambda_{\max}=200; 270$ нм) (рисунок 6).

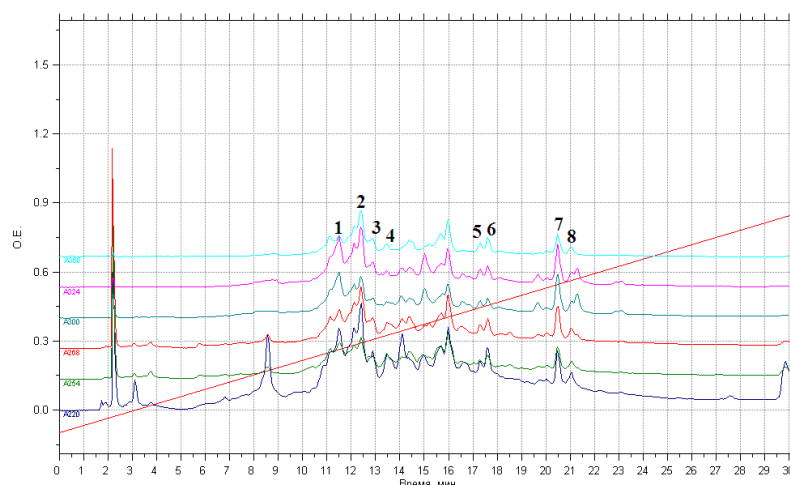


Рисунок 6 – Хроматограмма бутанольной фракции спиртового извлечения хатмы тюрингенской травы

В процессе кислотного гидролиза выделены: 1 – соединение группы лигнина ($\tau=3,4$ мин; $\lambda_{\max}=210$ нм); 2 – хлорогеновая кислота ($\tau=10,3$ мин; $\lambda_{\max}=212; 235$ нм; 305нм; 330 нм); 3 – производное феруловой кислоты ($\tau=12,6$ мин; $\lambda_{\max}=215; 240; 305$ нм; 330 нм); 4 – соединение группы лигнина ($\tau=13,7$ мин; $\lambda_{\max}=210$ нм); 5 – агликон флавонола ($\tau=16,4$ мин; $\lambda_{\max}=258; 355$ нм); 6 – агликон триметоксифлавона ($\tau=20,6$ мин; $\lambda_{\max}=220$ нм; 267; 320 нм) (рисунок 7).

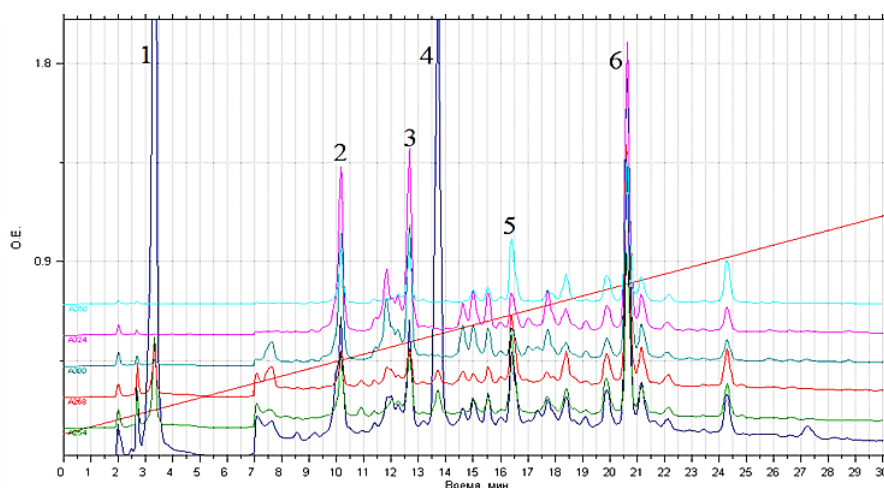


Рисунок 7 – Хроматограмма продуктов кислотного гидролиза хатмы тюрингенской травы

Далее проводили количественное определение БАС травы и корней химическими и физико-химическими методами.

С помощью метода гравиметрии установили, что сумма водорастворимых полисахаридов в хатмы тюрингенской траве составляет $7,60 \pm 0,18\%$, в корнях – $18,17 \pm 0,29\%$ (таблица 1).

В ходе выделения полисахаридных фракций (пектиновых веществ, гемицеллюлоз) хатмы тюрингенской травы гравиметрически определено количественное содержание пектиновых веществ – $3,23 \pm 0,17\%$, гемицеллюлозы А – $2,12 \pm 0,14\%$, гемицеллюлозы Б – $1,31 \pm 0,08\%$.

Для определения количественного содержания органических кислот использовали метод алкаиметрии. Сумма органических кислот в пересчёте на яблочную кислоту в хатмы тюрингенской траве – $1,77 \pm 0,10\%$.

Количественное определение свободных аминокислот, фенолокислот, кумаринов, дубильных веществ проводили методом СФМ. Сумма свободных аминокислот в пересчёте на аланин в траве – $1,56 \pm 0,03\%$, в корнях – $0,28 \pm 0,02\%$; сумма фенолокислот в пересчёте на хлорогеновую кислоту в траве – $3,72 \pm 0,07\%$, в корнях – $0,34 \pm 0,03\%$; сумма кумаринов в пересчёте на кумарин в траве – $0,20 \pm 0,01\%$, в корнях – $0,06 \pm 0,01\%$; сумма дубильных веществ в пересчёте на танин в траве $1,81 \pm 0,04\%$, в корнях – $1,47 \pm 0,04\%$.

Количественное содержание флавоноидов определяли методом дифференциальной СФМ. Сумма флавоноидов в пересчёте на рутин в траве составляет $1,28 \pm 0,04\%$, в корнях – $0,08 \pm 0,02\%$ (таблица 1). Валидационная оценка данной методики по критериям специфичности, линейности, правильности, сходимости показала обоснованность применения для определения количественного содержания суммы флавоноидов в хатмы тюрингенской траве.

В ходе работы установлено, что комплекс БАС хатмы тюрингенской травы включает моносахариды (арабиноза, галактоза, глюкоза), водорастворимые полисахариды (слизи), пектиновые вещества, гемицеллюлозу А и Б, свободные аминокислоты (α -аланин, β -аланин, метионин, аспарагиновая кислота), органические кислоты (винная, щавелевая, яблочная кислоты), фенолокислоты (кофейная кислота, производные хлорогеновой, феруловой, кумаровой, галловой кислот), флавоноиды (группы флавона, триметоксифлавона, флавонола, катехина, изофлавона, халкона), конденсированные и гидролизуемые дубильные вещества, кумарины (производные умбеллиферона), тритерпеновые сапонины.

Комплекс БАС хатмы тюрингенской корней состоит из моносахаридов (арабиноза, галактоза, глюкоза), полисахаридов (слизи, крахмал), свободных аминокислот, фенолокислот (производные хлорогеновой и кофейной кислот), флавоноидов (группы флавона, флавонола), кумаринов (производные умбеллиферона), конденсированных дубильных веществ, тритерпеновых сапонинов.

Таблица 1 – Результаты количественного определения БАС хатмы тюрингенской травы и корней

Группа БАС	Метод количественного определения	Количественное содержание, %	
		Трава	Корни
Водорастворимые полисахариды	Гравиметрия	7,60±0,18	18,17±0,29
Пектиновые вещества	Гравиметрия	3,23±0,17	-
Гемицеллюлоза А	Гравиметрия	2,12±0,14	-
Гемицеллюлоза Б	Гравиметрия	1,31±0,08	-
Флавоноиды (в пересчёте на рутин)	Дифференциальная СФМ	1,28±0,04	0,08±0,02
Дубильные вещества (в пересчёте на танин)	СФМ	1,81±0,04	1,47±0,04
Фенолокислоты (в пересчёте на хлорогеновую кислоту)	СФМ	3,72±0,07	0,34±0,03
Кумарины (в пересчёте на кумарин)	СФМ	0,20±0,01	0,06±0,01
Органические кислоты (в пересчёте на яблочную кислоту)	Алкалиметрия	1,77±0,10	-
Свободные аминокислоты (в пересчёте на аланин)	СФМ	1,56±0,03	0,28±0,02

При сравнении количественного содержания различных групп БАС установлено, что трава содержит фенолокислоты – 3,72%, дубильные вещества – 1,81%, свободные аминокислоты – 1,56%, флавоноиды – 1,28%, кумарины – 0,20%. Корни содержат водорастворимые полисахариды – 18,17%.

Изучение острой токсичности и специфической активности настоя травы хатмы тюрингенской

Доказана практическая безвредность настоя травы хатмы тюрингенской. Введение настоя в дозах от 1000 мг/кг до 2500 мг/кг не вызывало гибели лабораторных животных. Дальнейшее увеличение дозы нецелесообразно, поскольку в дозе 2500 мг/кг токсичность отсутствует.

В ходе изучения специфической активности настоя травы хатмы тюрингенской установлено наличие противовоспалительной активности при остром воспалении. Курсовое введение настоя в дозе 100 мг/кг животным опытной группы ослабляло формирование

каррагенинового отёка. Противовоспалительная активность через 240 мин после инъекирования флогистика составила 35,10%.

Определение запасов хатьмы тюрингенской травы

Исследование запасов хатьмы тюрингенской травы проводили на пяти зарослях, расположенных в окрестностях села Новиково Бийского района Алтайского края. Урожайность сырья составляет 1145–1807 г/м², эксплуатационный запас – 127–252 т, возможный объём ежегодных заготовок – 25–50 т.

Стандартизация хатьмы тюрингенской травы

С целью разработки проекта НД «Хатьмы тюрингенской трава цельная» устанавливали показатели подлинности и доброкачественности сырья.

Морфолого-диагностические признаки хатьмы тюрингенской травы. Верхние, не одревесневшие части стеблей длиной до 80 см с листьями, бутонами, цветками. Стебли цилиндрические, опушённые, толщиной 0,3–0,5 см. Листья очередные, простые, черешковые. Верхние листья мелкие, яйцевидные, тройчатораздельные; нижние – крупные, округло-яйцевидные, трёх-пятилопастные. Сверху слабо, снизу густо опушённые. Прилистники ланцетные, заострённые, рано опадающие. Цветки крупные, диаметром до 10 см. Околоцветник двойной. Венчик из 5 выемчатых лепестков обратнойцевидной формы. Чашечка двойная, широкая, глубже половины разделена на 5 треугольных, заострённых, опушённых долей. Подчашие разделено на 3 округлых, на верхушке заострённых опушённых листочка.

Цвет стеблей, листьев, чашечек зелёный, бледно-зелёный, желтовато-зелёный, венчиков – бледно-синий или бледно-фиолетовый. Запах своеобразный. Вкус водного извлечения сладковатый.

Анатомо-диагностические признаки хатьмы тюрингенской травы. Стебель имеет вторичное непучковое строение. Клетки верхней и нижней эпидермы листа с прямыми или слабо извилистыми стенками. Устьица аномоцитного типа. Эпидерма с многочисленными звёздчатыми волосками. Главная жилка на поперечном срезе имеет округло-треугольную форму. Над главной жилкой с обеих сторон листа клетки эпидермы продольно-вытянутые, прямостенные. Вдоль жилки встречаются звёздчатые волоски. При рассмотрении лепестков венчика с поверхности видны клетки эпидермы: с прямыми (верхняя эпидерма) и сильно извилистыми (нижняя эпидерма) стенками.

На основании проведённых исследований установлены и внесены в проект НД «Хатьмы тюрингенской трава цельная» следующие показатели доброкачественности: влажность – не более 10%; зола общая – не более 15%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, не

более – 1%; сырьё, изменившее окраску (пожелтевшие листья, выцветшие цветки) – не более 3%; органическая примесь – не более 1%; минеральная примесь – не более 1%; содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой очищенной, – не менее 32%; сумма водорастворимых полисахаридов – не менее 6%; сумма флавоноидов в пересчёте на рутин – не менее 1%.

Определены показатели доброкачественности в зависимости от срока сбора и района заготовки ЛРС. Установлены оптимальные сроки заготовки хатмы тюрингенской травы: фаза цветения (июль). Определён срок годности ЛРС – 2,5 года (срок наблюдения).

Общие выводы

1. Проведено фитохимическое изучение хатмы тюрингенской травы. Установлено, что в состав комплекса БАС исследуемого сырья входят моносахариды (арабиноза, галактоза, глюкоза); водорастворимые полисахариды (слизи); пектиновые вещества; гемицеллюлозы А и Б; свободные аминокислоты (α -аланин, β -аланин, метионин, аспарагиновая кислота); органические кислоты (винная, щавелевая, яблочная кислоты); фенолокислоты (кофейная кислота, производные хлорогеновой, феруловой, кумаровой, галловой кислот); флавоноиды (группы флавона, флавонола, катехина, изофлавонола, халкона); конденсированные и гидролизуемые дубильные вещества; кумарины (производные умбеллиферона); тритерпеновые сапонины.

Количественное содержание БАС хатмы тюрингенской травы составляет: водорастворимые полисахариды – 7,60%; пектиновые вещества – 3,23%; гемицеллюлоза А – 2,12%; гемицеллюлоза Б – 1,31%; органические кислоты (в пересчёте на яблочную кислоту) – 1,77%; свободные аминокислоты (в пересчёте на аланин) – 1,56%; фенолокислоты (в пересчёте на хлорогеновую кислоту) – 3,72%; дубильные вещества (в пересчёте на танин) – 1,81%; флавоноиды (в пересчёте на рутин) – 1,28%; кумарины (в пересчёте на кумарин) – 0,20%.

2. Комплекс БАС хатмы тюрингенской корней включает: моносахариды (арабиноза, галактоза, глюкоза); полисахариды (слизи; крахмал); свободные аминокислоты; тритерпеновые сапонины; фенолокислоты (производные хлорогеновой, кофейной кислот); флавоноиды (группы флавона, флавонола); кумарины (производные умбеллиферона); конденсированные дубильные вещества.

Установлено количественное содержание БАС: водорастворимые полисахариды – 18,17%; дубильные вещества (в пересчёте на танин) – 1,47%; фенолокислоты (в пересчёте на хлорогеновую кислоту) – 0,34%; свободные аминокислоты (в пересчёте на аланин) – 0,28%; флавоноиды (в пересчёте на рутин) – 0,08%; кумарины (в пересчёте на кумарин) – 0,06%.

3. В результате сравнительного анализа комплексов БАС установлено, что хатмы тюрингенской трава и корни имеют схожий состав. Для сохранения зарослей и рационального использования запасов в качестве ЛРС целесообразно использовать траву.

4. Доказано, что настой травы хатмы тюрингенской не обладает токсичностью, оказывает противовоспалительное действие.

5. На основании изученного анатомического строения хатмы тюрингенской травы установлено, что клетки верхней и нижней эпидермы листовой пластинки с прямыми или слабо извилистыми стенками с устьичными аппаратами аномоцитного типа. Эпидерма с многочисленными звёздчатыми волосками. На верхней эпидерме встречаются простые одноклеточные волоски. Стебель имеет вторичное непучковое строение. При рассмотрении лепестков венчика с поверхности видны клетки эпидермы: с прямыми (верхняя эпидерма) и сильно извилистыми (нижняя эпидерма) стенками.

6. Проведены исследования запасов хатмы тюрингенской травы в Бийском районе Алтайского края (с. Новиково). Определены урожайность (1145–1807 г/м²), эксплуатационные запасы (127–252 т), возможные объёмы ежегодных заготовок (25–50 т) сырья.

7. Установлены показатели доброкачественности хатмы тюрингенской травы: влажность – не более 10%; зола общая – не более 15%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, не более – 1%; сырьё, изменившее окраску (пожелтевшие листья, выцветшие цветки), – не более 3%; органическая примесь – не более 1%; минеральная примесь – не более 1%; экстрактивные вещества, извлекаемые водой очищенной, – не менее 32%; сумма водорастворимых полисахаридов – не менее 6%; сумма флавоноидов в пересчёте на рутин – не менее 1%.

8. Показана целесообразность заготовки лекарственного растительного сырья в период цветения. Срок годности – 2,5 года (срок наблюдения).

9. Разработан проект НД «Хатмы тюрингенской трава цельная». Акт внедрения в работу ЗАО «Эвалар» от 28 марта 2018 г.

Список сокращений и условных обозначений

АГМУ – Алтайский государственный медицинский университет

БАС – биологически активные соединения

БУВ – спирт н-бутиловый – уксусная кислота ледяная – вода

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГФ – Государственная Фармакопея

ЛРС – лекарственное растительное сырьё

НД – нормативная документация

СО – стандартный образец

СФМ – спектрофотометрический метод

ТСХ – тонкослойная хроматография

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Федосеева, Л.М. Определение состава БАС хатьмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края / Л.М. Федосеева, О.А. Мызникова // Актуальные проблемы фармакологии и фармации : ежегод. сб. науч. и метод. работ преподавателей, молодых учёных и студентов фармацевт. фак. – Барнаул, 2016. – Вып.13. – С. 191-197.
2. Федосеева, Л.М. Определение показателей доброкачественности хатьмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края / Л.М. Федосеева, О.А. Мызникова // Актуальные проблемы фармакологии и фармации : ежегодн. сб. науч. и метод. работ преподавателей, молодых учёных и студентов фармацевт. фак. – Барнаул, 2016. – Вып.13. – С. 204-206.
3. Федосеева, Л.М. Изучение состава эфирной фракции хатьмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края / Л.М. Федосеева, О.А. Мызникова, Л.Е. Кудрикова // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – 2016. – № 18. – С. 154-156.
4. Федосеева, Л.М. Изучение дубильных веществ хатьмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края / Л.М. Федосеева, О.А. Мызникова // Фармацевтические науки: от теории к практике : материалы конф., г. Астрахань, 25 ноября 2016 г. – Астрахань, 2016. – С. 144-146.
5. Федосеева, Л.М. Количественное определение полисахаридов в хатьме тюрингенской, произрастающей на территории Алтайского края / Л.М. Федосеева, О.А. Мызникова // Актуальные проблемы фармакологии и фармации : ежегод. сб. науч. и метод. работ преподавателей, молодых учёных и студентов фармацевт. фак. – Барнаул, 2017. – Вып.14. – С. 120-122.
6. Федосеева, Л.М. Изучение продуктов кислотного гидролиза хатьмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края / Л.М. Федосеева, О.А. Мызникова // Актуальные проблемы фармакологии и фармации : ежегод. сб. науч. и метод. работ преподавателей, молодых учёных и студентов фармацевт. фак. – Барнаул, 2017. – Вып.14. – С. 123-126.
7. **Федосеева, Л.М. Изучение фенольных соединений надземной части хатьмы тюрингенской, произрастающей на территории Алтайского края / Л.М. Федосеева, О.А. Мызникова, Л.Е. Кудрикова // Химия растительного сырья. – 2017. – № 2. – С. 107-112.**
8. **Федосеева, Л.М. Изучение качественного состава фенольных соединений в различных органах хатьмы тюрингенской, произрастающей на территории Алтайского края / Л.М. Федосеева, О.А. Мызникова // Медицинский альманах. – 2017. – № 5. – С. 167-174.**

9. Федосеева, Л.М. Изучение некоторых фенольных соединений хатмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края / Л.М. Федосеева, О.А. Мызникова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сб. науч. тр. – Ижевск, 2017. – Вып. 72. – С. 79-82.
10. Федосеева, Л.М. Изучение полисахаридного комплекса хатмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края / Л.М. Федосеева, О.А. Мызникова // Бюллетень медицинской науки. – 2017. – № 4 (8). – С. 39-42.
11. Мызникова, О.А. Определение оптимального растворителя для извлечения комплекса биологически активных соединений травы хатмы тюрингенской, произрастающей на территории Алтайского края / О.А. Мызникова // Молодежь Барнаулу : материалы XVII-XIX гор. науч.-практ. конф. молодых учёных, г. Барнаул, 16-21 ноября 2015 г. : Ч. XVIII. – Барнаул, 2017. – С. 369-370.
12. Мызникова, О.А. Количественное определение флавоноидов в различных органах хатмы тюрингенской, произрастающей на территории Алтайского края / О.А. Мызникова // Молодежь Барнаулу : материалы XVII-XIX гор. науч.-практ. конф. молодых учёных, г. Барнаул, 13-24 ноября 2017 г. : Ч. XIX. – Барнаул, 2018. – С. 896-897.
- 13. Федосеева, Л.М. Количественное определение флавоноидов в хатмы тюрингенской траве, произрастающей на территории Алтайского края / Л.М. Федосеева, О.А. Мызникова // Пермский медицинский журнал. – 2018. – Т. 35, № 1. – С. 95-101.**
14. Мызникова, О.А. Изучение антоцианов хатмы тюрингенской цветков, заготовленных на территории Алтайского края / Мызникова О.А. // Фундаментальная наука в современной медицине – 2018 : материалы сателлитной дистанц. науч.-практ. конф. студентов и молодых учёных, г. Минск, Беларусь, 2 февраля 2018 г. – Минск, 2018. – С. 139-141.
15. Мызникова, О.А. Изучение кумаринов хатмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края / Мызникова О.А. // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения : материалы III Междунар. науч.-практ. конф. молодых учёных и студентов, г. Екатеринбург, 3-5 апреля, 2018 г. – Екатеринбург, 2018. – С. 495-498.
16. Кальницкий, А.С. Микроскопическое исследование хатмы тюрингенской травы / А.С. Кальницкий, О.А. Мызникова, Г.Р. Кутателадзе // Актуальные проблемы фармакологии и фармации : ежегод. сб. науч. и метод. работ преподавателей, молодых учёных и студентов фармацевт. фак. – Барнаул, 2018. – Вып. 15. – С. 43-46.
17. Николенко, А.Р. Фитохимическое изучение алтея корней и хатмы тюрингенской корней в сравнительном аспекте / А.Р. Николенко, П.О. Подлипенская, О.А. Мызникова // Актуальные проблемы фармакологии и фармации : ежегод. сб. науч. и метод. работ преподавателей, молодых учёных и студентов фармацевт. фак. – Барнаул, 2018. – Вып.15. – С. 60-62.

Мызникова Ольга Александровна (Россия)

Фармакогностическое изучение и стандартизация хатьмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края

Впервые проведено комплексное фитохимическое изучение хатьмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края. Установлено, что комплекс БАС включает водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества, гемицеллюлозы А и Б, органические кислоты, аминокислоты, фенолокислоты, флавоноиды, дубильные вещества, кумарины, сапонины. Обоснован выбор хатьмы тюрингенской травы в качестве ЛРС. Показана целесообразность стандартизации по содержанию суммы водорастворимых полисахаридов методом гравиметрии; суммы флавоноидов в пересчёте на рутин – методом дифференциальной СФМ. Валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов. Проведены исследования по определению острой токсичности; противовоспалительной активности при остром воспалении. Установлены показатели подлинности и доброкачественности ЛРС. Разработан проект НД «Хатьмы тюрингенской трава цельная».

Myznikova Olga Aleksandrovna (the Russian Federation)

A pharmacognostic study and standartization of the *Lavatera thuringiaca* that grows in the territory of Altai region

Complex phytochemical study of the *Lavatera thuringiaca* that grows in the territory of Altai region was conducted for the first time. It is found that complex of bioactive compounds includes water-soluble polysaccharides, pectic substances, hemicelluloses A and B, organic acids, amina acids, phenol acids, flavonoids, tanning substances, coumarins, saponins. The choice of *Lavatera thurengiaca* as a powder of herb is well-founded. The expedience of standartization on the content of the sum of water-soluble polusaccharides is showed by gravimetric method; the sums of flavonoids in allocation of routines are showed by differential and spectrophotometric method. The method of quantative determination of flavonoids' numbers is validated. The investigation to determine the acute toxicity are conducted; the anti-inflammatory activity at the acute inflammation. The indexes of authenticity and goodness of the powder of herb are established. The project documentary standard of «*Lavatera thurengiaca* grass» is worked out.