

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Алтайский государственный медицинский университет»
(ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России)

На правах рукописи

Мызникова Ольга Александровна

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

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация на соискание учёной степени

кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук,

профессор Федосеева Людмила Михайловна

БАРНАУЛ – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1 Ботаническая характеристика хатьмы тюрингенской.....	10
1.2 Ареал распространения хатьмы тюрингенской	16
1.3 Хозяйственное значение хатьмы тюрингенской	16
1.4 Применение хатьмы тюрингенской в медицине.....	20
1.5 Химический состав хатьмы тюрингенской	21
Выводы по главе.....	23
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	24
2.1 Объекты исследования	24
2.2 Макроскопический анализ	24
2.3 Изучение анатомического строения.....	24
2.4 Определение показателей доброкачественности.....	25
2.5 Методы и методики анализа комплекса биологически активных соединений.....	25
3 Определение острой токсичности и специфической активности	35
4 Определение запасов сырья	36
5 Определение сроков годности сырья	37
ГЛАВА 3 ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХАТЬМЫ ТЮРИНГЕНСКОЙ ТРАВЫ И КОРНЕЙ.....	38
3.1 Полисахаридный комплекс	38
3.2 Аминокислоты.....	42
3.3 Органические кислоты	44
3.4 Сапонины	47
3.5 Флавоноиды и фенолокислоты	47
3.6 Дубильные вещества.....	61
3.7 Кумарины.....	61

3.8 Изучение фенольных соединений хатьмы тюрингенской стеблей, листьев, цветков.....	63
3.9 Фитохимическое исследование хатьмы тюрингенской корней	69
3.10 Сравнительный анализ состава комплексов биологически активных соединений хатьмы тюрингенской травы и корней	74
Выводы по главе.....	76
ГЛАВА 4 ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НАСТОЯ ТРАВЫ ХАТЬМЫ ТЮРИНГЕНСКОЙ	79
4.1 Изучение острой токсичности настоя травы хатьмы тюрингенской.....	79
4.2 Влияние настоя травы хатьмы тюрингенской на течение острого воспаления	80
Выводы по главе.....	82
ГЛАВА 5 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАПАСОВ ХАТЬМЫ ТЮРИНГЕНСКОЙ ТРАВЫ	83
Выводы по главе.....	85
ГЛАВА 6 СТАНДАРТИЗАЦИЯ ХАТЬМЫ ТЮРИНГЕНСКОЙ ТРАВЫ ..	86
6.1 Определение подлинности хатьмы тюрингенской травы.....	86
6.2 Определение показателей доброкачественности хатьмы тюрингенской травы	92
6.3 Определение экстрактивных веществ хатьмы тюрингенской травы	92
6.4 Определение сроков заготовки хатьмы тюрингенской травы.....	97
6.5 Определение срока годности сырья	98
Выводы по главе.....	98
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ.....	101
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	104
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	105
ПРИЛОЖЕНИЯ	124

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. В социально-экономической стратегии развития Алтайского края особое место занимает Алтайский биофармацевтический кластер (АБФК). Деятельность кластера тесно связана с решением проблемы импортозамещения лекарственных препаратов и биологически активных добавок [80]. Среди актуальных задач АБФК – разработка и производство продукции на основе растительного сырья, собранного в нашем регионе, развитие современной производственной базы, отвечающей требованиям международных стандартов, продвижение продукции на отечественном и международном рынках и др. [6]. Поскольку многие предприятия АБФК (ЗАО «Эвалар», ЗАО «Алтайвитамины», ООО НПФ «Алтайский букет» и др.) специализируются на производстве продукции из сырья растительного происхождения, важным направлением является расширение перечня сырьевых источников. Возникает необходимость в разработке нормативной документации (НД) на новые виды лекарственного растительного сырья (ЛРС). Для этого проводится поиск, фармакогностическое изучение и стандартизация перспективных для внедрения в научную медицину растений.

Одним из таких видов является хатьма тюрингенская (*Lavatera thuringiaca* L.) семейства Мальвовые (*Malvaceae* Juss.). Растение применяется в народной медицине как противовоспалительное, обволакивающее, отхаркивающее средство [57, 62]. Из источников литературы известно, что растение содержит комплекс биологически активных соединений (БАС): полисахариды, фенольные соединения [57, 62]. В отличие от традиционных сырьевых источников (алтей лекарственный, алтей армянский семейства Мальвовые), хатьма тюрингенская имеет широкий ареал распространения на территории Алтайского края [89]. Алтей лекарственный (*Althaea officinalis* L.) и алтей армянский (*Althaea armeniaca* Ten.) произрастают только в заказниках: Завьяловский, Кислухинский, Лебединый [113, 118].

Аллея корни входят в Государственные Фармакопеи многих стран мира. В некоторых странах фармакопейным сырьём являются аллея листья и аллея цветки [87]. Аллея лекарственного трава используется для получения препарата «Мукалтин» [65].

Широкое применение аллея связано со значительным структурным разнообразием комплекса БАС, в состав которого входят моно- и полисахариды, аминокислоты, фенолоксиды, фитостериды, флавоноиды (флавоны, флавонолы, флаваноны), кумарины, дубильные вещества [130, 150-152]. Преобладающей группой соединений являются полисахариды [128]. Согласно данным литературы, аллея корни могут содержать до 35% слизи, аллея трава – до 12% [53]. Сумма водорастворимых полисахаридов аллея корней составляет 20% [16].

Поскольку хатма тюрингенская имеет аналогичный состав БАС, растение является перспективным источником ЛРС.

Цель работы – фитохимическое изучение, установление показателей доброкачественности, специфической активности, перспектив использования в качестве ЛРС и стандартизация хатмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края.

Задачи исследования. Для реализации поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Провести морфолого-анатомическое изучение хатмы тюрингенской травы, выявить диагностические признаки.
2. Изучить фитохимический состав БАС хатмы тюрингенской травы и корней.
3. Провести выделение, идентификацию и количественное определение биологически активных соединений (водорастворимых полисахаридов, аминокислот, органических кислот, флавоноидов, фенолоксидов, дубильных веществ, кумаринов) в ЛРС.
4. Провести сравнительный анализ состава БАС надземных и подземных органов хатмы 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».

Связь задач исследований 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.).

Методологическая основа, объекты и методы исследования. 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 семи районах, различающихся по климатическим условиям и уровню техногенной нагрузки (Бийский, Быстроистокский, Калманский, Красногорский, Первомайский, Солтонский, Целинный районы).

В процессе исследования использованы фармакогностические, фармакологические, физико-химические методы анализа (СФМ, ТСХ, 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, яблочная); 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 хатьмы тюрингенской травы 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 НД «Хатьмы тюрингенской трава цельная».

Степень внедрения. Теоретические положения и результаты экспериментальных исследований используются в учебном процессе кафедры фармации Алтайского государственного медицинского университета (АГМУ); на фармацевтическом предприятии ЗАО «Эвалар». Акт внедрения в работу ЗАО «Эвалар» от 28 марта 2018 г. (Приложения 12, 13).

Апробация полученных результатов. Основные результаты исследований доложены на научно-практических конференциях: XVII городская научно-практическая конференция молодых учёных «Молодежь – 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 «Молодежь – 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.).

Личное участие автора в получении 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.

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

Основные положения, выносимые на защиту: результаты фитохимического, фармакогностического исследования хатьмы тюрингенской травы; определение острой токсичности и специфической активности настоя травы хатьмы тюрингенской; исследование запасов хатьмы тюрингенской травы на территории Бийского района Алтайского края (с. Новиково).

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 хатьмы тюрингенской травы.

Вторая глава посвящена описанию объектов, методов и методик исследования.

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

В четвёртой главе изложены результаты определения острой токсичности и противовоспалительной активности настоя травы хатьмы тюрингенской.

В пятой главе описаны исследования запасов хатьмы 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 исследований состава фенольных соединений хатьмы тюрингенской методом ВЭЖХ, результаты изучения качества сырья при хранении, проект НД, основные документы, подтверждающие внедрение результатов диссертационной работы.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Ботаническая характеристика хатьмы тюрингенской

Хатьма тюрингенская (*Lavatera thuringiaca* L.) семейства Мальвовые (*Malvaceae* Juss.) – многолетнее травянистое растение высотой 150–160 см (рисунок 1).

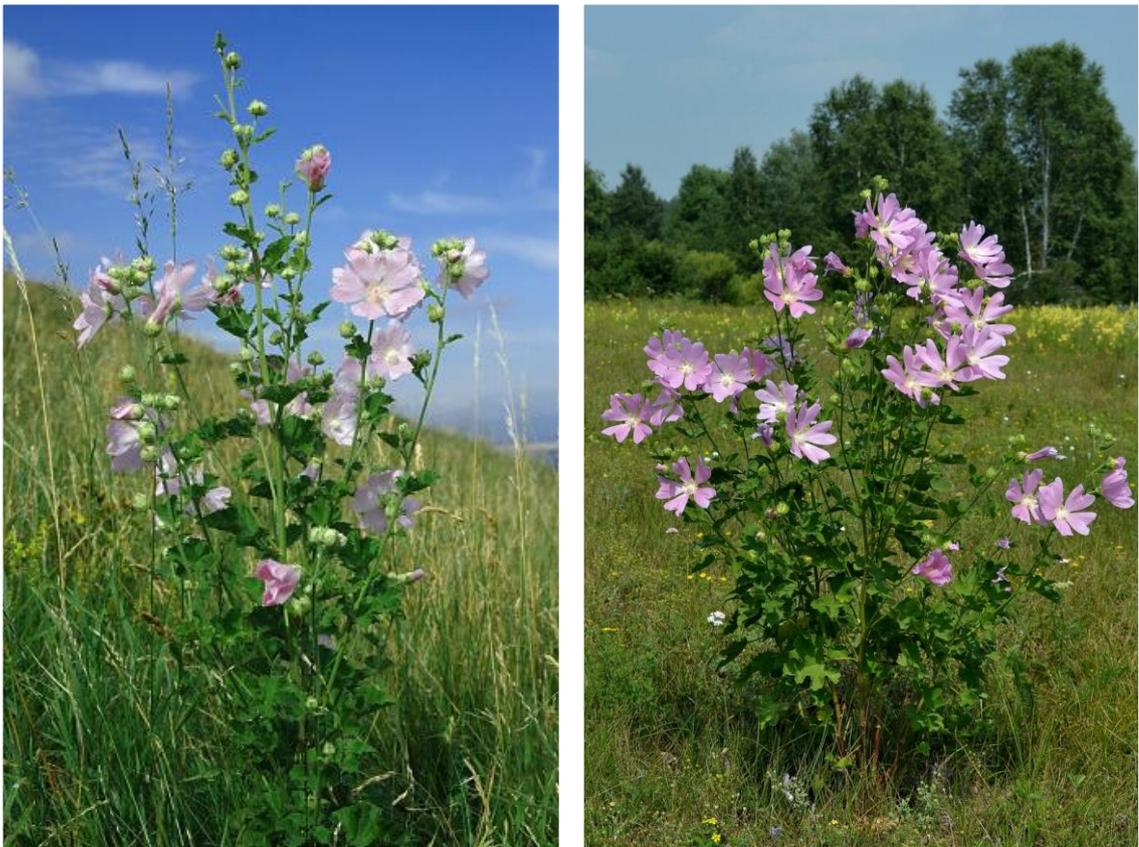


Рисунок 1 – Хатьма тюрингенская в природе

Главный корень крупный, одревесневающий. Длина главного корня может достигать 150 см. На всём протяжении он покрыт боковыми корнями 1–5 порядка (рисунок 2). Имеется ветвистый, подземный или отчасти надземный каудекс, на котором хорошо заметны резиды и спящие почки. В генеративном периоде каудекс может достигать более 5 см в диаметре и более 3 см в высоту [72].



Рисунок 2 – Подземные органы хатьмы тюрингенской

Стебли прямые, ветвистые, густо опушённые [126]. Листорасположение очерёдное. Листья простые, черешковые. Черешок длиной 3–7 см. Верхние листья мелкие или среднего размера, яйцевидные, тройчатораздельные; нижние – крупные (длиной до 7 см, шириной до 9 см) округло-яйцевидные, трёх-пятилопастные. Сверху слабо, снизу густо опушённые. Основание листовой пластинки клиновидное или сердцевидное. Край листа городчатый. Жилкование пальчатое (рисунок 3). Прилистники мелкие, узколанцетные, заострённые, рано опадающие [114].

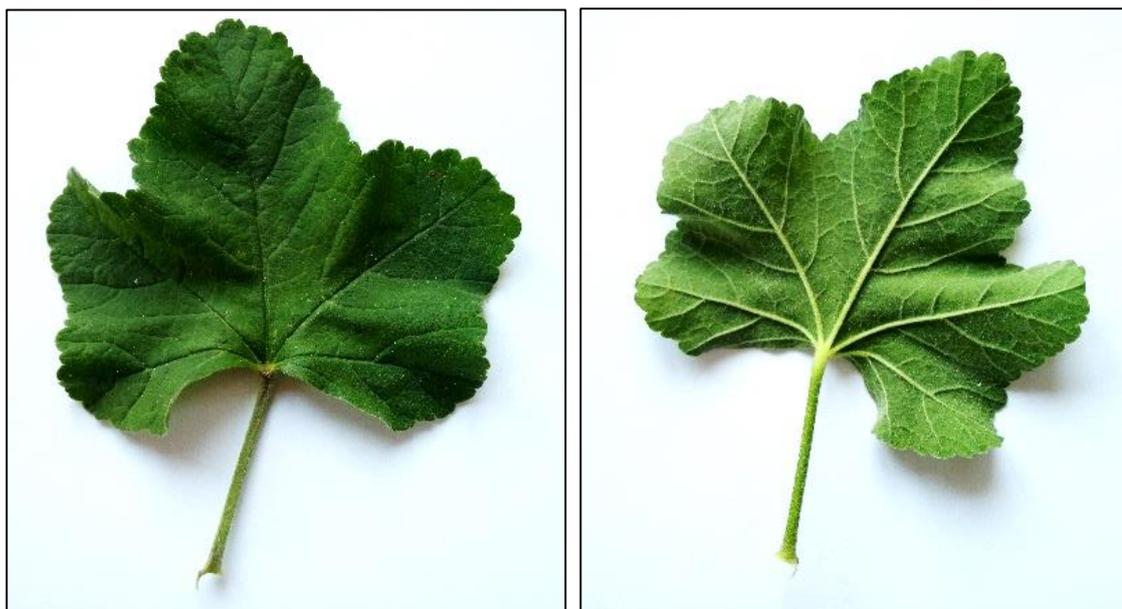
Цветки актиноморфные, крупные (диаметром до 10 см). Обоеполые. Околоцветник двойной. Чашечка двойная, широкая, глубже половины разделена на пять треугольных, заострённых, опушённых долей. Подчашие немного короче чашечки. Не отстоящее или едва отстоящее, не вздувающееся [114]. Разделено на три округлых, на верхушке заострённых листочка, что является отличительной особенностью вида (рисунок 4).

Венчик из пяти свободных выемчатых лепестков обратнойяйцевидной формы розового цвета (рисунок 5). В нижней части лепестки покрыты волосками.

Андроцей состоит из многочисленных тычинок, сросшихся в трубку. Гинецей – ценокарпный, из многочисленных сросшихся плодolistиков, образующих верхнюю завязь. Пыльцевые зёрна сферовидные, рассеяно-многопоровые [135]. Формула цветка:



А



Б

Рисунок 3 – Листья хатмы тюрингенской: А – верхний лист; Б – нижний лист

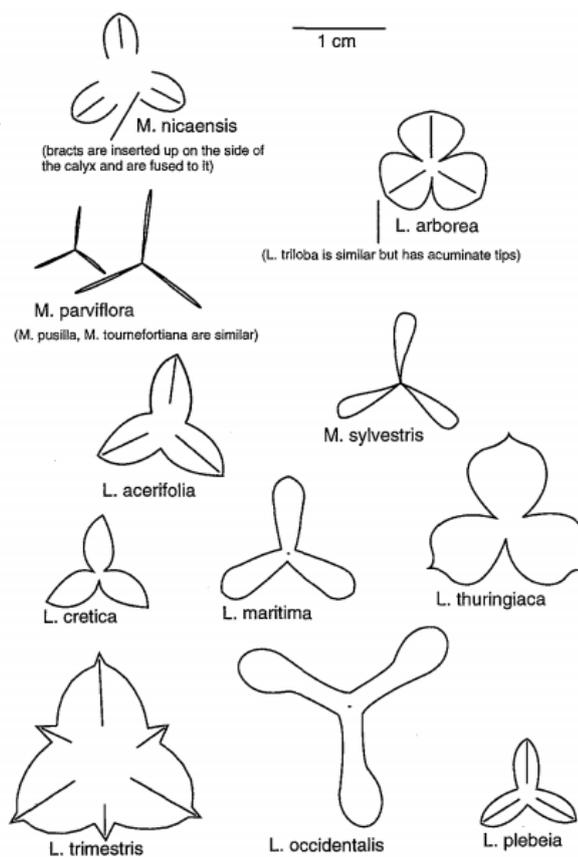


Рисунок 4 – Подчашие хатмы тюрингенской в сравнении с подчашиями близкородственных видов [149]



Рисунок 5 – Цветок хатмы тюрингенской

Молодые (ювенильные) растения имеют обычно 1–2 цветоноса, генеративные – сильно ветвятся, образуют по 10–12 цветущих побегов. У

стареющих (сенильных) растений, при наличии большого количества листьев и отмерших побегов, цветоносов немного [55].

Плод ценокарпный дробный (полимерный схизокарпий) из 20–25 мерикарпиев (рисунок 6). Диаметр плода составляет 1,0–1,3 см. Мерикарпии мелкие (1,6–2,0 мм), почковидные, округло-сдавленные, гладкие. Тёмно- или серо-бурого цвета [114, 126].



Рисунок 6 – Плод хатмы тюрингенской

Описание анатомических признаков хатмы тюрингенской в литературе встречается редко. Известны особенности строения эпидермы хатмы тюрингенской травы, заготовленной на территории Северного Кавказа. Эпидерма стебля и черешка листа состоит из прямых или слабо извилистых клеток. Клетки верхней и нижней эпидермы листовой пластинки извилистые. Устьичные аппараты аномоцитного типа. Волоски звёздчатые. В верхней эпидерме листовой пластинки встречаются простые одноклеточные волоски (рисунок 7) [32].

В Украине установлены отличительные анатомические признаки хатмы тюрингенской листьев в сравнении с листьями близкородственных видов – мальвы лесной (*Malva sylvestris* L.) и штокрозы розовой (*Alcea rosea* L.) – таблица 1 [93].

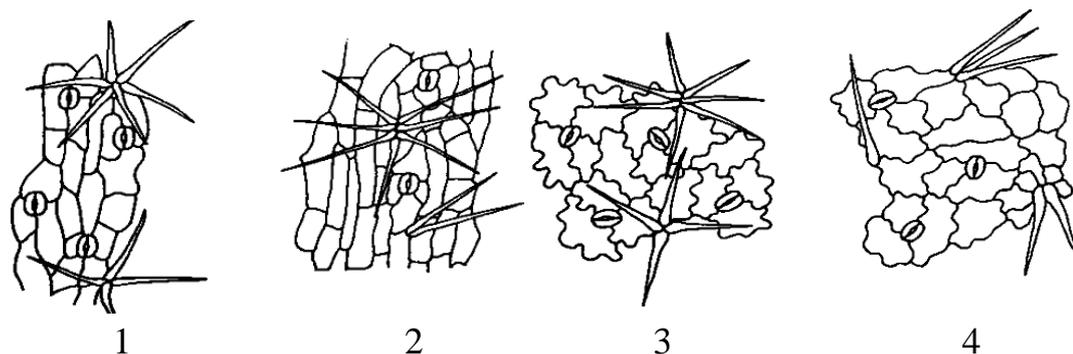


Рисунок 7 – Эпидерма хатьмы тюрингенской: 1 – эпидерма стебля; 2 – эпидерма черешка листа; 3 – нижняя эпидерма листовой пластинки; 4 – верхняя эпидерма листовой пластинки [32]

Таблица 1 – Отличительные анатомические признаки листьев растений семейства Мальвовых [93]

Микроскопические признаки	Наименования растений		
	<i>Мальва лесная</i>	<i>Хатьма тюрингенская</i>	<i>Штокроза розовая</i>
Тип устьичного аппарата	Аномоцитный	Аномоцитный	Диацитный, реже парацитный
Опушение листовой пластинки	Опушение верхней эпидермы редкое, нижней – плотное, представлено 5, реже – 4–6 лучевыми волосками	Опушение верхней эпидермы редкое, нижней – плотное, представлено 5, реже – 4–7 лучевыми волосками	Опушение верхней эпидермы очень редкое, нижней – редкое, в основном по жилкам, представлено 1–2-лучевыми волосками
Строение жилки	Эпидерма образована прямыми клетками. Опушение густое. Встречаются желёзки. Под эпидермой 3–5 слоёв уголковой колленхимы	Эпидерма образована прямыми клетками. Опушение частое. Под эпидермой 2–3 слоя пластинчатой колленхимы	Эпидерма образована прямыми клетками. Опушение редкое. Под эпидермой 4–6 слоёв уголковой колленхимы
Строение черешка	Опушение плотное. Под эпидермой 4–5 слоёв уголковой колленхимы.	Опушение густое. Под эпидермой 3–6 слоёв уголковой колленхимы.	Опушение редкое. Присутствуют редкие желёзки. Под эпидермой 8–10 слоёв уголковой колленхимы.

1.2 Ареал распространения хатьмы тюрингенской

Хатьма тюрингенская – европейско-западноазиатский вид, включающий европейско-западносибирские и европейско-среднеазиатско-туранские группы ареалов [31].

На территории Российской Федерации хатьма тюрингенская имеет более обширный ареал распространения по сравнению с алтеем лекарственным, что подразумевает наличие достаточной сырьевой базы (рисунки 8; 9).

На территории Алтайского края хатьма тюрингенская произрастает повсеместно [20, 49, 122, 124].

Растение относится к лесостепной фитоценотической группе и к экологической группе мезофитов [61]. Нередко обитает на разнотравно-злаковых лугах на среднесуглинистых, богатых почвах с сухолуговым увлажнением [30]. Иногда встречается на рудеральных местах обитания [45, 132].

На Южном Алтае является частым спутником солодково-разнотравных сообществ [4]. В горах – на высоте до 3000 м [52].

Длительность онтогенеза хатьмы тюрингенской составляет около 20 – 25 лет [72, 126].

Начало вегетации приходится на ранневесенний период, начало цветения – на летний. Цветение продолжается более 2 месяцев [115]. Плодоношение приходится на август-сентябрь. После полного созревания семян вегетационный период продолжается до наступления устойчивых заморозков [5].

1.3 Хозяйственное значение хатьмы тюрингенской

Использование хатьмы тюрингенской в хозяйственной деятельности человека носит многоцелевой характер. Растение перспективно для внедрения в различные отрасли экономики (сельское хозяйство, лёгкая и пищевая, целлюлозно-бумажная, фармацевтическая промышленность и др.) [138].



Рисунок 8 – Ареал распространения алтея лекарственного на территории России [7]



Рисунок 9 – Ареал распространения хатьмы тюрингенской на территории России [56]

Работы по интродукции хатьмы тюрингенской успешно проводились ещё в середине XX в. в СССР, а в настоящее время – в Российской Федерации, Республике Беларусь, Грузии, Польше и других странах [37, 38, 51, 133].

В Польше проведены работы по повышению качества семян и предпосевной стимуляции с целью выращивания сырья для разнонаправленного использования хатьмы тюрингенской: в сельском хозяйстве, целлюлозно-бумажной и фармацевтической промышленности [138, 147].

При изучении агротехнологических приёмов возделывания данного растения рязанскими учёными предложен вариант широкорядного посева, а также методика повышения всхожести семян, что позволило значительно увеличить продуктивность заросли [27].

Благодаря своей зимостойкости, морозоустойчивости, засухоустойчивости и высокой продуктивности хатьма тюрингенская представляет интерес как многоукосная культура, способная восполнить дефицит в кормовой базе [2, 21, 28]. Растение имеет высокую урожайность семян – 0,91 т/га, что является важным фактором в распространении культуры [1].

Зелёная масса хатьмы тюрингенской имеет хорошие хозяйственные показатели (урожайность, облиственённость, содержание сырого протеина в сухом веществе и др.). В эксперименте её питательная и энергетическая ценность выше, чем у контрольной культуры – козлятника восточного (*Galega orientalis* Lam.) семейства Бобовые (*Fabaceae* Lindl.) [44].

Хатьма тюрингенская перспективна и для выращивания в составе «зелёного конвейера», т.е. в системе научно обоснованной организации непрерывного производства зелёных кормов и рационального их использования в кормлении сельскохозяйственных животных [21].

Специалисты из Казахстана оценили хатьму тюрингенскую как высоко перспективное растение. Показатель успешности интродукции составил 95 баллов [40].

В Японии проводились работы по выращиванию хатьмы тюрингенской с использованием культуры протопластов [155, 156].

Перечисленные достоинства свидетельствуют о возможности введения хатьмы тюрингенской в культуру с целью комплексной переработки сырья. Срок

хозяйственной годности насаждений хатьмы тюрингенской составляет 8–10 лет [99].

Создание популяций хатьмы тюрингенской решает не только задачи промышленности, но и экологические проблемы [33, 154]. Растение позволяет рекультивировать антропогенно нарушенные территории, пустоши [30]. Улучшает естественные и искусственные фитоценозы [47]. Как декоративное растение используется в фитодизайне, ландшафтном дизайне, повышает эстетическую ценность земельных участков [73, 137]. Подходит для посадки небольшими группами [90].

Поскольку хатьма тюрингенская относится к группе волокнистых (прядельных и плетёночных) растений, она может быть использована в текстильной промышленности для изготовления мешковины, шпагата, верёвок, канатов и других изделий [23, 117, 123].

Применяется в качестве красителя шёлка и шерсти в розовый, зелёный или синий цвет. Кроме того, растение является источником для получения натурального пищевого красителя [50, 123].

В целлюлозно-бумажной промышленности хатьма тюрингенская выступает в роли альтернативного источника целлюлозы для производства различных видов бумаги и картона [117, 131].

В разных регионах России хатьма тюрингенская известна как ценный медонос, чему способствуют длительный (40–60 дней) период цветения. Окраска и строение цветка хатьмы тюрингенской делают нектар и пыльцу доступными для пчёл [136]. Поскольку нектарники расположены у основания лепестков и прикрыты густыми волосками, нектар предохранён от высыхания [24]. Суточная мёдопродуктивность хатьмы тюрингенской составляет 4–5 мг с одного цветка, нектаропродуктивность 2–5 мг [119]. Согласно данным литературы, сахара нектара включают в себя фруктозу – 52,39–70,16%, сахарозу – 1,85–3,55%, глюкозу – 26,28–45,51%. Содержание сахаров изменяется в течение суток, достигая максимума в период с 10 до 16 ч [25, 26]. Мёд хатьмы тюрингенской светлый, ароматный, имеет

приятный вкус. Со временем кристаллизуется в мелкозернистую массу [15, 74, 123].

Исходя из вышесказанного, хатьма тюрингенская – ценная культура для использования в разных областях человеческой деятельности.

1.4 Применение хатьмы тюрингенской в медицине

Растения семейства Мальвовые оказывают муколитическое, противовоспалительное, антисептическое действие [77, 157]. Их традиционно используют в лечении заболеваний верхних дыхательных путей [59, 82, 121]. А также при заболеваниях желудочно-кишечного тракта [9, 10, 98].

В народной медицине хатьма тюрингенская – это обволакивающее, смягчающее, противовоспалительное, отхаркивающее средство [62, 127]. Корни растения применяют при заболеваниях верхних дыхательных путей, в частности, при респираторных инфекциях, листья – при заболеваниях кожи, цветки – при заболеваниях желудочно-кишечного тракта [62, 79].

Согласно данным литературы, противовоспалительная активность ЛРС связана с содержанием фенольных соединений: флавоноидов и фенолокислот [3, 60, 120]. Влияние на процессы воспаления оказывают и различные полисахаридные фракции [34, 76, 97].

Пятигорскими учёными доказано, что курсовое местное применение раствора пектинового гидролизата с солью цинка, полученного из пектиновых веществ хатьмы тюрингенской корней, влияет на стадии экссудации и пролиферации, оказывает выраженное противовоспалительное и ранозаживляющее действие [35].

Установлено, что комплекс водорастворимых полисахаридов, выделенных из корней и надземной части растения, обладает отхаркивающим действием за счёт повышения активности моторики ворсинок реснитчатого эпителия трахеи [35].

Фармакологическая активность водных извлечений из хатьмы тюрингенской корней аналогична по отхаркивающему действию лекарственному препарату «Мукалтин», в состав которого входит алтея лекарственного травы экстракт [88].

Пермскими учёными исследована возможность связывания свободных радикалов водно-спиртовым экстрактом хатьмы тюрингенской в системе *in vitro*. Эксперимент показал, что экстракт имеет высокую радикал-связывающую способность: более 70% DPPH-радикалов в системе [85].

В Сербии установлено, что экстракты хатьмы тюрингенской травы, полученные разными способами (мацерация, ультразвуковая экстракция и др.), обладают антиоксидантной, противоопухолевой цитотоксической, антибактериальной активностью [143, 144].

Тем не менее, в научной медицине растение не используется в связи с недостаточной изученностью и отсутствием нормативной документации.

1.5 Химический состав хатьмы тюрингенской

В отечественной и зарубежной литературе встречается информация о содержании различных групп БАС в хатьме тюрингенской. Однако результатов комплексного фитохимического исследования в доступных источниках не обнаружено.

Так, согласно литературным данным, хатьмы тюрингенской корня, стебли, листья, бутоны, цветки, плоды, заготовленные на территории Ставропольского края, содержат полисахариды. Полисахаридные фракции представлены водорастворимыми полисахаридами, пектиновыми веществами, гемицеллюлозами А и Б [11, 63]. Моносахаридный состав растения меняется в зависимости от периода вегетации и включает глюкозу, галактозу, ксилозу, арабинозу. В корнях преобладает содержание глюкозы и галактозы; в стеблях, бутонах, цветках и плодах – арабинозы; в листьях – ксилозы [11].

Установлено, что корни хатмы тюрингенской содержат не менее 9% суммы водорастворимых полисахаридов и не менее 3% суммы восстанавливающих моносахаридов [88].

В результате фитохимических исследований надземной части хатмы тюрингенской, культивируемой на Урале в качестве кормовой культуры, установлено наличие в сырье жиров, сахаров, аскорбиновой кислоты, каротиноидов, аминокислот (лизин, аргинин, метионин, лейцин, пролин) [2].

В цветках хатмы тюрингенской, произрастающей на территории Польши, обнаружены флавоноиды и фенолокислоты: производные кверцетина, кемпферола, *цис*- и *транс*-тилирозид, *пара*-кумаровая кислота [145, 153]. В листьях – значительное количество тилирозида [146].

По данным, полученным учёными из Сербии с помощью ВЭЖХ с диодным матричным детектированием, хатмы тюрингенской трава содержит комплекс фенольных соединений. В состав комплекса входят *пара*-гидроксибензойная, кофейная, ванилиновая, хлорогеновая, *пара*-кумаровая, феруловая, синаповая, сиригеновая, розмариновая кислоты, а также рутин, кверцетин, апигенин, лютеолин, нарингенин, кемпферол и их производные [144].

Надземная часть хатмы тюрингенской, произрастающей в лесостепной зоне Западной Сибири, содержит флавоноиды, кумарины и дубильные вещества [36].

Семена содержат от 11,0 до 15,8% жирного масла; йодное число – 103,0–123,9 [114, 129].

Анализ элементного состава хатмы тюрингенской, проведённый в Иордании, свидетельствует о содержании в сырье кальция, калия, кремния, магния и фосфора [22].

Таким образом, фитохимические исследования хатмы тюрингенской, описанные в литературе, носят фрагментарный характер. Объём информации о качественном составе и количественном содержании различных групп БАС растения недостаточен и противоречив. Данные о химическом составе хатмы тюрингенской, произрастающей на территории Алтайского края, отсутствуют.

Выводы по главе

Из анализа литературных данных следует, что хатьма тюрингенская – это растение, широко распространённое на территории Алтайского края. Агротехнические характеристики хатьмы тюрингенской позволяют выращивать растение в культуре. Данные факты могут свидетельствовать о возможности создания сырьевой базы, достаточной для промышленной заготовки.

Хатьма тюрингенская – ценная культура для сельскохозяйственной, текстильной, целлюлозно-бумажной, пищевой, фармацевтической промышленности. Многоцелевой характер использования данного растения может служить гарантией рациональной эксплуатации ресурсов за счёт комплексной переработки сырья.

Интерес к изучению хатьмы тюрингенской в качестве источника ЛРС обусловлен наличием БАС в растении. В литературе имеется информация о содержании комплекса полисахаридов в различных морфологических органах; флавоноидов, фенолокислот – в цветках; флавоноидов, фенолокислот, кумаринов, дубильных веществ, витаминов, аминокислот (в том числе, незаменимых), органических кислот – в надземной части хатьмы тюрингенской.

Структурное разнообразие БАС позволяет предположить широкий спектр фармакологических эффектов. Результаты исследований специфической активности экстрактов хатьмы тюрингенской, опубликованные в научных изданиях, свидетельствуют о наличии отхаркивающего, противовоспалительного, антиоксидантного действий, что согласуется с опытом народной медицины.

В научной медицине данное растение не используется вследствие недостаточной изученности. Исчерпывающей информации о целесообразности внедрения растения в медицинскую практику, исходя из литературных данных, не получено.

Таким образом, фармакогностическое исследование хатьмы тюрингенской – новое направление в сфере расширения перечня лекарственных растений. Результаты исследований необходимы для разработки НД.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования

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-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).

2.2 Макроскопический анализ

Макроскопический анализ хатьмы тюрингенской травы проводили в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи (ГФ) XIII издания (ОФС.1.5.1.0002.15) [18].

2.3 Изучение анатомического строения

Изучение строения фрагментов стеблей, листьев и цветков проводили по общеизвестным методикам, в соответствии с ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» и ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» ГФ XIII издания [18].

Исследования проводили с помощью микроскопа Микромед-2 и Биолам, с увеличением окуляра 7х, 10х, объективов 4х, 10х, 40х, 90х, 100х. Готовили поверхностные препараты, поперечные и продольные срезы, которые выполняли лезвием от руки. Фотосъёмку объектов проводили с помощью фотонасадки «DCM800 SCOPE». Снимки редактировали в программе Adobe Photoshop 8.0.

2.4 Определение показателей доброкачественности

Определение влажности, содержание золы общей и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, содержание сырья, изменившего свою окраску (пожелтевшие листья, выцветшие цветки), содержание органической и минеральной примеси, содержание экстрактивных веществ проводили согласно методикам ГФ XIII издания [17, 18].

2.5 Методы и методики анализа комплекса биологически активных соединений

Для проведения качественного анализа комплекса БАС хатьмы тюрингенской травы получали извлечения с использованием различных экстрагентов: вода очищенная, водно-спиртовые смеси различной концентрации, эфир диэтиловый, этилацетат, спирт н-бутиловый.

Обнаружение полисахаридов, аминокислот, органических кислот, сапонинов, флавоноидов, дубильных веществ, кумаринов проводили по общепринятым методикам [116].

Идентификацию БАС и определение их количественного содержания в сырье проводили химическими и физико-химическими методами анализа (тонкослойная хроматография (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), прямая и дифференциальная спектрофотометрия (СФМ).

2.5.1 Полисахаридный комплекс

Готовили водные извлечения из хатьмы тюрингенской травы в соотношении «сырьё – экстрагент» – 1:10. Для подтверждения наличия сахаров в извлечениях проводили качественные реакции: реакцию с реактивом Фелинга, реакцию серебряного зеркала, реакцию Молиша. Наличие полисахаридов подтверждали путём их осаждения спиртом этиловым 96%. Крахмал идентифицировали по реакции с раствором Люголя; слизи – по реакции с раствором щёлочи [14, 46].

Состав моносахаридов сырья изучали методом ТСХ. Предварительно проводили гидролиз полисахаридов хлористоводородной кислотой концентрированной на кипящей водяной бане в течение 30 мин. К гидролизатам прибавляли натрия гидроксида раствор 40% (до pH 4,0–4,5) [19].

В качестве подвижной фазы использовали систему растворителей спирт н-бутиловый – уксусная кислота ледяная – вода (БУВ) 4:1:5 [11]. На линии старта хроматографических пластинок «Sorbfil ПТСХ-П-В» наносили исследуемые растворы и растворы стандартных образцов (СО) моносахаридов: арабиноза, галактоза, глюкоза, ксилоза, фруктоза (ЗАО «ВЕКТОН»).

Проявляли хроматограммы путём последовательной обработки натрия карбоната раствором 20% и пикриновой кислоты раствором 1%. Пластинки сушили при температуре 100–105°C. Отмечали цвет пятен. Рассчитывали значения R_f.

Количественное определение суммы водорастворимых полисахаридов в хатьмы тюрингенской траве проводили методом гравиметрии согласно ГФ XIII издания [19]. Количественное определение **пектиновых веществ** проводили методом гравиметрии. Получали кислое извлечение из шрота, оставшегося после выделения водорастворимого полисахаридного комплекса. Экстракцию проводили трижды смесью щавелевой кислоты раствора 0,5% и аммония оксалата раствора 0,5% (1:1) в течение 2,5 ч (соотношение «сырьё – экстрагент» – 1:20). Температурные условия экстракции – 80–85°C. Экстракты объединяли, концентрировали. Пектиновые вещества осаждали пятикратным объёмом спирта этилового 96%. Полученный осадок отфильтровывали через предварительно высушенный и взвешенный бумажный фильтр, промывали спиртом этиловым 96%. Фильтр с осадком высушивали до постоянной массы, взвешивали [78].

Затем для определения количественного содержания **гемицеллюлоз** к шроту прибавляли пятикратный объём натрия гидроксида раствора 10%. Проводили экстракцию в течение 5 ч при комнатной температуре. Извлечение процеживали, шрот отбрасывали. К извлечению прибавляли двойной объём уксусной кислоты

разведённой 50%. Образовавшийся осадок **гемицеллюлозы А** отфильтровывали через предварительно высушенный фильтр.

Для осаждения **гемицеллюлозы Б** к полученному фильтрату прибавляли двойной объём спирта этилового 96%. Осадок отфильтровывали, промывали спиртом этиловым 96%. Фильтры с осадками сушили до постоянной массы [70].

2.5.2 Аминокислоты

Для обнаружения аминокислот в хатмы тюрингенской траве готовили водное извлечение в соотношении «сырьё – экстрагент» – 1:10 путём нагревания на водяной бане в течение 10 мин. Затем проводили реакцию с нингидрина раствором 0,25%. Реакционную смесь нагревали на водяной бане, отмечали окраску.

Качественный состав аминокислот анализировали методом ТСХ. Для этого водное извлечение, полученное по методике, описанной выше, упаривали. К остатку прибавляли 1 мл спирта этилового 96%. На линию старта хроматографической пластинки «Sorbfil» наносили извлечение и СО аминокислот (ЗАО «ВЕКТОН»). В качестве стандартов использовали 1%-ные водные растворы следующих аминокислот: глутамин, аргинин солянокислый, α -аланин, β -аланин, орнитин солянокислый, аспарагин, β -фенил- α -аланин, β -фенил- β -аланин, триптофан, норлейцин, метионин, гистидин солянокислый, глутаминовая кислота, серин, валин, норвалин, аминокусусная кислота (глицин), аспарагиновая кислота, цистеин, лизин солянокислый. Для хроматографирования применяли систему растворителей БУВ (4:1:1) [39].

На хроматограммах аминокислоты обнаруживали путём обработки высушенных пластинок 0,25% раствором нингидрина в ацетоне с последующим нагреванием в сушильном шкафу при $t^{\circ}=100-105^{\circ}\text{C}$ в течение 3–5 мин до появления окрашенных пятен. Отмечали цвет пятен, рассчитывали значение R_f .

Количественное определение свободных аминокислот проводили методом СФМ [91]. Для этого 1,0 г сырья (точная навеска), измельчённого до размера

частиц, проходящих через сито с диаметром отверстий 1 мм, помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл. Добавляли 50 мл воды очищенной и нагревали в течение 30 мин. Затем извлечение охлаждали и фильтровали в мерную колбу на 50 мл. Содержимое колбы доводили до метки водой очищенной (раствор А). 1 мл раствора А помещали в мерную колбу на 50 мл, добавляли 1 мл свежеприготовленного раствора нингидрина спиртового. Смесь нагревали на водяной бане в течение 30 мин. Охлаждали и доводили до метки (раствор Б). Оптическую плотность раствора Б измеряли на спектрофотометре «Schimadzu UV-mini 1240» при длине волны 571 нм. В качестве раствора сравнения использовали 1 мл раствора А, доведённого водой очищенной до метки в колбе на 50 мл.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора СО аланина. Определение содержания суммы свободных аминокислот в хатьмы тюрингенской траве – в пересчёте на аланин.

2.5.3 Органические кислоты

Для исследования органических кислот хатьмы тюрингенской травы получали водное извлечение в соотношении «сырьё – экстрагент» – 1:10 при нагревании на водяной бане в течение 15 мин.

Разделение и идентификацию органических кислот проводили методом ТСХ. На линию старта хроматографической пластинки «Sorbfil» наносили извлечение и СО органических кислот фирмы ЗАО «ВЕКТОН»: 0,1%-ные растворы винной, лимонной, молочной, щавелевой, яблочной, янтарной кислот.

Для хроматографирования применяли систему растворителей спирт этиловый 96% – аммиака раствор (16:4,5) [43]. В качестве детектирующего реактива использовали метилового красного раствор спиртовой 0,2%. После обработки пластинку высушивали на воздухе. Отмечали цвет пятен, рассчитывали значение R_f.

Для идентификации органических кислот использовали метод ВЭЖХ. Условия исследования: микроколоночный жидкостный хроматограф «МилиХром

А-02» с УФ-детектором; хроматографическая колонка $2,0 \times 75$ мм; сорбент ProntoSIL 120-5C18AQ с размером частиц 5 мкм; элюент А – фосфорной кислоты раствор 0,05 М, элюент Б – ацетонитрил – фосфорной кислоты раствор 0,1 М (1:1). Скорость подачи элюента – 100 мкл/мин, объём пробы – 2 мкл, температура колонки 35°C ; градиент 30% элюента Б за 10 мин [148]. Детектирование веществ проводили при длине волн 200; 210; 220; 260 нм.

Соединения идентифицировали по временам удерживания (τ) и спектральным характеристикам (λ_{max}), сравнивая с аналогичными показателями растворов СО органических кислот.

Количественное определение органических кислот проводили путём алкалометрического титрования. Около 25 г (точная навеска) сырья, измельчённого до размера частиц, проходящих через сито с диаметром отверстий 2 мм, помещали в коническую колбу объёмом 250 мл. Прибавляли 200 мл воды очищенной. Проводили экстракцию на кипящей водяной бане в течение 2 ч. Извлечение охлаждали, процеживали через несколько слоёв марли в мерную колбу объёмом 250 мл. Доводили объём до метки водой очищенной.

10 мл извлечения помещали в колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 1 мл фенолфталеина раствора 1% и 2 мл метиленового синего спиртового раствора. Титровали натрия гидроксида раствором 0,1 М. Конечную точку титрования устанавливали по переходу от грязно-зелёной до лилово-красной окраски. Содержание органических кислот определяли в пересчёте на яблочную кислоту [125].

2.5.4 Сапонины

Готовили водное извлечение в соотношении «сырьё – экстрагент» – 1:10, нагревая измельчённое сырьё на водяной бане в течение 10 мин. Извлечение после охлаждения фильтровали, проводили обнаружение сапонинов с помощью реакций пенообразования, Лафона, реакций со свинца ацетата раствором, натрия нитрата раствором, холестерина раствором спиртовым [116].

2.5.5 Флавоноиды и фенолокислоты

Качественный анализ флавоноидов и фенолокислот проводили химическими и хроматографическими методами.

Для проведения качественных реакций на флавоноиды (цианидиновая проба, борно-лимонная реакция, реакция с аммиака раствором 10%, свинца ацетата основного раствором 2%, ванилина раствором 1% и др.) из хатьмы тюрингенской травы получали извлечение при соотношении «сырьё – экстрагент» – 1:10. В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 70%. Экстракцию проводили на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин.

Исследование качественного состава флавоноидов осуществляли методом ТСХ на пластинках «Sorbfil» в следующих системах растворителей: БУВ (4:1:1) и (4:1:2), хлороформ – уксусная кислота ледяная – вода (10:4:1), хлороформ – уксусная кислота ледяная (5:2), ацетон – эфир петролейный (10:45), этилацетат – уксусная кислота – вода (70:10:20), уксусная кислота 15% [43, 58, 94]. В качестве свидетелей использовали СО флавоноидов из группы флавонола (рутин – каталожный номер R5143, кверцетин – каталожный номер Q4951, кемпферол – каталожный номер K0133) и флавона (апигенин – каталожный номер A3145, лютеолин – каталожный номер L9283), приобретённые в компании ООО «Сигма-Алдрич Рус». Детектирование пятен веществ на хроматограммах проводили путём обработки пластинок алюминия хлорида раствором спиртовым 5%, затем хроматограммы просматривали в УФ-свете (254 нм, 365 нм). Отмечали цвет пятен, характер флюоресценции веществ в УФ-свете. Рассчитывали значения R_f. Идентификацию соединений осуществляли путём сравнения R_f с аналогичными показателями СО.

Выбирали систему растворителей с оптимальными разделяющими свойствами.

Далее исследовали качественный состав фенольных соединений хатьмы тюрингенской травы, стеблей, листьев, цветков. 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 [103]. Детектирование веществ проводили при длине 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 [81, 142, 158].

Для разделения фенольных соединений на фракции проводили обработку спиртового извлечения растворителями различной полярности по следующей методике.

5,0 г сырья экстрагировали 50 мл спирта этилового 70% на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 2 часов. Спиртовые извлечения выпаривали досуха, к сухому остатку добавляли 10 мл горячей воды очищенной. После охлаждения дважды экстрагировали 5 мл гексана с целью очистки от липофильных веществ. Флавоноиды из водной фазы извлекали последовательно эфиром диэтиловым (агликоны), этилацетатом (монозиды), спиртом н-бутиловым (биозиды) [103].

Далее, используя метод ВЭЖХ, осуществляли идентификацию соединений в условиях, описанных выше.

Для подтверждения полученных результатов проводили изучение продуктов гидролиза – агликонов гликозидных соединений. Спиртовое извлечение хатьмы тюрингенской травы подвергали кислотному гидролизу. В качестве гидролитического агента использовали серной кислоты раствор 10% [48]. Затем проводили жидкость-жидкостную экстракцию продуктов гидролиза, применяя

эфир диэтиловый. Эфирную фракцию отделяли и упаривали, сухой остаток растворяли в спирте этиловом (реэкстракт).

Реэкстракт гидролизата исследовали методом ВЭЖХ в условиях, описанных выше.

Количественное определение суммы флавоноидов в хатьмы тюрингенской траве проводили методом дифференциальной спектрофотометрии параллельно в пяти пробах. Около 1,0 г (точная навеска) измельчённого сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 30 мл спирта этилового 70%. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл так, чтобы частицы сырья не попали на фильтр [68].

В колбу для экстрагирования прибавляли 30 мл спирта этилового 70%. Экстракцию повторяли ещё дважды в описанных выше условиях, фильтровали извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объём извлечения доводили спиртом этиловым 70% до метки и перемешивали (раствор А испытуемого раствора).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1,0 мл раствора А испытуемого раствора, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2%, доводили объём раствора спиртом этиловым 96% до метки и перемешивали (раствор Б испытуемого раствора).

Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряли через 40 мин на спектрофотометре «Schimadzu UV-mini 1240» при длине волны 410 нм. Толщина рабочего слоя кюветы – 1 см. В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 1 мл раствора А испытуемого раствора, доведённый спиртом этиловым 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряли оптическую плотность раствора Б СО рутин («Sigma-Aldrich») в тех же условиях. В качестве раствора сравнения использовали раствор,

состоящий из 1 мл раствора А СО рутина, доведённый спиртом этиловым 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Вычисляли содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин.

Далее проводили количественное определение **фенолокислот** методом спектрофотометрии [86]. Для этого 1 мл раствора А помещали в мерную колбу объёмом 25 мл, доводили до метки спиртом этиловым 96%. Оптическую плотность испытуемого раствора измеряли на спектрофотометре «Schimadzu UV-mini 1240» при длине волны 325 нм. Содержание суммы фенолокислот определяли в пересчёте на хлорогеновую кислоту.

2.5.6 Дубильные вещества

Для обнаружения дубильных веществ получали водное извлечение из хатьмы тюрингенской травы в соотношении «сырьё – экстрагент» – 1:100 при нагревании на водяной бане в течение 20–30 мин. Проводили качественные реакции (реакции с железа (III) аммония сульфата раствором 1,0%, хинина гидрохлорида раствором 1%, желатина раствором 1%) по общепринятым методикам [116].

Количественное содержание дубильных веществ в хатьмы тюрингенской траве определяли методом спектрофотометрии параллельно в пяти пробах.

Определение проводили по следующей методике: 2 г (точная навеска) измельчённого сырья, просеянного через сито с диаметром отверстий 3 мм, помещали в коническую колбу вместимостью 500 мл. Прибавляли 250 мл нагретой до кипения воды и кипятили с обратным холодильником в течение 30 мин при периодическом перемешивании. Полученное извлечение процеживали через несколько слоёв марли в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводили объём до метки. 5 мл водного извлечения отбирали в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объём до метки спиртом этиловым 70%. Образовавшийся осадок полисахаридов отфильтровывали. Измерение оптической плотности полученного фильтрата проводили на спектрофотометре «Schimadzu UV-mini 1240» при длине волны 277 нм. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора СО танина

(«Sigma-Aldrich»). Рассчитывали содержание дубильных веществ в пересчёте на танин [95, 100, 101].

2.5.7 Кумарины

Для обнаружения кумаринов в хатьмы тюрингенской траве получали спиртовое извлечение в соотношении «сырьё – экстрагент» – 1:10. В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 70%. Экстракцию проводили при нагревании на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 15 мин [116].

Полученное извлечение просматривали в ультрафиолетовом свете при длинах волн 254 нм и 365 нм. Отмечали характер флюоресценции.

Проводили качественные реакции на кумарины: лактонную пробу, реакцию образования азокрасителя, реакцию сублимации [116].

Далее определяли количественное содержание суммы кумаринов в хатьмы тюрингенской траве.

Около 2 г сырья (точная навеска) помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл хлороформа. Проводили экстракцию с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 2 ч. Извлечение фильтровали. К 20 мл фильтрата прибавляли 1 г натрия хлорида. Смесь встряхивали в течение 5 мин, затем фильтровали. Фильтрат помещали в фарфоровую чашку и упаривали на водяной бане до сухого остатка. Сухой остаток количественно переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяя в спирте этиловом 96%. Объём доводили до метки спиртом этиловым 96% [13].

Оптическую плотность полученного раствора измеряли на спектрофотометре «Schimadzu UV-mini 1240» (Shimadzu Corporation, Япония) при длине волны 272 нм. Толщина рабочего слоя кюветы – 1 см.

Количественное содержание суммы соединений кумариновой природы производили в пересчёте на кумарин. Для расчётов использовали удельный показатель стандартного образца кумарина, равный 734 (при длине волны 272 нм).

3 Определение острой токсичности и специфической активности

Для определения острой токсичности и специфической активности готовили настой травы хатьмы тюрингенской (1:10).

Исследования выполняли в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (г. Страсбург, 1986 г.) и Приказом Минздрава России от 01.04.2016 N 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

Подопытные животные прошли адаптацию, содержались в отдельных клетках так, чтобы размещение удовлетворяло нормальные физиологические и поведенческие потребности животных; свободный доступ к воде и пище; безопасность и т.д. Кормление производили в фиксированное время, для поения использовали автопоилки [83, 84].

Определение **острой токсичности** проводили на здоровых, интактных белых мышах обоего пола, масса которых составляла 19–21 г. Животных разделили на контрольную и опытные группы, в каждой группе по 10 мышей.

Животным опытной группы вводили настой травы хатьмы тюрингенской. Введение проводили внутрижелудочно с помощью зонда в дозах 1000 мг/кг, 1500 мг/кг, 2000 мг/кг, 2500 мг/кг.

Состояние животных опытной группы фиксировали через 4 ч, 24 ч и 48 ч после введения извлечения, сравнивая с состоянием животных в контрольной группе [83].

Для оценки **противовоспалительной активности** определяли влияние настоя травы хатьмы тюрингенской на течение процессов воспаления. Определение вели на модели острого воспаления.

Острое воспаление. Исследование проводили на 20 лабораторных крысах линии Wistar обоего пола. Животных разделили на опытную и контрольную группы, по 10 особей в каждой. Масса тела животных составляла 200–250 г.

В течение двух недель животным опытной группы вводили водное извлечение хатмы тюрингенской травы внутривентриально в дозе 100 мг/кг. Животные контрольной группы на протяжении 14 дней получали эквивалентное количество воды очищенной.

Острое экссудативное воспаление индуцировали субплантарным введением 0,1 мл раствора каррагинина 1%. За 1 ч до инъекции флогистика осуществляли последнее введение извлечения. Измерение объема правой задней конечности проводили с помощью цифрового плетизмометра LE 7500 («Panlab S.L.», Италия) через 60 мин, 120 мин и 240 мин после инъекции флогистика. Параллельно измеряли объем конечностей животных контрольной группы [43].

На основании данных среднего прироста объема конечности животных рассчитывали значение противовоспалительной активности (X):

$$X = \frac{V_k - V_o}{V_k} \times 100\%, \quad (\text{II})$$

где: V_k – средний прирост объема конечности в контроле, см³;

V_o – средний прирост объема конечности в опыте, см³.

Эффективными принято считать препараты со степенью противовоспалительной активности более 30% [54].

4 Определение запасов сырья

Исследование проводили в окрестностях села Новиково Бийского района Алтайского края.

Урожайность определяли методом учётных площадок. Рассчитывали эксплуатационный запас и возможный объем ежегодных заготовок. Руководствовались «Методикой определения запасов лекарственных растений» (1986 г.) [64].

5 Определение сроков годности сырья

Срок годности хатьмы тюрингенской травы устанавливали по результатам анализа пяти серий сырья, заложенного на хранение в 2015-м году. Сырьё упаковывали в картонные коробки. Хранили при комнатной температуре.

Критерии оценки качества (внешний вид, влажность, количественное содержание водорастворимых полисахаридов и флавоноидов) определяли через каждые 6 месяцев в течение 2015–2018-х гг.

Статистическую обработку результатов, полученных в ходе исследований, проводили в соответствии с требованиями ГФ XIII издания (ФС.1.1.0013.15) [17].

ГЛАВА 3 ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ХАТЬМЫ ТЮРИНГЕНСКОЙ ТРАВЫ И КОРНЕЙ

Настоящая глава посвящена фитохимическому изучению хатьмы тюрингенской травы и корней, заготовленных на территории Алтайского края. Данные о составе комплекса БАС хатьмы тюрингенской травы позволяют судить о целесообразности её использования в медицинской практике.

Согласно литературной информации, растение содержит полисахариды, аминокислоты, дубильные вещества, флавоноиды, кумарины и т.д. (глава 1). Одной из задач нашего исследования является проведение качественных реакций на перечисленные группы соединений (таблица 2) [112].

3.1 Полисахаридный комплекс

Для подтверждения наличия сахаров готовили водные извлечения из хатьмы тюрингенской травы в соотношении «сырьё – экстрагент» – 1:10. Проводили качественные реакции: реакцию с реактивом Фелинга, реакцию серебряного зеркала, реакцию Молиша. Наличие водорастворимых полисахаридов подтверждали путём их осаждения спиртом этиловым 96%. Крахмал идентифицировали по реакции с раствором Люголя; слизи – по реакции с раствором щёлочи [14, 46].

Положительные результаты проведённых реакций свидетельствуют о наличии свободных и связанных сахаров в исследуемом сырье [105]. Установлено, что в состав полисахаридного комплекса хатьмы тюрингенской травы входят водорастворимые полисахариды (слизи). Крахмал не обнаружен (таблица 2).

Далее проводили кислотный гидролиз полисахаридов и изучали моносахаридный состав сырья методом ТСХ в системе растворителей БУВ (4:1:5) [11]. После хроматографирования пластинки высушивали на воздухе; обрабатывали натрия карбоната раствором 20% и пикриновой кислоты раствором 1%; нагревали в сушильном шкафу [105].

Таблица 2 – Результаты качественных реакций на различные группы БАС хатьмы тюрингенской травы [112]

Наименование реакции / реактива	Положительные результаты реакций
<i>Углеводный состав</i>	
Реактив Фелинга	Выпадение кирпично-красного осадка (восстанавливающие сахара)
Серебра нитрата аммиачный раствор 2,5% (реакция серебряного зеркала)	Выпадение бурого осадка (восстанавливающие сахара)
α -нафтола спиртовой раствор 20%, серная кислота концентрированная (реакция Молиша)	Образование кольца красного цвета на границе раздела двух фаз (моносахариды, дисахариды, полисахариды)
Реакция осаждения полисахаридов спиртом этиловым 96%	Выпадение обильного слизеобразного осадка (полисахариды)
Натрия гидроксида раствор 30%	Ярко-жёлтое окрашивание (слизи)
Люголя раствор	Коричневое окрашивание
<i>Аминокислоты</i>	
Нингидрина раствор 0,25%	Фиолетовое окрашивание
<i>Сапонины</i>	
Реакция пенообразования	Образование пены
Реакция осаждения со свинца ацетата раствором	Выпадение аморфного осадка жёлтого цвета
Реакция Лафона	Слабое сине-зелёное окрашивание
Натрия нитрата раствор 10%, серная кислота концентрированная	Розовое окрашивание
Холестерина раствор спиртовой 1%	Выпадение аморфного осадка белого цвета
<i>Дубильные вещества</i>	
Железа(III) аммония сульфата раствор 1,0%	Чёрно-зелёное окрашивание
Хинина гидрохлорида раствор 1%	Образование аморфного осадка
Желатина раствор 1%	Образование белой мути
<i>Флавоноиды</i>	
Цианидиновая проба	Оранжево-красное окрашивание (флавонолы, флавоны, флаванолы)
Борно-лимонная реакция	Жёлтое окрашивание, жёлто-зелёная флюоресценция (5-оксифлавоны, 5-оксифлаванолы)
Аммиака раствор 10%	Жёлтое окрашивание (флавонолы, флавоны, флаванолы, флаванолы)
Реакция осаждения со свинца (II) ацетата основного раствором	Жёлтый осадок (флавоны, халконы, ауроны)
Ванилина раствор 1%	Коричневое окрашивание (катехины)
<i>Кумарины</i>	
Лактонная проба	Жёлтое окрашивание, помутнение раствора
Реакция образования азокрасителя	Оранжевое окрашивание
Реакция сублимации	Образование маслянистого сублимата оранжевого цвета. Ярко-оранжевое окрашивание при взаимодействии сублимата с раствором щёлочи.

Наблюдали появление оранжевых пятен на жёлтом фоне (рисунок 10). Рассчитывали значения Rf исследуемых и стандартных образцов (таблица 3).

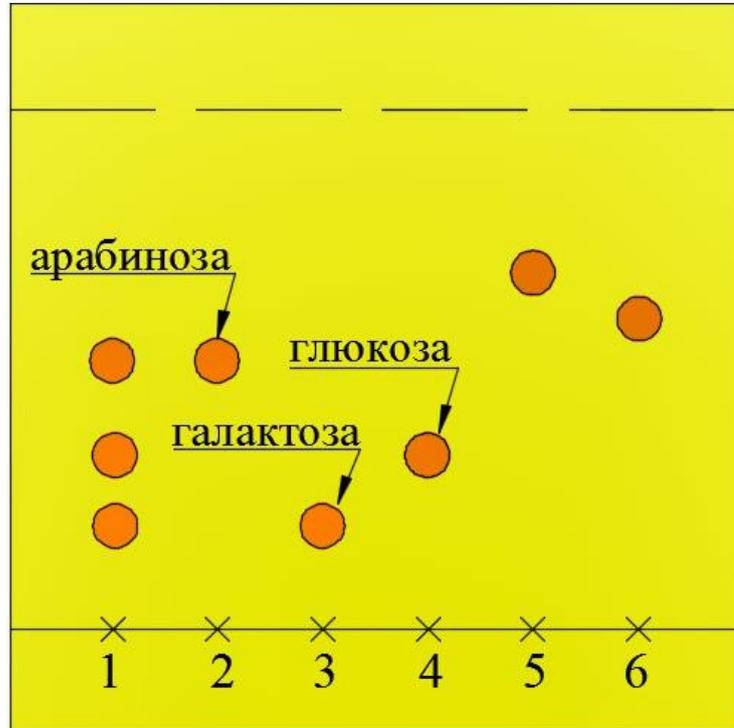


Рисунок 10 – Хроматограмма сахаров хатьмы тюрингенской травы в системе растворителей БУВ (4:1:5): 1 – гидролизат; СО моносахаридов: 2 – арабиноза, 3 – галактоза, 4 – глюкоза, 5 – ксилоза, 6 – фруктоза

Таблица 3 – Результаты определения моносахаридного состава хатьмы тюрингенской травы методом ТСХ в системе растворителей БУВ (4:1:5) [105]

Наименование СО	Величина Rf СО	Величина Rf моносахаридов в сырье
L(+)-Арабиноза	0,43±0,03	0,43±0,04
D(+)-Галактоза	0,34±0,03	0,34±0,03
D(+)-Глюкоза	0,37±0,04	0,37±0,03
D(+)-Ксилоза	0,49±0,05	-
D(-)-Фруктоза	0,45±0,04	-

Из таблицы 3 следует, что моносахариды хатмы тюрингенской травы представлены арабинозой ($R_f=0,43\pm 0,04$), галактозой ($R_f=0,34\pm 0,03$), глюкозой ($R_f=0,37\pm 0,03$) [105].

Далее проводили количественное определение суммы водорастворимых полисахаридов хатмы тюрингенской травы методом гравиметрии по методике ГФ XIII издания с последующим определением количественного содержания пектиновых веществ, гемицеллюлоз А и Б [19, 29, 109]. Методика описана в главе 2, стр. 26-27.

Схема выделения полисахаридных фракций представлена на рисунке 11.

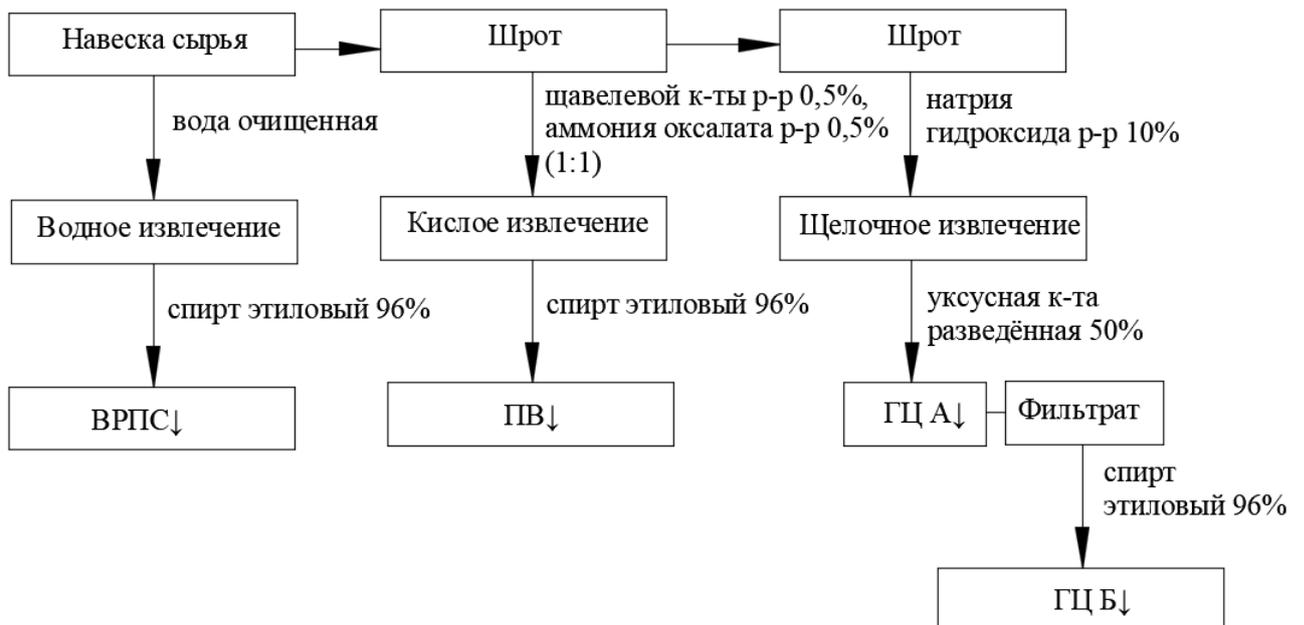


Рисунок 11 – Схема выделения полисахаридных фракций хатмы тюрингенской травы

Результаты количественного определения водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ и гемицеллюлоз приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты количественного определения полисахаридных фракций хатьмы тюрингенской травы

Наименование фракции	Метрологические характеристики, P=95%, n=5, f=2,78		
	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}, \%$	s	$\bar{\varepsilon}, \%$
Водорастворимые полисахариды	7,60±0,18	0,10	1,35
Пектиновые вещества	3,23±0,17	0,10	3,07
Гемицеллюлоза А	2,12±0,14	0,08	3,76
Гемицеллюлоза Б	1,31±0,08	0,05	3,55

Установлено, что содержание суммы водорастворимых полисахаридов в хатьмы тюрингенской траве составляет 7,60±0,18%, пектиновых веществ – 3,23±0,17%, гемицеллюлозы А – 2,12±0,14%, гемицеллюлозы Б – 1,31±0,08%.

3.2 Аминокислоты

Для обнаружения аминокислот в хатьмы тюрингенской траве готовили водное извлечение (в соотношении «сырьё – экстрагент» – 1:10) путём нагревания на водяной бане в течение 10 мин. Затем проводили реакцию с нингидрина раствором 0,25%. Реакционную смесь нагревали на водяной бане. Наблюдала фиолетовое окрашивание, что является положительным аналитическим сигналом (таблица 2).

Качественный состав аминокислот анализировали методом ТСХ по методике, описанной в главе 2, стр. 27. Результаты представлены в таблице 5.

Согласно значению Rf и окраске пятен в сравнении с аналогичными показателями СО, в извлечении хатьмы тюрингенской травы содержатся заменимые аминокислоты – α-аланин (Rf=0,42±0,05, фиолетовое) и β-аланин (Rf=0,41±0,06, фиолетовое), незаменимая аминокислота – метионин (Rf=0,33±0,05,

оранжевое) и условно заменимая – аспарагиновая кислота ($R_f=0,40\pm 0,04$, розовое) (рисунок 12).

Таблица 5 – Результаты определения аминокислотного состава хатьмы тюрингенской травы методом ТСХ в системе растворителей БУВ (4:1:1)

№ СО на хроматограмме	Наименование СО	Величина R_f СО	Величина R_f аминокислот извлечения
2	L-глутамин	$0,23\pm 0,02$	-
3	L-аргинин солянокислый	$0,14\pm 0,04$	-
4	DL- α -аланин	$0,42\pm 0,05$	$0,42\pm 0,05$
5	DL- β -аланин	$0,41\pm 0,06$	$0,41\pm 0,06$
6	DL-орнитин солянокислый	$0,17\pm 0,03$	-
7	L-аспарагин	$0,35\pm 0,05$	-
8	DL- β -фенил- α -аланин	$0,70\pm 0,05$	-
9	DL- β -фенил- β -аланин	$0,71\pm 0,02$	-
10	DL-триптофан	$0,68\pm 0,04$	-
11	DL-норлейцин	$0,66\pm 0,03$	-
12	DL-метионин	$0,33\pm 0,04$	$0,33\pm 0,05$
13	L-гистидин солянокислый	$0,16\pm 0,07$	-
14	L-глутаминовая кислота	$0,47\pm 0,05$	-
15	DL-серин	$0,37\pm 0,05$	-
16	DL-валин	$0,56\pm 0,06$	-
17	DL-норвалин	$0,59\pm 0,03$	-
18	аминоуксусная кислота	$0,38\pm 0,05$	-
19	DL-аспарагиновая кислота	$0,40\pm 0,04$	$0,40\pm 0,04$
20	L-цистеин	$0,08\pm 0,07$	-
21	DL-лизин солянокислый	$0,15\pm 0,06$	-

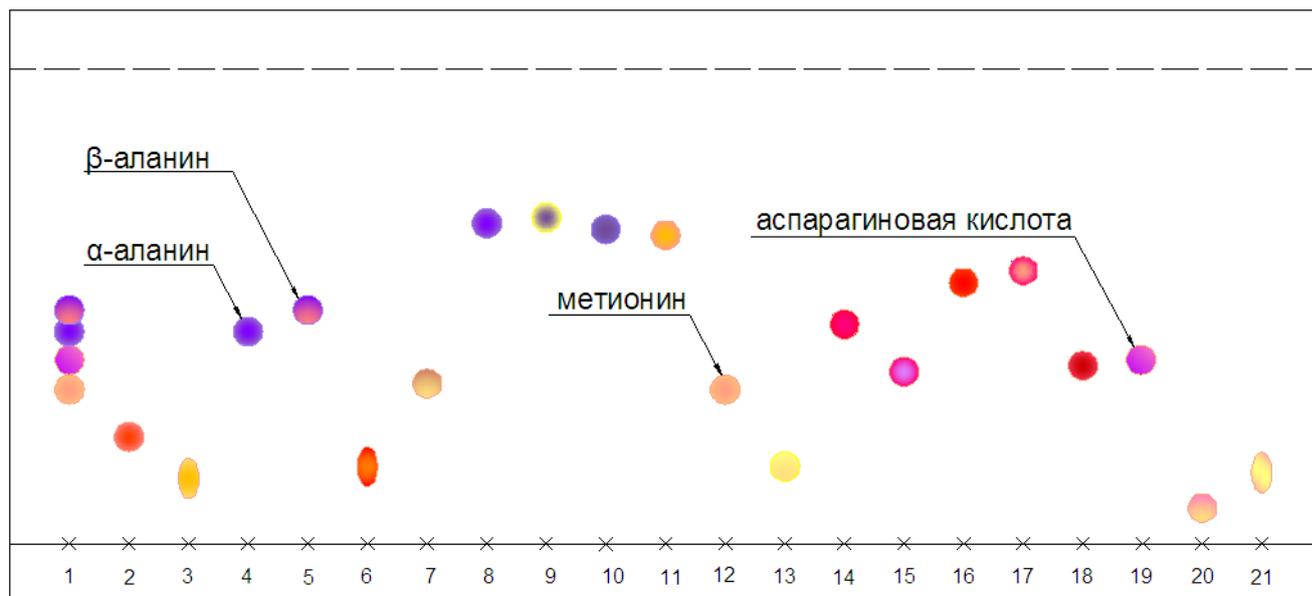


Рисунок 12 – Хроматограмма свободных аминокислот хатмы тюрингенской травы в системе растворителей БУВ (4:1:1): 1 – водное извлечение хатмы тюрингенской травы; СО аминокислот: 2 – глутамин, 3 – аргинин, 4 – α -аланин, 5 – β -аланин, 6 – орнитин, 7 – аспарагин, 8 – β -фенил- α -аланин, 9 – β -фенил- β -аланин, 10 – триптофан, 11 – норлейцин, 12 – метионин, 13 – гистидин, 14 – глутаминовая кислота, 15 – серин, 16 – валин, 17 – норвалин, 18 – аминоксусная кислота, 19 – аспарагиновая кислота, 20 – цистеин, 21 – лизин

Количественное определение свободных аминокислот проводили методом СФМ [91]. Оптическую плотность комплекса аминокислот с нингидрином в извлечении из хатмы тюрингенской травы измеряли при длине волны 571 нм. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора СО аланина. Содержание суммы свободных аминокислот в хатмы тюрингенской траве в пересчёте на аланин – $1,56 \pm 0,03\%$.

3.3 Органические кислоты

Разделение и идентификацию органических кислот водного извлечения хатмы тюрингенской травы проводили методом ТСХ в системе растворителей спирт этиловый 96% – аммиака раствор (16:4,5) [43].

В качестве СО органических кислот использовали 0,1% растворы винной, лимонной, молочной, щавелевой, яблочной, янтарной кислот (ЗАО «ВЕКТОН»). После хроматографирования пластинки обрабатывали метилового красного раствором спиртовым 0,2%. Наблюдали проявление органических кислот в виде тёмно-красных пятен на красном фоне (рисунок 13). Рассчитывали значения R_f (таблица 6).

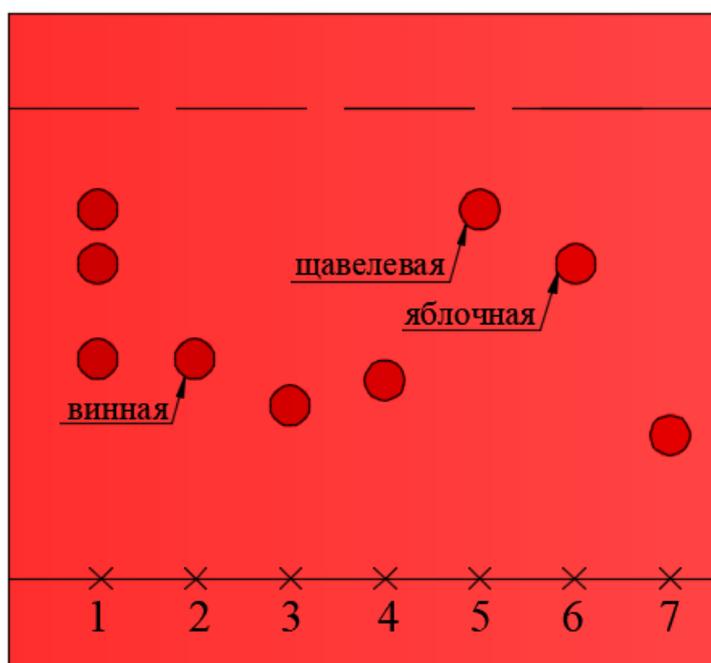


Рисунок 13 – Хроматограмма органических кислот хатьмы тюрингенской травы:
 1 – водное извлечение хатьмы тюрингенской травы; СО органических кислот:
 2 – винная кислота, 3 – лимонная кислота, 4 – молочная кислота, 5 – щавелевая кислота, 6 – яблочная кислота, 7 – янтарная кислота

В результате исследования обнаружены: винная кислота ($R_f=0,65\pm 0,05$), щавелевая кислота ($R_f=0,74\pm 0,05$), яблочная кислота ($R_f=0,70\pm 0,03$).

Для подтверждения результатов идентификации органических кислот водное извлечение хатьмы тюрингенской травы исследовали методом ВЭЖХ.

Таблица 6 – Результаты изучения органических кислот хатьмы тюрингенской травы методом ТСХ в системе растворителей спирт этиловый 96% – аммиака раствор (16:4,5)

Наименование СО	Величина Rf СО	Величина Rf органических кислот извлечения
Винная кислота	0,65±0,03	0,65±0,05
Лимонная кислота	0,49±0,05	-
Молочная кислота	0,62±0,05	-
Щавелевая кислота	0,74±0,06	0,74±0,05
Яблочная кислота	0,70±0,03	0,70±0,03
Янтарная кислота	0,43±0,04	-

Условия исследования методом ВЭЖХ описаны в главе 2, стр. 28-29.

На хроматограмме отметили появление пиков, соответствующих по времени удерживания щавелевой кислоте ($\tau=2,0$ мин) и винной кислоте ($\tau=2,3$ мин). Поскольку максимумы поглощения данных органических кислот находятся в пределах 180–190 нм, получить их спектры поглощения не удалось по причине ограниченности рабочего диапазона нашего прибора: от 190 нм до 360 нм.

По времени удерживания и спектральным характеристикам идентифицировали яблочную кислоту ($\tau=6,5$ мин; $\lambda_{\max}=210$ нм) (рисунок 14).

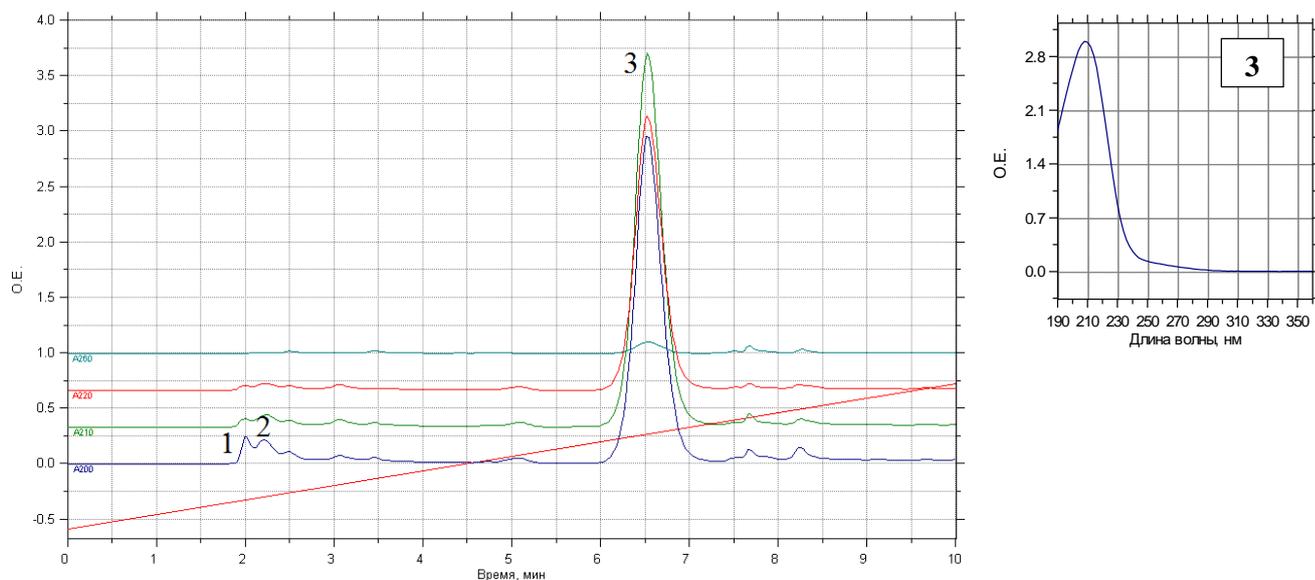


Рисунок 14 – Хроматограмма органических кислот хатмы тюрингенской травы: 1 – щавелевая кислота, 2 – винная кислота, 3 – яблочная кислота

Количественное определение органических кислот в хатмы тюрингенской траве проводили методом алкалиметрии (глава 2, стр. 29).

Содержание органических кислот в пересчёте на яблочную кислоту составило $1,77 \pm 0,10\%$.

3.4 Сапонины

Для обнаружения сапонинов готовили водное извлечение хатмы тюрингенской травы в соотношении «сырьё – экстрагент» – 1:10. Проводили реакции пенообразования, Лафона, реакции со свинца ацетата раствором, натрия нитрата раствором, холестерина раствором спиртовым [116]. Положительные результаты данных реакций свидетельствуют о наличии в сырье тритерпеновых сапонинов (таблица 2).

3.5 Флавоноиды и фенолокислоты

Для получения предварительной информации о составе флавоноидов хатмы тюрингенской травы проводили качественные реакции со спиртовым извлечением по общепринятым методикам [116] (глава 2, стр. 30). По результатам качественных

реакций сделали предположение о наличии флавоноидов групп флавонола, флавона, флаванона (таблица 2).

Далее разделение и идентификацию флавоноидов в спиртовом извлечении проводили методом ТСХ. Методика описана в главе 2, стр. 30.

В ходе исследования установили, что оптимальными разделяющими свойствами обладает система растворителей этилацетат – уксусная кислота – вода (70:10:20).

На хроматограмме обнаружили пятна жёлтого цвета с жёлто-зелёной флюоресценцией в УФ-свете, что характерно для флавоноидов группы флавона и флавонола: апигенин ($R_f=0,71\pm 0,04$), кверцетин ($R_f=0,93\pm 0,03$), кемпферол ($R_f=0,97\pm 0,05$), лютеолин ($R_f=0,65\pm 0,03$), рутин ($R_f=0,31\pm 0,03$).

Флавоноидам спиртового извлечения хатьмы тюрингенской травы соответствовало два пятна ($R_{f1}=0,14\pm 0,05$; $R_{f2}=0,89\pm 0,04$). По значению R_f идентифицировать данные соединения не удалось (рисунок 15, таблица 7).

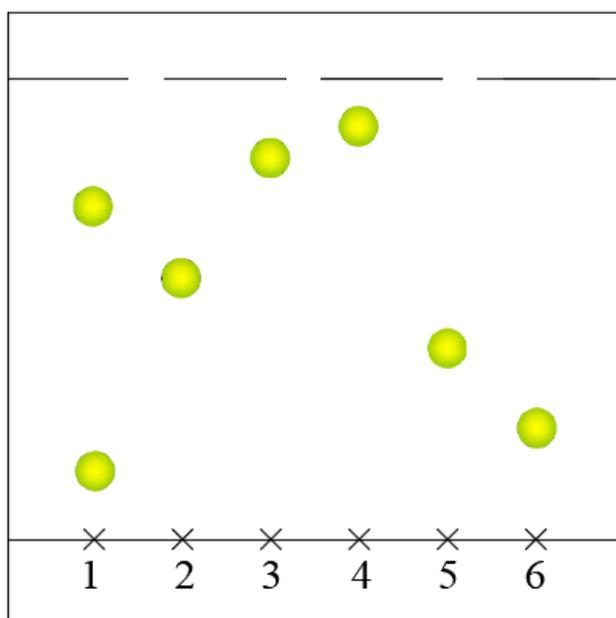


Рисунок 15 – Хроматограмма флавоноидов хатьмы тюрингенской травы в системе растворителей этилацетат – уксусная кислота – вода (70:10:20): 1 – спиртовое извлечение хатьмы тюрингенской травы; СО флавоноидов: 2 – апигенин, 3 – кверцетин, 4 – кемпферол, 5 – лютеолин, 6 – рутин

Таблица 7 – Результаты изучения флавоноидов хатьмы тюрингенской травы методом ТСХ в системе растворителей этилацетат – уксусная кислота – вода (70:10:20)

Наименование СО	Величина Rf СО	Величина Rf флавоноидов извлечения
Рутин	0,31±0,03	-
Лютеолин	0,65±0,03	-
Апигенин	0,71±0,04	-
Кверцетин	0,93±0,03	-
Кемпферол	0,97±0,05	-
-	-	0,14±0,05
-	-	0,89±0,04

Далее извлечения исследовали методом ВЭЖХ, условия хроматографирования представлены в главе 2, стр. 31.

На хроматограмме зарегистрировали 14 пиков фенольных соединений (приложение 1). Пик 1 – производное хлорогеновой кислоты ($\tau=9,6$ мин; $\lambda_{\max}=213$; 235нм; 305нм; 330 нм), пик 2 – флавоноид группы флавона ($\tau=11,5$ мин; $\lambda_{\max}=202$; 268; 330 нм), пики 3-5 – соединения кумаринового ряда ($\tau=12,0$ мин; $\lambda_{\max}=198$; 215нм; 270; 328 нм; $\tau=12,5$ мин; $\lambda_{\max}=196$; 213нм; 275; 298нм; 330 нм; $\tau=13,5$ мин; $\lambda_{\max}=198$; 212нм; 270; 328 нм), пик 6 – производное катехина ($\tau=14,8$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 270 нм), пики 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), пики 11-12 – производные катехина ($\tau=18,0$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 275 нм; $\tau=18,3$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 270 нм), пики 13-14 – флавоноиды группы флавона ($\tau=21,0$ мин; $\lambda_{\max}=222$ нм; 268; 315 нм; $\tau=21,5$ мин; $\lambda_{\max}=268$; 310 нм) (таблица 8).

Таблица 8 – Результаты исследований состава фенольных соединений в спиртовом извлечении хатмы тюрингенской травы

№ пика	Время удерживания, мин	Максимум поглощения, нм	Соединение
1	9,6	213; 235пл; 305пл; 330	Производное хлорогеновой кислоты
2	11,5	202; 268; 330	Флавоноид группы флавона
3	12,0	198; 215пл; 270; 328	Соединения кумаринового ряда
4	12,5	196; 213пл; 275; 298пл; 330	
5	13,5	198; 212пл; 270; 328	
6	14,8	200; 270	Производное катехина
7	15,3	200; 270; 335	Флавоноиды группы флавона
8	15,7	200; 270; 330	
9	16,5	200; 270; 330	
10	16,7	200; 268; 335	
11	18,0	200; 275	Производные катехина
12	18,3	200; 270	
13	21,0	222пл; 268; 315	Флавоноиды группы флавона
14	21,5	268; 310	

Для разделения фенольных соединений на фракции проводили последовательную обработку спиртового извлечения эфиром диэтиловым, этилацетатом, спиртом н-бутиловым [108]. Схема разделения представлена на рисунке 16.

Полученные фракции исследовали методом ВЭЖХ (глава 2, стр. 31). Соединения идентифицировали по временам удерживания и спектральным

характеристикам в сравнении с аналогичными показателями СО (ООО «Сигма-Алдрич Рус»). Анализировали литературные данные [81, 142, 158].



Рисунок 16 – Схема разделения фенольных соединений хатьмы тюрингенской травы на фракции

В ходе исследования на хроматограммах эфирной и этилацетатной фракций зарегистрировано по 7 пиков, бутанольной – 8 пиков (приложения 2–4).

Соединения эфирной фракции: 1 ($\tau=11,9$ мин; $\lambda_{\max}=216$; 235пл; 300пл; 325 нм) – кофейная кислота; 2 ($\tau=14,4$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 225; 310 нм) – производное кумаровой кислоты; 3 ($\tau=15,5$ мин; $\lambda_{\max}=218$; 235; 300пл; 325 нм) – производное феруловой кислоты; 4 ($\tau=20,8$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 220пл; 267; 320 нм) – агликон триметоксифлавона; 5 ($\tau=21,3$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 264; 320 нм) – агликон флавона;

6 ($\tau=27,2$ мин; $\lambda_{\max}=268$; 310пл нм) – производное изофлавона; 7 ($\tau=29,2$ мин; $\lambda_{\max}=222$; 318 нм) – производное халкона (таблица 9) [107, 108].

Таблица 9 – Результаты исследований фенольных соединений эфирной фракции спиртового извлечения хатьмы тюрингенской травы

№ пика	Время удерживания, мин	Максимум поглощения, нм	Соединение
1	11,9	216; 235пл; 300пл; 325	Кофейная кислота
2	14,4	200; 225; 310	Производное кумаровой кислоты
3	15,5	218; 235; 300пл; 325	Производное феруловой кислоты
4	20,8	200; 220пл; 267; 320	Агликон триметоксифлавона
5	21,3	200; 264; 320	Агликон флавона
6	27,2	268; 310пл	Производное изофлавона
7	29,2	222; 318	Производное халкона

Соединения этилацетатной фракции: 1 ($\tau=11,9$ мин; $\lambda_{\max}=216$; 235пл; 300пл; 325 нм) – кофейная кислота; 2 ($\tau=14,5$ мин; $\lambda_{\max}=218$; 280 нм) – производное галловой кислоты; 3 ($\tau=15,5$ мин; $\lambda_{\max}=218$; 235; 300пл; 325 нм) – производное феруловой кислоты; 4 ($\tau=16,5$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 267; 350 нм) – флавоноид группы флавона; 5 ($\tau=18,2$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 220пл; 270; 350 нм) – флавоноид группы флавона; 6 ($\tau=20,8$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 220пл; 267; 320 нм) – агликон триметоксифлавона; 7 ($\tau=21,3$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 267; 320 нм) – агликон флавона (таблица 10) [108].

Таблица 10 – Результаты исследований фенольных соединений этилацетатной фракции спиртового извлечения хатьмы тюрингенской травы

№ пика	Время удерживания, мин	Максимум поглощения, нм	Соединение
1	11,9	216; 235пл; 300пл; 325	Кофейная кислота
2	14,5	218; 280	Производное галловой кислоты
3	15,5	218; 235; 300пл; 325	Производное феруловой кислоты
4	16,5	200; 267; 350	Флавоноиды группы флавона
5	18,2	200; 220пл; 270; 350	
6	20,8	200; 220пл; 267; 320	Агликон триметоксифлавона
7	21,3	200; 267; 320	Агликон флавона

В эфирной и этилацетатной фракциях обнаружены соединения с временами удерживания 20,8 мин и 21,3 мин и спектрами поглощения с $\lambda_{\max}=200; 220\text{пл}; 267; 320$ нм и $\lambda_{\max}=200; 267; 320$ нм соответственно. По данным характеристикам вещества, возможно, являются агликонами флавоноидов.

Соединения бутанольной фракции: 1 ($\tau=11,5$ мин; $\lambda_{\max}=205; 279$ нм) – производное катехина; 2 ($\tau=12,4$ мин; $\lambda_{\max}=200; 220\text{пл}; 270; 335$ нм) – производное апигенина; 3 ($\tau=13,0$ мин; $\lambda_{\max}=200; 269$ нм) – производное катехина; 4 ($\tau=13,5$ мин; $\lambda_{\max}=205; 275$ нм) – производное катехина; 5 ($\tau=17,3$ мин; $\lambda_{\max}=203; 272$ нм) – производное катехина; 6 ($\tau=17,6$ мин; $\lambda_{\max}=203; 276$ нм) – производное катехина; 7 ($\tau=20,5$ мин; $\lambda_{\max}=200\text{пл}; 215\text{пл}; 268; 315$ нм) – флавоноид группы флавона; 8 ($\tau=21,1$ мин; $\lambda_{\max}=200; 270$ нм) – производное катехина (таблица 11) [108].

Таблица 11 – Результаты исследований состава бутанольной фракции хатьмы тюрингенской травы

№ пика	Время удерживания, мин	Максимум поглощения, нм	Соединение
1	11,5	205; 279	Производное катехина
2	12,4	200; 220пл; 270; 335	Производное апигенина
3	13,0	200; 269	Производные катехина
4	13,5	205; 275	
5	17,3	203; 272	
6	17,6	203; 276	
7	20,5	200пл; 215пл; 268; 315	Флавоноид группы флавона
8	21,1	200; 270	Производное катехина

Поскольку фенольные соединения находятся в виде гликозидов, проводили кислотный гидролиз. В качестве гидролитического агента использовали серной кислоты раствор 10% [48]. Затем осуществляли жидкость-жидкостную экстракцию продуктов гидролиза, применяя эфир диэтиловый. Эфирную фракцию отделяли и упаривали, сухой остаток растворяли в спирте этиловом 70% (реэкстракт) [106]. Реэкстракт гидролизата исследовали методом ВЭЖХ (глава 2, стр. 31). На хроматограмме зарегистрировали 6 пиков (приложение 5).

В процессе кислотного гидролиза выделены: 1 ($\tau=3,4$ мин; $\lambda_{\max}=210$ нм) – соединение группы лигнина; 2 ($\tau=10,3$ мин; $\lambda_{\max}=212$; 235пл; 305пл; 330 нм) – хлорогеновая кислота; 3 ($\tau=12,6$ мин; $\lambda_{\max}=215$; 240; 305пл; 330 нм) – производное феруловой кислоты; 4 ($\tau=13,7$ мин; $\lambda_{\max}=210$ нм) – соединение группы лигнина; 5 ($\tau=16,4$ мин; $\lambda_{\max}=258$; 355 нм) – агликон флавонола; 6 ($\tau=20,6$ мин; $\lambda_{\max}=220$ пл; 267; 320 нм) – агликон триметоксифлавона (таблица 12) [106].

Таблица 12 – Результаты исследований состава продуктов кислотного гидролиза хатьмы тюрингенской травы

№ пика	Время удерживания, мин	Максимум поглощения, нм	Соединение
1	3,4	210	Соединение группы лигнина
2	10,3	212; 235пл; 305пл; 330	Хлорогеновая кислота
3	12,3	215; 240; 305пл; 330	Производное феруловой кислоты
4	13,7	210	Соединение группы лигнина
5	16,4	258; 355	Агликон флавонола
6	20,6	220пл; 267; 320	Агликон триметоксифлавонона

Таким образом, в реэкстракте гидролизата спиртового извлечения хатьмы тюрингенской травы обнаружены фенолоксиды, агликоны флавоноидов групп флавонона и флавонола, а также лигниноподобные соединения, что согласуется с информацией литературных источников о наличии лигнина в надземной части некоторых растений семейства Мальвовых [42].

Определение количественного содержания флавоноидов в хатьме тюрингенской траве

Количественное содержание суммы флавоноидов в хатьме тюрингенской траве определяли методом дифференциальной спектрофотометрии по методике ГФ XIII издания (ФС.2.5.0015.15) [19].

Оптическую плотность испытуемых растворов и раствора стандартного образца рутина («Sigma-Aldrich», каталожный номер R5143) измеряли на спектрофотометре «Schimadzu UV-mini 1240» при длине волны 410 нм, что

соответствует максимуму поглощения комплексного соединения рутина с алюминия хлоридом [104, 110].

Содержание суммы флавоноидов определяли в пересчёте на рутин. Статистическую обработку результатов проводили в соответствии с требованиями ГФ XIII издания (ФС.1.1.0013.15) [17].

Сумма флавоноидов в хатьмы тюрингенской траве в пересчёте на рутин составляет $1,28 \pm 0,04\%$.

Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в хатьмы тюрингенской траве

Для оценки качества сырья нами предложено определение количественного содержания суммы флавоноидов (ФС.2.5.0015.15) [19]. В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 70%. Необходимо провести валидацию методики в соответствии с ОФС.1.1.0012.15 [17].

Оценивали такие параметры, как специфичность, линейность, правильность, сходимость (таблица 13).

Таблица 13 – Критерии приемлемости валидационных характеристик методики количественного определения суммы флавоноидов в хатьмы тюрингенской траве

Валидационная характеристика	Критерий приемлемости
Специфичность	Характерный максимум поглощения при длине волны 410 нм
Линейность	Коэффициент корреляции не менее 0,9999
Правильность	Границы открываемости 93–99%
Сходимость (повторяемость)	RSD не более 3%

Для определения специфичности готовили спиртовое извлечение хатьмы тюрингенской травы и раствор СО рутина. Проводили реакцию

комплексообразования с алюминия хлоридом. Полученные растворы исследовали методом дифференциальной СФМ. Сравнивали спектральные характеристики исследуемого и стандартного образцов.

В ходе определения линейности в мерные колбы вместимостью 25 мл помещали аликвоты спиртового извлечения хатьмы тюрингенской травы объёмом 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5 мл, прибавляли по 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2%. Доводили объём раствора спиртом этиловым 96% до метки, перемешивали. Далее поступали так, как описано в ФС.2.5.0015.15.

Экспериментальные данные обрабатывали методом наименьших квадратов. Составляли уравнение регрессии, рассчитывали коэффициент корреляции (r) [110].

Для оценки правильности методики из спиртового извлечения хатьмы тюрингенской травы готовили разведения трёх уровней: 1:1; 1:1,5; 1:2. Определяли количественное содержание суммы флавоноидов в соответствии с валидируемой методикой. Рассчитывали открываемость (R , %) и относительное стандартное отклонение (RSD , %) [110].

Повторяемость (сходимость) методики проверяли путём приготовления спиртовых извлечений хатьмы тюрингенской травы из шести навесок сырья. Определяли количественное содержание суммы флавоноидов в исследуемых образцах в соответствии с тестируемой методикой. Определение проводили в одной лаборатории, в одинаковых условиях в короткий промежуток времени.

Рассчитывали относительное стандартное отклонение (RSD , %) [110].

В ходе определения специфичности снимали дифференциальные спектры продуктов реакции флавоноидов исследуемого сырья и стандартного образца рутина с алюминия хлоридом. Полученные спектры имеют максимумы поглощения при длине волны 410 нм [110]. Другие группы фенольных соединений не дают характерных максимумов в данной области, что свидетельствует о достаточной специфичности методики [81].

Для оценки линейности готовили спиртовое извлечение хатьмы тюрингенской травы, как описано выше. Отбирали аликвоты извлечения объёмом

0,5 мл; 0,75 мл; 1,0 мл; 1,25 мл; 1,5 мл. Определяли количественное содержание суммы флавоноидов в полученных растворах в соответствии с валидируемой методикой.

Строили график зависимости оптической плотности растворов от количественного содержания суммы флавоноидов (рисунок 17).

Уравнение графика имеет следующий вид: $y=0,0932x+0,0001$. Значение коэффициента корреляции стремится к единице, что свидетельствует о наличии линейной зависимости оптической плотности от концентрации исследуемых растворов в пределах аналитической области методики [110].

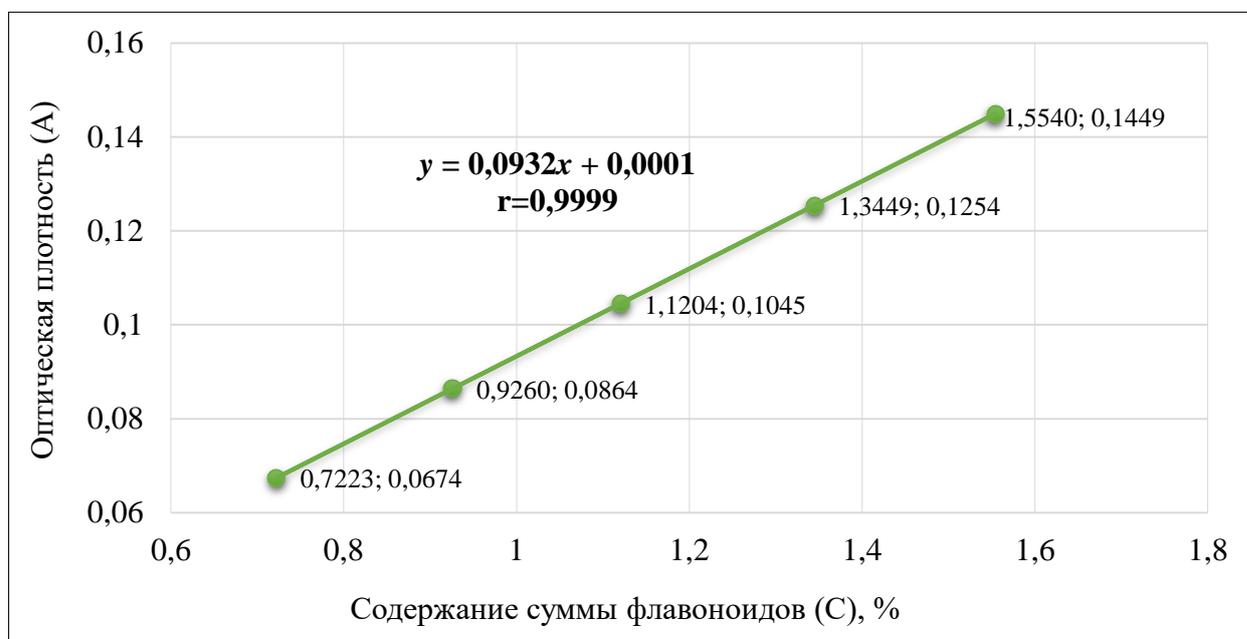


Рисунок 17 – График зависимости оптической плотности от содержания суммы флавоноидов в извлечении хатьмы тюрингенской травы

Для оценки правильности методики из спиртового извлечения хатьмы тюрингенской травы готовили разведения, отбирая аликвоты объёмом 1,0 мл; 1,5 мл; 2,0 мл. На каждом уровне концентраций определяли количественное содержание суммы флавоноидов в трёх пробах в соответствии с валидируемой методикой (таблица 14).

Таблица 14 – Результаты оценки правильности методики количественного определения содержания суммы флавоноидов в хатмы тюрингенской траве

№ п/п	Разведение модельной смеси	Расчётное содержание суммы флавоноидов, %	Полученное содержание суммы флавоноидов, %	Открываемость, %	Метрологические характеристики
1	1:1	1,12	1,08	96,43	$\bar{x}=97,24\%$ $s=1,83$ $RSD=1,88\%$
2			1,10	98,21	
3			1,07	95,54	
1	1:1,5	1,68	1,57	93,45	
2			1,66	98,80	
3			1,64	97,62	
1	1:2	2,24	2,21	98,66	
2			2,22	99,10	
3			2,18	97,32	

Границы открываемости методики находятся в пределах 93,45–99,10%, относительное стандартное отклонение составляет 1,88%, что свидетельствует о высокой степени соответствия между значением расчётного и полученного содержания суммы флавоноидов в исследуемых образцах [110].

Оценку сходимости (повторяемости) проводили, измеряя оптическую плотность извлечений хатмы тюрингенской травы, приготовленных из шести навесок, в соответствии с валидируемой методикой (таблица 15).

Таблица 15 – Результаты оценки сходимости методики количественного определения содержания суммы флавоноидов в хатьмы тюрингенской траве

Навеска, г	Оптическая плотность	Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин, %	Метрологические характеристики
1,0028	0,1012	1,09	$P=95\%$, $n=6$, $f=2,57$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 1,12 \pm 0,04\%$ $s=0,02$ $\bar{\varepsilon} = 2,04\%$ $RSD=1,79\% < 3\%$
1,0036	0,1068	1,15	
1,0043	0,1027	1,10	
1,0016	0,1042	1,12	
1,0031	0,1056	1,14	
1,0012	0,1035	1,12	

Из таблицы 15 следует, что относительное стандартное отклонение результатов не превышает 3%. Валидируемая методика удовлетворяет требованиям по сходимости [110].

Таким образом, методика специфична, имеет линейный характер. Метрологические характеристики параметров правильность и сходимость не превышают валидационные критерии. Методика пригодна для количественного определения суммы флавоноидов хатьмы тюрингенской травы [110].

Определение количественного содержания фенолокислот в хатьмы тюрингенской траве

Количественное определение суммы фенолокислот хатьмы тюрингенской травы проводили методом спектрофотометрии при длине волны 325 нм (глава 2, стр. 33). Расчёты производили, основываясь на принципе аддитивности, использовали найденное ранее значение суммы флавоноидов.

Установили, что хатьмы тюрингенской трава содержит $3,72 \pm 0,07\%$ суммы фенолокислот в пересчёте на хлорогеновую кислоту.

3.6 Дубильные вещества

Для проведения качественных реакций на дубильные вещества из хатьмы тюрингенской травы получили водное извлечение (соотношение «сырьё – экстрагент» – 1:10). Проводили реакции по общепринятым методикам с железа (III) аммония сульфата раствором 1,0% (чёрно-зелёное окрашивание), хинина гидрохлорида раствором 1% (образование аморфного осадка), желатина раствором 1% (образование белой мути) [101, 116]. Результаты реакций позволили предположить, что в исследуемых извлечениях содержатся конденсированные дубильные вещества (таблица 2).

В ходе анализа фенольных соединений этилацетатной фракции были обнаружены производные галловой кислоты, бутанольной фракции – производные катехина, что подтверждает присутствие в сырье гидролизуемых и конденсированных дубильных веществ (приложения 3–4).

Определение количественного содержания дубильных веществ в сырье проводили спектрофотометрическим методом [95, 100, 101].

Выбор метода исследования связан с его селективностью для анализа дубильных веществ. Перманганатометрическое титрование по методике, рекомендованной ГФ XIII издания, ведёт к завышенным результатам, поскольку многие соединения фенольного комплекса подвергаются окислению калия перманганата раствором [95, 100, 101].

При исследовании извлечений хатьмы тюрингенской травы содержание дубильных веществ в пересчёте на танин составило $1,81 \pm 0,04\%$.

3.7 Кумарины

Для обнаружения кумаринов готовили спиртовое извлечение в соотношении «сырьё – экстрагент» – 1:10 при нагревании с обратным холодильником в течение 15 мин. После охлаждения извлечение фильтровали [67].

В УФ-свете (254 нм, 365 нм) наблюдали ярко-голубую флюоресценцию, что характерно для кумаринов – производных умбеллиферона [116].

Далее проводили качественные реакции на кумарины: лактонную пробу (жёлтое окрашивание, помутнение раствора), реакцию образования азокрасителя (оранжевое окрашивание), реакцию сублимации (образование маслянистого сублимата оранжевого цвета; ярко-оранжевое окрашивание при взаимодействии сублимата с раствором щёлочи) [67]. Отмечали положительные результаты реакций (таблица 2).

Количественное определение суммы кумаринов проводили методом спектрофотометрии по методике, описанной в главе 2, стр. 34.

Суммарное содержание кумаринов в пересчёте на кумарин в хатьмы тюрингенской траве составило $0,20 \pm 0,01\%$ [67].

Таблица 16 – Количественное содержание различных групп БАС в хатьмы тюрингенской траве

Группа БАС	Метрологические характеристики, P=95%, n=5, f=2,78		
	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}, \%$	s	$\bar{\varepsilon}, \%$
Водорастворимые полисахариды	7,60±0,18	0,10	1,35
Пектиновые вещества	3,23±0,17	0,10	3,07
Гемицеллюлоза А	2,12±0,14	0,08	3,76
Гемицеллюлоза Б	1,31±0,08	0,05	3,55
Свободные аминокислоты	1,56±0,03	0,02	1,92
Органические кислоты	1,77±0,10	0,06	3,22
Флавоноиды	1,28±0,04	0,03	3,12
Фенолокислоты	3,72±0,07	0,04	1,12
Дубильные вещества	1,81±0,04	0,03	1,38
Кумарины	0,20±0,01	0,01	3,54

Таким образом, хатьмы тюрингенской трава содержит: 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%; фенолоксиды (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% (таблица 16).

3.8 Изучение фенольных соединений хатьмы тюрингенской стеблей, листьев, цветков

Хатьма тюрингенская является малоизученным растением. Необходимо провести сравнительный анализ состава фенольных соединений в различных органах: стеблях, листьях, цветках.

Получали извлечение стеблей, листьев, цветков. В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 70%. Соотношение «сырьё – экстрагент» – 1:10. Время экстракции – 30 мин при нагревании на водяной бане с обратным холодильником. Извлечения исследовали методом ВЭЖХ в условиях, описанных в главе 2, стр. 31.

Соединения идентифицировали по временам удерживания (τ) и спектральным характеристикам (λ_{\max}) путём сравнения с аналогичными показателями СО и литературными данными [81, 142, 158].

На хроматограмме спиртового извлечения стеблей зарегистрировали 7 пиков (приложение б). Идентифицированы соединения: 1 ($\tau=10,6$ мин; $\lambda_{\max}=218$; 235пл; 305пл; 330 нм) – хлорогеновая кислота; 2 ($\tau=12,3$ мин; $\lambda_{\max}=206$; 270; 327 нм) – флавоноид группы флавона; 3 ($\tau=12,6$ мин; $\lambda_{\max}=205$; 220пл; 270; 328 нм) – соединение кумариновой природы; 4 ($\tau=13,6$ мин; $\lambda_{\max}=218$; 235пл; 330 нм) – производное кофейной кислоты; 5 ($\tau=15,1$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 275; 325 нм) – производное катехина; 6 ($\tau=16,2$ мин; $\lambda_{\max}=200$; 295пл; 330 нм) – производное

умбеллиферона; 7 ($\tau=16,7$ мин; $\lambda_{\max}=202; 275; 345$ нм) – флавоноид группы флавона (таблица 17) [102].

Таблица 17 – Результаты исследований состава фенольных соединений хатьмы тюрингенской стеблей

№ пика	Время удерживания, мин	Максимум поглощения, нм	Соединение
1	10,6	218; 235пл; 305пл; 330	Хлорогеновая кислота
2	12,3	206; 270; 327	Флавоноид группы флавона
3	12,6	205; 220пл; 270; 328	Соединение кумаринового ряда
4	13,6	218; 235пл; 330	Производное кофейной кислоты
5	15,1	200; 275; 325	Производное катехина
6	16,2	200; 295пл; 330	Производное умбеллиферона
7	16,7	202; 275; 345	Флавоноид группы флавона

На хроматограмме спиртового извлечения листьев – 7 пиков (приложение 7). Соединения идентифицированы как 1 ($\tau=9,6$ мин; $\lambda_{\max}=212; 235$ пл; 305пл; 330 нм) – производное хлорогеновой кислоты; 2 ($\tau=10,7$ мин; $\lambda_{\max}=204; 265; 355$ нм) – производное кверцетина; 3 ($\tau=11,9$ мин; $\lambda_{\max}=270; 325$ нм) – производное кемпферола; 4 ($\tau=12,4$ мин; $\lambda_{\max}=218; 240; 300$ пл; 330 нм) – производное феруловой кислоты; 5 ($\tau=13,1$ мин; $\lambda_{\max}=218; 240; 300$ пл; 330 нм) – производное феруловой кислоты; 6 ($\tau=16,2$ мин; $\lambda_{\max}=204; 264; 355$ нм) – кверцитрин; 7 ($\tau=19,5$ мин; $\lambda_{\max}=268; 315$ нм) – флавоноид группы флавона (таблица 18) [102].

Таблица 18 – Результаты исследований состава фенольных соединений хатьмы тюрингенской листьев

№ пика	Время удерживания, мин	Максимум поглощения, нм	Соединение
1	9,6	212; 235пл; 305пл; 330	Производное хлорогеновой кислоты
2	10,7	204; 265; 355	Производное кверцетина
3	11,9	270; 325	Производное кемпферола
4	12,4	218; 240; 300пл; 330	Производные феруловой кислоты
5	13,1	218; 240; 300пл; 330	
6	16,2	204; 264; 355	Кверцитрин
7	19,5	268; 315	Флавоноид группы флавона

На хроматограмме спиртового извлечения цветков обнаружили 9 пиков (приложение 8). Пики принадлежат следующим соединениям: 1 ($\tau=9,5$ мин; $\lambda_{\max}=214; 235\text{пл}; 305\text{пл}; 330$ нм) – производное хлорогеновой кислоты, 2 ($\tau=10,3$ мин; $\lambda_{\max}=240; 330$ нм) – фенологликозид; 3 ($\tau=11,6$ мин; $\lambda_{\max}=230; 320$ нм) – фенологликозид; 4 ($\tau=12,2$ мин; $\lambda_{\max}=230; 320$ нм) – фенологликозид; 5 ($\tau=13,0$ мин; $\lambda_{\max}=215; 330$ нм) – фенологликозид; 6 ($\tau=14,1$ мин; $\lambda_{\max}=200\text{пл}; 268; 318$ нм) – производное кемпферола; 7 ($\tau=15,0$ мин; $\lambda_{\max}=200\text{пл}; 265; 315$ нм) – производное кемпферола; 8 ($\tau=21,0$ мин; $\lambda_{\max}=268; 312$ нм) – флавоноид группы флавона; 9 ($\tau=21,5$ мин; $\lambda_{\max}=202\text{пл}; 268; 310$ нм) – производное кемпферола (таблица 19) [102].

Таблица 19 – Результаты исследований состава фенольных соединений хатьмы тюрингенской цветков

№ пика	Время удерживания, мин	Максимум поглощения, нм	Соединение
1	9,5	214; 235пл; 305пл; 330	Производное хлорогеновой кислоты
2	10,3	240; 330	Фенологликозиды
3	11,6	230; 320	
4	12,2	230; 320	
5	13,0	215; 330	
6	14,1	200пл; 268; 318	
7	15,0	200пл; 265; 315	
8	21,0	268; 312	Флавоноид группы флавона
9	21,5	202пл; 268; 310	Производное кемпферола

Одной из групп флавоноидов, также интересной для изучения, являются **антоцианы**. Структура антоцианов предполагает высокую биологическую (антиоксидантную, антимикробную) активность [134, 139, 141]. В процессе сушки окраска венчика хатьмы тюрингенской цветков меняется с розовой на сине-фиолетовую, что позволяет говорить о возможном присутствии данной группы соединений в исследуемом сырье [140].

Для подтверждения наличия антоцианов в хатьмы тюрингенской цветках проводили качественные реакции с хлористоводородной кислотой разведённой 10%; натрия гидроксида раствором 10%; щавелевой кислоты раствором 10% в смеси ацетон-вода (1:1); свинца (II) ацетата основного раствором [75, 81, 96].

Получали извлечение цветков в соотношении «сырьё – экстрагент» – 1:10. В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 50%. Экстракцию проводили в течение 30 мин при нагревании на водяной бане с обратным холодильником.

При проведении качественных реакций на антоцианы наблюдали следующие эффекты: с хлористоводородной кислотой разведённой 10% – ярко-красное окрашивание; с натрия гидроксида раствором 10% – сине-зелёное окрашивание; со щавелевой кислоты раствором 10% в смеси ацетон-вода (1:1) – ярко-красное окрашивание; свинца (II) ацетата основного раствором – жёлто-зелёный осадок. Положительные аналитические сигналы свидетельствуют о наличии антоцианов в хатьмы тюрингенской цветках [66].

Количественное содержание суммы антоцианов определяли методом спектрофотометрии по методике ГФ XIII издания [19].

Около 1,0 г (точная навеска) измельчённых цветков помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл и прибавляли 30 мл спирта этилового 96%, содержащего хлористоводородную кислоту (1:100). Экстракцию проводили при перемешивании в течение 120 мин в условиях комнатной температуры. Извлечение фильтровали в склянку тёмного стекла. 1,0 мл фильтрата помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, объём доводили до метки тем же растворителем (исследуемый раствор).

Оптическую плотность исследуемого раствора измеряли на спектрофотометре «Schimadzu UV-mini 1240» при характерном для антоцианов диапазоне длин волн 510–540 нм. Толщина рабочего слоя кюветы – 1 см. В качестве раствора сравнения использовали спирт этиловый 96%, содержащий хлористоводородную кислоту.

Содержание суммы антоцианов вычисляли в пересчёте на цианидина-3-О-глюкозид. Использовали удельный показатель поглощения цианидина-3-О-глюкозида при длине волны 534 нм, равный 100. Установили, что хатьмы тюрингенской цветки содержат $0,24 \pm 0,01\%$ антоцианов в пересчёте на цианидина-3-О-глюкозид ($s=0,01$; $\bar{\varepsilon}=4,17\%$) [66].

Таким образом, в исследуемых органах хатьмы тюрингенской обнаружены фенолокислоты. В траве, стеблях, листьях и цветках – флавоноиды. Флавоноиды травы и стеблей представлены производными катехина и флавона, листьев и

цветков – флавоноидами групп флавонола (производные кверцетина, кемпферола) и флавона. В траве и стеблях содержатся соединения кумаринового ряда; в цветках – фенологликозиды, антоцианы (таблица 20) [102].

Таблица 20 – Результаты изучения фенольных соединений хатьмы тюрингенской травы, стеблей, листьев, цветков

Трава	Стебли	Листья	Цветки
Флавоноиды группы флавона	Флавоноиды группы флавона	Флавоноиды группы флавона	Флавоноиды группы флавона
-	-	Флавоноиды группы флавонола	Флавоноиды группы флавонола
Производные катехина	Производные катехина	-	-
-	-	-	Антоцианы
Производное хлорогеновой кислоты	Хлорогеновая кислота	Производное хлорогеновой кислоты	Производное хлорогеновой кислоты
-	Производное кофейной кислоты	-	-
-	-	Производные феруловой кислоты	-
Кумарины	Кумарины	-	-
-	-	-	Фенологликозиды

При сравнении качественного состава фенольных соединений различных органов установлено, что хатьмы тюрингенской трава содержит комплекс фенольных соединений, обнаруженных во всех частях растения, поэтому в качестве ЛРС целесообразно использовать траву.

3.9 Фитохимическое исследование хатьмы тюрингенской корней

Фармакопейным сырьём алтея лекарственного и алтея армянского являются корни [19]. ЛРС алтея содержит полисахариды и используется как отхаркивающее средство. Поскольку хатьма тюрингенская также относится к семейству Мальвовых, целесообразно провести фитохимическое изучение корней данного растения.

В ходе исследования получали водные и водно-спиртовые извлечения хатьмы тюрингенской корней. Проводили качественные реакции на полисахариды, аминокислоты, сапонины, дубильные вещества, флавоноиды, кумарины по общепринятым методикам [116]. Результаты реакций представлены в таблице 21.

На основании качественных реакций установили, что хатьмы тюрингенской корни содержат моносахариды, полисахариды (слизи, крахмал), аминокислоты, тритерпеновые сапонины, конденсированные дубильные вещества, флавоноиды, кумарины [71].

Полисахаридный комплекс сырья исследовали методом ТСХ. Для этого проводили гидролиз полисахаридов. В качестве гидролитического агента использовали хлористоводородную кислоту концентрированную. Гидролизат нейтрализовали. Исследуемые образцы и стандартные образцы сахаров (арабиноза, глюкоза, галактоза, ксилоза, фруктоза) хроматографировали в системе растворителей БУВ 4:1:5 [11].

После хроматографирования пластинки высушивали на воздухе. Обработывали натрия карбоната раствором 20% и пикриновой кислоты раствором 1%. Нагревали в сушильном шкафу [105]. Наблюдали появление оранжевых пятен на жёлтом фоне (рисунок 18). Рассчитывали значения R_f (таблица 22).

Из таблицы 22 следует, что моносахариды хатьмы тюрингенской корней представлены арабинозой ($R_f=0,39\pm 0,05$), галактозой ($R_f=0,33\pm 0,05$), глюкозой ($R_f=0,36\pm 0,04$).

Таблица 21 – Результаты качественных реакций на группы БАС хатьмы тюрингенской корней [71]

Наименование реакции или реактива	Результаты реакций
<i>Углеводный состав</i>	
Реактив Фелинга	Кирпично-красный осадок (восстанавливающие сахара)
Серебра нитрата аммиачный раствор 2,5% (реакция серебряного зеркала)	Бурый осадок (восстанавливающие сахара)
α -нафтола спиртовой раствор 20%, серная кислота концентрированная (реакция Молиша)	Образование кольца красного цвета на границе раздела двух фаз (моносахариды, дисахариды, полисахариды)
Реакция осаждения спиртом этиловым 96%	Обильный слизеобразный осадок (водорастворимые полисахариды)
Натрия гидроксида раствор 30%	Ярко-жёлтое окрашивание (слизи)
Люголя раствор	Сине-фиолетовое окрашивание (крахмал)
<i>Аминокислоты</i>	
Нингидрина раствор 0,25%	Бордовое окрашивание
<i>Сапонины</i>	
Реакция пенообразования	Образование небольшой пены
Реакция осаждения со свинца ацетата раствором	Аморфный осадок жёлтого цвета
Реакция Лафона	Слабое сине-зелёное окрашивание
Натрия нитрата раствор 10%, серная кислота концентрированная	Розовое окрашивание
<i>Дубильные вещества</i>	
Железа (III) аммония сульфата раствор 1,0%	Чёрно-зелёное окрашивание
Хинина гидрохлорида раствор 1%	Образование аморфного осадка
Желатина раствор 1%	Образование белой мути
<i>Флавоноиды</i>	
Цианидиновая проба	Оранжево-красное окрашивание
Борно-лимонная реакция	Отсутствие окрашивания
Аммиака раствор 10%	Жёлтое окрашивание
Реакция осаждения со свинца (II) ацетата основного раствором	Жёлтый осадок
Ванилина раствор 1%	Отсутствие окрашивания
<i>Кумарины</i>	
Лактонная проба	Жёлтое окрашивание, помутнение раствора
Реакция образования азокрасителя	Оранжевое окрашивание
Реакция сублимации	Образование маслянистого сублимата оранжевого цвета

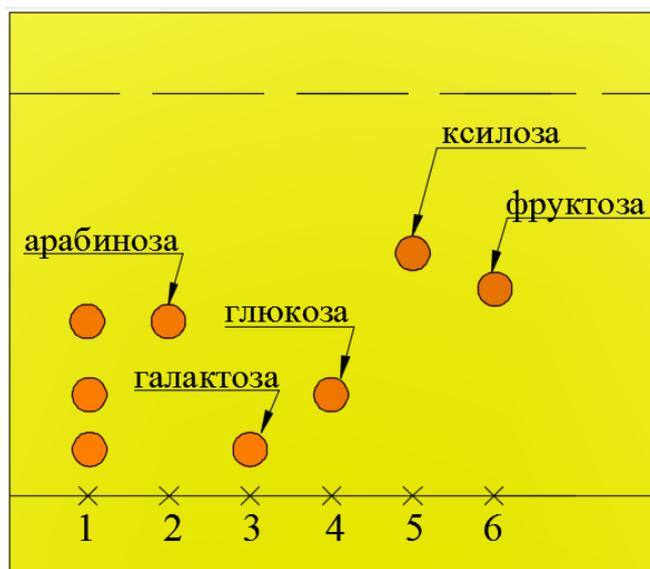


Рисунок 18 – Хроматограмма сахаров хатьмы тюрингенской корней в системе растворителей БУВ (4:1:5): 1 – гидролизат, 2–6 – СО моносахаридов

Таблица 22 – Результаты определения моносахаридного состава хатьмы тюрингенской корней методом ТСХ в системе растворителей БУВ (4:1:5)

№ СО	Наименование СО	Величина Rf СО	Величина Rf моносахаридов сырья
2	L(+)-Арабиноза	0,40±0,05	0,39±0,05
3	D(+)-Галактоза	0,32±0,03	0,33±0,05
4	D(+)-Глюкоза	0,36±0,05	0,36±0,04
5	D(+)-Ксилоза	0,47±0,03	-
6	D(-)-Фруктоза	0,44±0,04	-

Далее исследовали комплекс фенольных соединений спиртового извлечения хатьмы тюрингенской корней. Исследование проводили методом ВЭЖХ (глава 2, стр. 31).

В ходе хроматографирования зарегистрировали 4 пика (приложение 9). Идентифицировали: 1 ($\tau=9,5$ мин; $\lambda_{\max}=212$; 235пл; 305пл; 330 нм) – производное хлорогеновой кислоты; 2 ($\tau=12,2$ мин; $\lambda_{\max}=220$ пл; 315 нм) – производное

умбеллиферона; 3 ($\tau=13,1$ мин; $\lambda_{\max}=219$; 235 пл; 330 нм) – производное кофейной кислоты; 4 ($\tau=13,6$ мин; $\lambda_{\max}=218$ пл; 330 нм) – производное умбеллиферона (таблица 23).

Таблица 23 – Результаты исследования фенольных соединений хатьмы тюрингенской корней

№ пика	Время удерживания, мин	Максимум поглощения, нм	Соединение
1	9,5	212; 235пл; 305пл; 330	Производное хлорогеновой кислоты
2	12,2	220пл; 315	Производное умбеллиферона
3	13,1	219; 235пл; 330	Производное кофейной кислоты
4	13,6	218пл; 330	Производное умбеллиферона

Таким образом, комплекс БАС хатьмы тюрингенской корней включает в себя моносахариды (арабинозу, галактозу, глюкозу), полисахариды (слизи; крахмал), аминокислоты, тритерпеновые сапонины, конденсированные дубильные вещества, фенолокислоты (производные хлорогеновой и кофейной кислот), флавоноиды (групп флавона и флавонола), кумарины (производные умбеллиферона).

Далее определяли количественное содержание водорастворимых полисахаридов, свободных аминокислот, фенолокислот, кумаринов, дубильных веществ, флавоноидов в хатьмы тюрингенской корнях согласно методикам, описанным в главе 2.

Гравиметрически установили, что сумма водорастворимых полисахаридов хатьмы тюрингенской корней составляет $18,17 \pm 0,29\%$ [109].

Количественное определение свободных аминокислот, фенолокислот, кумаринов, дубильных веществ проводили методом СФМ. Установили их количественное содержание: сумма свободных аминокислот в пересчёте на аланин – $0,28 \pm 0,02\%$; сумма фенолокислот в пересчёте на хлорогеновую кислоту – $0,34 \pm 0,03\%$; сумма кумаринов в пересчёте на кумарин – $0,06 \pm 0,01\%$; сумма дубильных веществ в пересчёте на танин – $1,47 \pm 0,04\%$. При определении количественного содержания флавоноидов методом дифференциальной СФМ сумма флавоноидов в пересчёте на рутин составила $0,08 \pm 0,02\%$.

Таблица 24 – Количественное содержание различных групп БАС в хатьмы тюрингенской корнях

Группа БАС	Метрологические характеристики, P=95%, n=5, f=2,78		
	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}, \%$	s	$\bar{\varepsilon}, \%$
Водорастворимые полисахариды	$18,17 \pm 0,29$	0,17	1,60
Свободные аминокислоты	$0,28 \pm 0,02$	0,01	4,01
Флавоноиды	$0,08 \pm 0,02$	0,01	10,40
Фенолокислоты	$0,34 \pm 0,03$	0,02	4,41
Дубильные вещества	$1,47 \pm 0,04$	0,02	1,55
Кумарины	$0,06 \pm 0,01$	0,01	11,79

Из таблицы 24 следует, что преобладающей группой БАС хатьмы тюрингенской корней являются водорастворимые полисахариды ($18,17 \pm 0,29\%$). Флавоноиды и кумарины в исследуемом сырье содержатся в следовых количествах.

3.10 Сравнительный анализ состава комплексов биологически активных соединений хатьмы тюрингенской травы и корней

В ходе работы установлено, что комплекс БАС хатьмы тюрингенской травы включает 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, триметоксифлавона, флавонола, катехина, изофлавона, халкона), конденсированные и гидролизуемые дубильные вещества, кумарины (производные умбеллиферона), тритерпеновые сапонины (таблица 25).

Комплекс БАС хатьмы 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 25).

При сравнении количественного содержания различных групп БАС установлено, что трава содержит большее количество фенолокислот (3,72%), дубильных веществ (1,81%), свободных аминокислот (1,56%), флавоноидов (1,28%), кумаринов (0,20%). Корни содержат большее количество водорастворимых полисахаридов (18,17%). Результаты представлены в таблице 26.

Таким образом, наибольшее структурное разнообразие соединений имеет хатьмы тюрингенской трава. Трава превосходит корни по содержанию основных групп БАС (за исключением водорастворимых полисахаридов), что подтверждает целесообразность исследования данной морфологической группы в качестве ЛРС. Кроме того, заготовка травы менее трудоёмка, служит целям ресурсосбережения и рационального использования зарослей.

Таблица 25 – Результаты фитохимического изучения комплексов БАС хатьмы тюрингенской травы и корней

Трава	Корни
Моносахариды (арабиноза, галактоза, глюкоза)	Моносахариды (арабиноза, галактоза, глюкоза)
Водорастворимые полисахариды (слизи)	Водорастворимые полисахариды (слизи)
-	Крахмал
Пектиновые вещества	-
Гемицеллюлозы А и Б	-
Свободные аминокислоты (α -аланин, β -аланин, метионин, аспарагиновая кислота)	Свободные аминокислоты
Органические кислоты (винная, щавелевая, яблочная кислоты)	-
Тритерпеновые сапонины	Тритерпеновые сапонины
Фенолокислоты (кофейная кислота, производные хлорогеновой, феруловой, кумаровой, галловой кислот)	Фенолокислоты (производные хлорогеновой, кофейной кислот)
Флавоноиды (группы флавона, триметоксифлавона, флавонола, катехина, изофлавона, халкона)	Флавоноиды (группы флавона, флавонола)
Кумарины (производные умбеллиферона)	Кумарины (производные умбеллиферона)
Дубильные вещества (конденсированные и гидролизуемые)	Дубильные вещества (конденсированные)

Таблица 26 – Результаты количественного определения БАС хатьмы 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

Выводы по главе

1. В результате фитохимических исследований установлено, что комплекс БАС хатьмы тюрингенской травы включает:

- моносахариды;
- водорастворимые полисахариды (слизи);
- пектиновые вещества;
- гемицеллюлозы А и Б;
- свободные аминокислоты;
- органические кислоты;

- фенолокислоты;
- флавоноиды;
- конденсированные и гидролизуемые дубильные вещества;
- кумарины;
- тритерпеновые сапонины.

2. Моносахариды хатмы тюрингенской травы представлены арабинозой, галактозой, глюкозой.

3. Аминокислотный состав хатмы тюрингенской травы включает в себя α -аланин, β -аланин, метионин, аспарагиновую кислоту.

4. Органические кислоты хатмы тюрингенской травы – винная, щавелевая, яблочная кислоты.

5. При исследовании фенольных соединений хатмы тюрингенской установлено, что все исследуемые органы содержат фенолокислоты (производные хлорогеновой, феруловой, кофейной кислот). Трава, стебли, листья, цветки содержат фенолокислоты и флавоноиды. Флавоноиды травы и стеблей представлены производными катехина и флавонола, листьев и цветков – флавоноидами групп флавонола (производные кверцетина, кемпферола) и флавонола. В траве, стеблях, корнях содержатся кумарины (производные умбеллиферона); в цветках – фенологликозиды, антоцианы.

6. В хатмы тюрингенской корнях обнаружены:

- моносахариды (арабиноза, галактоза, глюкоза);
- полисахариды (слизи; крахмал);
- свободные аминокислоты;
- тритерпеновые сапонины;
- фенолокислоты (производные хлорогеновой, кофейной кислот);
- флавоноиды (группы флавонола, флавонола);
- кумарины (производные умбеллиферона);
- конденсированные дубильные вещества.

7. Количественное содержание БАС хатьмы 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%.

8. Хатьмы тюрингенской корня содержат:

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

ГЛАВА 4 ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НАСТОЯ ТРАВЫ ХАТЬМЫ ТЮРИНГЕНСКОЙ

Поскольку результаты фитохимических исследований свидетельствуют о содержании в хатьмы тюрингенской траве фенольного и полисахаридного комплексов, предполагается наличие противовоспалительной активности.

Настоящая глава посвящена изучению острой токсичности и противовоспалительной активности настоя травы хатьмы тюрингенской.

4.1 Изучение острой токсичности настоя травы хатьмы тюрингенской

Изучение острой токсичности хатьмы тюрингенской травы проводили на белых мышах обоего пола, массой около 20 г. Настой травы хатьмы тюрингенской вводили животным внутрижелудочно с помощью зонда в дозах 1000 мг/кг, 1500 мг/кг, 2000 мг/кг, 2500 мг/кг [83, 84]. Состояние животных фиксировали через 4 ч, 24 ч, 48 ч в сравнении с животными контрольной группы.

Таблица 27 – Результаты определения острой токсичности настоя травы хатьмы тюрингенской при внутрижелудочном введении белым мышам

Группа	Доза, мг/кг	Количество животных, шт			Гибель, %	LD ₅₀
		Взятых в опыт	Погибших	Выживших		
Контроль	-	10	-	10	-	-
Опыт	1000	10	-	10	-	-
	1500	10	-	10	-	-
	2000	10	-	10	-	-
	2500	10	-	10	-	-

Из данных таблицы 27 видно, что введение настоя в указанных дозах не вызывало гибели экспериментальных животных. Отклонений в общем состоянии животных опытной группы по сравнению с животными контрольной группы не

отмечено. Таким образом, можно сделать вывод о практической безвредности настоя травы хатьмы тюрингенской.

4.2 Влияние настоя травы хатьмы тюрингенской на течение острого воспаления

В ходе оценки противовоспалительной активности определяли влияние водного настоя травы хатьмы тюрингенской на процесс воспаления. Исследования проводили на модели острого воспаления согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (2005 г.) [84].

Противовоспалительную активность исследовали на модели острого воспаления. Исследования проводили на 20 белых крысах линии Wistar, которые были разделены на контрольную и опытную группы, по 10 особей в каждой.

Животным опытной группы в течение 2 недель после операции внутрижелудочно вводили настой травы хатьмы тюрингенской. Доза – 100 мг/кг. Последнее введение настоя осуществлялось за 1 ч до инъектирования флогистика.

Животным контрольной группы в течение 2 недель вводили эквивалентное количество воды очищенной.

Острое экссудативное воспаление индуцировали субплантарным введением 0,1 мл раствора каррагинина 1% в правую заднюю конечность каждого животного.

Измерение объёма конечности проводили через 60 мин, 120 мин и 240 мин после инъекции флогистика с помощью цифрового плетизмометра LE 7500 («Panlab S.L.», Италия) [43].

При оценке данных видно, что субплантарное введение каррагинина контрольной группе животных приводило к быстрому формированию отёка конечности (рисунок 19). Уже через 60 минут после инъекции флогистика объём лапы превосходил исходный уровень в среднем на 0,41 см³, что соответствует приросту объёма на 27,2% по сравнению с исходным показателем.

В дальнейшем объём конечности последовательно увеличивался, достигнув максимального значения к четвертому часу наблюдения. К этому времени прирост составил 0,79 см³. Увеличение объёма конечности по сравнению с исходным уровнем – 44,4%.

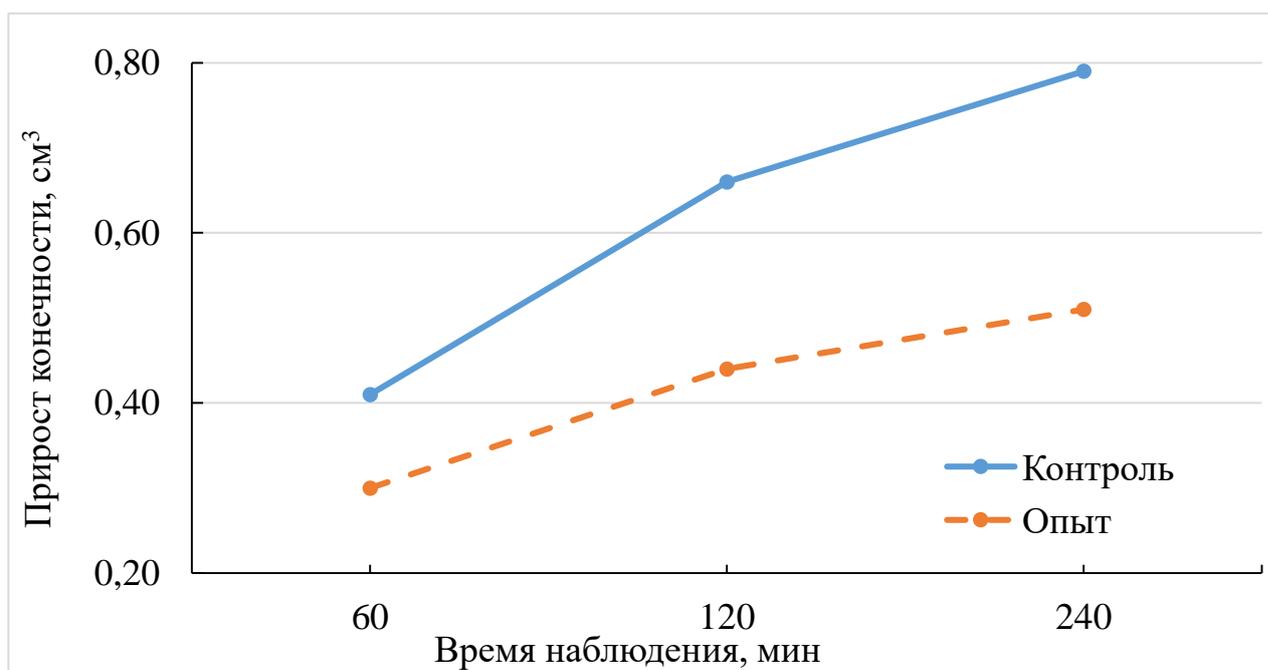


Рисунок 19 – Влияние настоя травы хатмы тюрингенской на течение острого воспаления у крыс

Длительное введение настоя в дозе 100 мг/кг животным опытной группы ослабляло формирование отёка. Противовоспалительная активность через 240 мин после инъектирования флогистика составила 35,10% (таблица 28).

Таким образом, при изучении противовоспалительной активности настоя травы хатмы тюрингенской на модели острого воспаления установлено, что в дозе 100 мг/кг настоек ослабляет развитие каррагенинового отёка у крыс. Это свидетельствует об эффективности применения настоя травы хатмы тюрингенской при остром воспалительном процессе.

Таблица 28 – Результаты определения противовоспалительной активности настоя травы хатмы тюрингенской на модели острого воспаления

Время наблюдения, мин	Исследуемые параметры	Контрольная группа	Опытная группа
60	Средний прирост объёма конечности, см ³	0,41	0,30
	Противовоспалительная активность, %	-	26,85
120	Средний прирост объёма конечности, см ³	0,66	0,44
	Противовоспалительная активность, %	-	34,04
240	Средний прирост объёма конечности, см ³	0,79	0,51
	Противовоспалительная активность, %	-	35,10

Выводы по главе

1. Доказана практическая безвредность настоя травы хатмы тюрингенской. Внутрижелудочное введение настоя в дозах от 1000 мг/кг до 2500 мг/кг не вызывало гибели ни одного опытного животного.

2. Установлено, что настой травы хатмы тюрингенской в дозе 100 мг/кг оказывает угнетающее действие на течение острого воспаления. Противовоспалительная активность составляет 35%.

ГЛАВА 5 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАПАСОВ ХАТЬМЫ ТЮРИНГЕНСКОЙ ТРАВЫ

Важной сырьевой базой для производства лекарственных препаратов являются дикорастущие лекарственные растения. Сведения о запасах ЛРС позволяют создать рациональную, научно обоснованную систему планирования и практического осуществления заготовок сырья [12]. Поскольку хатьма тюрингенская является растением перспективным для внедрения в медицинскую практику, необходимо определить урожайность, эксплуатационный запас и возможный объём ежегодных заготовок.

Ресурсоведческие исследования проводили в Бийском районе Алтайского края, в окрестностях села Новиково. Данная местность располагается на территории Бийско-Чумышской возвышенности, на границе трёх районов: Бийского, Солтонского, Красногорского. Характеризуется близостью к переходной зоне алтайского горного сооружения – экологически чистой и продуктивной по природно-ресурсному потенциалу территории [8].

Местность относится к лесостепной зоне, где преобладают злаково-разнотравные луговые степи. В почвенном покрове распространены чернозёмы и серые лесные почвы. В состав водных ресурсов входят реки Бия, Неня, Большая Козлачиха, Чебышиха. Условия увлажнения благоприятные, что способствует формированию богатого и разнообразного растительного покрова [92].

В пределах Бийско-Чумышской возвышенности расположены обширные заросли хатьмы тюрингенской (рисунок 20).

Определение величины запасов проводили согласно «Методике определения запасов лекарственных растений» [64]. Урожайность устанавливали методом учётных площадок. Закладывали от 15 до 30 учётных площадок, располагая их равномерно, на определённом расстоянии друг от друга так, чтобы охватить всю заросль [64].

Далее рассчитывали эксплуатационный запас сырья и возможный объём ежегодных заготовок (таблица 29). Ориентировочный процент выхода воздушно-сухого сырья из свежесобранного – 25%. Продолжительность восстановления запасов – 5 лет.



Рисунок 20 – Заросли хатмы тюрингенской в окрестностях с. Новиково

Таблица 29 – Результаты исследования запасов хатмы тюрингенской травы в окрестностях с. Новиково Бийского района Алтайского края

Расположение заросли	Площадь, га	Число учётных площадок, шт	Урожайность (свежесобранное сырьё), г/м ²	Эксплуатационный запас (воздушно-сухое сырьё), т	Возможный объём ежегодных заготовок, т
Склон холма Маяк	60	15	1807±63	252	50,4
Урочище Рыжкин Лог	72	15	1608±110	250	50,0
Урочище Коровий Луг	70	30	1145±128	156	31,2
Урочище Дадочкин Лог	37	15	1613±118	127	25,4
Урочище Саломахино	52	15	1448±120	157	31,4

В ходе работы установлено, что на пяти зарослях хатьмы тюрингенской площадью от 37 га до 72 га урожайность составляет 1145–1807 г/м². Наиболее продуктивная заросль расположена на холме Маяк.

Эксплуатационный запас колеблется от 127 т до 252 т, возможный объём ежегодных заготовок – от 25 т до 50 т. Полученные результаты свидетельствуют о наличии перспективной сырьевой базы хатьмы тюрингенской травы.

Выводы по главе

1. Проведены ресурсные исследования хатьмы тюрингенской травы на пяти зарослях общей площадью 291 га, расположенных в Бийском районе Алтайского края.

2. Определены урожайность – 1145–1807 г/м², эксплуатационные запасы – 127–252 т, возможные объёмы ежегодных заготовок – 25–50 т хатьмы тюрингенской травы.

ГЛАВА 6 СТАНДАРТИЗАЦИЯ ХАТЬМЫ ТЮРИНГЕНСКОЙ ТРАВЫ

В связи с тем, что хатьмы тюрингенской трава содержит комплекс БАС, обладает противовоспалительной активностью и имеет достаточную для заготовки сырьевую базу, возникла необходимость разработки НД, регламентирующей качество ЛРС.

Проводили фармакогностический анализ хатьмы тюрингенской травы: устанавливали показатели подлинности и доброкачественности.

Установление подлинности включало в себя проведение макро- и микроскопического, фитохимического анализов.

Для разработки показателей доброкачественности определяли: влажность; содержание золы общей и золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте; сырья, изменившего окраску (пожелтевшие листья, выцветшие цветки); органической и минеральной примеси; экстрактивных веществ, извлекаемых водой очищенной; содержание суммы водорастворимых полисахаридов; содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин [111].

6.1 Определение подлинности хатьмы тюрингенской травы

6.1.1 Макроскопический анализ

Собранная в фазу цветения и высушенная трава дикорастущего многолетнего растения хатьмы тюрингенской – *Lavatera thuringiaca* L., сем. мальвовых – *Malvaceae* Juss. (рисунок 21).

Внешние признаки. Верхние, не одревесневшие части стеблей длиной до 80 см с листьями, бутонами, цветками. Могут встречаться отдельные стебли, листья, бутоны, цветки или их части. Стебли цилиндрические, опушённые, толщиной 0,3–0,5 см. Листья очерёдные, простые, черешковые. Черешок длиной 0,3–0,7 см. Верхние листья мелкие, яйцевидные, тройчатораздельные; нижние – крупные, округло-яйцевидные, трёх-пятилопастные. Сверху слабо, снизу густо опушённые. Основание листовой пластинки клиновидное или сердцевидное. Край

листа городчатый. Жилкование пальчатонервное. Прилистники ланцетные, заострённые. Цветки крупные, диаметром до 10 см. Околоцветник двойной. Венчик из 5 выемчатых лепестков обратнойцевидной формы, длиной до 3,5 см. 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, подчаший зелёный, бледно-зелёный, желтовато-зелёный; венчиков – бледно-синий или бледно-фиолетовый. Запах своеобразный. Вкус водного извлечения сладковатый.



Рисунок 21 – Хатьмы тюрингенской трава цельная

6.1.2 Изучение анатомического строения

Изучение строения фрагментов стеблей, листьев и цветков проводили по общеизвестным методикам, в соответствии с ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» и ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» ГФ XIII издания [18].

Исследования проводили с помощью микроскопа Микромед-2 и Биолам, с увеличением окуляра 7х, 10х, объективов 4х, 10х, 40х, 90х, 100х. Готовили поверхностные препараты, поперечные и продольные срезы, которые выполняли лезвием от руки. Фотосъёмку объектов проводили с помощью фотонасадки «DCM800 SCOPE». Снимки редактировали в программе Adobe Photoshop 8.0

Стебель. Стебель хатмы тюрингенской имеет вторичное непучковое строение. В поперечном сечении стебель округлой формы, покрыт эпидермой с большим количеством звёздчатых волосков. Клетки эпидермы прямоугольные, продольно-вытянутые. Устьичный аппарат аномоцитного типа (рисунок 22) [41].

Первичная кора стебля дифференцирована, экзодерма представлена 2-3 рядами клеток хлоренхимы и 5-6 рядами клеток колленхимы, при этом встречается два типа: рыхлая и уголковая. Далее в центральном осевом цилиндре в последовательном порядке располагаются кольцами флоэма, камбий, ксилема. Сердцевина представлена основной паренхимой (рисунок 23) [41].

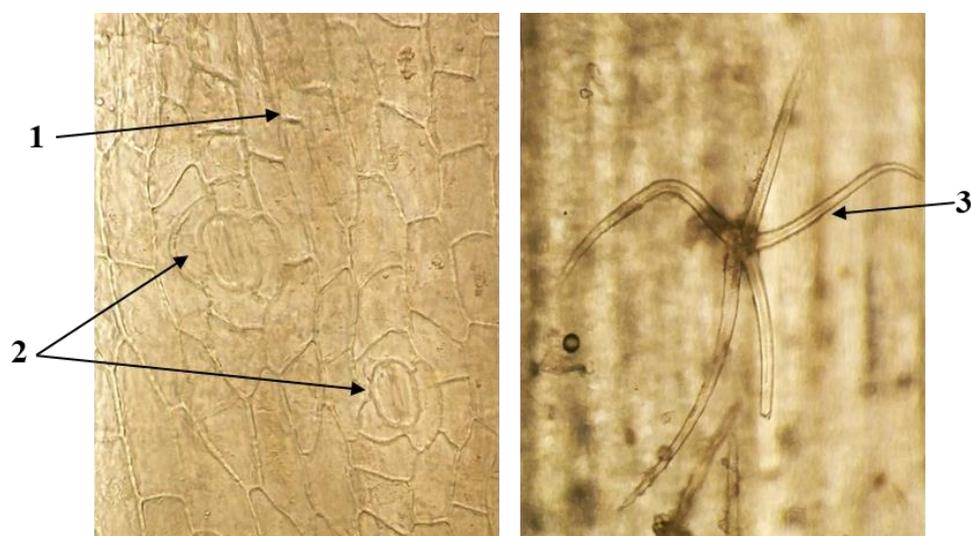


Рисунок 22 – Эпидерма стебля (увл. х400): 1 – клетки эпидермы, 2 – устьичный аппарат аномоцитного типа, 3 – звёздчатый волосок

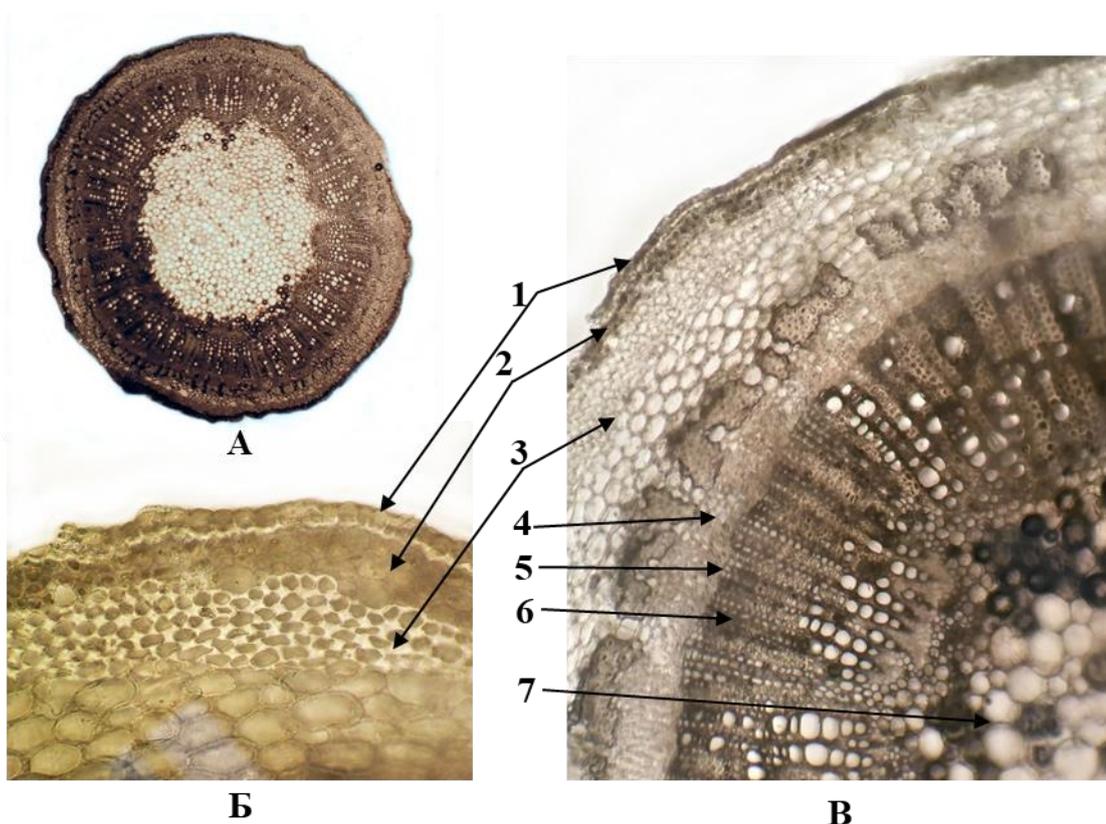


Рисунок 23 – Поперечный срез стебля (А – увл. x24, Б – увл. x400, В – увл. x100):
 1 – эпидерма, 2 – хлоренхима, 3 – колленхима, 4 – флоэма, 5 – камбий, 6 – ксилема,
 7 – сердцевина

Лист. При рассмотрении листовой пластинки с поверхности с обеих сторон видны клетки эпидермы с прямыми или слабо извилистыми стенками, устьичные аппараты аномоцитного типа. Эпидерма с многочисленными звёздчатыми волосками (рисунок 24; 25). На верхней эпидерме встречаются простые одноклеточные волоски и клетки-идиобласты со слизью [41].

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 [41].

Под эпидермой в жилке располагается от 2 до 5 рядов пластинчатой колленхимы. Присутствует один крупный закрытый коллатеральный пучок. Во

флоэме пучка и в паренхиме вокруг – большое количество друз оксалата кальция (рисунок 26) [41].

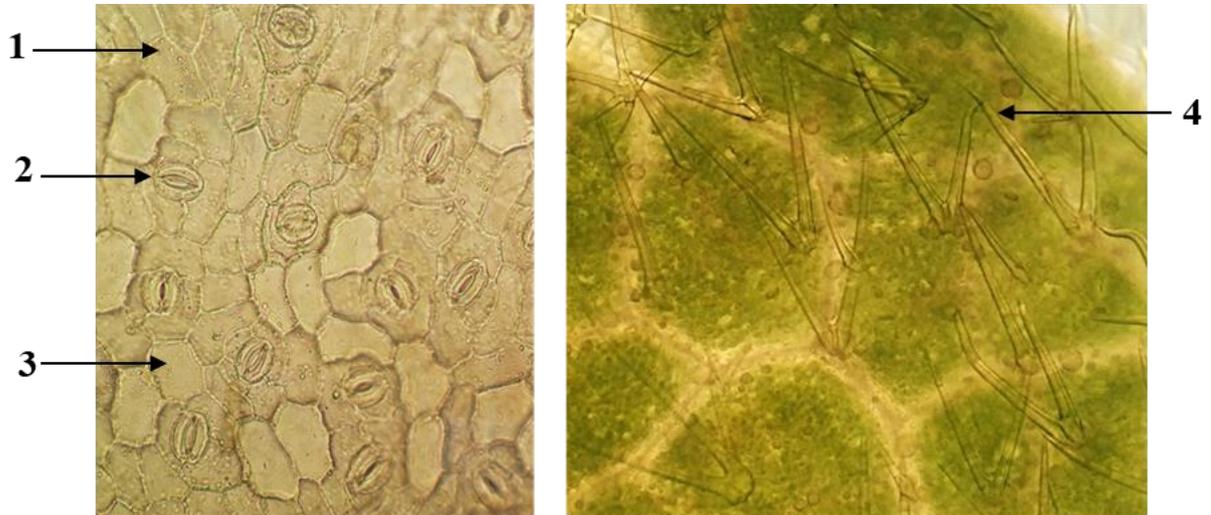


Рисунок 24 – Верхняя эпидерма листовой пластинки (увл. x400): 1 – клетки со слабо извилистыми стенками, 2 – устьичный аппарат аномоцитного типа, 3 – клетки-идиобласты со слизью, 4 – звёздчатые волоски

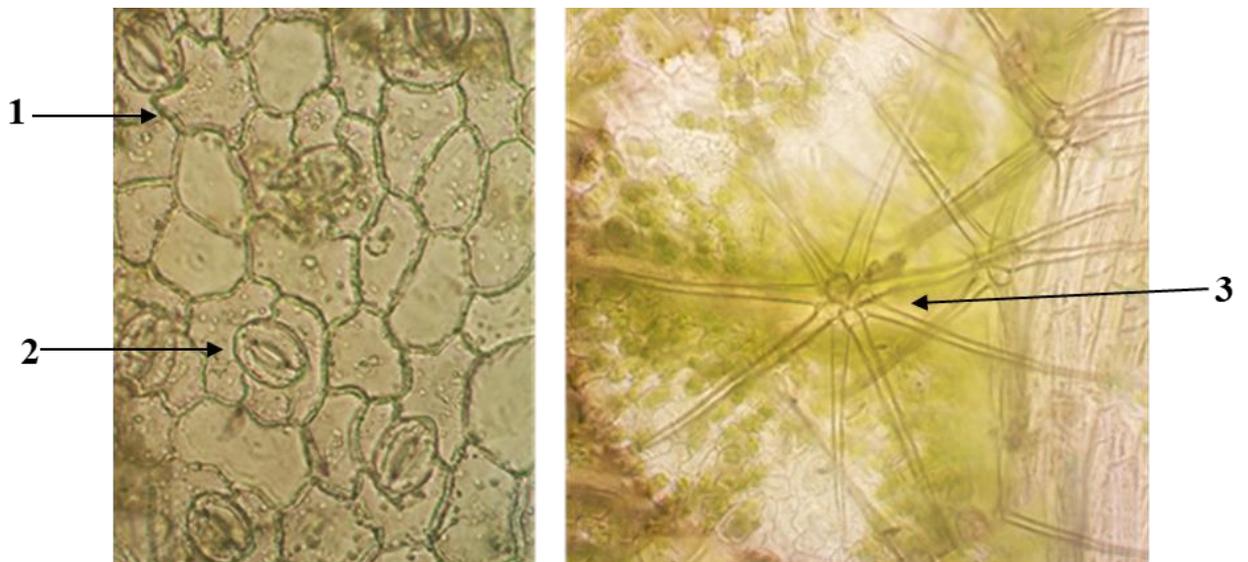


Рисунок 25 – Нижняя эпидерма листовой пластинки (увл. x400): 1 – клетки со слабо извилистыми стенками, 2 – устьичный аппарат аномоцитного типа, 3 – звёздчатые волоски

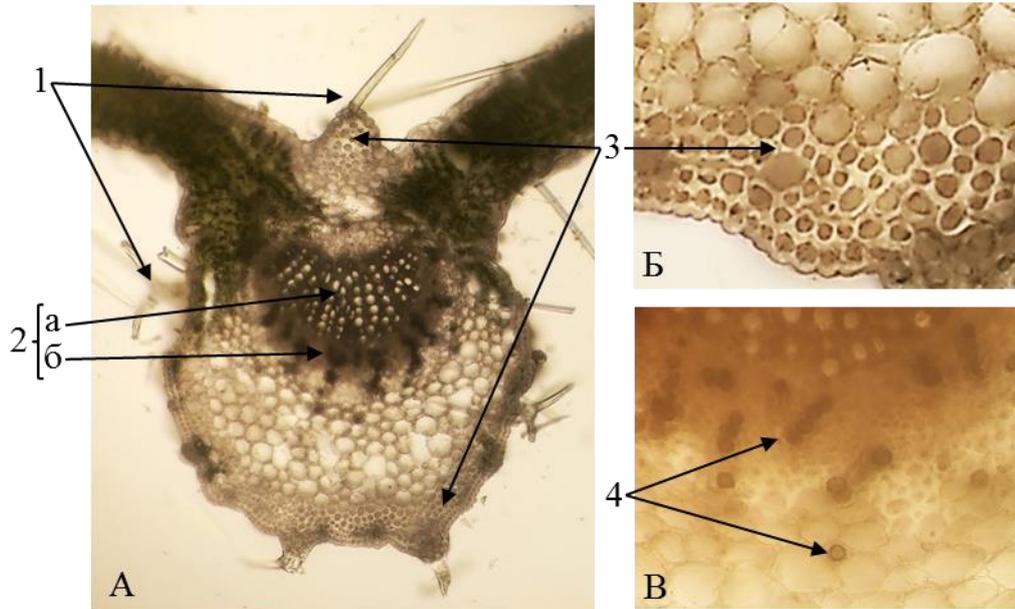


Рисунок 26 – Поперечный срез листа в области главной жилки (А – увл. x70; Б, В – увл. x400): 1 – остатки простых звёздчатых волосков, 2 – закрытый коллатеральный пучок (а – ксилема, б – флоэма), 3 – пластинчатая колленхима, 4 – друзы оксалата кальция

Цветок. При рассмотрении лепестков венчика с поверхности видны клетки эпидермы: с прямыми (верхняя эпидерма) и сильно извилистыми (нижняя эпидерма) стенками (рисунок 27) [41].

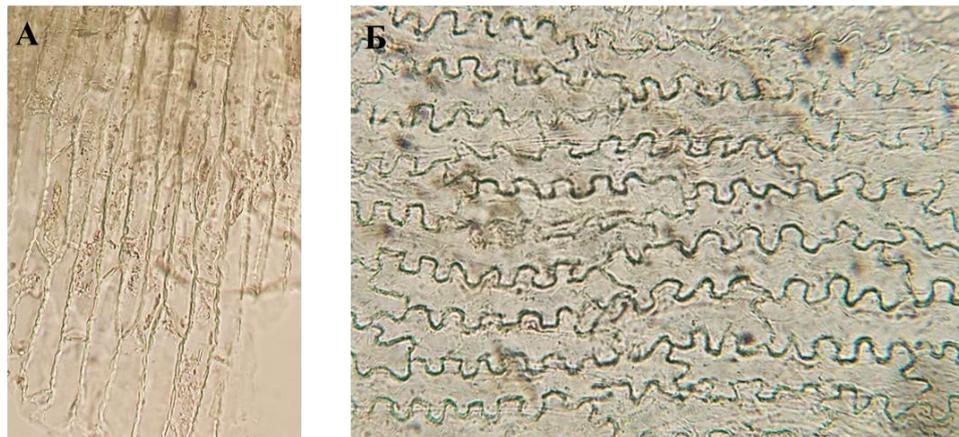


Рисунок 27 – Фрагменты лепестков венчика: А. Верхняя эпидерма с прямыми стенками (увл. x400) Б. Нижняя эпидерма с сильно извилистыми стенками (увл. x630)

6.2 Определение показателей доброкачественности хатмы тюрингенской травы

Для определения показателей доброкачественности использовали хатмы тюрингенской травы, заготовленную в семи районах Алтайского края (Бийском, Быстроистокском, Калманском, Красногорском, Первомайском, Солтонском Целинном), различающихся по климатическим условиям и антропогенной нагрузке. Устанавливали следующие показатели: влажность, содержание экстрактивных веществ, зола общая и зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, содержание сырья, изменившего окраску (пожелтевшие листья, выцветшие цветки), содержание органической и минеральной примеси; содержание суммы водорастворимых полисахаридов; содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин [17, 18].

В результате проведённых исследований установлено, что влажность анализируемых образцов находится в интервале от 7,89 до 8,81%; содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой очищенной, – от 32,17 до 38,25%; зола общая – от 11,17 до 14,35%; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, – от 0,50 до 0,75%; содержание сырья, изменившего окраску (пожелтевшие листья, выцветшие цветки), – от 2,13 до 2,63%; содержание органической примеси – от 0,73 до 0,94%; минеральной примеси – от 0,53 до 0,79%; сумма водорастворимых полисахаридов – от 6,85 до 8,39%; сумма флавоноидов в пересчёте на рутин – от 1,00 до 1,23% [111]. Таким образом, показатели доброкачественности сырья, заготовленного в разных районах, имеют сопоставимые значения (таблица 30).

6.3 Определение экстрактивных веществ хатмы тюрингенской травы

В ходе фитохимического исследования установлено, что основными группами БАС хатмы тюрингенской травы являются полисахариды и флавоноиды. Данные соединения имеют разные физико-химические свойства, в связи с чем необходимо подобрать оптимальные растворители для извлечения полисахаридов, флавоноидов, экстрактивных веществ.

Таблица 30 – Показатели доброкачественности хатмы тюрингенской травы, заготовленной в разных районах Алтайского края (n=5; P=95%; f=2,78)

Показатели доброкачественности сырья, %	Метрологические характеристики	Районы заготовки сырья						
		Бийский	Быстроистокский	Калманский	Красногорский	Первомайский	Солтонский	Целинный
Влажность	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, %	8,62±0,05	8,30±0,05	8,81±0,05	8,72±0,11	7,89±0,09	8,60±0,05	8,33±0,05
	s	0,03	0,03	0,03	0,07	0,05	0,03	0,03
	$\bar{\varepsilon}$, %	0,37	0,36	0,34	0,77	0,65	0,37	0,36
Содержание экстрактивных веществ	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, %	32,17±0,56	35,17±0,70	38,25±0,66	33,39±0,70	33,71±0,54	34,27±0,94	33,28±0,63
	s	0,33	0,41	0,38	0,41	0,32	0,55	0,37
	$\bar{\varepsilon}$, %	1,02	1,16	1,00	1,22	0,94	1,61	1,11
Зола общая	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, %	11,17±0,40	11,28±0,33	14,05±0,33	12,93±0,39	14,35±0,40	11,94±0,48	12,37±0,32
	s	0,23	0,19	0,19	0,23	0,23	0,28	0,19
	$\bar{\varepsilon}$, %	2,10	1,70	1,35	1,78	1,64	2,37	1,52
Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, %	0,54±0,04	0,50±0,05	0,67±0,05	0,59±0,04	0,74±0,05	0,67±0,05	0,63±0,06
	s	0,02	0,03	0,03	0,02	0,03	0,03	0,04
	$\bar{\varepsilon}$, %	3,93	5,75	4,39	3,88	4,20	3,99	5,64
Сырьё, изменившее окраску (пожелтевшие листья, выцветшие цветки)	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, %	2,53±0,06	2,44±0,07	2,63±0,05	2,51±0,05	2,13±0,04	2,43±0,07	2,36±0,07
	s	0,03	0,04	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04
	$\bar{\varepsilon}$, %	1,30	1,80	1,18	1,16	1,17	1,69	1,82
Органическая примесь	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, %	0,86±0,04	0,79±0,05	0,80±0,05	0,94±0,05	0,73±0,04	0,89±0,07	0,79±0,07
	s	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04
	$\bar{\varepsilon}$, %	2,60	3,84	3,88	3,39	3,59	4,67	5,16
Минеральная примесь	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, %	0,67±0,05	0,59±0,05	0,75±0,05	0,66±0,06	0,79±0,05	0,53±0,05	0,70±0,06
	s	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,04
	$\bar{\varepsilon}$, %	4,33	5,02	3,86	5,03	3,84	5,70	5,27
Сумма водорастворимых полисахаридов	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, %	7,60±0,18	7,78±0,15	8,39±0,16	7,67±0,19	8,18±0,24	7,28±0,18	6,85±0,17
	s	0,10	0,09	0,10	0,11	0,14	0,10	0,10
	$\bar{\varepsilon}$, %	1,35	1,14	1,08	1,48	1,69	1,42	1,42
Сумма флавоноидов в пересчёте на рутин	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, %	1,02±0,07	1,22±0,07	1,23±0,07	1,06±0,05	1,00±0,04	1,14±0,05	1,16±0,05
	s	0,04	0,04	0,04	0,03	0,02	0,03	0,03
	$\bar{\varepsilon}$, %	3,88	3,50	3,28	2,91	2,08	2,54	2,81

Общеизвестно, что максимальное количество водорастворимых полисахаридов извлекает вода очищенная. Использование других экстрагентов в данном случае нецелесообразно.

Для извлечения флавоноидов и экстрактивных веществ использовали воду очищенную и водно-спиртовые растворы [69]. Определение количественного содержания проводили согласно методикам, описанным в главе 2. Результаты исследования представлены в таблице 31.

Таблица 31 – Содержание экстрактивных веществ и суммы флавоноидов в хатьмы тюрингенской траве при использовании различных экстрагентов

Экстрагенты	Метрологические характеристики, P=95%, n=5, f=2,78					
	Экстрактивные вещества			Сумма флавоноидов в пересчёте на рутин		
	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}, \%$	s	$\bar{\varepsilon}, \%$	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}, \%$	s	$\bar{\varepsilon}, \%$
Вода очищенная	32,17±0,56	0,33	1,02	0,59±0,05	0,03	5,36
Спирт этиловый 30%	30,35±0,58	0,34	1,12	0,67±0,05	0,03	4,82
Спирт этиловый 40%	28,73±0,82	0,48	1,66	0,75±0,06	0,03	4,67
Спирт этиловый 50%	27,13±0,54	0,32	1,17	0,76±0,07	0,04	5,66
Спирт этиловый 60%	26,74±0,74	0,27	1,02	0,86±0,05	0,03	3,53
Спирт этиловый 70%	27,48±0,60	0,35	1,28	1,02±0,07	0,04	3,88
Спирт этиловый 80%	20,31±0,53	0,31	1,52	0,91±0,06	0,03	3,83
Спирт этиловый 90%	17,65±0,31	0,18	1,03	0,61±0,05	0,03	4,96

При определении экстрактивных веществ установлено, что экстрагирующая способность снижается по мере увеличения концентрации спирта этилового. Наибольшее количество экстрактивных веществ извлекает вода очищенная – 32,17% (рисунок 28) [69].

При этом с повышением концентрации спирта этилового от 30% до 70% увеличивается выход суммы флавоноидов с 0,67% до 1,02% (рисунок 29).



Рисунок 28 – Зависимость выхода экстрактивных веществ хатьмы тюрингенской травы от концентрации экстрагента

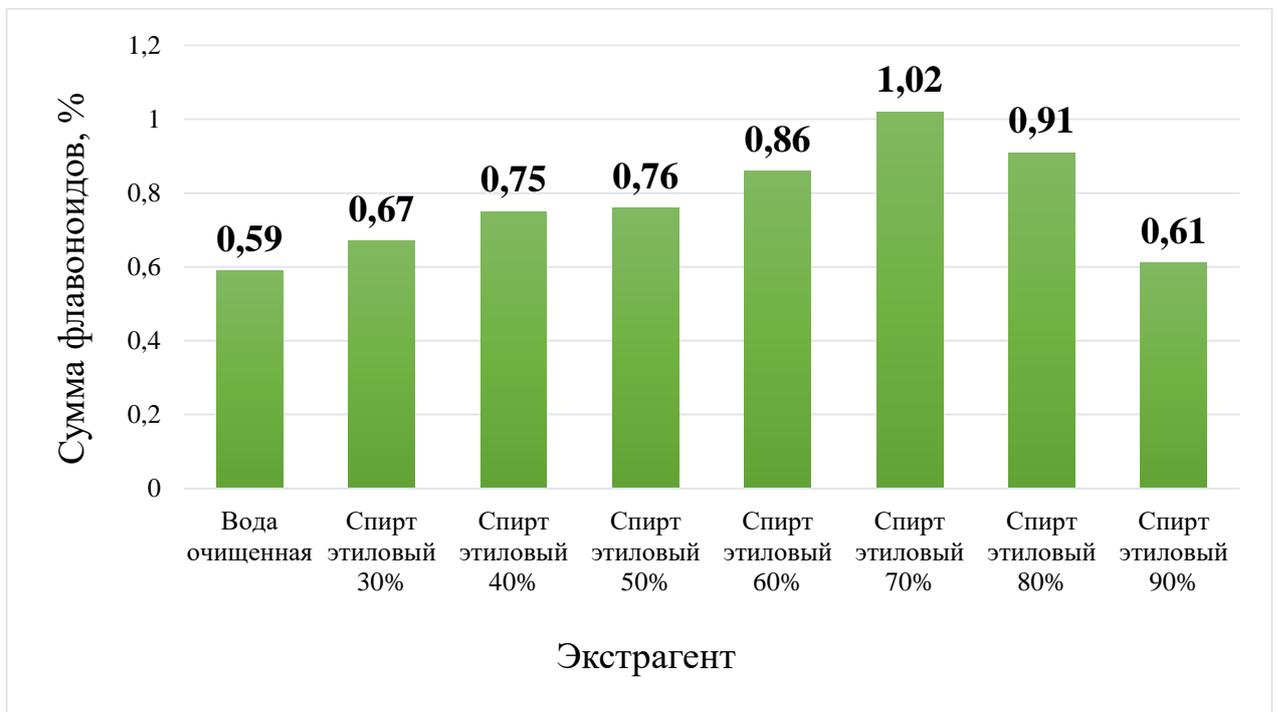


Рисунок 29 – Зависимость выхода флавоноидов хатьмы тюрингенской травы от концентрации экстрагента

Следовательно, оптимальным экстрагентом для извлечения комплекса БАС хатмы тюрингенской травы является вода очищенная, что согласуется с растворимостью полисахаридов, некоторых групп фенольных соединений и т.д. Для извлечения суммы флавоноидов целесообразно использовать спирт этиловый 70%. Данные экстрагенты использовали в дальнейших исследованиях.

Для получения наиболее достоверных результатов определяли содержание суммы водорастворимых полисахаридов; суммы флавоноидов в пересчёте на рутин; экстрактивных веществ в хатмы тюрингенской траве, заготовленной в разных районах Алтайского края (таблица 32).

Таблица 32 – Результаты количественного определения водорастворимых полисахаридов; флавоноидов; экстрактивных веществ в хатмы тюрингенской траве, заготовленной в разных районах Алтайского края

Район заготовки сырья	Метрологические характеристики, P=95%, n=5, f=2,78								
	Водорастворимые полисахариды, %			Флавоноиды, %			Экстрактивные вещества, %		
	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	s	$\bar{\epsilon}$	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	s	$\bar{\epsilon}$	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$	s	$\bar{\epsilon}$
Бийский	7,60±0,18	0,10	1,35	1,02±0,07	0,04	3,88	32,17±0,56	0,33	1,02
Быстроистокский	7,78±0,15	0,09	1,14	1,22±0,07	0,04	3,50	35,17±0,70	0,41	1,16
Калманский	8,39±0,16	0,10	1,08	1,23±0,07	0,04	3,28	38,25±0,66	0,38	1,00
Красногорский	7,67±0,19	0,11	1,48	1,06±0,05	0,03	2,91	33,39±0,70	0,41	1,22
Первомайский	8,18±0,24	0,14	1,69	1,00±0,04	0,02	2,08	33,71±0,54	0,32	0,94
Солтонский	7,28±0,18	0,10	1,42	1,14±0,05	0,03	2,54	34,27±0,94	0,55	1,61
Целинный	6,85±0,17	0,10	1,42	1,16±0,05	0,03	2,81	33,28±0,63	0,37	1,11

Из данных таблицы 32 следует, что хатмы тюрингенской трава, заготовленная в разных районах произрастания, имеет сопоставимые значения по содержанию суммы водорастворимых полисахаридов (от 6,85% до 8,39%), суммы флавоноидов в пересчёте на рутин (от 1,00% до 1,23%), экстрактивных веществ, извлекаемых водой очищенной (от 32,17% до 38,25%).

Результаты исследований свидетельствуют о возможности заготовки хатмы тюрингенской травы повсеместно на территории Алтайского края.

6.4 Определение сроков заготовки хатмы тюрингенской травы

Общеизвестно, что содержание БАС в ЛРС варьирует в зависимости от фенологической фазы. Для определения оптимального срока заготовки определяли количественное содержание суммы водорастворимых полисахаридов и суммы флавоноидов в хатмы тюрингенской траве, собранной в разные фазы вегетации: бутонизация (май), цветение (июль), плодоношение (август). Результаты исследования представлены в таблице 33.

Таблица 33 – Результаты количественного определения суммы водорастворимых полисахаридов и суммы флавоноидов в хатмы тюрингенской траве, заготовленной в разные фазы вегетации

Фенологическая фаза	Метрологические характеристики, P=95%, n=5, f=2,78					
	Водорастворимые полисахариды			Флавоноиды		
	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, %	s	$\bar{\varepsilon}$, %	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, %	s	$\bar{\varepsilon}$, %
Бутонизация	7,63±0,15	0,09	1,18	1,14±0,06	0,04	3,25
Цветение	7,60±0,18	0,10	1,35	1,02±0,07	0,04	3,88
Плодоношение	6,82±0,16	0,09	1,33	0,77±0,05	0,03	4,19

Таким образом, максимальное количество водорастворимых полисахаридов (7,60–7,63%) и флавоноидов (1,02–1,14%) накапливается в хатмы тюрингенской траве в период бутонизации и цветения. Данная закономерность согласуется с рекомендациями по срокам заготовки морфологической группы сырья «Трава» [18]. Заготовку целесообразно проводить в период цветения, когда растение является полностью развитым.

6.5 Определение срока годности сырья

В процессе хранения ЛРС подвергается действию различных факторов, влияющих на качество, в связи с чем необходимо установить срок годности сырья.

Определение проводили на образцах 5 серий сырья, заложенного на хранение в 2015-м году. Сырьё хранили в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0011.15 «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» при температуре 20–25⁰С и относительной влажности не более 60±5% [17].

Критериями оценки качества служили: влажность, содержание сырья, изменившего окраску (пожелтевшие листья, выцветшие цветки), количественное содержание водорастворимых полисахаридов и флавоноидов. Анализ проводили через каждые 6 месяцев в 2015–2018-х гг. (приложение 10).

Данные экспериментов свидетельствуют о том, что показатели качества сырья в течение 2,5 лет существенно не изменились. Следовательно, срок годности хатьмы тюрингенской травы составляет 2,5 года.

Выводы по главе

1. В ходе макроскопического анализа сырья установлено, что хатьмы тюрингенской трава цельная представляет собой верхние, не одревесневшие части стеблей длиной до 80 см с листьями, бутонами, цветками. Стебли цилиндрические, опушённые, толщиной 0,3–0,5 см. Листья очерёдные, простые, черешковые. Верхние листья мелкие, яйцевидные, тройчатораздельные; нижние – крупные, округло-яйцевидные, трёх-пятилопастные. Сверху слабо, снизу густо опушённые. Основание листовой пластинки клиновидное или сердцевидное. Край листа городчатый. Жилкование пальчатонервное. Прилистники ланцетные, заострённые. Цветки крупные, диаметром до 10 см. Околоцветник двойной. Венчик из 5 выемчатых лепестков обратнояйцевидной формы, длиной до 3,5 см. 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, подчаший зелёный, бледно-зелёный, желтовато-зелёный; венчиков – бледно-синий или бледно-фиолетовый. Запах своеобразный. Вкус водного извлечения сладковатый.

2. В результате изучения анатомического строения установлены отличительные анатомо-диагностические признаки сырья: стебель хатьмы тюрингенской имеет вторичное непучковое строение. В поперечном сечении стебель округлой формы, покрыт эпидермой, с большим количеством звёздчатых волосков. Клетки эпидермы прямоугольные, продольно-вытянутые. Устьичный аппарат аномоцитного типа.

Первичная кора стебля дифференцирована, экзодерма представлена 2-3 рядами клеток хлоренхимы и 5-6 рядами клеток колленхимы, при этом встречается два типа: рыхлая и уголковая. Далее в центральном осевом цилиндре в последовательном порядке располагаются кольцами флоэма, камбий, ксилема. Сердцевина представлена основной паренхимой.

При рассмотрении листовой пластинки с поверхности с обеих сторон видны клетки эпидермы с прямыми или слабо извилистыми стенками с устьичными аппаратами аномоцитного типа. Эпидерма с многочисленными звёздчатыми волосками. На верхней эпидерме встречаются простые одноклеточные волоски и клетки-идиобласты со слизью.

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.

Под эпидермой в жилке располагается от 2 до 5 рядов пластинчатой колленхимы. Присутствует один крупный закрытый коллатеральный пучок. Во флоэме пучка и в паренхиме вокруг – большое количество друз оксалата кальция

При рассмотрении лепестков венчика с поверхности видны клетки эпидермы: с прямыми (верхняя эпидерма) и сильно извилистыми (нижняя эпидерма) стенками.

3. Установлены показатели доброкачественности хатьмы 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%; содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой очищенной, – не менее 32%; сумма водорастворимых полисахаридов – не менее 6%; сумма флавоноидов в пересчёте на рутин – не менее 1%.

4. Определён оптимальный срок заготовки хатьмы тюрингенской травы – период цветения.

5. Установлен срок годности сырья – 2,5 года (срок наблюдения).

6. На основании проведённых исследований разработан проект НД «Хатьмы тюрингенской трава цельная» (приложение 11). Акт внедрения в работу ЗАО «Эвалар» от 28 марта 2018 г (приложение 12).

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Проведено фитохимическое изучение хатьмы 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, изофлавола, халкона); конденсированные и гидролизуемые дубильные вещества; кумарины (производные умбеллиферона); тритерпеновые сапонины.

Количественное содержание БАС хатьмы тюрингенской трава 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 хатьмы 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 хатьмы 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 хатьмы тюрингенской не обладает токсичностью, оказывает противовоспалительное действие.

5. На основании изученного анатомического строения хатьмы 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 хатьмы 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 хатьмы 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 «Хатьмы тюрингенской трава цельная». Акт внедрения в работу ЗАО «Эвалар» от 28 марта 2018 г.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АБФК – Алтайский биофармацевтический кластер

АГМУ – Алтайский государственный медицинский университет

БАС – биологически активные соединения

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

ВРПС – водорастворимые полисахариды

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГФ – Государственная Фармакопея

ГЦ А и Б – гемицеллюлозы А и Б

ЛРС – лекарственное растительное сырьё

НД – нормативная документация

ОФС – общая фармакопейная статья

ПВ – пектиновые вещества

СО – стандартный образец

СФМ – спектрофотометрический метод

ТСХ – тонкослойная хроматография

УФ – свет – ультрафиолетовый свет

ФС – фармакопейная статья

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова, А.Ф. Малораспространённые кормовые растения в Северном Зауралье / А.Ф. Абрамова // Аграрный вестник Урала. – 2012. – № 5. – С. 4-5.
2. Абрамова, А.Ф. Укрепление кормовой базы Северного Зауралья с использованием малораспространённых кормовых культур / А.Ф. Абрамова // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – № 6. – С. 60-63.
3. Азарова, О.В. Флавоноиды: механизм противовоспалительного действия / О.В. Азарова, Л.П. Галактионова // Химия растительного сырья. – 2012. – № 4. – С. 61–78.
4. Айдарбаева, Д.К. Аналитическая оценка полезных растений Южного Алтая / Д.К. Айдарбаева, С.К. Иманкулова, З.С. Кенжебаева // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 11. – С. 827-832.
5. Акинина, А.А. Биологические особенности *Lavatera thuringiaca* в условиях интродукции на юге Томской области / А.А. Акинина, А.С. Прокопьев // Проблемы изучения растительного покрова Сибири : материалы VI Междунар. науч. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения Антонины Васильевны Положий. – Томск, 2017. – С. 255-257.
6. Алтайский биофармацевтический кластер [Электронный ресурс] : [сайт]. – Режим доступа : <http://alta.bio.ru>
7. Алтай лекарственный [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://lektrava.ru/encyclopedia/altey-lekarstvennyu/> – Загл. с экрана.
8. Барышников, Г.Я. Природно-хозяйственный каркас переходной зоны Алтая / Г.Я. Барышников, Н.А. Краснослободцева. – Барнаул : Изд-во Алт. гос. ун-та, 2012. – 154 с.
9. Баторова, С.М. Фитокоррекция при нарушениях пищеварения и обмена веществ в тибетской медицине / С.М. Баторова, И.П. Леднева, Д. Цэнд-Аюуш // Сибирский медицинский журнал. – 2003. – № 6. – С. 67-69.

10. Бебнева, Ю.В. Болезни желудочно-кишечного тракта. Эффективные способы лечения / Ю.В. Бебнева. – Москва : РИПОЛ классик, 2008. – 192 с.
11. Беликов, В.Г. Изучение динамики накопления полисахаридов в хатме тюрингенской / В.Г. Беликов, С.В. Меньков, Л.В. Лигай // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сб. науч. тр. – Пятигорск, 2005. – Вып. 60. – С. 185-188.
12. Белоногова, В.Д. Запасы, рациональное использование и охрана дикорастущих лекарственных растений Пермского края / В.Д. Белоногова, А.В. Курицын, А.Ю. Турышев. – Пермь : ГОУ ВПО «ПГФА Росздрави», 2008. – 235 с.
13. Биологически активные вещества растений: выделение, разделение, анализ / Г.Д. Бердимуратова, Р.А. Музычкина, Д.Ю. Корулькин и др. – Алматы : Атамұра, 2006. – 438 с.
14. Брюханов, В.М. Бадан толстолистный / В.М. Брюханов, Л.М. Федосеева. – Барнаул : [Б. и.], 2006. – 209 с.
15. Глухов, М.М. Медоносные растения / М.М. Глухов. – Москва : Книга по Требованию, 2013. – 304 с.
16. Голубева, И.С. Исследования по стандартизации сырья и препаратов алтея : автореф. дис. ... канд. фарм. наук : 15.00.02 / И.С. Голубева. – Москва, 2009. – 26 с.
17. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание [Электронный ресурс] : в 3-х т. Т. 1. – Москва, 2015. – Режим доступа : http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_1/HTML/ – Загл. с экрана.
18. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание [Электронный ресурс] : в 3-х т. Т. 2. – Москва, 2015. – Режим доступа : http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_2/HTML/ – Загл. с экрана.
19. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII издание [Электронный ресурс] : в 3-х т. Т. 3. – Москва, 2015. – Режим доступа : http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmacopoeia_3/HTML/ – Загл. с экрана.

20. Гребенникова, А.Ю. Разнообразие сообществ луговых степей Кулунды и приобской части правобережья р. Оби (Алтайский край) / А.Ю. Гребенникова, Н.В. Овчарова // Вестник Алтайской науки. – 2014. – № 4. – С. 216-221.
21. Губанов, А.Г. Зелёный конвейер, его перспективы при использовании нетрадиционных кормовых культур для кормления КРС в Северном Зауралье / А.Г. Губанов // Современные тенденции развития науки и технологий : материалы междунар. конф., г. Белгород, 31 августа 2015 г. – Белгород, 2015. – С. 63-68.
22. Дабабне, М.Ф. С. Элементный состав травы хатьмы, листьев подорожника ланцетного и цветков пижмы, заготовленных в Украине и Иордании / М.Ф.С. Дабабне // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2009. – Vol. 4. – № 4. – Р. 36-38.
23. Демьянова, Е.И. Ботаническое ресурсоведение : учеб. пособие по спецкурсу / Е.И. Демьянова. – Пермь : Перм. гос. ун-т, 2007. – 172 с.
24. Докукин, Ю.В. Влияние минеральных удобрений на нектарную и пыльцевую продуктивность хатьмы тюрингенской / Ю.В. Докукин // Сборник научно-исследовательских работ по пчеловодству. – Рыбное, 2016. – С. 141-143.
25. Докукин, Ю.В. Возделывание медоносной культуры хатьмы тюрингенской (*Lavatera thuringiaca* L.) / Ю.В. Докукин // Пчеловодство холодного и умеренного климата : материалы IV Междунар., VI Всерос. науч.-практ. конф., г. Псков, 2-3 сентября 2016 г. – Москва, 2016. – С. 27-29.
26. Докукин, Ю.В. Выделение нектара и посещаемость медоносными пчелами хатьмы тюрингенской в течение суток / Ю.В. Докукин // Биотехнологические аспекты развития современного пчеловодства : материалы II Междунар. науч.-практ. конф., г. Киров, 3-4 марта 2015 г. – Киров, 2015. – С. 45-47.
27. Докукин, Ю.В. Повышение всхожести семян хатьмы тюрингенской / Ю.В. Докукин // Успехи апитерапии : материалы XVI Всерос. конф., г. Рыбное, 5-6 октября 2012 г. – Рыбное, 2012. – С. 233-235.
28. Докукин, Ю.В. Хатьма тюрингенская – перспективное кормовое растение / Ю.В. Докукин // Научное сопровождение инновационного развития

агропромышленного комплекса: теория, практика, перспективы : материалы 65-й Междунар. науч.-практ. конф., г. Рязань, 20-21 мая 2014 г. – Рязань, 2014. – С. 86-88.

29. Дроздова, И.Л. Фармакогностическое изучение некоторых представителей семейства Мальвовых : дис. ... канд. фарм. наук : 15.00.02 / И. Л. Дроздова. – Курск, 2000. – 234 с.

30. Евсеева, Н.Н. Перспективы восстановления численности некоторых охраняемых растений : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.05 / Н.Н. Евсеева. – Москва, 2003. – 18 с.

31. Евстигнеев, О.И. Флора сосудистых растений заповедника «Брянский лес» / О.И. Евстигнеев, Ю.П. Федотов. – Брянск : Группа компаний «Десяточка», 2007. – 106 с.

32. Елисеева, Л.М. Цитологическая характеристика эпидермы некоторых представителей семейства мальвовые (*Malvaceae* Juss.) / Л.М. Елисеева, М.А. Галкин, Е.А. Елисеева // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сб. науч. тр. – Пятигорск, 2012. – Вып. 67. – С. 34-36.

33. Зокиров, Р.С. Из истории зеленых насаждений и интродукции в Республике Таджикистан / Р.С. Зокиров // Вестник Таджикского государственного университета права, бизнеса и политики. – 2011. – № 2. – С. 119-125.

34. Изучение противовоспалительной активности полисахаридных фракций древесной зелени и шишек ели обыкновенной / Д.К. Гуляев, Н.В. Лялина, И.П. Рудакова и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1. – С. 237.

35. Изучение фармакологической активности полисахаридов хатьмы тюрингенской (*Lavatera thuringiaca* L.) и сиды многолетней (*Sida napaea* Cav.) / В.Г. Беликов, Л.М. Макарова, С.В. Меньков и др. // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сб. науч. тр. – Пятигорск, 2007. – Вып. 62. – С. 438-440.

36. Изучение флоры лесостепной зоны Западной Сибири как источника биологически активных соединений / Г.И. Высочина, Т.А. Кукушкина, О.В. Коцупий и др. // Сибирский экологический журнал. – 2011. – № 2. – С. 273-284.
37. Интродукция некоторых видов рода *Lavatera* L. (сем. *Malvaceae* Juss.) в Восточной Грузии / М.Н. Мучаидзе, Э.В. Гогиташвили, С.Ш. Читашвили и др. // Роль ботанических садов и дендрариев в сохранении, изучении и устойчивом использовании разнообразия растительного мира : материалы Междунар. науч. конф., посвящ. 85-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси, г. Минск, Беларусь, 6-8 июня 2017 г. : в 2 ч. Ч. 1. – Минск, 2017. – С. 197-201.
38. Интродукция растений природной флоры СССР : справочник / А.К. Скворцов, Н.В. Трулевич, З.Р. Алферова и др. – Москва : Наука, 1979. – 250 с.
39. Исследование химического состава серпухи венценосной, культивируемой в Сибири / А.С. Ангаскиева, В.Ю. Андреева, Г.И. Калинкина и др. // Химия растительного сырья. – 2003. – № 4. – С. 47-50.
40. Ишмуратова, М.Ю. Оценка успешности интродукции лекарственных растений коллекции Жезказганского ботанического сада (Республика Казахстан) / М.Ю. Ишмуратова // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии : сб. науч. ст. по материалам Двенадцатой междунар. науч.-практ. конф., г. Барнаул, 28-30 октября 2013 г. – Барнаул, 2013. – С. 126-128.
41. 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.
42. Карманов, А.П. Применение ИК-Фурье-спектроскопии для исследования лигнинов травянистых растений / А.П. Карманов, О.Ю. Деркачева // Химия растительного сырья. – 2012. – № 1. – С. 61-70.

43. Кирьякова, В.О. Фармакогностическое изучение некоторых видов рода *Urtica*, произрастающих на территории Алтайского края : дис. ... канд. фарм. наук : 14.04.02 / В. О. Кирьякова. – Барнаул, 2013. – 191 с.
44. Ковганов, В.Ф. Биолого-морфологические и хозяйственные признаки хатьмы тюрингенской (*Lavatera thuringiaca* L.) / В.Ф. Ковганов // Молодёжь и инновации – 2015 : материалы Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых, г. Горки, 27-29 мая 2015 г. – Горки, 2016. – С. 98-100.
45. Кожевников, А.Е. *Lavatera thuringiaca* L. (Malvaceae) – новый вид для адвентивной флоры российского Дальнего Востока / А.Е. Кожевников, З.В. Кожевникова // Бюллетень московского общества испытателей природы. Отдел биологический. – 2012. – № 6. – С. 82-83.
46. Коноплёва, М.М. Фармакогнозия: природные биологически активные вещества / М.М. Коноплёва. – Витебск : Витебский гос. мед. ун-т, 2010. – 234 с.
47. Кормовая ценность дикорастущих и культурных видов растений для целей интродукции / Д.Б. Бердыев, В.С. Горбунов, В.В. Маевский и др. // Вестник Курган-Тюбинского государственного университета имени Носира Хусрава. – 2016. – № 2-1 (36). – С. 84-88.
48. Корольков И.И. Перколяционный гидролиз растительного сырья / И.И. Корольков. – 3-е изд., перераб. – Москва : Лесная промышленность, 1990. – 272 с.
49. Королюк, А.Ю. Степная растительность (*Festuco-Brometea*) предгорий Западного Алтая / А.Ю. Королюк // Растительность России. – 2007. – № 10. – С. 38-60.
50. Королюк, Е.А. Красильные растения Алтая и сопредельных территорий / Е.А. Королюк // Химия растительного сырья. – 2003. – № 1. – С. 101-135.
51. Кочетков, И.И. Интродукция хатьмы тюрингенской (*Lavatera thuringiaca* L.) в Республике Беларусь / И.И. Кочетков, В.Ф. Ковганов // Сборник научных статей по материалам XVI Междунар. студенческой науч. конф. – Гродно, 2015. – С. 26-28.

52. Крестовская, Т.В. Обзор семейства Мальвовых (*Malvaceae*) Центральной Азии / Т.В. Крестовская // Новости систематики высших растений. – 2015. – № 46. – С. 134-146.
53. Кусова, Р.Д. Определение числовых показателей и полисахаридов в сырье *Althaea officinalis* L. территории РСО-Алания / Р.Д. Кусова, Д.Х. Сикоева // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2015. – № 2. – С. 244-248.
54. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / В.В. Миньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая и др. – Москва : Медицина, 1987. – 368 с.
55. Лабутина, М.В. Состояние популяции хатмы тюрингенской (*Malvaceae*) в окрестностях г. Саранска Республики Мордовия / М.В. Лабутина // Видовые популяции и сообщества в антропогенно трансформированных ландшафтах: состояние и методы его диагностики : материалы XI Междунар. науч.-практ. эколог. конф., г. Белгород, 20-26 сентября 2010 г. – Белгород, 2010. – С. 79-80.
56. Лаватера тюрингенская [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://lektrava.ru/encyclopedia/lavatera-tyuringenskaya/> – Загл. с экрана.
57. Лавренев, В.К. Современная энциклопедия лекарственных растений / В.К. Лавренев, Г.В. Лавренова. – Москва : ЗАО «ОЛМА Медиа Групп», 2007. – 272 с.
58. Лобанова, И.Ю. Выделение и изучение состава флавоноидов листьев осины обыкновенной / И.Ю. Лобанова, В.Ф. Турецкова // Химия растительного сырья. – 2011. – № 2. – С. 117-122.
59. Ложкин, Ю.Г. Разработка состава и технологии комплексных противокашлевых препаратов природного происхождения : дис. ... канд. фарм. наук : 14.04.01 / Ю.Г. Ложкин. – Москва, 2015. – 145 с.
60. Марчишин, С.М. Определение гидроксикоричных кислот в антиаллергическом сборе методом ВЭЖХ / С.М. Марчишин, С.С. Соломия // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2013. – № 4. – С. 70-76.

61. Матвеева, Т.Б. Комплексная характеристика пригородных лесов окрестностей Самары : дис. ... канд. биол. наук : 03.02.08 / Т.Б. Матвеева. – Саратов, 2015. – 268 с.
62. Махлаюк, В.П. Лекарственные растения в народной медицине / В.П. Махлаюк. – Саратов : Приволж. кн. изд-во, 1993. – 544 с.
63. Меньков, С.В. Сравнительная оценка методик количественного определения пектиновых веществ в растительном сырье / С.В. Меньков // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сб. науч. тр. – Пятигорск, 2006. – Вып. 61. – С. 250-251.
64. Методика определения запасов лекарственных растений / [разраб. А.И. Шретер и др.]. – Москва : ЦБНТИлесхоз, 1986. – 52 с.
65. Мукалтин (Mucaltin) [Электронный ресурс] // Регистр лекарственных средств России: энциклопедия лекарств и товаров аптечного ассортимента [сайт]. – Режим доступа : https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_4806.htm – Загл. с экрана.
66. Мызникова, О.А. Изучение антоцианов хатьмы 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.
67. Мызникова, О.А. Изучение кумаринов хатьмы 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.
68. Мызникова, О.А. Количественное определение флавоноидов в различных органах хатьмы 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.

69. Мызникова, О.А. Определение оптимального растворителя для извлечения комплекса биологически активных соединений травы хатьмы 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.
70. Никитина, А.С. Полисахариды змееголовника молдавского, культивируемого в условиях Ставропольского края / А.С. Никитина, О.И. Попова // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. : Химия. Биология. Фармация. – 2006. – № 2. – С. 327-329.
71. Николенко, А.Р. Фитохимическое изучение алтея корней и хатьмы 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.
72. Олейникова, Е.М. Стержнекорневые травы юго-востока Средней России : дис. ... д-ра биол. наук : 03.02.01 / Е.М. Олейникова. – Воронеж, 2014. – 452 с.
73. Павлова, И.В. Растения для природного сада из коллекции флоры Средней Азии ГБС РАН / И.В. Павлова, О.Е. Воронина // Цветоводство: история, теория, практика : материалы VII Междунар. науч. конф., г. Минск, Беларусь, 24-26 мая 2016 г. – Минск, 2016. – С. 333-335.
74. Параева, Л.К. Медоносные растения Западной Сибири / Л.К. Параева. – Новосибирск : Зап.-Сиб. кн. изд-во, 1970. – 167 с.
75. Перова, И.Б. Исследование содержания и специфического профиля антоцианинов лекарственного растительного сырья : дис. ... канд. фарм. наук : 14.04.02 / И.Б. Перова. – Москва, 2015. – 171 с.
76. Перспективы использования растительных полисахаридов в качестве лечебных и лечебно-профилактических средств / Н.А. Криштанова, М.Ю. Сафонова, В.Ц. Болотова и др. // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. : Химия. Биология. Фармация. – 2005. – № 1. – С. 212–221.

77. Петровская, М.И. Фитопрепараты в лечении воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей / М.И. Петровская, Т.В. Куличенко // Педиатрическая фармакология. – 2012. – № 1. – С.104-108.
78. Позднякова, Т.А. Количественное определение функциональных групп пектиновых веществ травы герани сибирской (*Geranium sibiricum* L.) / Т.А. Позднякова, Р.А. Бубенчиков // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 11. – С. 110-113.
79. Попов, П.Л. Виды растений, применявшиеся при вирусных болезнях человека и животных: закономерности распределения в филогенетической классификационной системе / П.Л. Попов // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – 2008. – № 3. – С. 17-64.
80. Потенциальные высокотехнологичные кластеры в российских регионах: от текущей политики к новым точкам роста / С. Земцов, В. Барина, А. Панкратов и др. // Форсайт. – 2016. – Т. 10, № 3. – С. 34-52.
81. Природные флавоноиды / Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, Р.А. Музычкина и др. – Новосибирск : Акад. изд-во «Гео», 2007. – 232 с.
82. Разработка состава и технологии твердой лекарственной формы противокашлевого действия / О.А. Семкина, Н.Ю. Отц, Е.Ю. Бабаева и др. // Сборник научных тезисов и статей «Здоровье и образование в XXI веке». – 2009. – № 2. – С. 132-133.
83. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств : в 2 ч. Ч.1 / под ред. А.Н. Миронова. – Москва : Гриф и К, 2012. – 944 с.
84. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. – 2 изд., перераб. и доп. – Москва : Медицина, 2005. – 832 с.
85. Самойлова, З.Ю. Микробные тест-системы для оценки антиоксидантной активности экстрактов растений / З.Ю. Самойлова, Г.В. Смирнова // Проблемы биоэкологии и пути их решения. Вторые Ржавитинские чтения : материалы Междунар. конф., г. Саранск, 15-18 мая 2008 г. – Саранск, 2008. – С. 420-421.

86. Сампиев, А.М. Кукурузные рыльца: от выявления действующих веществ до создания технологии малоотходной переработки сырья. Сообщение 1. Проблема нормирования качества и получения фитопрепаратов, ориентированных на содержание действующих веществ. Фитохимия кукурузных рылец как первый этап в установлении действующих веществ / А.М. Сампиев, Е.Б. Никифорова, М.Р. Хочава // Кубанский научный медицинский вестник. – 2006. – № 12. – С. 106-110.
87. Самылина, И.А. Алтей лекарственный (*Althaea officinalis* L.) / И.А. Самылина, А.А. Сорокина, Н.В. Пятигорская // Фарматека. – 2010. – № 4. – С. 78-79.
88. Сида многолетняя (*Sida paraea* Cav.) и хатьма тюрингенская (*Lavatera thuringiaca* L.) – перспективное растительное сырьё / В.Г. Беликов, С.В. Меньков, Л.П. Овчаренко и др. // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2007. – Вып. 62. – С. 16-18.
89. Силантьева, М.М. Конспект флоры Алтайского края / М.М. Силантьева. – Барнаул : Изд-во Алт. гос. ун-та, 2013. – 520 с.
90. Сотник, В.Г. Декоративные растения и их классификации / В.Г. Сотник, Л.П. Назарова // Царскосельские чтения. – 2015. – № 19. – С. 412-414.
91. Сошникова, О.В. Аминокислоты петрушки огородной / О.В. Сошникова, В.Я. Яцюк, Е.Г. Маркина // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции : сб. науч. тр. – Пятигорск, 2009. – Вып. 64. – С. 107-108.
92. Спирина, В. З. Черноземы антропогенных ландшафтов Бийско-Чумышской возвышенности / В.З. Спирина, К.О. Аллачева, Т.О. Храпач // Современные проблемы географии и геологии : материалы III Междунар. науч.-практ. конф. с элементами школы-семинара для студентов, аспирантов и молодых учёных, г. Томск, 11-12 ноября 2014 г. – Томск, 2014. – С. 75-78.

93. Тернинко, И.И. Изучение анатомических признаков растений семейства Мальвовых в сравнительном аспекте / И.И. Тернинко, У.Е. Онищенко // Рецепт. – 2013. – № 1. – С. 31-40.
94. Тонкослойная хроматография флавоноидов на силикагеле в модифицированных мицеллярных подвижных фазах на основе додецилсульфата натрия / Е.Г. Сумина, С.Н. Штыков, О.Н. Сорокина и др. // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2014. – Т. 14, Вып. 1. – С. 52-64.
95. Тринеева, О.В. Применение различных методов при определении дубильных веществ в листьях крапивы / О.В. Тринеева, А.И. Сливкин // Фармация. – 2014. – № 1. – С. 16-19.
96. Тыняная, И.И. Разделение, концентрирование и анализ антоцианов и бетацианинов в экстрактах растительного сырья с применением оптических и хроматографических методов : дис. ... канд. хим. Наук : 02.00.02 / И.И. Тыняная. – Белгород, 2015. – 147 с.
97. Фармакология некрахмальных полисахаридов / Ю.С. Хотимченко, И.М. Ермак, А.Е. Бедняк и др. // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. – 2005. – № 1. – С.72-82.
98. Фаттахов, В.В. Нужна ли эрадикация *Helicobacter pilory* при язвенной болезни желудка? / В.В. Фаттахов, Н.И. Ханнанов, М.Н. Насруллаев и др. // Вестник современной клинической медицины. – 2010. – Т. 3. – С. 188-189.
99. Федосеева, Г.П. Оптимизация системы озеленения Екатеринбурга / Г.П. Федосеева, Т.С. Благодаткова, Т.Ф. Оконешникова // Известия Иркутского государственного университета. – 2011. – № 2. – С. 94-108.
100. Федосеева, Л.М. Изучение дубильных веществ подземных и надземных вегетативных органов бадана толстолистного, произрастающего на Алтае / Л.М. Федосеева // Химия растительного сырья. – 2005. – № 2. – С. 45-50.
101. 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.

102. 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.

103. Федосеева, Л.М. Изучение некоторых фенольных соединений крапивы коноплевой травы, произрастающей на территории Алтайского края / Л.М. Федосеева, В.О. Кирьякова // Химия растительного сырья. – 2012. – № 2. – С. 133-138.

104. Федосеева, Л.М. Изучение некоторых фенольных соединений хатьмы 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.

105. Федосеева, Л.М. Изучение полисахаридного комплекса хатьмы тюрингенской травы, произрастающей на территории Алтайского края / Л.М. Федосеева, О.А. Мызникова // Бюллетень медицинской науки. – 2017. – № 4 (8). – С. 39-42.

106. 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.

107. 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.

108. 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.

109. Федосеева, Л.М. Количественное определение полисахаридов в хатме 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.

110. 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.

111. Федосеева, Л.М. Определение показателей доброкачественности хатмы 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.

112. Федосеева, Л.М. Определение состава БАС хатмы 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.

113. Флора и растительность Алтая : тр. Юж.-Сиб. ботан. сада : в 12 т. Т. 12 / отв. ред. А. И. Шмаков. – Барнаул : АРТИКА, 2008. – 270 с.

114. Флора СССР: в 30 т. Т. 15 / под гл. ред. В. Л. Комарова.– Москва, Ленинград : Изд-во АН СССР, 1949. – 742 с.

115. Фомина, Т.И. Ритмологические особенности видов весенне-летнезеленого феноритмотипа / Т.И. Фомина // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2016. – № 3 (137). – С. 30-35.

116. Химический анализ лекарственных растений : учеб. пос. для фармац. вузов / под ред. Н.И. Гринкевич. – Москва : Высшая школа, 1983. – 176 с.
117. Хисамов, Р.Р. Потенциал и перспективы использования недревесных ресурсов леса в Республике Башкортостан : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 03.02.01 / Р.Р. Хисамов. – Оренбург, 2010. – 40 с.
118. Хрусталева, И.А. Конспект флоры Кулундинского ленточного бора (высшие сосудистые растения) / И.А. Хрусталева // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. – 2011. – № 17. – С. 115-130.
119. Цветков, М.Л. Интенсификация процессов биологизации земледелия с использованием медоносной пчелы / М.Л. Цветков, Д.М. Панков, Д.А. Пугач // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2011. – № 6. – С. 40-45.
120. Цыдендамбаев, П.Б. Биологические эффекты флавоноидов / П.Б. Цыдендамбаев, Б.С. Хышиктуев, С.М. Николаев // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2006. – № 6. – С. 229-233.
121. Черников, В.В. Применение препаратов растительного происхождения для лечения кашля у детей / В.В. Черников // Педиатрическая фармакология. – 2012. – № 6. – С.105-109.
122. Черных, О.А. Флора Бийска Алтайского края и его окрестностей / О.А. Черных, Т.А. Терёхина // Известия Алтайского государственного университета. – 2013. – № 3. – С. 115-119.
123. Шабанова, Г.А. Дикорастущие хозяйственно-ценные растения заповедника «Ягорлык» / Г.А. Шабанова, Т.Д. Изверская, В.С. Гендов. – Кишинев : Есо-TIRAS, 2012. – 264 с.
124. Шорина, А.А. Растительный покров города Заринска / А.А. Шорина, Т.А. Терёхина // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2008. – № 9 (47). – С. 30-33.

125. Щемелинина, Т.В. Содержание аскорбиновой и органических кислот в траве донника лекарственного / Т.В. Щемелинина, А.А. Сорокина // Фармация. – 2015. – № 2. – С. 22-23.
126. Электронный каталог сосудистых растений Азиатской России [Электронный ресурс] : [сайт]. – Режим доступа : <http://www.nsc.ru/win/elbib/atlas/flora/4100.html>
127. Юкало, Т.Н. Большой справочник народной медицины: 2000 рецептов / Т.Н. Юкало. – Донецк : Изд. центр «Кредо», 2008. – 384 с.
128. Al-Snafi, A. E. The pharmaceutical importance of *Althaea officinalis* and *Althaea rosea* : a review / Ali Esmail Al-Snafi // International Journal of PharmTech Research. – 2013. – Vol. 5, № 3 (July-September). – P. 1378-1385.
129. Azimova, S.S. Lipids, lipophilic components and essential oils from plant sources / Shakhnoza S. Azimova, Anna I. Glushenkova, Valentina I. Vinogradova (Eds.). – New York-Dordrecht-Heidelberg-London : Springer Science & Business Media, 2011. – 992 p.
130. Banaee, M. Therapeutic effects of marshmallow (*Althaea officinalis* L.) extract on plasma biochemical parameters of common carp infected with *Aeromonas hydrophila* / Mahdi Banaee, Vahid Soleimany, Behzad Nematdoost Haghi // Veterinary Research Forum. – 2017. – Vol. 8, № 2. – P. 145-153.
131. Barbash, V. Peracetic acid pulp from annual plants / Valerii Barbash, Vita Poyda, Irina Deykun // Cellulose Chemistry and Technology. – 2011. – Vol. 45, № 9. – P. 613-618.
132. Brandes, D. *Lavatera thuringiaca* L. und ihre Vergesellschaftung im Harzvorland (Deutschland) / Dietmar Brandes // Braunschweiger Naturkundliche Schriften. – 2000. – Vol. 6, № 1. – P. 219-225.
133. Budzeń, M. Effect of pre-sowing laser treatment of seed on the biomass yield and energy value of *Lavatera Thuringiaca* L. plant / Malgorzata Budzeń, Agnieszka Sujak, Dariusz Wiącek // Teka Commission of Motorization and Power Industry in Agriculture. – 2016. – Vol. 16, № 4. – P. 3-6.

134. Cisowska, A. Anthocyanins as antimicrobial agents of natural plant origin / Agnieszka Cisowska, Dorota Wojnicz, Andrzej B. Hendrich // *Natural Product Communications*. – 2011. – Vol. 6, № 1. – P. 149-156.
135. Christensen, P. B. Pollen morphological studies in the *Malvaceae* / Pia Bro Christensen // *Grana*. – 2009. – Vol. 25, № 2. – P. 95-117.
136. Foster, J. Bumblebees learn polarization patterns / James J. Foster, Camilla R. Sharkey, Alicia V. A. Gaworska, et al. // *Current Biology*. – 2014. – Vol. 24, № 12. – P. 1415-1420.
137. Gossler, R. The Gossler guide to the best hardy shrubs: more than 350 expert choices for your garden / Roger Gossler, Eric Gossler, Marjory Gossler. – Portland-London : Timber Press, 2009. – 204 p.
138. Grzesik, M. Quality of seeds as a key to commodity cultivation of *Lavatera thuringiaca* L. – plants with high potential for multi-directional use / Mieczysław Grzesik, Zdzisława Romanowska-Duda, Regina Janas // *Acta Innovations*. – 2015. – № 15. – P. 5-12.
139. Kähkönen, M. P. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons / Marja P. Kähkönen, Marina Heinonen // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2003. – Vol. 51, № 3. – P. 628-633.
140. Kolomiets, I. Evolutionary details of anthocyanin-coloring formation of corolla of flowering plants / Irina Kolomiets // *Ecoterra - Journal of Environmental Research and Protection*. – 2015. – Vol. 12, № 4. – P. 1-7.
141. Kong, J.-M. Analysis and biological activities of anthocyanins / Jin-Ming Kong, Lian-Sai Chia, Ngoh-Khang Goh, et al. // *Phytochemistry*. – 2003. – Vol. 64, № 5. – P. 923-933.
142. Mabry, T. J. The systematic identification of flavonoids / Tom J. Mabry, Kenneth R. Markham, Michael Barrie Thomas. – Berlin-Heidelberg-New York : Springer Verlag, 1970. – 354 p.
143. Mašković, P. Antioxidant and anti-cancer potentials of *Lavatera thuringiaca* L. extracts / Pavle Z. Mašković, Marija Radojković, Vesna Veličković, et al. // *The Fifteenth*

Annual Conference YUCOMAT 2013: Programme and the Book of Abstracts. – Montenegro, 2013. – P. 143.

144. Mašković, P. Biological activity and chemical profile of *Lavatera thuringiaca* L. extracts obtained by different extraction approaches / Pavle Z. Mašković, Vesna Veličković, Sasha Đurović, et al. // *Phytomedicine*. – 2018. – Vol 38, №1. – P. 118-124.

145. Matławska, I. Flavonoid compounds in *Lavatera thuringiaca* L. (*Malvaceae*) flowers / Irena Matławska, Maria Sikorska, Wiesława Byłka // *Acta Poloniae Pharmaceutica*. – 1999. – Vol. 56, № 6. – P. 453-458.

146. Nowak, R. Separation and quantification of tiliroside from plant extracts by SPE/RP-HPLC / Renata Nowak // *Pharmaceutical Biology*. – 2003. – Vol. 41, № 8. – P. 627-630.

147. Pawlat, J. Effects of atmospheric pressure plasma generated in GlidArc reactor on *Lavatera thuringiaca* L. seeds' germination / Joanna Pawlat, Agnieszka Starek, Agnieszka Sujak, et al. // *Plasma Processes and Polymers*. – 2017. – Режим доступа : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/ppap.201700064>

148. ProntoSIL HPLC Columns : [Bischoff Chromatography Product Catalog] [Электронный ресурс] – Режим доступа : http://www.hplc.eu/Downloads/ProntoSIL_HPLC_Catalog.pdf

149. Ray, M. F. Systematics of *Lavatera* and *Malva* (*Malvaceae*, *Malveae*) – a new perspective / Martin Forbes Ray // *Plant Systematics and Evolution*. – 1995. – Vol. 198, Issue 1-2. – P. 29-53.

150. Roshangar, F. Effect of marshmallow's root extract on thyroid hormones in broilers / Fariborz Roshangar, Mehrdad Modaresi, Majid Toghyan // *Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology*. – 2014. – Vol. 7, № 1. – P. 161-164.

151. Ross, I. A. Medicinal plants of the world: chemical constituents, traditional and modern medicinal uses. Vol. 2 / Ivan A. Ross. – New York : Springer Science & Business Media, 2001. – 487 p.

152. Sendker, J. Phytochemical characterization of low molecular weight constituents from marshmallow roots (*Althaea officinalis*) and inhibiting effects of the aqueous extract

on human hyaluronidase-1 / Jandirk Sendker, Ines Böker, Isabelle Lengers, et al. // Journal of Natural Products. – 2017. – Vol. 80, № 2. – P. 290-297.

153. Sikorska, M. Polyphenolic compounds from *Abutilon grandiflorum* leaves / Maria Sikorska, Irena Matławska // Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research. – 2008. – Vol. 65, № 4. – P. 467-471.

154. Staszewski, Z. Thuringian mallow (*Lavatera Thuringiaca* L.) – an alternative crop for marginal conditions and wasted lands / Z. Staszewski, U. Staszewska // Breeding Fodder Crops for Marginal Conditions. Developments in Plant Breeding. Vol. 2. – Springer, Dordrecht, 1994. – P. 93-94.

155. Vazquez-Tello, A. Effect of $^{12}\text{C}^{+5}$ ion beam irradiation on cell viability and plant regeneration in callus, protoplasts and cell suspensions of *Lavatera thuringiaca* / Alejandro Vazquez-Tello, Takeshi Uozumi, Makoto Hidaka, et al. // Plant Cell Reports. – 1996. – Vol. 16, № 1-2. – P. 46-49.

156. Vazquez-Tello, A. Somatic embryogenesis and plant regeneration from isolated protoplasts of *Lavatera thuringiaca* / Alejandro Vazquez-Tello, Makoto Hidaka, Takeshi Uozumi // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1995. – Vol. 40, № 2. – P. 169-177.

157. Vellingiri, V. Distribution of flavonoids among *Malvaceae* family members: a review / Vadivel Vellingiri, Sriram Sridharan, Brindha Pemaiah // International Journal of Green Pharmacy. – 2016. – Vol. 10, № 1. – P. 33-45.

158. Wagner, H. Chromatographic fingerprint analysis of herbal medicines / Hildebert Wagner, Rudolf Bauer, Dieter Melchart, et al. (Eds.). – Wien-New York : Springer, 2011. – 1012 p.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

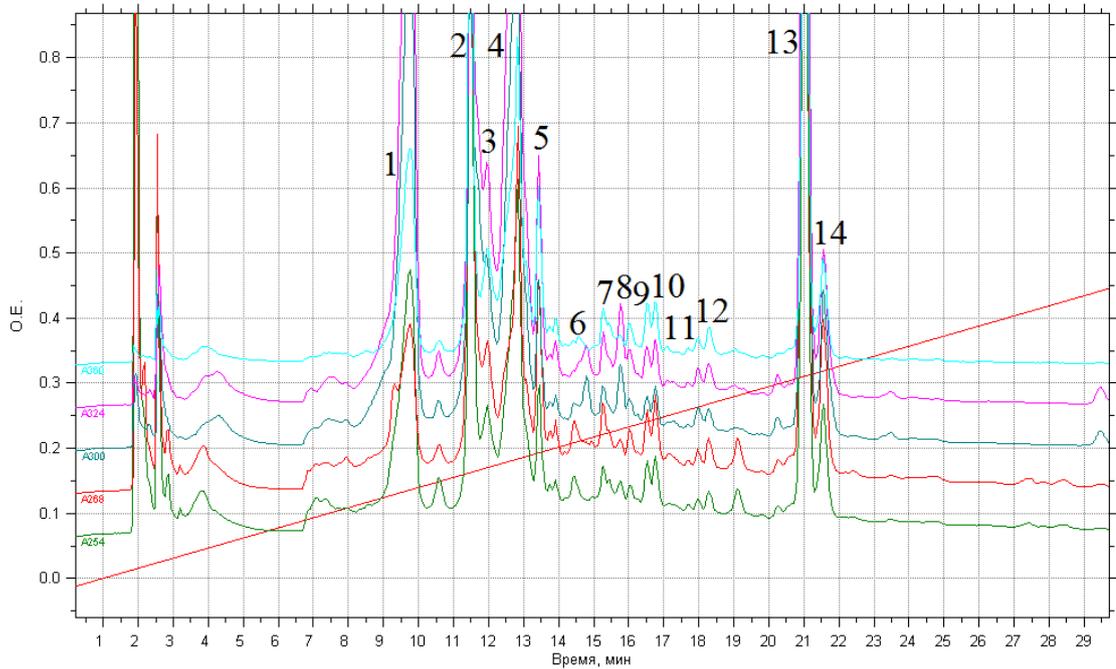
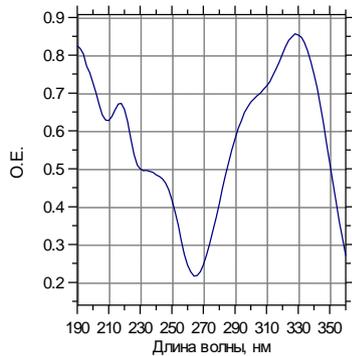
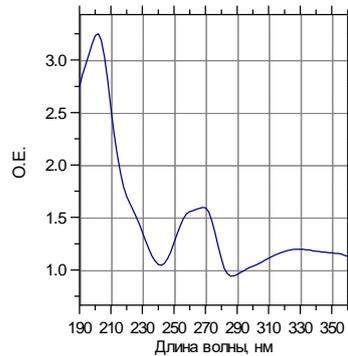


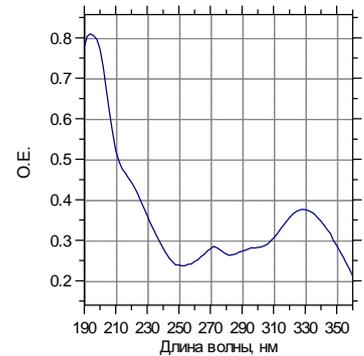
Рисунок 1 – Хроматограмма спиртового извлечения хатмы тюрингенской травы



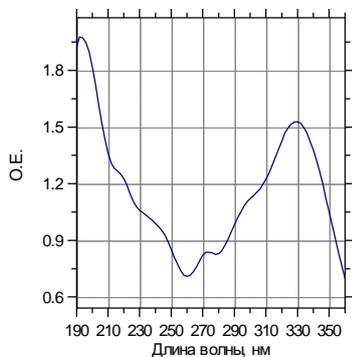
9,6 мин - производное хлорогеновой кислоты



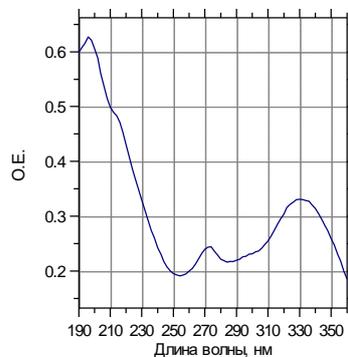
11,5 мин - флавоноид группы флавона



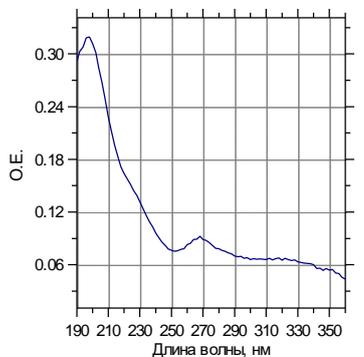
12,0 мин - соединение кумаринового ряда



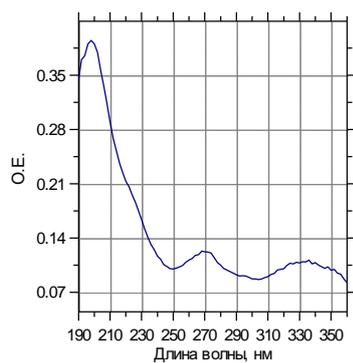
12,5 мин - соединение кумаринового ряда



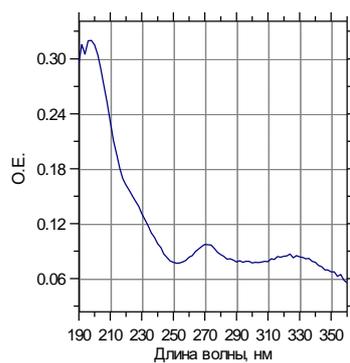
13,5 мин - соединение кумаринового ряда



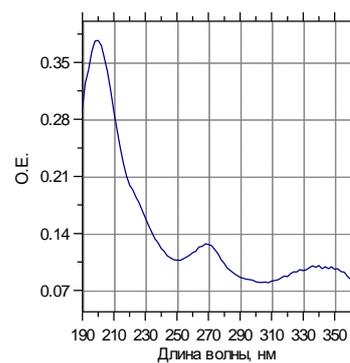
14,8 мин - производное катехина



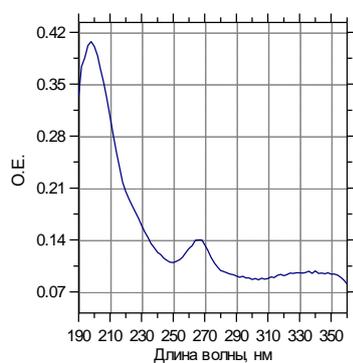
15,3 мин - флавоноид группы
флавона



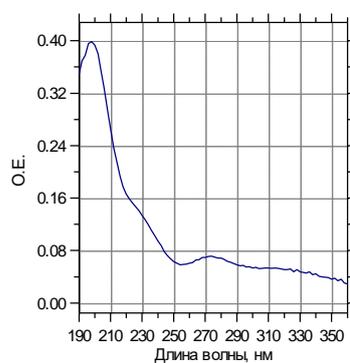
15,7 мин - флавоноид группы
флавона



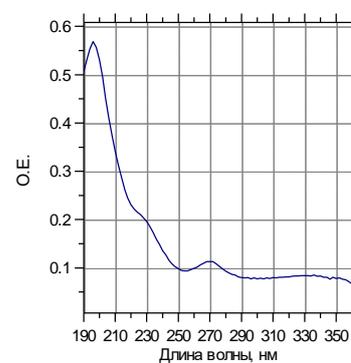
16,5 мин - флавоноид группы
флавона



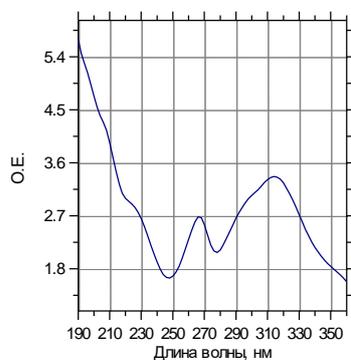
16,7 мин - флавоноид группы
флавона



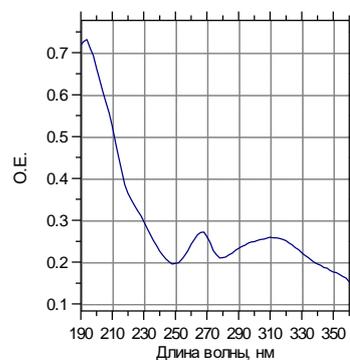
18,0 мин - производное
катехина



18,3 мин - производное
катехина



21,0 мин - флавоноид
группы флавона



21,5 мин - флавоноид
группы флавона

Рисунок 2 – Спектры поглощения фенольных соединений спиртового извлечения хатьмы тюрингенской травы

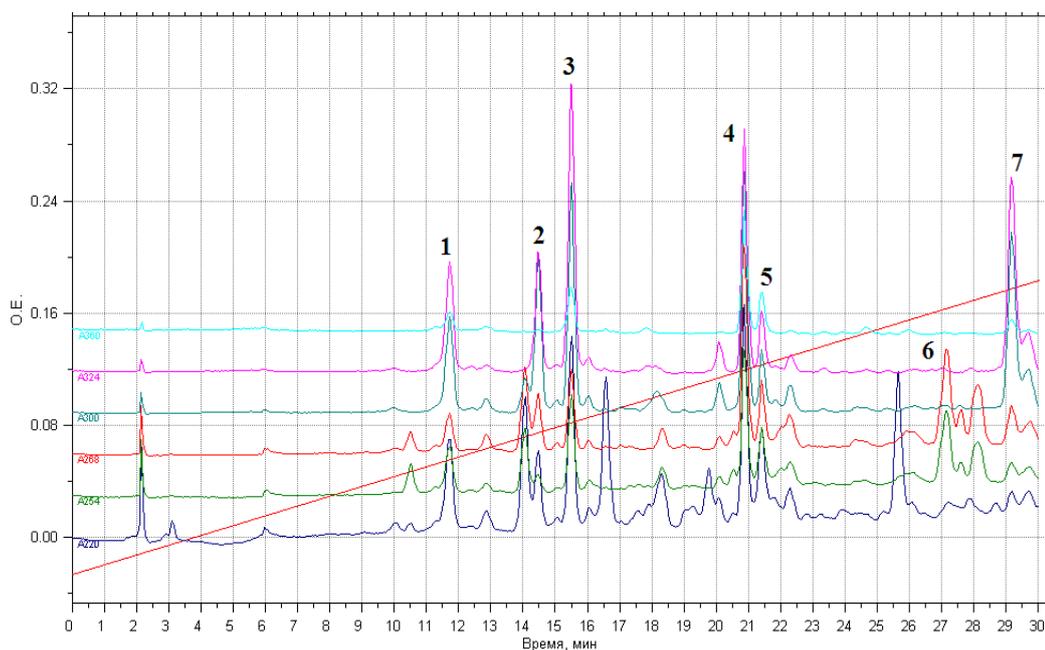
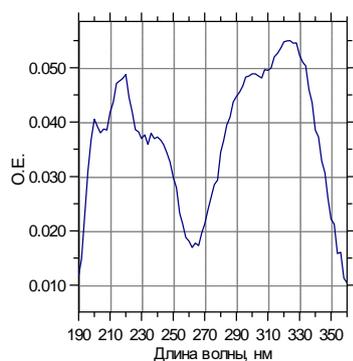
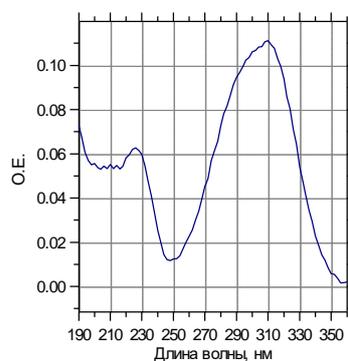


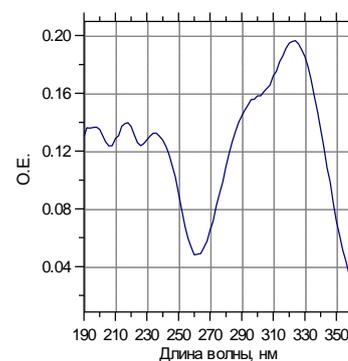
Рисунок 1 – Хроматограмма эфирной фракции спиртового извлечения хатмы тюрингенской травы



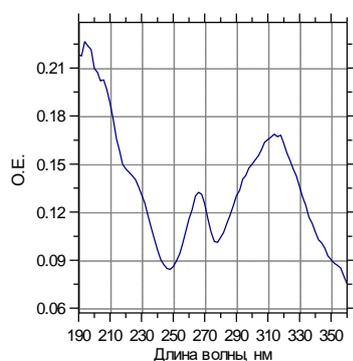
11,9 мин - кофейная кислота



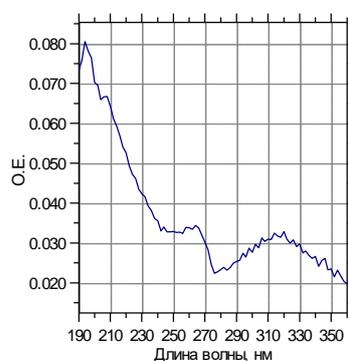
14,4 мин - производное
кумаровой кислоты



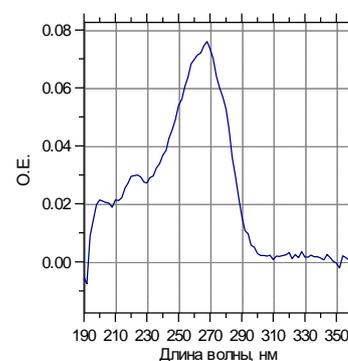
15,5 мин - производное
феруловой кислоты



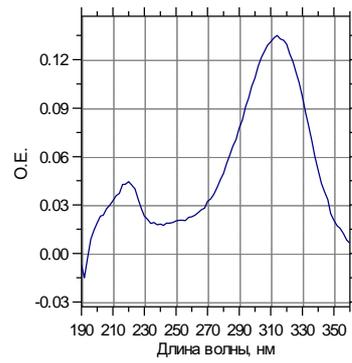
20,8 мин - агликон
триметоксифлавона



21,3 мин - агликон
флавона



27,2 мин - производное
изофлавона



29,2 мин - производное халкона

Рисунок 2 – Спектры поглощения фенольных соединений эфирной фракции спиртового извлечения хатмы тюрингенской травы

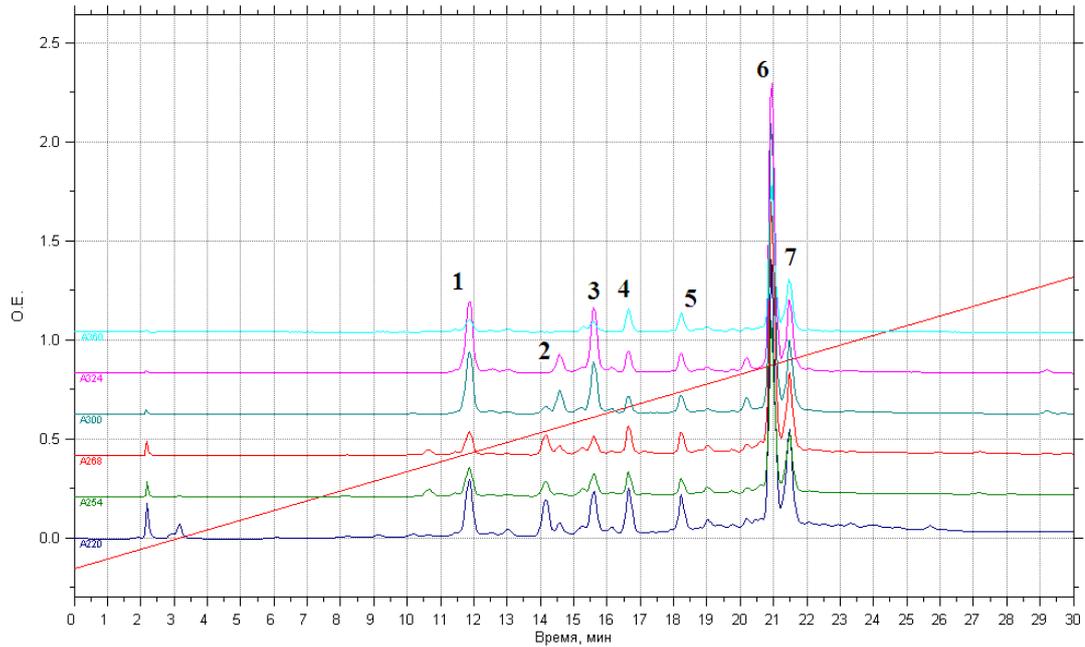
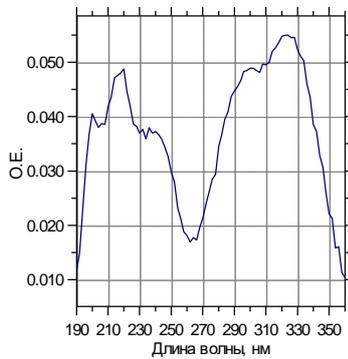
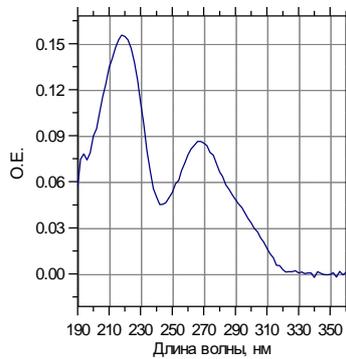


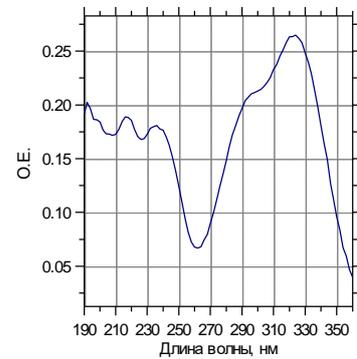
Рисунок 1 – Хроматограмма этилацетатной фракции спиртового извлечения хатмы тюрингенской травы



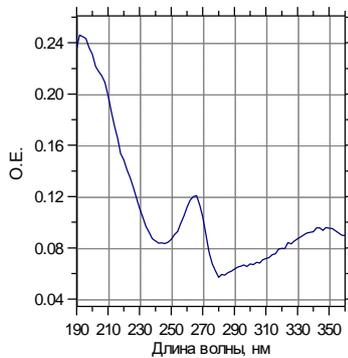
11,9 мин - кофейная кислота



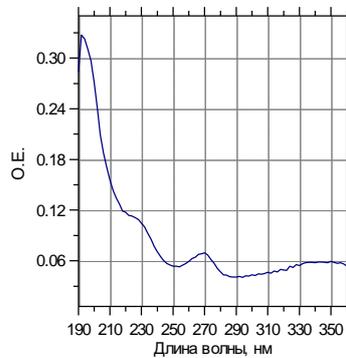
14,5 мин - производное галловой кислоты



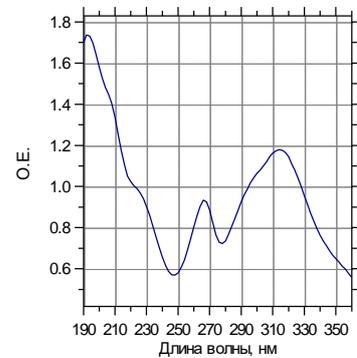
15,5 мин - производное феруловой кислоты



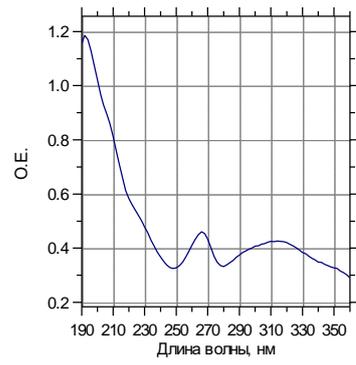
16,5 мин - флавоноид группы флавона



18,2 мин - флавоноид группы флавона



20,8 мин - агликон триметоксифлавона



21,3 мин - агликон флавонона

Рисунок 2 – Спектры поглощения фенольных соединений этилацетатной фракции спиртового извлечения хатмы тюрингенской травы

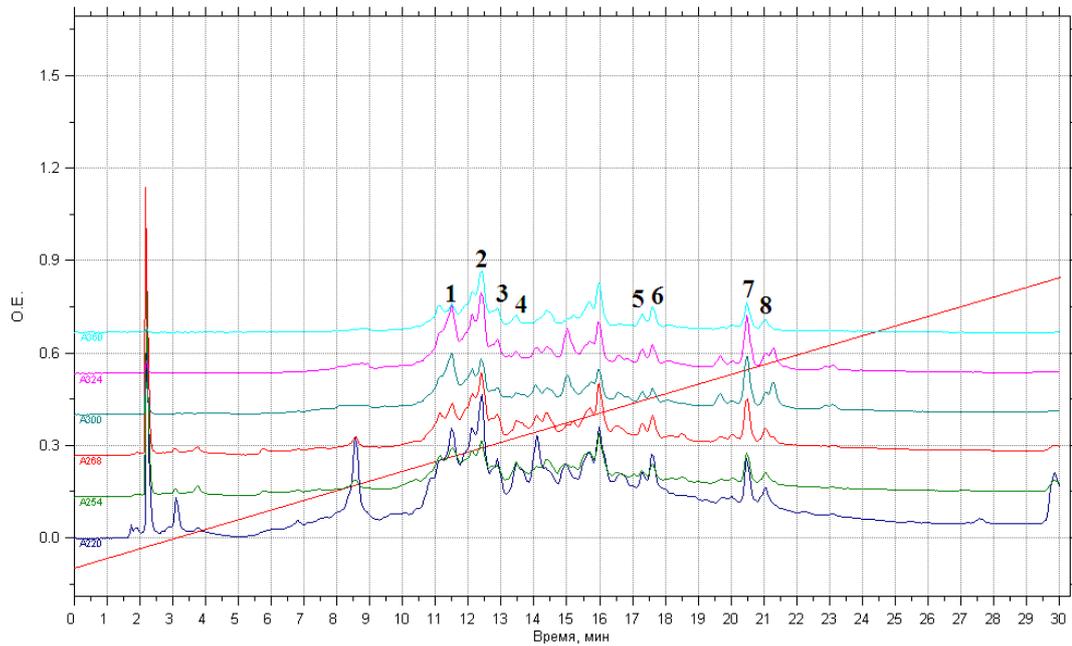
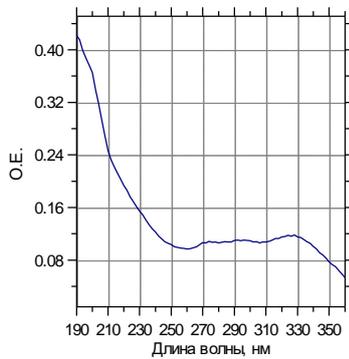
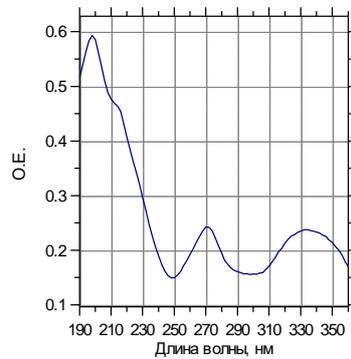


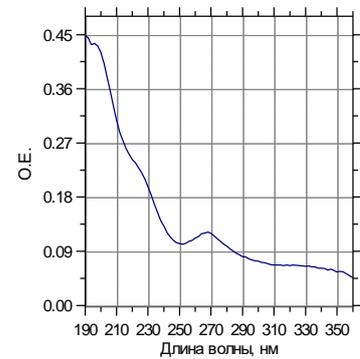
Рисунок 1 – Хроматограмма бутанольной фракции спиртового извлечения хатьмы тюрингенской травы



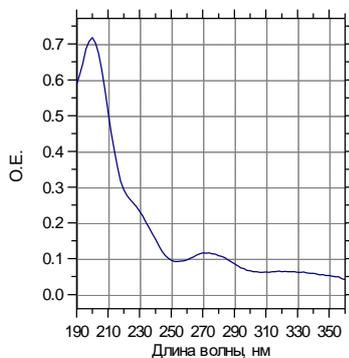
11,5 мин - производное катехина



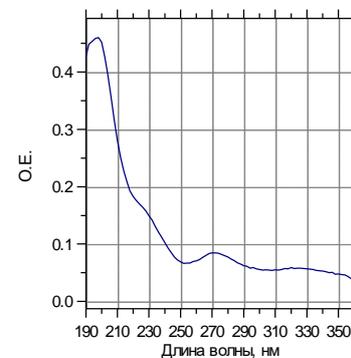
12,4 мин - производное апигенина



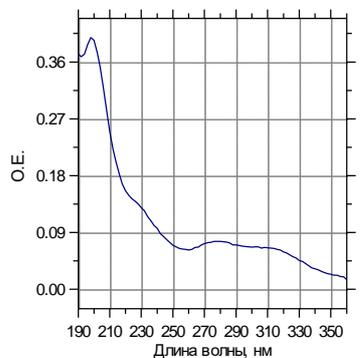
13,0 мин - производное катехина



13,5 мин - производное катехина



17,3 мин - производное катехина



17,6 мин - производное катехина

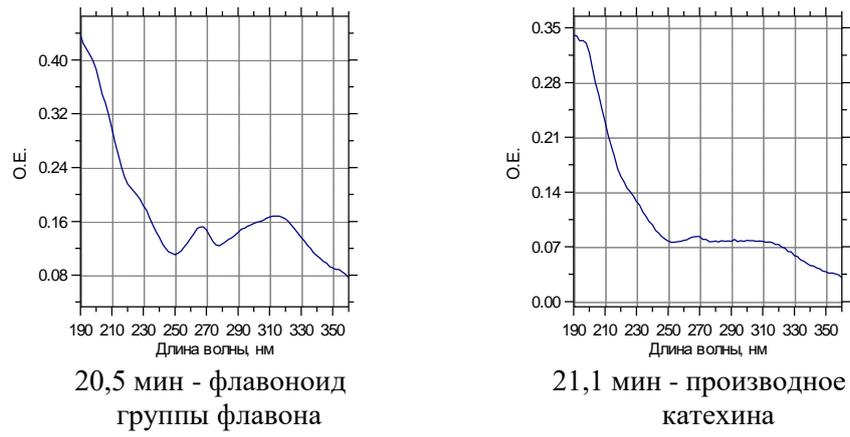


Рисунок 2 – Спектры поглощения фенольных соединений бутанольной фракции спиртового извлечения хатмы тюрингенской травы

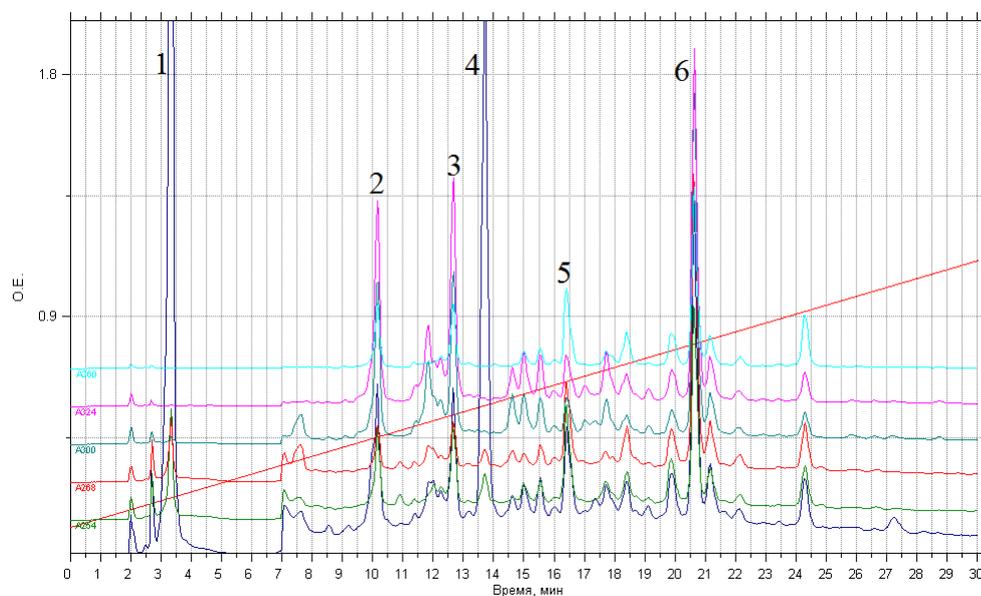
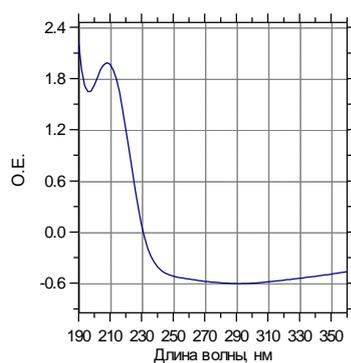
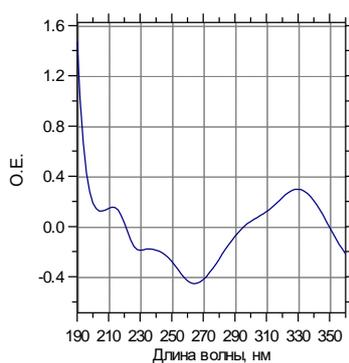


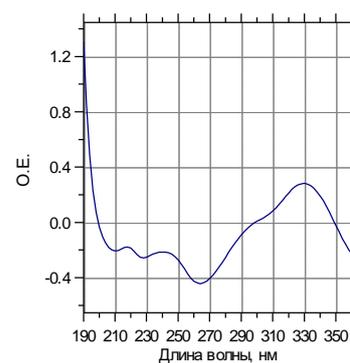
Рисунок 1 – Хроматограмма ректстракта гидролизата спиртового извлечения хатьмы тюрингенской травы



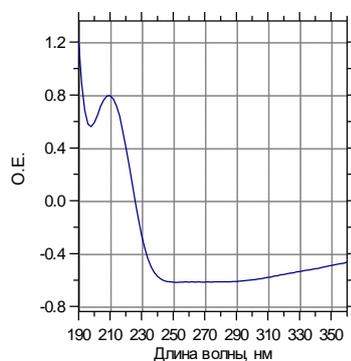
3,4 мин - соединение группы лигнина



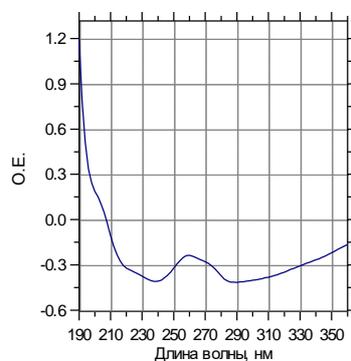
10,3 мин - хлорогеновая кислота



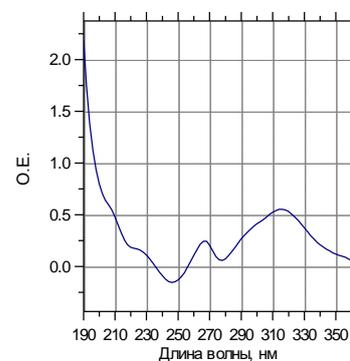
12,3 мин - производное феруловой кислоты



13,7 мин - соединение группы лигнина



16,4 мин - агликон флавонола



20,6 мин - агликон триметоксифлавонона

Рисунок 2 – Спектры поглощения продуктов кислотного гидролиза хатьмы тюрингенской травы

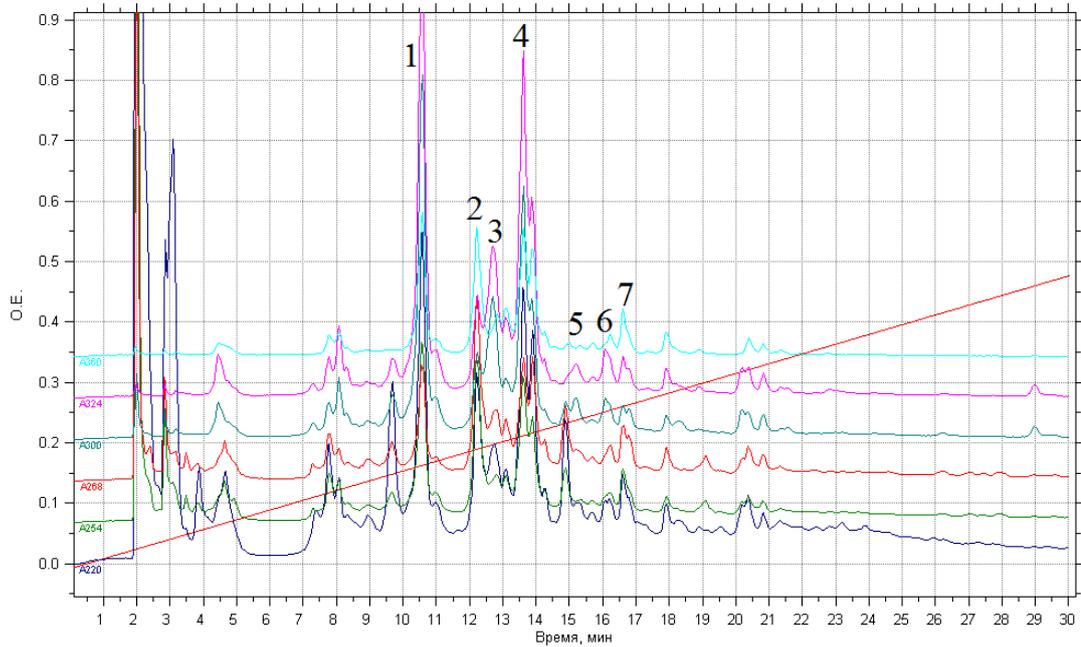
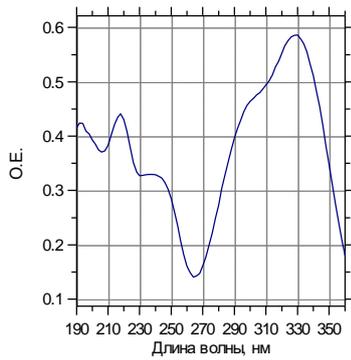
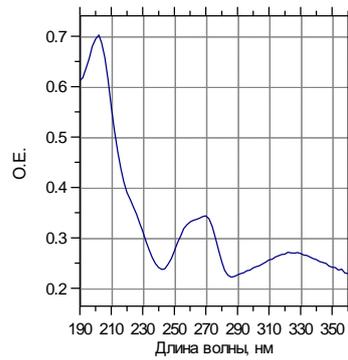


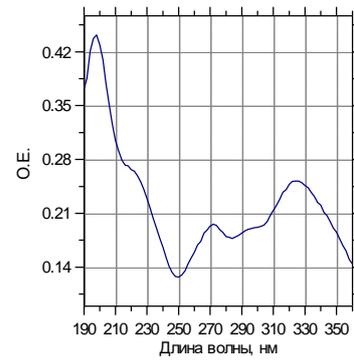
Рисунок 1 – Хроматограмма спиртового извлечения хатмы тюрингенской стеблей



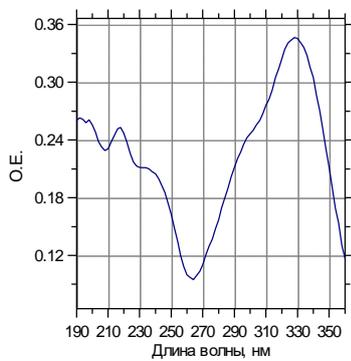
10,6 мин - производное хлорогеновой кислоты



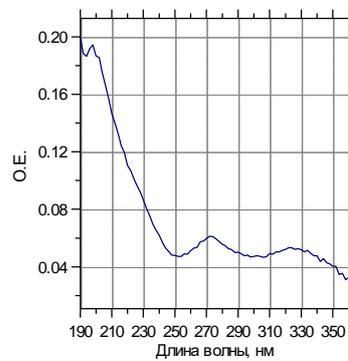
12,3 мин - флавоноид группы флавона



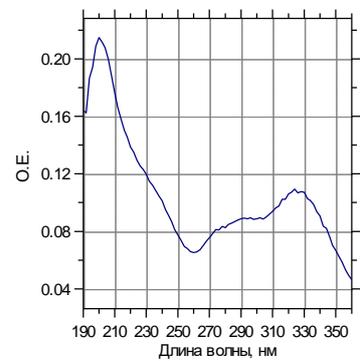
12,6 мин - соединение кумаринового ряда



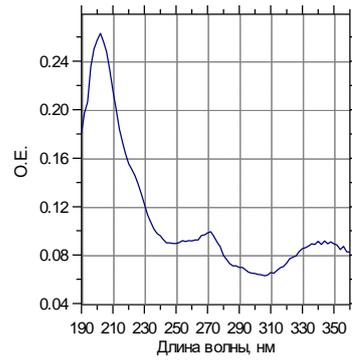
13,6 мин - производное кофейной кислоты



15,1 мин - производное катехина



16,2 мин - производное умбеллиферона



16,7 мин - флавоноид группы флавона

Рисунок 2 – Спектры поглощения фенольных соединений спиртового извлечения хатмы тюрингенской стеблей

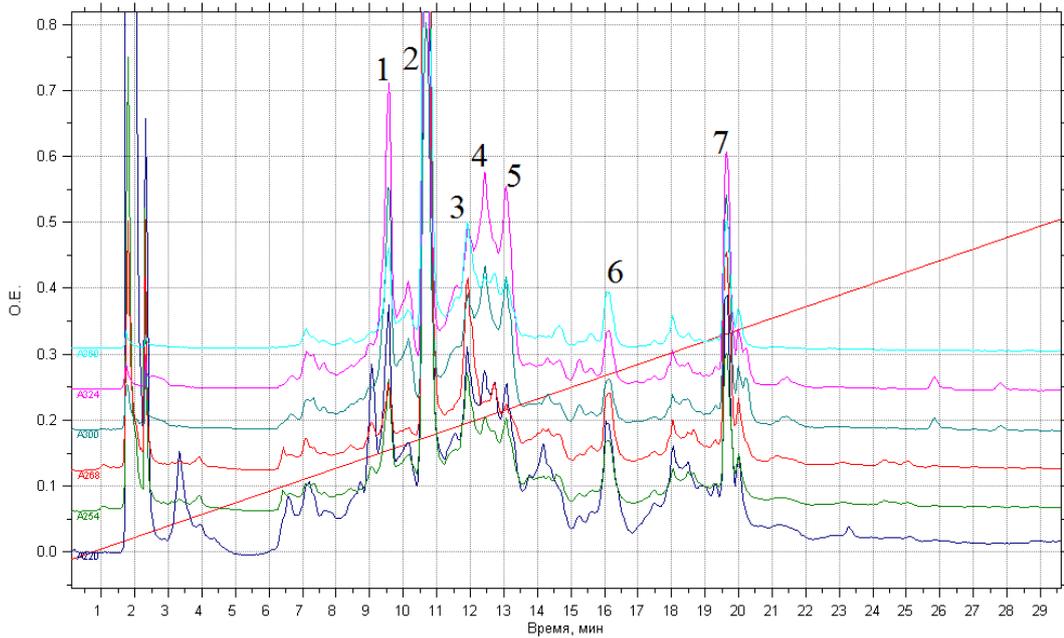
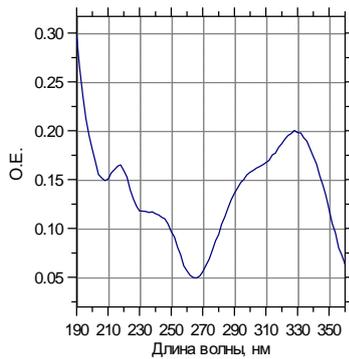
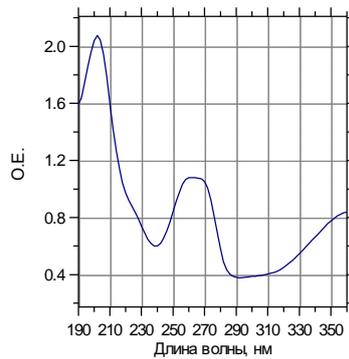


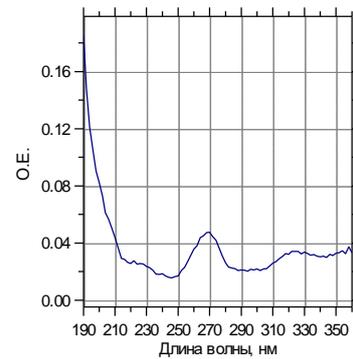
Рисунок 1 – Хроматограмма спиртового извлечения хатьмы тюрингенской листьев



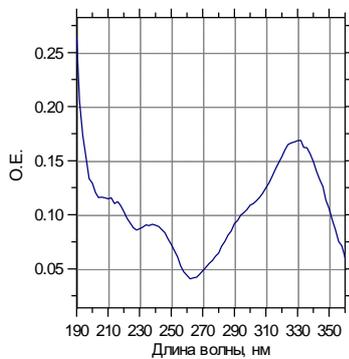
9,6 мин - производное хлорогеновой кислоты



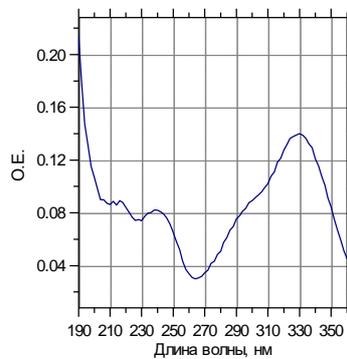
10,7 мин - производное кверцетина



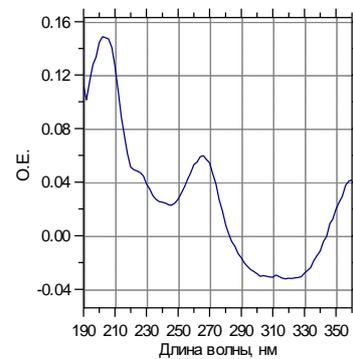
11,9 мин - производное кемпферола



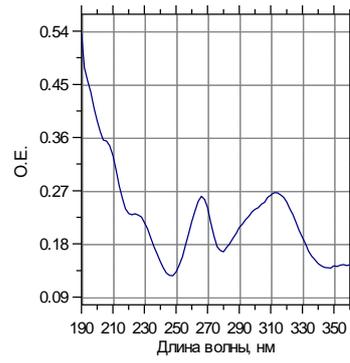
12,4 мин - производное феруловой кислоты



13,1 мин - производное феруловой кислоты



16,2 мин - кверцитрин



19,5 мин - флавоноид группы флавона

Рисунок 2 – Спектры поглощения фенольных соединений спиртового извлечения хатмы тюрингенской листьев

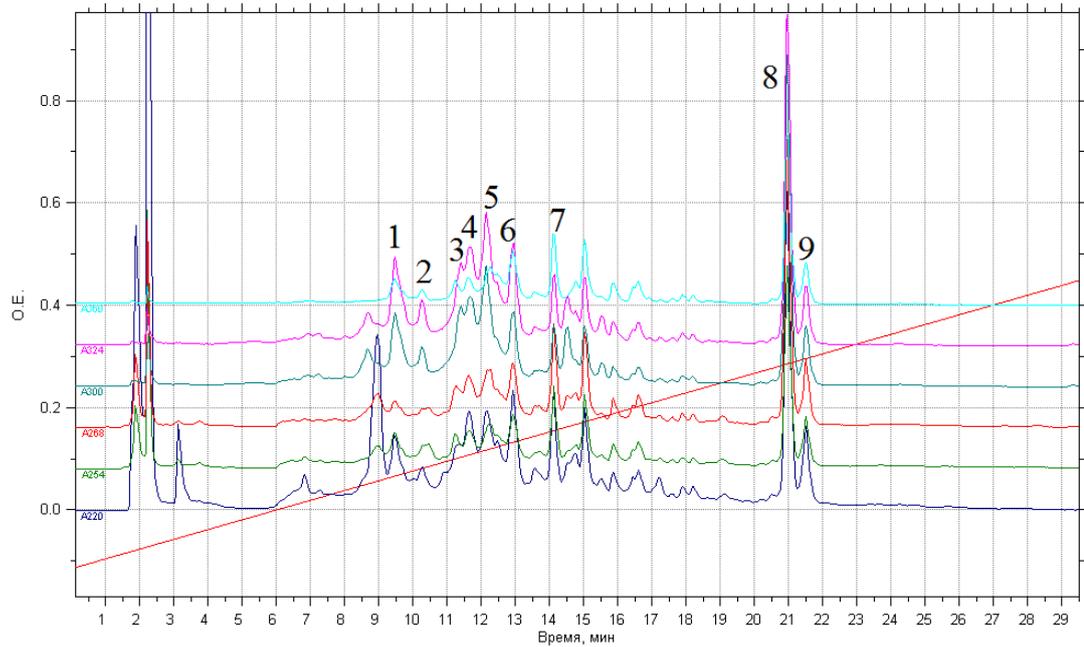
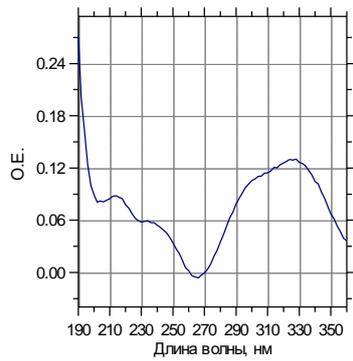
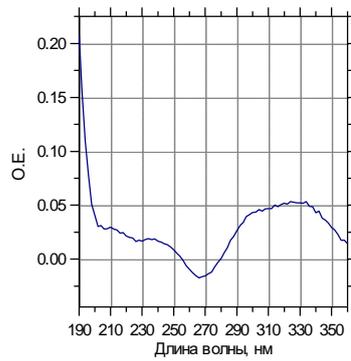


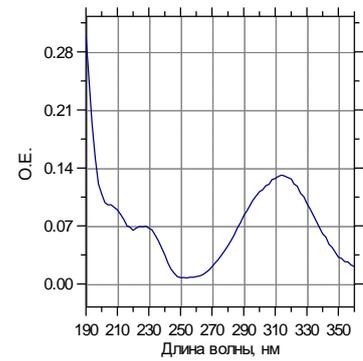
Рисунок 1 – Хроматограмма спиртового извлечения хатьмы тюрингенской цветков



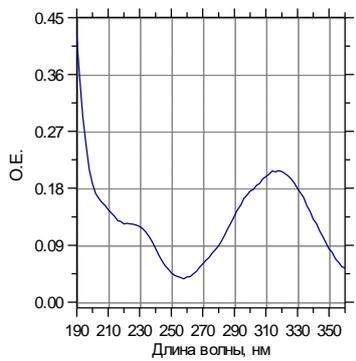
9,5 мин - производное
хлорогеновой кислоты



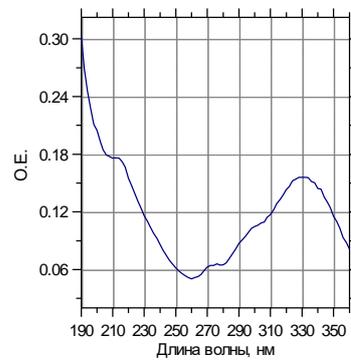
10,3 мин - фенологликозид



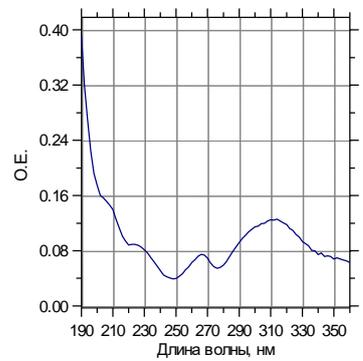
11,6 мин - фенологликозид



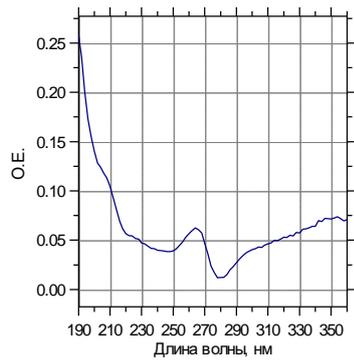
12,2 мин - фенологликозид



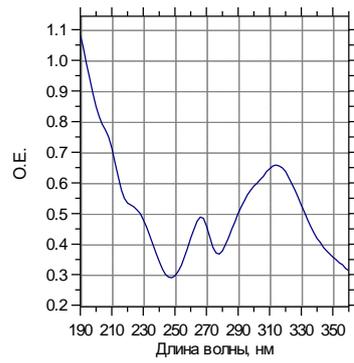
13,0 мин - фенологликозид



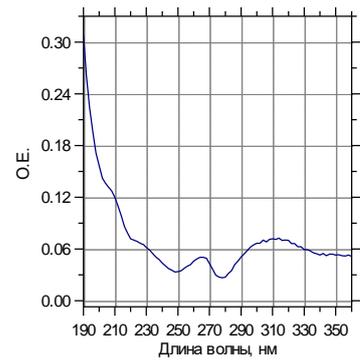
14,1 мин - производное
кемпферола



15,0 мин - производное
кемпферола



21,0 мин - флавоноид группы
флавона



21,5 мин - производное
кемпферола

Рисунок 2 – Спектры поглощения фенольных соединений спиртового извлечения хатмы тюрингенской цветков

Приложение 9

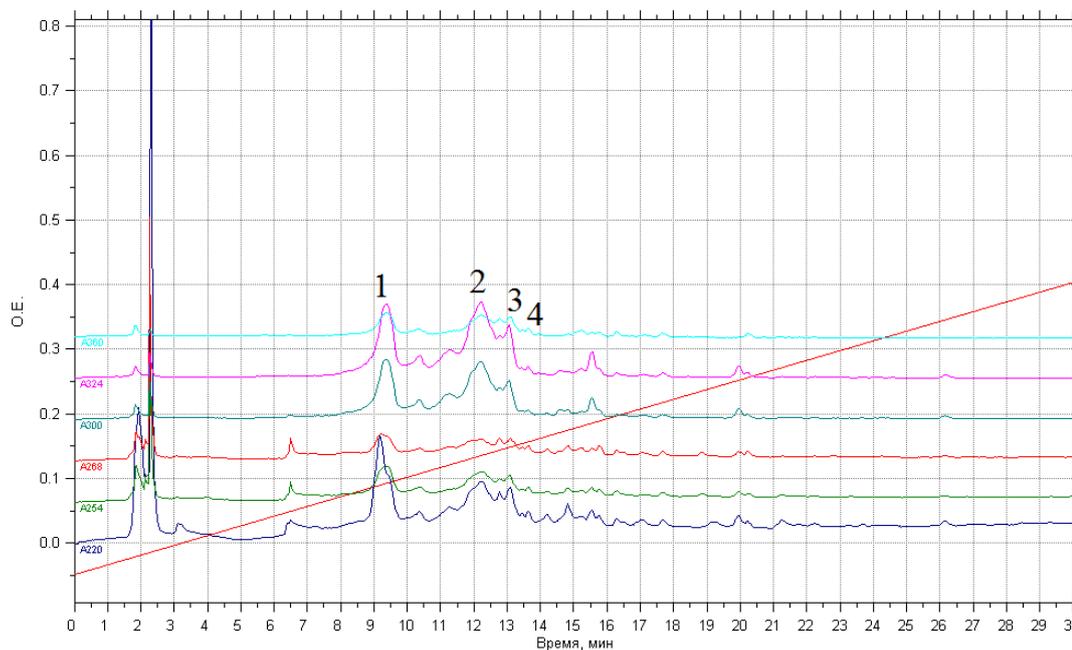
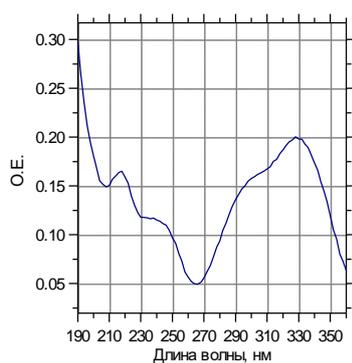
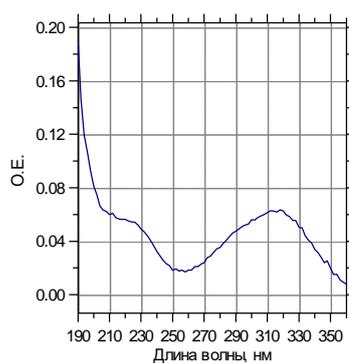


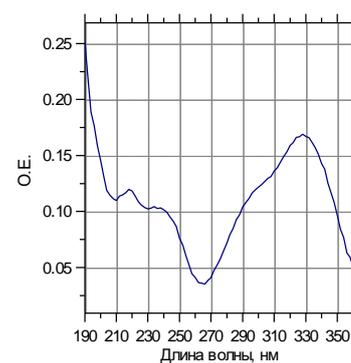
Рисунок 1– Хроматограмма спиртового извлечения хатьмы тюрингенской корней



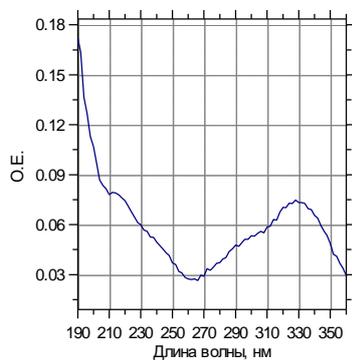
9,5 мин - производное
хлорогеновой кислоты



12,2 мин - производное
умбеллиферона



13,1 мин - производное
кофейной кислоты



13,6 мин - производное
умбеллиферона

Рисунок 2 – Спектры поглощения фенольных соединений спиртового извлечения хатьмы тюрингенской корней

Приложение 10

Результаты изучения качества хатмы тюрингенской травы при хранении
с июля 2015 г. по январь 2018 г.

Месяц хранения	Влажность, %	Сырьё, изменившее окраску, %	Водорастворимые полисахариды, %	Флавоноиды, %
Партия №1				
0	8,32	2,70	7,78	1,31
6	8,28	2,77	7,76	1,29
12	8,17	2,83	7,61	1,28
18	8,05	2,86	7,57	1,24
24	7,98	2,87	7,54	1,24
30	7,91	2,91	7,51	1,20
Партия №2				
0	7,96	2,74	7,73	1,24
6	7,94	2,81	7,69	1,24
12	7,87	2,85	7,65	1,20
18	7,79	2,89	7,60	1,16
24	7,75	2,91	7,58	1,11
30	7,70	2,93	7,54	1,08
Партия №3				
0	7,63	2,69	7,56	1,21
6	7,60	2,73	7,55	1,19
12	7,54	2,76	7,49	1,14
18	7,49	2,78	7,44	1,10
24	7,46	2,85	7,41	1,08
30	7,42	2,88	7,38	1,04
Партия №4				
0	7,28	2,77	7,36	1,17
6	7,25	2,82	7,33	1,16
12	7,21	2,86	7,28	1,11
18	7,16	2,89	7,25	1,09
24	7,10	2,93	7,21	1,05
30	7,07	2,98	7,16	1,00
Партия №5				
0	8,66	2,65	8,21	1,28
6	8,60	2,71	8,19	1,26
12	8,57	2,79	8,14	1,21
18	8,51	2,84	8,11	1,20
24	8,44	2,87	8,07	1,20
30	8,39	2,91	8,05	1,14

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ**ЗАО «ЭВАЛАР»****Хатьмы тюрингенской трава*****Lavaterae thuringiacaе herba***

Настоящий нормативный документ распространяется на собранную в фазу цветения и высушенную цельную траву дикорастущего многолетнего травянистого растения хатьмы тюрингенской – *Lavatera thuringiaca* L., сем. мальвовых – *Malvaceae* Juss.

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

ЗАО «ЭВАЛАР»

ФАСОВЩИК (ПЕРВИЧНАЯ УПАКОВКА)

ЗАО «ЭВАЛАР»

ВЫПУСКАЮЩИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

ЗАО «ЭВАЛАР»

ЗАЯВИТЕЛЬ

ЗАО «ЭВАЛАР»

Спецификация
Хатьмы тюрингенской трава цельная
ЗАО «Эвалар»

Показатели	Методы	Нормы
Подлинность		
Внешние признаки	Визуальный	Должны соответствовать описанию в НД
Микроскопические признаки	Визуальный	Должны соответствовать описанию в НД
Определение основных групп биологически активных соединений	Качественные реакции	Выпадение обильного слизеобразного осадка (полисахариды). Окрашивание раствора в розовый, оранжевый или красный цвет (флавоноиды).
Испытания		
Влажность	ГФ XIII	Не более 10%
Зола общая	ГФ XIII	Не более 15%
Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте	ГФ XIII	Не более 1%
Сырьё, изменившее окраску (пожелтевшие листья, выцветшие цветки)	ГФ XIII	Не более 3%
Органическая примесь	ГФ XIII	Не более 1%
Минеральная примесь	ГФ XIII	Не более 1%
Экстрактивные вещества, извлекаемые водой очищенной	ГФ XIII	Не менее 32,0%
Тяжёлые металлы	В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжёлых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»	
Радионуклиды	В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»	

Показатели	Методы	Нормы
Остаточные количества пестицидов	В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»	
Микробиологическая чистота	В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота»	
Содержание суммы водорастворимых полисахаридов	Гравиметрический	Не менее 6%
Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на рутин	Дифференциальная СФМ	Не менее 1%
Упаковка	В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»	
Маркировка		
Транспортирование		
Хранение	В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»	
Срок годности	2,5 года	

Внешние признаки. Испытание проводят в соответствии с ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» Государственной Фармакопеи XIII издания.

Верхние, не одревесневшие части стеблей длиной до 80 см с листьями, бутонами, цветками. Могут встречаться отдельные стебли, листья, бутоны, цветки или их части. Стебли цилиндрические, опушённые, толщиной 0,3–0,5 см. Листья очерёдные, простые, черешковые. Черешок длиной 0,3–0,7 см. Верхние листья мелкие, яйцевидные, тройчатораздельные; нижние – крупные, округло-яйцевидные, трёх-пятилопастные. Сверху слабо, снизу густо опушённые. Основание листовой пластинки клиновидное или сердцевидное. Край листа городчатый. Жилкование пальчатонервное. Прилистники ланцетные, заострённые, рано опадающие. Цветки крупные, диаметром до 10 см. Околоцветник двойной. Венчик из 5 выемчатых лепестков обратнойяйцевидной формы, длиной до 3,5 см. 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, подчаший зелёный, бледно-зелёный, желтовато-зелёный; венчиков – бледно-синий или бледно-фиолетовый. Запах своеобразный. Вкус водного извлечения сладковатый.

Микроскопические признаки. Проводится в соответствии с ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Стебель хатмы тюрингенской имеет вторичное непучковое строение. В поперечном сечении стебель округлой формы, покрыт эпидермой, с большим количеством звёздчатых волосков. Клетки эпидермы прямоугольные, продольно-вытянутые. Устьичный аппарат аномоцитного типа.

Первичная кора стебля дифференцирована, экзодерма представлена 2-3 рядами клеток хлоренхимы и 5-6 рядами клеток колленхимы, при этом встречается два типа: рыхлая и уголковая. Далее в центральном осевом цилиндре в последовательном порядке располагаются кольцами флоэма, камбий, ксилема. Сердцевина представлена основной паренхимой.

При рассмотрении листовой пластинки с поверхности с обеих сторон видны клетки эпидермы с прямыми или слабо извилистыми стенками. Устьица аномоцитного типа. Эпидерма с многочисленными звёздчатыми волосками. На верхней эпидерме встречаются простые одноклеточные волоски и клетки-идиобласты со слизью.

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.

Под эпидермой в жилке располагается от 2 до 5 рядов пластинчатой колленхимы. Присутствует один крупный закрытый коллатеральный пучок. Во флоэме пучка и в паренхиме вокруг – большое количество друз оксалата кальция.

При рассмотрении лепестков венчика с поверхности видны клетки эпидермы: с прямыми (верхняя эпидерма) и сильно извилистыми (нижняя эпидерма) стенками.

Определение основных групп биологически активных соединений

1. К 10 мл раствора А (см. раздел «Количественное определение. Полисахариды») прибавляют 30 мл спирта этилового 96% и перемешивают. Появляется обильный слизеобразный осадок (полисахариды).

2. К 2 мл спиртового извлечения сырья прибавляют 5–7 капель кислоты хлористоводородной концентрированной и 10–15 мг металлического цинка. Реакционную смесь подогревают. Появляется окрашивание розового, оранжевого или красного цвета (флавоноиды).

ИСПЫТАНИЯ

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%.

Тяжёлые металлы. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания тяжёлых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Радионуклиды. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Остаточные количества пестицидов. В соответствии с требованиями ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах».

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС «Микробиологическая чистота».

Количественное определение. Содержание суммы водорастворимых полисахаридов – не менее 6%. Содержание суммы флавоноидов пересчёте на рутин – не менее 1%.

Полисахариды.

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 10,0 г (точная навеска) измельчённого сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 500 мл, прибавляют 200 мл воды очищенной, нагретой до кипения. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают при перемешивании на электрической плитке в течение 30 мин. Экстракцию повторяют ещё 2 раза, используя по 200 и 100 мл воды соответственно.

Водные извлечения объединяют и фильтруют в мерную колбу вместимостью 500 мл через 5 слоёв марли, вложенной в стеклянную воронку и предварительно промытой водой очищенной. Фильтр промывают водой и доводят объём раствора тем же растворителем до метки (раствор А).

25,0 мл раствора А помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 75 мл спирта этилового 96%, перемешивают, подогревают на водяной бане в течение 30 мин. Содержимое колбы фильтруют через предварительно высушенный и взвешенный беззольный бумажный фильтр. Осадок на фильтре последовательно промывают 15 мл раствора спирта этилового 96% в воде очищенной (3:1), 10 мл смеси этилацетата и спирта этилового 96% (1:1). Фильтр с осадком сушат сначала на воздухе, затем при температуре 100–105°C до постоянной массы.

Содержание полисахаридов в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(m_2 - m_1) \times 500 \times 100 \times 100}{a \times 25 \times (100 - W)}, \quad (I)$$

где m_1 – масса фильтра, г;

m_2 – масса фильтра с осадком, г;

a – навеска сырья, г;

W – влажность сырья, %.

Флавоноиды.

Приготовление растворов.

Раствор СО рутина. Около 0,05 г (точная навеска) СО рутина, предварительно высушенного при температуре 130–135 °С в течение 3 ч, растворяют в 85 мл спирта 96% в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А СО рутина). Срок годности не более 30 суток при хранении в прохладном, защищённом от света месте.

1,0 мл раствора А СО рутина, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2%, доведенного спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл, перемешивают (раствор Б СО рутина).

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 1,0 г (точная навеска) измельчённого сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл спирта этилового 70%. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл так, чтобы частицы сырья не попали на фильтр.

В колбу для экстрагирования прибавляют 30 мл спирта этилового 70%. Экстракцию повторяют ещё дважды в описанных выше условиях, фильтруют извлечение в ту же мерную колбу. После охлаждения объём извлечения доводят спиртом этиловым 70% до метки и перемешивают (раствор А испытуемого раствора).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1,0 мл раствора А испытуемого раствора, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2%, доводят объём раствора спиртом этиловым 96% до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора).

Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют через 40 мин на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной рабочего слоя кюветы 1 см. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А испытуемого раствора, доведённый спиртом этиловым 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина в таких же условиях. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А СО рутина, доведённый спиртом этиловым 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times a_0 \times 100 \times 1 \times 25 \times 100 \times 100 \times P}{A_0 \times a \times 100 \times 25 \times 1 \times (100 - W) \times 100}, \quad (\text{II})$$

где A – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность раствора Б СО рутина;

a – навеска сырья, г;

a_0 – навеска СО рутина, г;

P – содержание основного вещества в СО рутина, %;

W – влажность сырья, %.

Упаковка. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Маркировка. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Транспортирование. В соответствии с требованиями ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Хранение. В соответствии с требованиями ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Примечание. Методики определения показателей доброкачественности, указанные в настоящем нормативном документе, описаны в Государственной Фармакопее XIII издания (Том 1; 2).

Реактивы, приведенные в настоящем нормативном документе, описаны в соответствующем разделе Государственной Фармакопее XIII издания (Том 1).

Директор по производству
и технологиям ЗАО «Эвалар»



В.А. Важенин

**Иллюстрированное приложение к проекту НД
«Хатмы тюрингенской трава»**

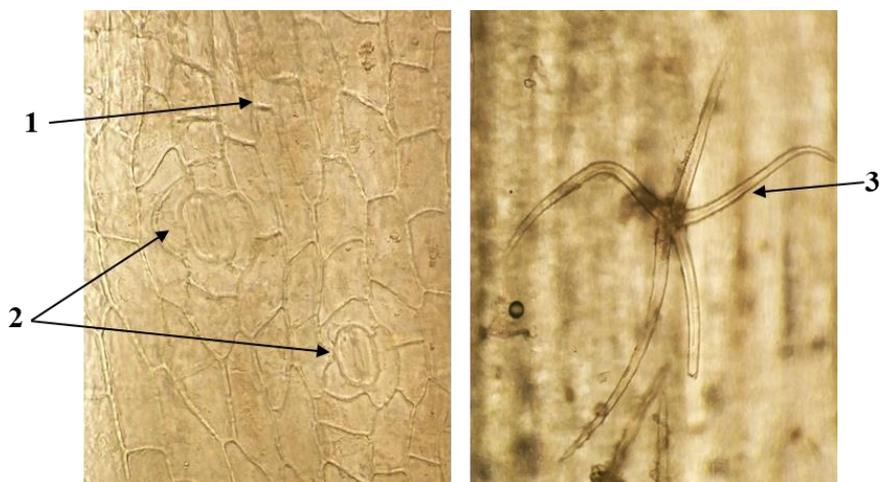


Рисунок 1 – Эпидерма стебля (увл. х400): 1 – клетки эпидермы, 2 – устьичный аппарат аномоцитного типа, 3 – звёздчатый волосок

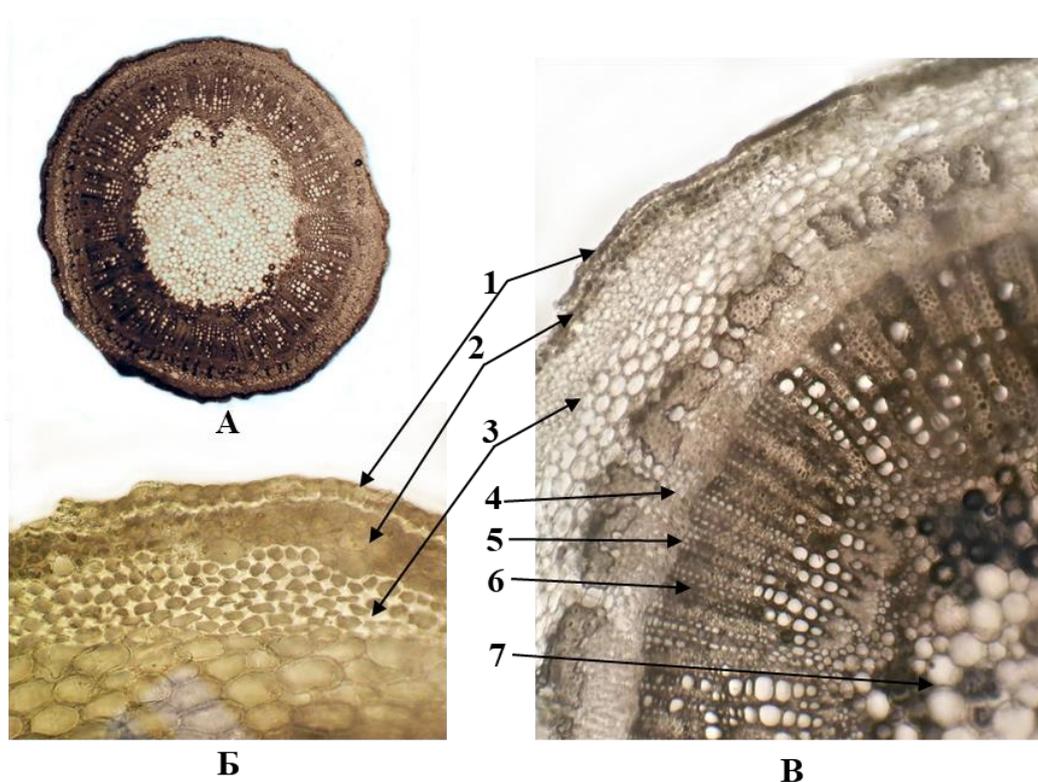


Рисунок 2 – Поперечный срез стебля (А – увл. х24, Б – увл. х400, В – увл. х100):
1 – эпидерма, 2 – хлоренхима, 3 – колленхима, 4 – флоэма, 5 – камбий, 6 – ксилема,
7 – сердцевина

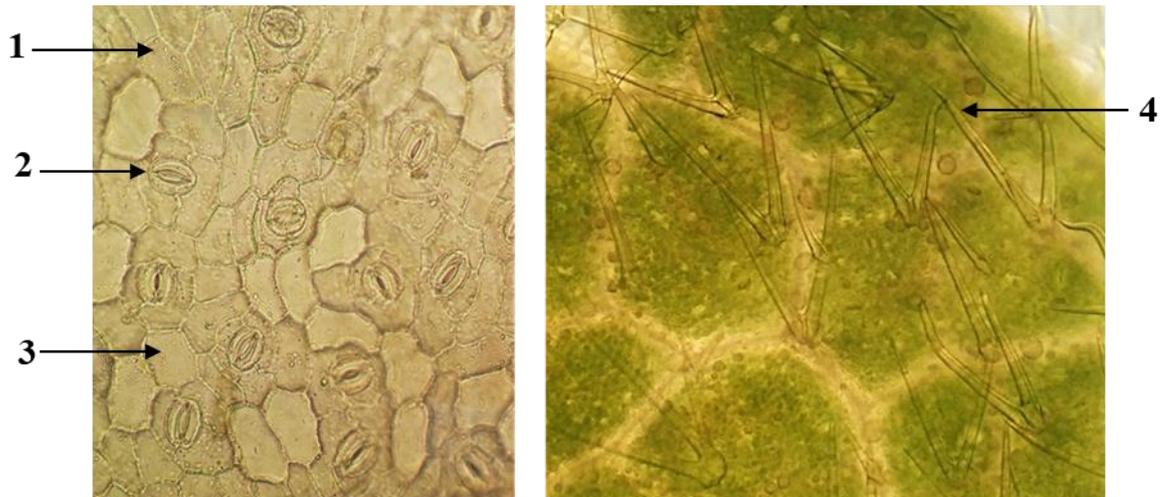


Рисунок 3 – Верхняя эпидерма листовой пластинки (увл. х400): 1 – клетки со слабо извилистыми стенками, 2 – устьичный аппарат аномоцитного типа, 3 – клетки-идиобласты со слизью, 4 – звёздчатые волоски

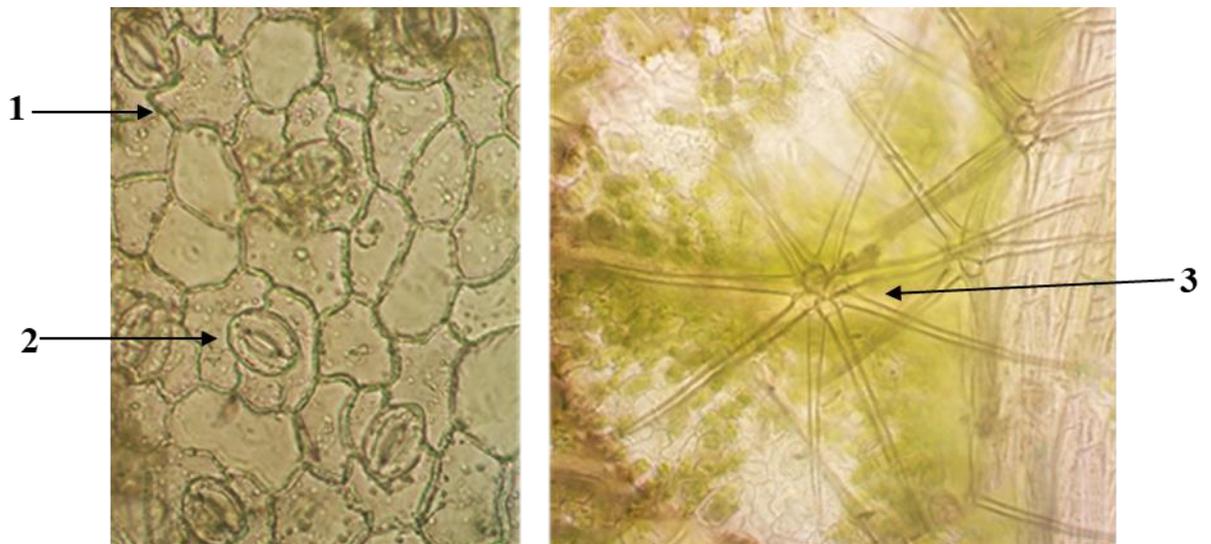


Рисунок 4 – Нижняя эпидерма листовой пластинки (увл. х400): 1 – клетки со слабо извилистыми стенками, 2 – устьичный аппарат аномоцитного типа, 3 – звёздчатые волоски

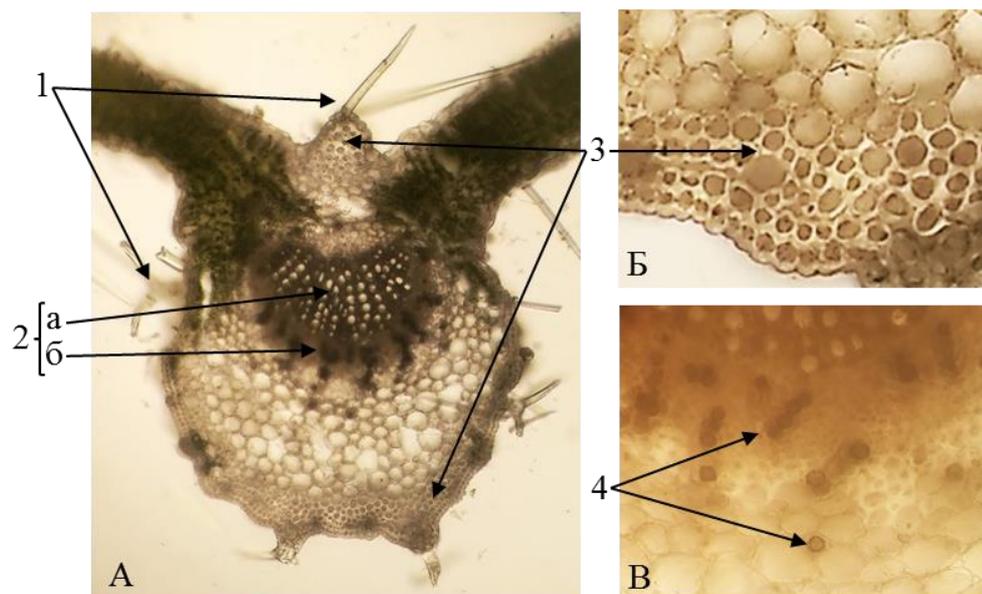


Рисунок 5 – Поперечный срез листа в области главной жилки (А – увл. x70; Б, В – увл. x400): 1 – остатки простых звёздчатых волосков, 2 – закрытый коллатеральный пучок (а – ксилема, б – флоэма), 3 – пластинчатая колленхима, 4 – друзы оксалата кальция

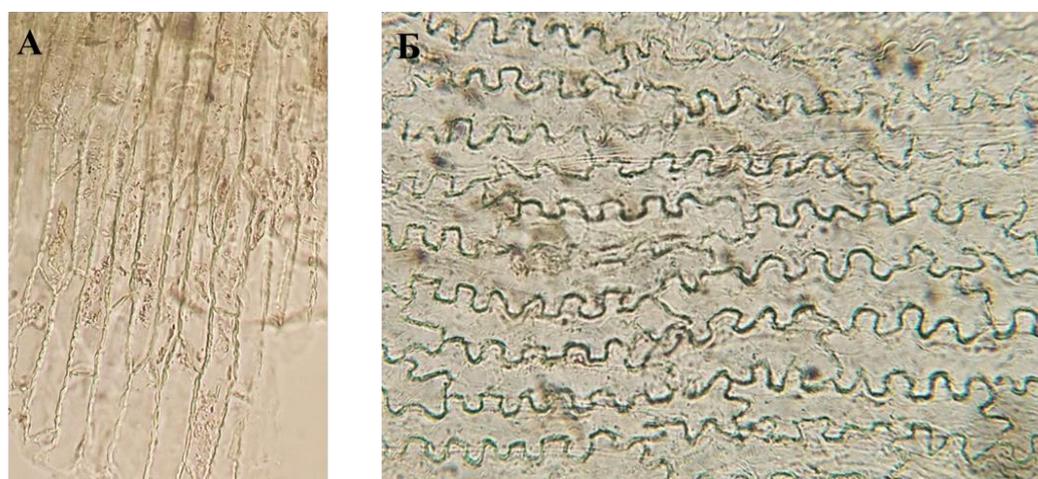


Рисунок 6 – Фрагменты лепестков венчика: А. Верхняя эпидерма с прямыми стенками (увл. x400) Б. Нижняя эпидерма с сильно извилистыми стенками (увл. x630)

Приложение 12

УТВЕРЖДАЮ

Директор по производству и технологиям


 ЗАО «Эвалар»
 Важенин В.А.
 «22» марта 2018 г.

АКТ

внедрения результатов научно-исследовательской работы

Я, нижеподписавшийся: Мельников Олег Михайлович, начальник химико-аналитической лаборатории отдела контроля качества ЗАО «Эвалар», удостоверяю, что в ходе выполнения диссертации на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук разработан проект НД.

1. **Наименование предложения:** Проект НД: «Хатьмы тюрингенской трава».
2. **Авторы предложения:** доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармации ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России Федосеева Л.М., аспирант кафедры фармации ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России Мызникова О.А.
3. **Где внедрено:** используется на фармацевтическом предприятии ЗАО «Эвалар» для входного контроля растительного сырья, в рамках разработки лекарственного препарата.
4. **Эффективность внедрения:** расширение номенклатуры лекарственных препаратов и использование дополнительных источников лекарственного растительного сырья, содержащих комплекс биологически активных соединений.

Ответственный
за внедрение

Начальник ХАЛ ОКК


 Мельников О.М.



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ

АЛТАЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
(ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России)
пр. Ленина, 40, г.Барнаул, 656038
Тел.(3852)368848, факс (3852) 366091
E-mail: rector@agmu.ru;http://www.agmu.ru
ОКПО 01962853, ОГРН 1022201762164;
ИНН 2225003156, КПП 222501001
« » _____ 2018 г. № _____
на № ____ от «__» _____ 2017 г.

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
Федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Алтайский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
доцент _____ И.Е. Бабушкин
« _____ 2018 г.



АКТ

внедрения результатов научно-исследовательской работы

Мы, нижеподписавшиеся: и.о. председателя методической комиссии по специальности «Фармация» Кнауб Н.Н. и заведующий кафедрой фармации Шарахова Е.Ф. удостоверяем, что в ходе выполнения *диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук* по специальности 14.04.02. фармацевтическая химия, фармакогнозия разработаны методики макроскопического, микроскопического и фитохимического анализа хатмы тюрингенской травы.

Наименование предложения: Методики макроскопического, микроскопического и фитохимического анализа хатмы тюрингенской травы

Авторы предложения: Федосеева Л.М., д. фарм. н., профессор кафедры фармации ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России; Мызникова О.А., аспирант кафедры фармации ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России

Где внедрено: Используется в учебном процессе кафедры фармации *ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России» с 1 января 2018 г.*

Эффективность внедрения: Позволяет обучающимся освоить материал учебной программы и углубить знания по темам «Лекарственные растения и лекарственное растительное сырьё, содержащее полисахариды» и «Лекарственные растения и лекарственное растительное сырьё, содержащее флавоноиды».

Замечания и предложения: Признано целесообразным использовать методики в процессе выполнения научно-исследовательской работы студентов фармацевтического факультета.

Ответственный за внедрение: Заведующий кафедрой фармации Шарахова Е.Ф.

И.О. председателя методической комиссии
по специальности «Фармация»,
к. фарм. н., доцент



Кнауб Н.Н.

Заведующий кафедрой фармации,
д. фарм. н., профессор



Шарахова Е.Ф.

12.04.2018