

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КУРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи



Кораблева Татьяна Владимировна

Фармакогностическое изучение латука компасного (*Lactuca serriola* L.)

14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
доктор фармацевтических наук, доцент
Бубенчиков Роман Александрович

Курск - 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1. ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЛАТУКА КОМПАСНОГО В НАУЧНОЙ МЕДИЦИНЕ.....	16
1.1. Краткое ботаническое описание латука компасного.....	16
1.2. Сведения о составе БАВ латука компасного.....	20
1.3. Использование латука компасного в народной медицине и обзор его фармакологических исследований.....	28
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	36
2.1. Объект исследования.....	36
2.2. Методы исследований, применяемые при фитохимическом изучении.....	38
2.2.1. Исследование водорастворимых соединений.....	38
2.2.2. Изучение углеводов.....	38
2.2.3. Изучение азотистых оснований.....	39
2.2.4. Исследование аминокислотного состава	40
2.2.5. Исследование дубильных веществ.....	41
2.2.6. Изучение органических кислот	42
2.2.7. Исследование водно-спиртового извлечения.....	43
2.2.8. Изучение фенолкарбоновых кислот	44
2.2.9. Исследования на наличие флавоноидов	45
2.2.10. Анализ фенольных соединений высокоэффективной жидкостной хромато–масс–спектрометрией.....	46
2.2.11. Исследование тритерпеновых соединений.....	48
2.2.12. Исследование на наличие сесквитерпеновых лактонов.....	49
2.2.13. Исследование жирнокислотного состава.....	50
2.2.14. Исследование на содержание каротиноидов.....	51

2.2.15. Исследование минеральных элементов.....	52
2.3. Методы изучения углеводов.....	54
2.3.1. Получение полисахаридных комплексов и исследование их состава.....	54
2.3.2. Изучение содержания моносахаров выделенных полисахаридных комплексов.....	56
2.3.3. ИК-спектроскопия.....	56
2.3.4. Исследование функциональных групп пектинов.....	56
2.3.5. Сорбционная активность пектиновых веществ.....	57
2.4. Проведение испытаний по определению влажности, зольности экстрактивных веществ	57
2.4.1. Определение влажности и золы.....	57
2.4.2. Определение экстрактивных веществ.....	57
2.5. Проведение морфолого-анатомического анализа.....	58
2.6. Токсико-фармакологические исследования.....	58
2.6.1. Определение острой токсичности.....	59
2.6.2. Исследование антиэкссудативной активности.....	59
2.6.3. Изучение анальгетического действия.....	60
2.6.4. Изучение антиоксидантной активности.....	61
2.7. Статистическая обработка результатов эксперимента.....	62
ГЛАВА 3. ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЫРЬЯ ЛАТУКА КОМПАСНОГО (LACTUCA SERRIOLA L.).....	
3.1. Определение углеводов.....	64
3.1.1. Определение свободных сахаров.....	64
3.1.2. Определение сахаров в виде гликозидов и полисахаридов.....	65
3.2. Результаты исследования на наличие азотсодержащих соединений.....	65
3.2.1. Результаты исследования азотистых оснований.....	65

3.2.2. Исследование аминокислотного состава.....	67
3.3. Результаты исследования дубильных веществ.....	70
3.4. Результаты определения органических кислот.....	70
3.4.1. Результаты качественного и количественного анализа.....	71
3.5. Результаты исследования фенолкарбоновых кислот.....	72
3.6. Результаты исследования флавоноидов.....	74
3.7. Изучение фенольного состава методом ВЭЖХ-УФ/МС.....	75
3.8. Результаты исследования тритерпеновых соединений.....	91
3.9. Результаты исследования сесквитерпеновых лактонов.....	92
3.10. Результаты исследования жирных кислот.....	93
3.11. Результаты исследования каротиноидов.....	96
3.12. Результаты изучения минерального состава.....	97
3.12.1. Исследование минерального комплекса.....	97
3.12.2. Установление экологической безопасности латука травы по содержанию токсичных элементов.....	99
3.13. Исследование полисахаридов.....	100
3.13.1. Содержание и состав фракций полисахаридов.....	100
3.13.2. Содержание моносахаридного состава.....	107
3.13.3. Функциональные группы пектиновых веществ.....	108
3.13.4. Изучение сорбционных свойств пектиновых веществ.....	109
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ХАРАКТЕРИСТИК ПОДЛИННОСТИ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ТРАВЫ ЛАТУКА КОМПАСНОГО.....	113
4.1. Определение подлинности сырья.....	113
4.1.1. Изучение морфологических признаков латука компасного травы...	113
4.1.2. Изучение микродиагностических признаков травы латука компасного.....	115
4.2. Результаты проведения испытаний травы латука компасного.....	125

4.2.1. Результаты исследования влаги, золы.....	125
4.2.2. Итоги изучения экстрактивных веществ.....	126
4.3. Исследование флавоноидов.....	127
4.3.1. Качественная идентификация флавоноидов.....	127
4.3.2. Количественный анализ флавоноидов.....	132
4.3.2.1. Разработка подходов к стандартизации флавоноидов.....	133
4.3.3. Валидационные исследования по разработанной методике.....	138
4.3.4. Содержание суммы флавоноидов в различных образцах латука компасного травы.....	143
4.4. Установление количественных характеристик сырья латука.....	144
4.5. Установление фазы заготовки сырья латука.....	145
4.6. Установление срока годности латука компасного травы.....	146
4.7. Разработка проекта НД «Латука компасного трава».....	149
ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ, АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЕЙ ТРАВЫ ЛАТУКА КОМПАСНОГО И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЕГО НАСТОЯ	
5.1. Острая токсичность.....	152
5.2. Противовоспалительная (антиэкссудативная) активность.....	153
5.3. Анальгетическая активность.....	155
5.4. Антиоксидантная активность.....	156
5.4.1. Антиокислительная активность.....	157
5.4.2. Антирадикальная активность.....	160
5.5. Определение показателей качества настоя из латука компасного травы.....	161
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	164
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	168
Приложение А	190

Приложение Б.....	191
Приложение В.....	192
Приложение Г.....	193
Приложение Д.....	194

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

В фармацевтической индустрии значительный сектор производимой продукции занимают препараты растительного происхождения. Однако, спрос на лекарственные препараты растительного происхождения промышленностью не удовлетворяются. К одному из приоритетных направлений программы «Стратегия лекарственного обеспечения населения Российской Федерации на период 2025 года» относится разработка и внедрение отечественных фитопрепаратов. По этой причине, в качестве ключевой задачи, в числе важных вопросов фармацевтической отрасли является поиск новых потенциальных источников растительного сырья и создание на их основе растительных препаратов. Известно, что большое количество растительных видов, используемых в народной медицине не находит своего применения в научной медицине. Это происходит по разным причинам, и одной из таких причин является не достаточная степень изученности целых групп растений современной наукой.

К перспективным растительным объектам можно отнести латук компасный (*Lactuca serriola* L.) семейства Астровые (*Asteraceae*), имеющий достаточную сырьевую базу в регионе Центрального Черноземья и широко применяемый в народной медицине. Накоплен значительный опыт по использованию латука компасного в качестве обезболивающего, седативного, жаропонижающего, спазмолитического, противовоспалительного средства. Фармакологические исследования, проводимые в основном зарубежными учеными, показали наличие бронхолитической, цитотоксической, антиоксидантной, антибактериальной активностей как экстрактов из травы латука компасного, так и отдельных групп химических соединений, входящих в его состав.

Трава латука компасного, прежде всего, известна содержанием сесквитерпеновых лактонов. Наряду с ними растение содержит и другие значимые группы биологически активных веществ: тритерпеноиды, стероиды, флавоноиды, аскорбиновую кислоту, которые вносят соответствующий вклад в фармакологическую активность растения.

В то же время, систематическое изучение латука компасного в России не проводилось. В Российской Федерации отсутствует нормативная документация на сырье латука компасного.

В связи с вышеизложенным, углубленное фармакогностическое изучение латука компасного с целью научного обоснования применения в медицинской практике можно рассматривать как важный и актуальный аспект.

Степень разработанности темы

В Российской Федерации отсутствует нормативная документация на траву латука компасного.

Рядом зарубежных ученых проведены исследования по изучению групп биологически активных веществ в различных органах латука компасного. Ими исследованы: сесквитерпеновые лактоны, стероидные, тритерпеновые соединения, флавоноиды, эфирное масло, аскорбиновая кислота, β -каротин. В литературе имеются публикации, в основном зарубежных авторов, по изучению фармакологической активности латука компасного. Спектр фармакологической активности достаточно широк: антиоксидантная, антибактериальная, анальгетическая, противовоспалительная, цитотоксическая, жаропонижающая, седативная, спазмолитическая, бронхо- и сосудорасширяющая.

В литературе отсутствуют данные о критериях качества сырья латука.

Цель исследования

Фармакогностическое изучение травы латука компасного, с выбором стандартизации и диагностики сырья для обоснования использования его в медицинской практике.

Основные задачи исследования

1. Провести изучение и анализ научной литературы по современному состоянию изученности химического состава, фармакологических свойств и опыта применения в народной медицине травы латука компасного;

2. Изучить состав биологически активных веществ (БАВ) латука компасного травы и их содержание современными химическими и физико-химическими методами;

3. Изучить компонентный состав фенольных соединений травы латука компасного методом ВЭЖХ-УФ/МС;

4. Провести изучение морфолого-анатомических признаков латука компасного травы и определить среди них диагностические признаки для установления подлинности сырья;

5. Разработать методики качественной идентификации и количественного определения флавоноидов для латука компасного травы, провести их валидацию. Разработанной методикой проанализировать накопление флавоноидов по органам растения и фазам вегетации;

6. Разработать нормируемые показатели качества латука компасного травы и настоя, полученного из нее. Оформить проект нормативного документа (НД) на сырье латука компасного;

7. Провести фармакологический скрининг по изучению противовоспалительной, анальгетической, антиокислительной и антирадикальной активностей.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное фармакогностическое исследование латука компасного травы, произрастающего в областях центрального

Черноземья. Комплекс БАВ латука компасного травы состоит из фенольных соединений: оксикоричных кислот, флавоноидов (подгруппы флавонов и флавонолов); дубильных веществ, производных катехина; углеводов; аминокислот; азотистых оснований; органических кислот; тритерпеновых соединений; каротиноидов; сесквитерпеновых лактонов; жирных кислот; минеральных элементов. Определено количественное содержание указанных основных групп БАВ.

В ходе изучения латука впервые выделены полисахаридные комплексы из травы: водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества, гемицеллюлозы А и Б; установлен их моносахаридный состав, выявлены сорбционные свойства выделенных пектиновых веществ.

Приоритетным методом исследования явилось применение высокоэффективной жидкостной хромато-масс спектрометрии (ВЭЖХ-УФ/МС) для исследования фенольных соединений травы латука компасного. С помощью данного метода идентифицировано 9 соединений фенольной природы, из них 4 отнесены к оксикоричным кислотам: кофейной, хлорогеновой, феруловой, п-кумаровой, 5 к флавоноидам, из них 3 к флавонам – лютеолину, цинарозиду, апигенин-7-О-β-D-глюкозиду и 2 к флавонолам – рутину, изокверцетрину.

Проведена стандартизация латука компасного травы, обоснованы методики анализа определения флавоноидов. Данные, полученные в процессе эксперимента по определению оптимальных условий экстракции флавоноидов были положены в основу разработки и валидации методик качественного (тонкослойная хроматография) и количественного (дифференциальная спектрофотометрия) анализа флавоноидов. В качестве стандартного образца установлен гликозид лютеолина – цинарозид.

Впервые изучено содержание флавоноидов по органам латука и показано, что максимальное их количество накапливается в листьях и верхушках стеблей до 20-25 см в совокупности с листьями. Изучена

зависимость накопления флавоноидов по фазам вегетации растения, установлена фаза заготовки сырья, в которой накапливается максимальное содержание действующих веществ.

Впервые установлены макро- и микродиагностические признаки латука компасного травы, позволяющие проводить диагностику сырья. К наиболее значимым диагностическим признакам отнесены наличие простых волосков различных типов и членистых млечников, располагающихся, как вдоль жилок листа, так и листочков обертки.

Показано, что латука компасного трава не содержит токсичных элементов.

Показана возможность применения травы латука в качестве источника фитопрепаратов с противовоспалительным, анальгетическим, антиоксидантным действиями.

Теоретическая и практическая значимость работы

Экспериментальные данные, установленные при проведении исследований в рамках диссертационной работы расширят сведения о составе БАВ латука компасного травы, ее морфологических и микродиагностических признаках, методах анализа сырья, что является доказательством возможности использования латука компасного травы для расширения ассортимента лекарственного растительного сырья.

Проведено научное обоснование показателей подлинности и качества латука компасного травы и настоя, полученного из неё. Разработаны методики качественной идентификации флавоноидов методом тонкослойной хроматографии и их количественного определения с использованием дифференциальной спектрофотометрии в сырье и настое.

Результаты фармакологического скрининга являются основанием для проведения углубленных фармакологических исследований латука компасного травы.

Основные положения, выносимые на защиту:

- результаты исследования состава БАВ латука компасного травы;
- методики качественной идентификации и количественного определения флавоноидов;
- данные по содержанию флавоноидов в сырье и настое из латука компасного травы;
- морфолого-анатомические признаки латука компасного травы;
- определение антиокислительной, антирадикальной, противовоспалительной, анальгетической активностей латука компасного травы.

Методология и методы исследования

Методология диссертационного исследования включает поиск, систематизацию и анализ литературных данных, касающихся различных аспектов изученности латука компасного травы. Диссертационное исследование было выполнено с использованием морфолого-анатомических методов (установление макро- и микродиагностических признаков сырья); товароведческих (установление числовых показателей сырья); хроматографических: бумажной и тонкослойной хроматографии, газожидкостной хроматографии (ГЭЖХ), высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), спектральных, денситометрии, титриметрических (проведение комплекса фитохимических исследований). Статистическая обработка результатов проведена в соответствии с требованиями государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) XIV издания, а также с использованием программы Microsoft Office Excel.

Достоверность научных положений и выводов

Достоверность данного исследования подтверждена выполнением работы на современном сертификационном оборудовании, получением достаточного объема экспериментальных данных. Полученные результаты исследований статистически обработаны, проведена валидационная оценка

хроматографической методики качественного определения и спектрофотометрического анализа флавоноидов. Выводы по диссертационной работе логично вытекают из результатов проведенных экспериментов.

Апробация результатов диссертационного исследования

Основные результаты по диссертационной работе доложены на: Международной научно-практической конференции, посвященной памяти выдающегося отечественного фармаколога Адель Федоровны Гаммерман (1888-1978) «Гаммермановские чтения» (г. Санкт-Петербург, 2019 г.); Международной конференции, посвященной 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования «Витебский ордена Дружбы народов медицинский университет» «Современные достижения фармацевтической науки и практики» (г. Витебск, 2019 г.); II, III международных научно-практических интернет-конференциях «Современные достижения фармацевтической науки в создании и стандартизации лекарственных средств, диетических добавок, которые содержат компоненты природного происхождения» (г. Харьков, 2020 г., г. Харьков, 2021 г.); 85-ой международной научной конференции студентов и молодых ученых «Молодежная наука и современность», посвященной 85-летию КГМУ (Курск 2020 г.), 86-ой международной научной конференции студентов и молодых ученых «Молодёжная наука и современность», посвященная 86-летию КГМУ (Курск, 2021 г.).

Апробация работы состоялась на межкафедральной научной конференции кафедр: фармакогнозии и ботаники, фармацевтической, токсикологической и аналитической химии, общей и биоорганической химии, фармацевтической технологии, управления и экономики фармации, фармации института непрерывного образования, биологической и химической технологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский

государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КГМУ) (11.05.2021 г., г. Курск).

Личный вклад автора

Автором под руководством научного руководителя доктора фармацевтических наук, доцента Бубенчикова Р.А. была определена тема исследования, поставлена цель и вытекающие из нее задачи исследования. Составлен план выполнения экспериментальной работы, обобщены результаты. Все представленные в диссертационной работе результаты получены лично автором. Автором проведен поиск, анализ, обобщение данных литературы, ею же проведен весь объем экспериментов, проведена статистическая обработка результатов, написаны главы диссертационной работы и оформлены научные статьи.

Экспериментальная часть диссертационного исследования выполнена: на кафедре фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» министерства здравоохранения Российской Федерации, в лаборатории доклинических исследований лекарственных средств (руководитель - д.б.н., Артющкова Елена Борисовна) в Научно-исследовательском институте экспериментальной медицины подразделения ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» министерства здравоохранения Российской Федерации, в ООО испытательного центра «ФАРМОБОРОНА» Московская область, г. Королев.

Внедрение результатов исследования

Результаты, полученные при выполнении диссертационных исследований использованы в учебном и научном процессе кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России (Акт №50 22.09.21 г., Приложение А), внедрены в рабочий процесс в ОКК ООО фирмы «ЗДОРОВЬЕ» (Акт внедрения от 15.01.21 г., морфолого-анатомическое строение, Приложение Б, Акт внедрения от 26.12.19 г., определение суммы флавоноидов в траве латука, Приложение В), ООО испытательного центра

«ФАРМОБОРОНА» (Акт апробации от 05.02.20 г., определение суммы флавоноидов в траве латука, Приложение Г). Разработан проект нормативного документа (НД) «Латука компасного трава».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертационной работы соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия (п. 3,6,7).

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук

Выполнение диссертационного исследования проведено в пределах плана и в соответствии с тематикой научных работ ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России. Номер государственной регистрации работы АААА-А19-119012890149-1.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе:

- научных статей отражающих основные результаты диссертации – 16, из них: в изданиях из Перечня ВАК при Минобрнауки РФ – 4 статьи; в журналах, включенных в международные базы: Scopus – 2 статьи; в иных изданиях – 10 статей.

Объем и структура работы

Диссертационная работа включает 200 страниц, включая 5 Приложений. Иллюстрации работы представлены 55 рисунками и 32 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы (1 глава), главы, посвященной объекту и методам исследования (глава 2) и 3 глав, посвященных экспериментальным исследованиям и их обсуждению, выводов, списка литературы, включающих 170 публикаций, из которых 42 иностранные публикации.

ГЛАВА 1. ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЛАТУКА КОМПАСНОГО В НАУЧНОЙ МЕДИЦИНЕ

1.1. Краткое ботаническое описание латука компасного

Растения рода Латук относятся к подсемейству Латуковые (Liguliflorae или Lactucoideae) семейства Астровые (Asteraceae) [48].

Семейство Астровые (Asteraceae) включает в себя 20000-25000 растений, относящихся к 1250-1300 родам. В жизненных формах присутствуют однолетние и многолетние травянистые растения, редко полукустарники, кустарники, суккуленты, лианы, невысокие деревья, составляющие примерно 1/10 часть всей флоры покрытосеменных. Встречаются на территории всего земного шара, но преимущественно в умеренной зоне. Семейство Астровые (Asteraceae) – одно из наиболее широко распространенных и высокоорганизованных семейств [5].

В роде латук 100-150 видов, распространенные в большинстве своем на материке Азия, значительная часть – в Средиземноморских странах и в тропической Африке, относительно немногие встречаются в Северной Америке и лишь несколько видов можно встретить в Центральной Америке [121]. В странах СНГ известно 30 видов латука [15].

В жизненных формах присутствуют однолетние и многолетние травянистые растения, редко полукустарники, кустарники, суккуленты, лианы, невысокие деревья, произрастающие в лесной зоне и в горах, в засушливых степях, полупустынях и пустынях [121].

Растения рода латук имеют корневую систему стержневого типа с мощным главным корнем, уходящим в глубину до 2 метров. Растения имеют прямостоячие стебли, они голые, изредка могут быть покрыты щетинистыми волосками. Листья имеют очередное расположение, реже они супротивные. Цвет листьев зеленый сверху, снизу цвет их светло-зеленый или сероватый,

форма листьев продолговатая, край неравномерно зубчатый, верхушка заострена, жилкование сетчатое и явно выражена центральная жилка [48, 121]. Для растений рода латук характерны гомогамные корзинки, содержащие 10-20 некрупных цветков (при плодах, достигающих 9-14 мм высоты), большей частью цветки имеют узко-цилиндрическую, продолговатую, обратноконическую форму или они колокольчатые. Соцветия – метельчатые, щитковидно-метельчатые, кистевидно-метельчатые, иногда они колосовидные. Цветоложе голое. Листочки обертки состоят из трех,- четырех рядов, они расположены черепитчато; для внутренних листочков обертки характерно наличие пленчатого окаймления, их длина превышает наружные. Для венчиков характерно обладать разным цветом – желтым, розовым, изредка – голубым, синим и лиловым. Для семянков предусматривается узкообратнояйцевидная или эллиптическая форма, уплощенные и совершенно плоские, обладают коричневым, темно-фиолетовым или прочим цветом. Семянки имеют одно или несколько многочисленных выступающих продольных ребрышек; часто семянки покрыты короткими волосками, образующие поперечно-волнистые ряды. Семянки на верхушке вытянуты в носик, имеющий другой цвет и строение, если сравнивать с остальной частью семянки, иногда носик окрашен также как и остальная семянка; редко верхушка семянков оттянута лишь в толстовидную шейку, или вовсе не оттянута. Хохолок включает тонкие волоски, белого, реже грязноватого или рыжеватого цвета, которые легко опадают поодиночке, в связи с недостаточной прикрепленностью к диску [121].

Растения рода Латук характеризуются наличием млечного сока (данная особенность объясняет этимологию названия исследуемой таксономической единицы), находящегося в соответствующих сосудах, которые образуют систему анастомозирующих друг с другом трубок, возникающих из

удлиненных клеток, при этом поперечные перегородки между ними отсутствуют [121, 140].

Латук компасный может быть как однолетним, так и двулетним травянистым растением. Первое описание латука было сделано в 1756 году Карлом Линнеем, а позже в 1763 году ему присвоено еще одно название – *Lactuca scariola* L. – Латук дикий, являющееся синонимом. Является прямым потомком латука посевного (*Lactuca sativa* L.), причем, в генетическом коде было обнаружено настолько много сходств, что некоторые ботаники считают разделение данных растений на 2 вида не совсем оправданным [54].

Латук является компасным растением, что представляет собой условное название группы растений, у которых листья располагаются плоскостью по меридиану, таким образом, края их направлены на север и юг, а плоскости на восток и запад. Это способствует тому, что «компасные растения» защищают листья от чрезмерного нагревания и освещения, и излишней траты воды, вследствие того, что полуденные солнечные лучи падают тогда на острый край листа. При этом снижения фотосинтеза не происходит. Растения не располагают свои листья по меридиану, если их вырастить в рассеянном свете, следовательно, здесь, как и у других растений, данное расположение листьев объясняется действием солнечных лучей [58].

Высота стебеля – 60-140 см, стебель бороздчатый, в верхней части ветвистый, цвет его беловатый или желтоватый (в основании может быть фиолетово-красноватым). Стебель голый, у основания внизу бывает покрыт редкими жесткими шипиками. Листья выемчато перисто надрезанные, большей частью имеющие две доли, обращенные назад, в солнечную погоду располагаются вертикально. Листья сизые сидячие, стеблеобъемлющие, у основания стреловидные. Главная жилка снизу покрыта желтоватыми жесткими шипиками, край листьев мелко шиповато-зубчатый. Форма верхних стеблевых листьев ланцетовидная, они цельные; в некоторых случаях все листья более или менее цельные, край их мелко шиповато-

зубчатый. Форма корзинок цилиндрическая или продолговатая, корзинки включают 15-25 цветков, расположенных на цветоносах, которые длиннее корзинок и имеют один или несколько мелких чешуевидных листьев. Снаружи корзинки опушены войлочком или имеют пупырчатую структуру, содержат одно или несколько пятен фиолетового или светло-фиолетового цвета, верхушка их притупленная, иногда имеет пучок волосков прозрачного цвета. Листочки обертки снаружи имеют яйцевидную или треугольную форму, форма внутренних листочков – линейно- или продолговато-ланцетовидная, край их имеет пленчатую, слегка волнистую кайму. Венчики имеют желтый цвет (при сушке часто синеющие). Общее соцветие – метельчатое или пирамидальное. Плод – семянка 3-3,5 мм длины и до 1 мм ширины, имеющая узкообразно-яйцевидную или продолговато-эллиптическую форму, серый, буроватый или оливковый цвет. Плоды уплощенные, имеют 7-9 выступающих ребрышек на каждой стороне, покрытых большей частью вверху длинными, вверх торчащими светлыми волосками, между которыми расположены мельчайшие волоски, образующие поперечно-волнистые полосы. Семянки на верхушке переходят в тонкую шейку, заканчивающуюся нитевидным носиком беловатого цвета, который немного или в 1,5 (2) раза превышает семянку, и на верхушке которого располагается красновато-коричневый диск плоско-конусовидной формы с хохолком, состоящим из тонких, белых, мягких волосков длиной до 6 мм [71, 121].

Распространен латук компасный по всем регионам Средней Азии, встречается и в Северной Африке. Также следует отметить Европейскую часть, Западную Сибирь, Восточную Сибирь, Кавказ, Дальний Восток [32, 98, 121]. В средней полосе России растет во всех областях: обыкновенно в черноземной зоне, севернее реже [48].

Растет растение по сорным местам, вдоль дорог, на полях и залежах, у жилья, в садах, огородах, виноградниках, на поливных землях, вдоль оврагов [121].

По данным исследований Н.С. Камышева, латук компасный относится к растениям, имеющим широкое распространение во флоре центрального Черноземья, коэффициент его встречаемости составляет 5 (обычное растение) [51].

1.2. Сведения о составе БАВ латука компасного

В латуке компасном найдены различные группы БАВ, главной группой из которых являются сесквитерпеновые лактоны гваянолидного ряда (Таблица 1).

Таблица 1 – Химический состав латука компасного

Орган растения	Установленные соединения	Источник литературы
1	2	3
Надземная часть	Сесквитерпеноиды: <ul style="list-style-type: none"> • лактуцин • лактуцин, 8-дезокси • лактукопикрин • лактупикрин • 8-дезоксилактунин • яквиленин • метил-2-оксо-6α, 15-дигидрокси-8α-(p-гидроксифенилацетокси)-гвайя-1(10), 3, 11-триен-5αH-12-оат • мелаμποлид глюкозид • диацетоксиматрикарин • лолиолид • лактуцин-15-оксалат • 15-(4-гидроксифенилацетил)-лактунин-8-сульфат • лактуцерин 	[54, 149, 163] [153] [149] [54]

Продолжение Таблицы 1

1	2	3
	<ul style="list-style-type: none"> • лактуциктин • 11β, 13-дигидролактучин Стероиды: <ul style="list-style-type: none"> • стигмастерола ацетат • β-цитостерол • кампестерол • 14-β-перганан • 4-пипрденон Углеводороды: <ul style="list-style-type: none"> • эйкозонал • трикозен • икозин • эйкозин • α-бисбол • α-бисаболен эпоксид Флавоноиды: <ul style="list-style-type: none"> • кверцетин-3-О- β-D-глюкопиранозид • лютеолин-7-О- β-D- глюकोпиранозид • лютеолин • кверцетин • кемпферол Тритерпеноиды: <ul style="list-style-type: none"> • 3-бета-О-[альфа-L-рамнопиранозил]-30-норолеан-12, 19-диене-28-оик 28-кислоты-сложный эфир [бета- D-глюкопиранозил-(1-&gt; 4)-О-бета-D-галактопиранозил] • герминкол • лупеол • α-амирин • β-амирин • олеан-18-ен • ацетат лупеола Алкалоиды Сахара Гликозиды Органические кислоты Эфирное масло Жирное масло Камеди	[150] [140] [140] [150] [54, 142] [140] [157] [157] [157] [157] [157] [157] [157]
Семена	Алкалоиды Сесквитерпеноиды: <ul style="list-style-type: none"> • лактуцин • лактукопикрин Тритерпеноиды:	[157, 158] [157, 158] [170]

Продолжение Таблицы 1

1	2	3
	<ul style="list-style-type: none"> • 3-O- [β-D-галактопиранозил- (1-3) - O-бета-D-ксилопиранозил-(1-4) -O-альфа-L-рамнопиранозил] олеаноловой кислоты <p>Эфирное масло:</p> <ul style="list-style-type: none"> • n-гексанол • n-гексанал • транс-2-октен-1-ол • 2- n-пентилфуран <p>Щавелевая кислота</p> <p>Жирное масло</p>	<p>[54]</p> <p>[157]</p> <p>[125]</p>
Листья	<p>Эфирное масло:</p> <ul style="list-style-type: none"> • α-пинен • γ-цимен • тимол • дуренол • α-терпинен • тимол ацетат • спатуленол • камфен • лимонен • эукалиптол • α-терпинол • сантолина триен • камфор • виридифлорол • сабинен гидрат • γ-терпинол • лимонен оксид • гермакрен D • борнил • β-кариофиллен • кариофиллен оксид • глобулол • α-селинен • карвеол • β-пинен • α-феландрен • туйол • изоцитронеллол • изотерпинен <p>Витамины:</p> <ul style="list-style-type: none"> • каротин • витамин B₁ 	<p>[54, 140]</p> <p>[157]</p>

Продолжение Таблицы 1

1	2	3
	<ul style="list-style-type: none"> • витамин С • витамин Е • витамин К Гликозиды [166] Сапонины [166] Стероиды [166] Флавоноиды [166] Танины [166] Углеводы [166] Тритерпены: [140] <ul style="list-style-type: none"> • лупеола ацетат • лупеол • β-амирин • α-амирин • германикол • олеан-18-ен Сесквитерпены: [149] <ul style="list-style-type: none"> • лактукопикрин • каучук 	
Сок	Тритерпеновые сапонины: [54] <ul style="list-style-type: none"> • 3-β-О-[альфа-L-рамнопиранозил]-30-норолеан-12, 19-диене-28-оик 28-кислоты-сложный эфир [β-D-глюкопиранозил-(1->)] • О-β-D-галактопиранозил] Сесквитерпены: [74] <ul style="list-style-type: none"> • лактуцин • лактуцерин • лактуциктин • лактукон • лактуциновые кислоты Витамины: [158] <ul style="list-style-type: none"> • β-каротин Минеральные элементы: <ul style="list-style-type: none"> • железо Алкалоиды [125]	

Сесквитерпеновые лактоны найдены в различных органах латука компасного. В 1977 году впервые из травы латука компасного были выделены гваянолиды: лактукопикрин, лактуцин и 8-дезоксилактуцин [160]. При дальнейших исследованиях были изучены сесквитерпеновые лактоны

травы латука компасного, произрастающего на территории Испании, в частности в Буньоле, Валенсия. Для изучения сырья было собрано в 1989 году, высушено на воздухе, далее сырье измельчали, экстрагировали метанолом (комнатная температура). Полученный остаток после удаления метанола фракционировали на силикагеле с использованием подвижной фазы: гексан-диэтиловый эфир – 1:3, с последующим разделением в подвижной фазе: гексан-диэтиловый эфир – 2:1, 1:5, что позволило выделить диацетоксиматрикарин. Далее остаток разделяли на силикагеле на фракции (система растворителей: хлороформ-этилацетат– 5:1, 1:5), в результате был выделен лолиолид, и смесь веществ, содержащая лактуцин и дигидролактучин. Из следующей фракции смесью растворителей хлороформ-метанол методом тонкослойной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии (растворитель: метанол-вода – 1:1) выделены соединения: новый гваяновый эфир метил-2-оксо-6 α , 15-дигидрокси-8 α -(*p*-гидроксифенилацетокси)-гвайя-1(10), 3, 11-триен-5 α H-12-оат и мелаμποлид глюкозид, а также смесь веществ лактуцина, дигидролактучина, лактопикрина и смесь 8-дезоксилактуцина и яквиленина, которые не были разделены. Структуру данных соединений устанавливали при сравнении их спектров со спектрами соответствующих стандартных образцов и соответствующими литературными данными [153].

При исследовании латука компасного, произрастающего в Корее, из метанольного экстракта на силикагеле методом колоночной хроматографии выделен сесквитерпеновый лактон 11,13-дигидролактучин [150].

Наличие сесквитерпеновых лактонов установлено и в семенах растения [157].

При проведении поиска альтернативных источников каучука в растениях семейства сложноцветные был изучен и латук компасный. С этой целью экстрагирован латекс из стеблей латука компасного и установлено, что он содержит *cis*-1,4-полиизопреновый каучук в дихлорметановых

извлечениях и сесквитерпеновые лактоны в ацетоновых экстрактах. Содержание латекса в каучуке составило 2,2%, а смолистого содержимого от 11,4% до 12,9% [149].

В латуке компасном исследованы и тритерпеновые соединения [142]. Тритерпеновые соединения были исследованы в сырье, произрастающем в северном регионе Саудовской Аравии. Для выделения тритерпеновых сапонинов сырье экстрагировали в аппарате Сокслета в течение 24 часов, экстрагентом выступал петролейный эфир, далее шрот растения экстрагировали метанолом. Метанольный экстракт разделяли методом жидкостной хроматографии, элюирование проводили гексаном, затем, постепенно повышая полярность, хлороформом и этилацетатом. С помощью метода тонкослойной хроматографии полученные фракции разделяли в системе растворителей: этилацетат-метанол (9:1). Таким образом, выделены три фракции. Из первой фракции колоночной хроматографией на силикагеле при использовании подвижной фазы гексан-дихлорметан (80:20), с дальнейшим использованием тонкослойной хроматографии, получили два соединения: лупеол и лупеола ацетат. Вторую фракцию исследовали методом препаративной хроматографии в системе растворителей этилацетат-метанол (9:1). В результате выделили – герминкол, α -амирин, β -амирин, олеанан, олеанен-18 (германицен), структура которых установлена методом ЯМР-спектроскопии в сравнении со стандартными образцами. Найденные тритерпены являются характерным маркером семейства астровые и представлены двумя основополагающими структурами: олеан (герминкол, β -амирин и т.д.) и лупеан (лупенон) [140].

Из семян латука компасного выделен новый тритерпеновый сапонин 3-О- [β -D-галактопиранозил- (1-3) -О-бета-D-ксилопиранозил-(1-4) -О-альфа-L-рамнопиранозил] олеаноловой кислоты. Структура выделенного сапонина была установлена с помощью спектрального анализа и химических

превращений. Данное соединение проявило антимикробную активность в отношении бактерий и грибов [170].

Наряду с указанным соединением в млечном соке латука установлено наличие 3-бета-О-[альфа-L-рамнопиранозил]-30-норолеан-12, 19-диене-28-оик 28-кислоты-сложный эфир [бета- D-глюкопиранозил-(1->); О-бета- D-галактопиранозила] [54].

Наряду с тритерпеновыми соединениями латук компасный содержит и стероидные соединения. При исследовании противораковой активности латука дикого, произрастающего в условиях сухой пустыни северного региона Саудовской Аравии, в гексановом и метанольном экстрактах из травы растения были установлены стероидные соединения. В гексановом экстракте с использованием метода газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией идентифицированы такие стероиды, как ацетат стигмастерола, β -ситостерол и кампестерол, а в метанольном экстракте 14b-перганан и 4-пипрденон. 4-пипрденон является производным пиперидина с молекулярной формулой C_5H_9NO .

Дальнейшие исследования латука компасного показали наличие эфирного масла в листьях латука компасного, произрастающего в Саудовской Аравии. Получали эфирное масло из свежих листьев методом гидродистилляции на водяной бане, анализ проведен с помощью газо-жидкостной хромато-масс-спектрометрии. В составе эфирного масла установлены следующие компоненты: эукалиптол, α -терпинол, сантолина триен, камфор, виридифлорол, сабинен гидрат, γ -терпинол, лимонен оксид, гермакрен D, лимонен, борнил, β -кариофиллен, карифиллен оксид, глобулол, α -селинен, карвеол, карифиллен, β -пинен, α -феландрен, туйол, камфен, изоцитронеллол, изотерпинен [140]. Эфирное масло исследовано также в листьях растения, произрастающего в Азии. Основными компонентами данного эфирного масла установлены: α -пинен, тимол, γ -

цимен, тимол ацетат, дуренол, α -терпинен, кариофиллен, лимонен, спатуленол, камфен [54].

При изучении антиоксидантной активности некоторых компонентов надземных частей растений Кореи, была установлена антиоксидантная активность извлечения, полученного из надземной части латука дикого, в составе которого идентифицированы флавоноиды. Исследованию подвергали траву латука дикого, собранную в 1999 году в Корее. Сырье высушивали на воздухе и экстрагировали при комнатной температуре метанолом в течение 7 дней. Далее метанольный экстракт подвергали разделению гексаном, этилацетатом, бутанолом, водой. В этилацетатной фракции установлено наличие пяти флавоноидных соединений, трех агликонов: лютеолина, кверцетина, кемпферола и двух гликозидов: кверцетин-3-О- β -D-глюкопиранозида, лютеолин-7-О- β -D-глюкопиранозида [150]. Флавоноидные соединения обнаружены и в листьях растения [166].

Среди других природных соединений установлено наличие углеводов в надземной части латука компасного [140].

При проведении фитохимического изучения надземная часть растения показала наличие алкалоидов, камедей, органических кислот, эфирного масла, жирного масла, свободных сахаров, витаминов: каротина, В₁, С, Е, К. В семенах установлено содержание алкалоидов, горечи, щавелевой кислоты, лактуцина, лактукопикрина и сесквитерпенового лактона, тритерпеновых сапонинов, эфирного масла, жирного масла [125, 157]. Листья растения характеризуются наличием гликозидов, сапонинов, стеролов, танинов, углеводов, каучука [166].

1.3. Использование латука компасного в народной медицине и обзор его фармакологических исследований

Латук компасный широко применялся в древней медицине [54]. Если верить Decandolle (1895 г.), латук культивируется уже около 2000 лет. Его лекарственное действие описывал еще Гиппократ (430 до н.э.). Помимо этого свойства латука были оценены Аристотелем (356 до н.э.). Некоторые виды латука описал Теофраст (322 до н.э.) и Диоскорид (60 н.э.). Такие арабские врачи, как Алтабри, Рази, Абу-Али, Ибн-Сина и Маджузи привели детальное описание фармакологическим эффектам и применению в практике семян латука компасного. Выдающийся юнанский врач скорпулезно описал фармакологические свойства растения. Оно используется в основном как анальгетик, диуретик, успокаивающее и охлаждающее средство. Основываясь на текстах Юнани, приведенные врачами, латук дикий и его компоненты рекомендовались для устранения головной боли, бессонницы, лихорадки, сердцебиения, нервозности, болезненного мочеиспускания [157].

В народной медицине латук применяют внутрь как средство, обладающее способностью очищать кровь, успокаивать желчь, жажду, снимать жар, лечить абстиненцию, опьянение. Латуком лечили головные боли, кашель. Траву использовали для лечения проказы, болей в молочной железе, язвы мочевого пузыря, сымасшествия, гонореи, лихорадки [74, 97, 125].

Применение латука компасного совместно с уксусом приводит к повышению аппетита, уменьшает желудочную боль, лечит желтуху. Отваренный латук эффективное средство, когда заболевают органы грудной клетки, в результате чего все больше выделяется молоко. Применение листьев салата осуществляется при растяжении связок как наружное средство в виде повязки. Применение его совместно с вином препятствует опьянению [54].

В работе В.П. Махлаюка имеются сведения о том, что в Средней Азии настой травы латука компасного пьют как охлаждающее средство, а порошок из листьев латука содействует быстрому заживлению ран [74].

В литературе найдены сведения о применении латука компасного в индо-тибетской медицине для лечения инфекционных заболеваний, переломов костей, заболеваний легких, а также в качестве детоксикационного средства при отравлениях [97].

В старину его заготавливали как надежное средство от бессонницы [33].

Млечный сок латука, при наружном применении препятствует росту волос, благоприятствует при горячих опухолях.

Имеются сведения о том, что в народной медицине применяют смолу лактукарий, которую получают из млечного сока растения, она имеет горький вкус и неприятный запах. Лактукарий употребляют аналогично настою травы, в небольших дозах как снотворное, обезболивающее, успокаивающее, мочегонное и слабительное средство [74, 97, 125]. Лактукарий обладает наркотическими свойствами: снижает болевую чувствительность, притупляет рефлекторную и двигательную возбудимость и вызывает сон, но большие дозы могут оказаться смертельными [44, 125]. Латук применяют для лечения заболеваний желудка, как лактогенное средство, наружно – для лечения растяжения мышц [97]. В трудах С.Е. Землинского имеются упоминания о том, что свежий млечный сок применяется для лечения сердечных заболеваний в гомеопатии [44].

Латук в виде кашицы используется, чтобы излечить жар глаз, опухоль. Использование золы растений осуществляется в соответствии с наружным излечением язвенных заболеваний, также лечению подвергаются воспаления слизистой ротовой полости.

У семян латука выявлены свойства, вызывающие сон. Использование семян латука внутрь вызывает излечение поллюции, уменьшение мужской потенции. Также стоит отметить, что в результате их использования

снижаются боли в соответствии с грудной клеткой. Если поместить семена латука на лобную часть, снижается головная боль, осуществляется укрепление волос.

Применение масляного раствора латука, приготовленного с использованием кунжутного масла, применяется в качестве средства, вызывающего сон, для лечения меланхолии, эпилепсии, он также вызывает размягчение уплотнений тела [54]. Также его масло может использоваться в приготовлении линиментов [157].

Проведенные экспериментальные исследования показали наличие антиоксидантной активности у латука компасного. Антиоксидантная активность изучалась на примере антирадикальной активности, основанная на реакции свободных радикалов с хромогенным реактивом 1,1-дифенил-2-дипикрилгидразилом (DPPH). При изучении антирадикальной активности растительное сырье (надземные органы латука дикого) было собрано в 1999 году в Ванджу, Корея. Сырье экстрагировали трижды в течение семи дней метанолом. Далее метанольное извлечение обрабатывали гексаном, этилацетатом и бутанолом. Каждую полученную фракцию тестировали на наличие антиоксидантной активности. Наиболее сильное действие показала фракция веществ, растворимая в этилацетате. Далее авторами была изучена антиоксидантная активность выделенных флавоноидных соединений и установлено, что выделенные флавоноиды (кверцетин-3-глюкопиранозид, лютеолин-7-глюкопиранозид, лютеолин, кверцетин) обладали антиоксидантной активностью, свидетельствующее о том, что изолированные флавоноидные соединения могут быть использованы для лечения заболеваний, вызванных действием кислородсодержащих веществ (свободных радикалов) [150].

Метанольный экстракт латука дикого обладал спазмолитическим и спазмогенным, бронхо- и сосудорасширяющим действием. Помимо этого метанольный экстракт растения оказывает воздействие на изолированную

культуру клеток тонкой кишки кролика, при этом наблюдается концентрационно зависимый спазмогенный эффект (от 0,03 до 3,0 мг/мл), но, что интересно, при дальнейшем повышении концентрации (до 5,0 мг/мл) начинает проявляться спазмолитический эффект. Обработка культур клеток атропином вызывает подавление сократительного ответа и расслабление спонтанной активности. Этот факт позволяет предположить двойственную природу сократительного ответа, вызванного метанольным экстрактом, который, возможно, является посредником в виде агониста мускариновых рецепторов. Спазмогенная активность может быть следствием воздействия некоторых холинергических компонентов, в то время как спазмолитический эффект может достигаться благодаря компонентам-блокаторам кальциевых каналов, вызывающих расслабление гастроинтестинальных, трахейных и аортальных гладких мышц. Метанольный экстракт латука дикого также исследован на карбахол и калий-индуцированных устойчивых сокращениях изолированной ткани трахеи кролика. Исследуемый экстракт оказывал расслабляющий эффект на оба типа контракций, но для расслабления карбахол-индуцированного сокращения потребовался экстракт с намного меньшей концентрацией, чем для купирования калий-индуцированного [158].

Метанольный экстракт растения был изучен на наличие анальгетической и противовоспалительной активностей. Анальгетическая активность изучалась на здоровых мышах путем легкого удара по хвосту в методе погружения хвоста. Противовоспалительную активность оценивали объемно по мере повышения температуры в задних лапах определенного количества крыс с помощью плетизмометра. Ацетилсалициловая кислота в дозировке 300 мг/кг использовалась в качестве стандартного препарата. Растительный экстракт брался в количестве 300, 500 и 1000 мг/кг. Контрольная группа получала 0,9% раствор натрия хлорида (физиологический раствор). Все дозы вводились перорально. Результаты показали, что латук компасный обладает

потенциальной анальгезирующей активностью, но бесполезен как противовоспалительное средство [144].

Экспериментальные исследования показали, что лактуцин, изолированный из семян латука компасного, обладает жаропонижающим действием [158].

Латук дикий находит применение в качестве седативного средства [53]. Обезболивающие и седативные свойства изучены и у сесквитерпеновых лактонов, содержащихся в латуке компасном: лактуцина и его производных: лактукопикрина и 11 β -13-дигидролактучина. Из трех исследуемых соединений наиболее сильным анальгетиком оказался лактукопикрин. Лактуцин и лактукопикрин проявили также значительный седативный эффект в тесте спонтанной двигательной активности. Использование плацебо позволило проконтролировать эффект экстракта латука в двойном слепом исследовании на объектах с тревожно-депрессивным расстройством и доказало значительный эффект, который оказывали компоненты растения при купировании тревоги и симптомов депрессии [157].

Спиртовые экстракты надземной части латука дикого исследованы *in vitro* на наличие цитотоксической активности к культурам клеток типа НСТ116 (клетки карциномы толстой кишки), А549 (клетки аденокарциномы), Нер62 (карцинома гепатоцитов) и MCF-7 (злокачественная опухоль молочной железы). Цитотоксическая активность против указанных культур клеток была исследована в национальном институте лечения рака Саудовской Аравии. Доксорубин во флаконах по 10 мл (Швейцария) использовался как эталонный препарат. Результаты исследований показали наличие высокой цитотоксической активности компонентов спиртового экстракта в отношении к раку молочной железы и умеренной цитотоксической активности компонентов гексанового экстракта в отношении к раку печени [140].

Исследовав латук в клинике, стоит отметить, что при его использовании осуществляется стимулирование гемопозеза, улучшается то, в каком состоянии находится пациент, когда излечивается желудочная болезнь, двенадцатиперстная кишка, хронический гастрит. Йод, содержащийся в его составе, способствует его применению при тиреоидите. Отмечено, что латук понижает количество сахара в крови, обладает антидиабетическими свойствами. Экспериментальные исследования выявили, что листья латука предотвращают поражение кардиомиоцитов при сахарном диабете [54].

Тритерпеновые сапонины, алкалоиды и фенольные соединения, выделенные из семян латука, произрастающего в Ираке, оказывали антибактериальное действие против различных бактерий и грибов. Антибактериальную активность выделенных соединений изучали диффузным методом *in vitro* в агаре. Исследуемые микроорганизмы были засеяны на стерильный питательный агар, и инкубированы при температурном режиме 37 °С в течение суток. По прошествии суток петлю с культурой перенесли в 5 мл питательного бульона и проводили инкубирование 2 часа при температуре 37 °С, использующегося в качестве прививочной суспензии. Исследование также включало использование стерильной дистиллированной воды в качестве контроля. Все пластинки после инкубирования исследовались на наличие зон ингибирования, которые измеряли в миллиметрах. Результаты показали, что среди 9 болезнетворных микроорганизмов только грамположительные *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus aprophyticus* были восприимчивы к терпеноидам, алкалоидам и фенольным соединениям, в то время, как *Staphylococcus epidermidis* оказался устойчивым к их воздействию. Также результаты показали, что грамотрицательные бактерии также устойчивы к действию данных компонентов [130].

Проведены исследования по изучению противосинежной активности водного и метанольного экстрактов, полученных из листьев латука дикого по

отношению к культурам синегнойной палочки, выявленных у пациентов в Нигерии. Экстракцию листьев проводили дистиллированной водой и метанолом, а далее определяли противосинегнойную активность методом диффузии в агар, с использованием различных концентраций экстрактов. В результате установили, что и водный, и метанольный экстракты демонстрируют дозозависимую противосинегнойную активность, близкую к таковой у ципрофлоксацина. Данное исследование показывает возможность использования латука в традиционной медицине для лечения инфекций, вызванных синегнойной палочкой [133].

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1

1. В соответствии с данными, полученными при анализе литературных источников, латук компасный широко произрастает на территории Российской Федерации. Коэффициент встречаемости латука в областях центрального Черноземья составляет 81-100%, что говорит о его широком распространении и в связи с этим возможностью заготовки в промышленных масштабах.

2. Состав соединений, содержащихся в траве латука компасного исследован фрагментарно, изучены лишь отдельные классы БАВ: сесквитерпены, тритерпены, стероиды, флавоноиды и то не в полном составе, а также преимущественно зарубежными авторами. Комплексного фармакогностического исследования латука компасного не проводилось, отсутствуют методики качественной и количественной идентификации действующих веществ.

3. Латук компасный не является официальным растением, но народная медицина использует его для лечения различных заболеваний в качестве седативного, анальгезирующего, противовоспалительного, жаропонижающего, спазмолитического и прочих средств.

Фармакологические исследования, проведенные в основном, зарубежными учеными, подтвердили многие виды фармакологической активности растения, что показывает его перспективность для дальнейшего изучения.

4. Разработка нормативной документации на сырье требует определения подлинности сырья по морфологическим и микродиагностическим признакам, которые не изучены у данного растения, что обуславливает проведение таких исследований.

Все перечисленное говорит об актуальности и перспективности проведения фармакогностического исследования травы латука компасного.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объект исследования

Объекты исследования – латука компасного трава (Рисунок 1). Сырье было заготовлено в разных областях Центрального Черноземья. С 2018 по 2020 гг., на протяжении вегетационного периода, в большей части в период цветения растения.

Изученное сырье латука компасного:

Образец №1 – трава латука компасного, заготовленная в 2018 году в период цветения растения в Курской области, Мантуровском районе, использована для изучения накопления веществ по органам растения, для проведения фитохимического анализа, установления сроков хранения сырья, разработки методики качественной идентификации и количественного определения флавоноидов, для разработки проекта НД, валидации методик;

Образец №2 – трава латука компасного, заготовленная в 2019 году на протяжении вегетационного периода в Курской области, Курском районе, использована для проведения морфолого-анатомических исследований, исследования накопления БАВ по фазам вегетации с целью установления сроков заготовки сырья, для разработки проекта НД;

Образец №3 – трава латука компасного, заготовленная в 2018 году в период цветения в Белгородской области, Валуйском районе, использована для проведения морфолого-анатомических исследований, разработки проекта НД, валидации методик;

Образец №4 – трава латука компасного, заготовленная в период цветения в 2019 году в Белгородской области, Валуйском районе, использована для разработки проекта НД;

Образец №5 – трава латука компасного, заготовленная в период цветения в 2019 году в Орловской области, Болховском районе, использована для разработки проекта НД, валидации методик;

Образец №6 – гербарные образцы кафедры фармакогнозии и ботаники КГМУ;

Образец №7 – свежее сырье, заготовленное в период цветения в 2019 году в Курской области, Курском районе, использовано для проведения морфолого-анатомического изучения.

При заготовке сырья срезали облиственные цветущие побеги не более 25 см, а также обрывали нижние листья. Собранное сырье сушили в затемненном месте до тех пор, пока стебли ломались с треском, измельчали, упаковывали в бумажные мешки и хранили в лаборатории. Хранение осуществляли в комнате, не допуская попадания солнечных лучей, соблюдая температуру 22-23°C и не подверженной заражению амбарными вредителями [39].

В рамках фармакологических исследований был использован настой, приготовленный в соответствии с ГФ XIV издания в соотношении 1:10, а также пектиновые вещества [39].



Рисунок 1 – Латук компасный (Курская область, ботанический сад КГМУ, 2019)

2.2. Методы исследований, применяемые при фитохимическом изучении

Фитохимические исследования латука компасного травы проводили в извлечениях, полученных с помощью различных экстрагентов: гексана, спирта этилового, воды очищенной.

2.2.1. Исследование водорастворимых соединений

Применение водных извлечений осуществляется для того, чтобы исследовать водорастворимые вещества, применяя качественные реакции и хроматографические исследования.

2.2.2. Изучение углеводов

Определение сахаров в свободном виде

Реакцию Бертрана использовали для определения свободных сахаров (нагревали смесь водного извлечения латука компасного и реактива Фелинга в равных объемах), при этом должен образовываться осадок кирпично-красного цвета меди закиси [68]. Чтобы подтвердить тот факт, что имеются свободные сахара, осуществляется проведение бумажной хроматографии (бумага FN-1), когда также применяется система с растворителями: пиридин–вода–бутиловый спирт (4:3:6) и достоверных образцов сахаров [23]. Хроматограмму высушивали, опрыскивали анилин–фталатным реактивом, снова высушивали и нагревали в сушильном шкафу. При наличии сахаров появляются красно-коричневые пятна [23].

Определение сахаров в связанном виде (составе гликозидов и полисахаридов)

а) в составе гликозидов сахара определяли качественными реакциями: реакцией Бертрана после проведения гидролиза извлечения 5% кислотой серной; реакцией с раствором 20% α -нафтола, при наличии гликозидов должно появиться вишнево-красное кольцо [68, 105].

б) полисахариды определяли путем осаждения полисахаридов спиртом этиловым 96%, который приливали к упаренному водному извлечению. При наличии полисахаридов должен выпадать осадок [52, 59].

2.2.3. Изучение азотистых оснований

Качественный анализ

Для исследования на наличие азотистых оснований применяли следующие качественные реакции, которые проводили:

а) с кислотой фосфорновольфрамовой 3% раствором должно появиться помутнение;

б) с аммония ваданата в концентрированной серной кислоте (реактивом Манделина), должно появиться на границе двух жидкостей темно-коричневое кольцо; перемешивание жидкостей должно приводить к образованию зеленого окрашивания;

в) с кислотой хлористоводородной (0,2М) и раствором бриллиантового зеленого (0,1%), должно появиться зеленое окрашивание [24, 29].

Присутствие азотистых оснований подтверждали использованием метода хроматографии (бумага FN-5), подвижной фазой выступала: уксусная кислота ледяная–вода–бутиловый спирт – (1:2:4) [24, 29].

Количественный анализ

Содержание азотистых оснований определяли фотоэлектроколориметрическим методом с использованием реакции азотистых оснований с солью Рейнека, при которой образуются окрашенные комплексы и последующим измерением оптической плотности при длине волны 410 нм (синий светофильтр) [24].

2.2.4. Исследование аминокислотного состава

Для исследования наличия аминокислот применяли нингидриновую реакцию, при которой к концентрированному водному извлечению приливают свежеприготовленный раствор нингидрина 0,1% и нагревают [16, 26].

Состав аминокислот и их содержание исследовали на базе испытательного центра «Фармоборона» методом обращенно-фазовой хроматографии с помощью прибора ВЭЖХ Agilent 1260 (Производство Германия), детектор FLD (флуоресцентный) и использования водного извлечения, которое получали измельчением точной навески сырья латука (5,0 г) до 1 мм и экстрагированием водой (50 мл) на протяжении часа. Полученное извлечение пропускали через воронку с фильтром «Белая лента». Сырье возвращали в экстракционную колбу и экстрагировали и фильтровали таким образом еще 3 раза. Водные извлечения объединяли и использовали для анализа.

Для определения наличия и содержания аминокислот использовали аликвоту полученного водного извлечения и водные стандартные растворы аминокислот, которые подвергали дериватизации реагентом ACCQFLUOR, далее содержимое выдерживали на вихревом миксере для перемешивания и инкубировали, используя температуру 55 °С на протяжении 10 минут.

Дериватизированные растворы вводили в хроматографическую колонку Waters AccQ Tag., разделение аминокислот проводили с применением флюорометрического детектора. Условия анализа: градиентный метод элюирования, подача подвижной фазы со скоростью – 1 мл/мин, длины волн для исследования: 250 нм и 395 нм [108].

2.2.5. Исследование дубильных веществ

Дубильные вещества были исследованы качественными реакциями:

а) с формальдегидом и кислотой хлористоводородной, для этого исследуемое извлечение помещали в пробирку, к которому приливали раствор формальдегида и кислоту хлористоводородную, должен появиться осадок, если в сырье содержатся конденсированные дубильные вещества;

б) с водой бромной, для этого исследуемое водное извлечение помещали в пробирку, к которому приливали раствор бромной воды 0,5%, при наличии дубильных веществ должен появиться осадок;

в) с раствором желатина, для этого в пробирку осуществляли помещение водного извлечения, к которому по каплям вносили свежеприготовленного желатина 1% и 10% кислоту хлористоводородную, должен появиться осадок;

г) с квасцами железо-аммонийными, для этого исследуемое извлечение помещали в пробирку, к которому приливали железо-аммонийные квасцы в виде 1% раствора [23, 39, 87].

Количественный анализ дубильных веществ осуществляли с использованием метода перманганатометрии в соответствии с ГФ XIV издания [39]. Навеска сырья – 2,0 г, объем воды очищенной – 250 мл, количество извлечения, взятого для анализа – 25 мл, титрантом выступал калия перманганат – 0,02 моль/л, индикатором – раствор индигосульфокислоты – 25 мл. Окончание титрования - появление желтого окрашивания [39, 87, 112].

2.2.6. Изучение органических кислот

Анализ органических кислот хроматографическими методами

Для обнаружения органических кислот использовали тонкослойную хроматографию на пластинках Sorbfil ПТСХ-АФ-А на алюминиевой подложке и подвижной фазы: раствор аммиака концентрированный – спирт этиловый 96% (4,5:16), детектирующим агентом был выбран бромкрезоловый зеленый [23].

Для подтверждения наличия и более глубокого изучения органических кислот применяли метод газо-жидкостной хроматографии. Органические кислоты идентифицировали, проводя сравнение полученных метиловых эфиров и метиловых эфиров, полученных из достоверных образцов органических кислот, а также используя данные масс-спектров WILLEY 2007, NIST 2005, а также программ идентификации NIST и AMDIS [3, 66, 92, 135, 136, 137]. Анализ проводили методом ГЖХ с применением газо-жидкостного хроматографа Agilent Technologies 6890, снабженным масс-спектрометрическим детектором 5973N. К измельченному сырью (1-2 мм) (50,0 мг) латука компасного, помещенному в вialу «Agilent», приливали в качестве внутреннего стандарта тридекан в гексане, а далее метилирующий агент, в качестве которого выступал 1,0 мл BCl_3 14% в спирте метиловом и выдерживали 8 часов. В течение данного времени экстрагируются органические кислоты, одновременно с этим процессом происходит гидролиз и метилирование. По прошествии указанного времени осуществляется разделение сырья и реакционной смеси с добавлением к ней 1 мл воды, чтобы разбавить раствор, при помощи хлористого метилена осуществляется извлечение смеси метиловых эфиров органических кислот. Полученное извлечение анализировали с проведением идентификации органических кислот с использованием известных образцов органических кислот, данных

библиотеки по масс-спектрам органических кислот WILLEY 2007, NIST 2005 и программ идентификации NIST и AMDIS [66, 135, 137].

Анализ количественного содержания свободных органических кислот

Содержание органических кислот в траве латука определяли алкалиметрически по ГФ XIV [39].

Навеска сырья – 5,0 г, общий объем извлечения – 250 мл, объем извлечения для исследования – 10 мл, индикатор – смесь метиленового синего 0,1 % раствора и фенолфталеина раствора 1%, титрант – натрия гидроксида раствор (0,1 моль/л), окончание титрования – появление лилово-красной окраски [39, 109, 126].

Количественное определение кислоты аскорбиновой

Содержание кислоты аскорбиновой определяли методом титриметрии [39].

Навеска сырья – 5,0 г, объем воды очищенной – 300 мл, объем извлечения для титрования – 1 мл, титрант – 2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия, окончание титрования – появление устойчивой розовой окраски [39, 109, 126].

2.2.7. Исследование водно-спиртового извлечения

Для получения водно-спиртового извлечения использовали 5,0 г латука сырья, которое подвергали измельчению, помещали в колбу и вели экстракцию спиртом этиловым 70% на протяжении 1 часа при медленном кипении. Экстрагирование указанным выше способом проводили 3 раза.

Извлечения объединяли, отгоняли спирт до получения водного остатка. Водный остаток очищали фильтрованием от хлорофилла и экстрагировали последовательно хлороформом, этилацетатом, бутанолом для получения соответствующих фракций. Полученные фракции подвергали анализу.

2.2.8. Изучение фенолкарбоновых кислот

Фенолкарбоновые кислоты в латука компасного траве исследовали хроматографическими методами, а именно хроматографией на бумаге, используя этилацетатную фракцию. Хроматографическое исследование проводили в системе растворителей: уксусная кислота 5% и уксусная кислота 2%. Детектирующим агентом для проявления хроматограмм выступал раствор железа окисного хлорида 1%, а также пары аммиака. Фенолкарбоновые кислоты до обработки реактивами проявляются в виде голубых и коричневых пятен [12, 29, 79, 119].

Для подтверждения наличия фенолкарбоновых кислот использовали метод газожидкостной хромато-масс-спектрометрии. Проведение анализа осуществляется по аналогии с тем, как анализируются органические кислоты (глава 2, раздел 2.2.6) [66, 135, 137].

Определение количественного содержания гидроксикоричных кислот

Определение гидроксикоричных кислот проводили методом спектрофотометрии при длине волны 325 нм [29].

На первоначальном этапе проводили экстракцию сырья латука (1,0 г → 100 мл 50% спирта) в течение 45 минут. Далее полученное извлечение латука (1,0 г → 50 мл спирта) спектрофотометрировали на спектрофотометре СФ-2000, используя длину волны 325 нм [29].

2.2.9. Исследования на наличие флавоноидов

Изучение флавоноидов проводили в этилацетатной фракции и водном остатке, с которым проводили качественные реакции:

- цианидиновую (исследуемые фракции помещали в пробирки и к ним приливали концентрированную кислоту хлористоводородную, а далее добавляли магниевую стружку) [68, 73, 145, 147]; при наличии флавоноидов образуется окрашивание от розового до оранжевого и красно-фиолетового;
- цианидиновую в варианте Брианта [68, 134, 145]: при наличии положительной цианидиновой реакции содержащихся во фракции веществ ее разбавляли водой очищенной и приливали 1 мл октилового спирта. Окрашивание октанольного слоя свидетельствует о том, что в исследуемых фракциях содержатся агликаны;
- с 2% раствором алюминия хлорида, для чего его прибавляют к исследуемым фракциям, при наличии флавоноидов появляется желто-зеленое окрашивание [68, 73, 145, 147];
- с натрия гидроксидом 10% раствором, для чего его прибавляют к исследуемым фракциям, при наличии флавоноидов появляется желто-коричневое окрашивание [68, 73, 145, 147];
- со свинца ацетатом, для чего его прибавляют к исследуемым фракциям, при наличии флавоноидов, содержащих О-диоксигруппу в кольце, появляется желтый осадок [68, 114, 145];
- с борно-цитратным реактивом, для чего его прибавляют к исследуемым фракциям, при наличии 5-оксифлавонов и 5-оксифлавонолов появляется ярко-желтое окрашивание с желто-зеленой флуоресценцией [68, 145];
- для определения наличия флавоноидных гликозидов используется реакция с жидкостью Фелинга после проведения гидролиза, при этом при

наличии флавоноидных гликозидов выпадают кирпично-красные осадки [114, 145].

Качественный анализ флавоноидов подтверждается результатами различных видов хроматографии: бумажной, тонкослойной с использованием пластинок «Sorbfil» различных марок: ПТСХ-АФ-Ф-УФ и ПТСХ-П-А-УФ и систем растворителей: 30% кислота уксусная; бензол-этилацетат-кислота уксусная (50:50:1), н-бутанол-кислота уксусная-вода (40:12:28) [13, 69, 73, 145, 169]. Хроматограммы анализируются в ультрафиолетовом свете до того как обрабатываются посредством проявляющих реагентов и после стадии обработки. Проявление флавоноидов осуществляется в виде коричневых и желтых пятен [38, 73, 145].

2.2.10. Анализ фенольных соединений высокоэффективной жидкостной хромато–масс–спектрометрией

Фенольные соединения травы латука компасного исследовали методом ВЭЖХ-УФ/МС. Исследование проводили в испытательном центре «Фармоборона».

Анализ фенольных соединений травы латука компасного начинали с получения извлечения 70% спиртом этиловым (20 мл), нагреванием на бане на протяжении 1 часа, после окончания экстрагирования колбу охлаждали, содержимое пропускали через фильтр (синяя лента) в мерную колбу на 25 мл. После завершения фильтрации в колбу приливали спирт 70% до объема 25 мл и полученное извлечение исследовали методом ВЭЖХ/МС.

Наряду с испытуемым извлечением хроматографировали стандартные образцы фенольных веществ, процентная концентрация которых колебалась от 0,02% до 0,05%, растворителем служил спирт этиловый 70%. Стандартными образцами были использованы стандартные вещества, произведенные фирмами «Phytolab», «Sigma-Aldrich», «Фитопанацея», «Ph.

Eur. Reference Standart», «USP Certificate», «Dr. Ehrenstorfer»: хлорогеновая кислота (Ph. Eur. Reference Standart), Cas № 327-97-9, производитель Франция; кофейная кислота (Dr. Ehrenstorfer), Cas № 331-39-5, производитель Германия; феруловая кислота (Ph. Eur. Reference Standart), Cas № 537-98-4, производитель Франция; цинарозид (ООО «Фитопанацея»), Cas № 5373-11-5, производитель Россия; лютеолин (ООО «Фитопанацея»), Cas № 491-70-31, производитель Россия; рутин (Dr. Ehrenstorfer), Cas № 250249-75-3, производитель Геомания; кверцетин (USP Reference Standart), Cas №6151-25-3, апигенин-7-глюкозид («Phytolab»), Cas № 578-74-5, производитель Германия; апигенин («Phytolab»), Cas № 520-36-5, производитель Германия.

Чтобы проводить исследования, осуществляется применение высокоэффективного жидкостного хроматографа Agilent Technologies 1290 Infinity II, в структуру которого входят диодно-матричный и масс-селективный детекторы, чтобы детектировать и записывать ультрафиолетовые спектры; применение масс-селективного детектора, чтобы устанавливать молекулярную массу с точностью до 0,1 а.е.

Осуществляется сканирование отрицательных (Neg.) и положительных ионов (Pos.), с применением диапазона 100-1000.

Разделение фенольных соединений осуществляется с использованием колонки EC 150/4.6 Nucleosil 100-5C18 (4,6x150 мм), где частицы по размеру находятся в пределах 5 мкм. Работа масс-селективного детектора осуществляется в соответствии с атмосферным давлением (APCI).

Фенольные соединения детектируются при длинах волн 280 нм и 340 нм.

Применение УФ- и масс-селективного детекторов одновременно и два режима сканирования (для отрицательных и положительных ионов) дает полное представление о содержащихся фенольных соединениях в исследуемых извлечениях из латука компасного травы.

Полученные данные обрабатывали с использованием программного обеспечения «Qualitative analysis B.07.00» компании Agilent. Идентификацию соединений фенольной природы проводили комплексом исследований, которые включали: сравнение УФ – и масс – спектров, полученных в результате исследований извлечений из сырья и стандартных веществ, а также данными, приведенными в литературе, сопоставляли также времена удерживания. Количественный анализ фенольных соединений проводили методом внешнего стандарта [46, 47, 120]. Расчет метрологических данных проводили методиками ГФ XIV издания [39].

2.2.11. Исследование тритерпеновых соединений

Качественный и количественный анализ

Для качественного анализа тритерпеновых соединений в латуке компасного траве применяли следующие качественные реакции, которые проводили с водным извлечением и бутанольной фракцией [61, 68]:

- пенообразования; при встряхивании извлечений, содержащих тритерпеновые соединения, наблюдается образование стойкой пены;
- Фонтан-Канделя, при этом, если в сырье содержатся тритерпеновые сапонины, то и в одной, и в другой пробирках образуется пена, равная по объему и стойкости; при содержании стероидных сапонинов в щелочной среде образуется стойкая пена, превышающая как минимум в два раза пену в кислой среде.

Тритерпеновые соединения хроматографировали также в тонких слоях сорбента (пластинки «Sorbfil»), используя подвижную фазу: хлороформ-этилацетат (9:1); детектирование проводили раствором 20% кислоты серной [61, 68, 119].

В основе количественного анализа тритерпеновых соединений лежит реакция взаимодействия их с кислотой серной концентрированной и дальнейшим спектрофотометрическим определением полученных окрашенных продуктов [2, 61].

Для экстрагирования использовали: навеску сырья – 5,0 г, экстракцию вели водой очищенной, время экстракции – 2 часа, объем извлечения доводили до 50 мл.

После экстрагирования проводили гидролиз аликвоты полученного извлечения (5 мл) смесью концентрированной хлористоводородной кислоты и воды, гидролизат охлаждали и обрабатывали смесью хлороформ-спирт 96% (5:1), которая извлекала тритерпеновые соединения. Полученный хлороформно-спиртовой раствор подвергали упариванию, остаток растворяли прибавлением к нему 25 мл спирта этилового 70%. Помещение растворенного остатка осуществляется в соответствии с мерной колбой на 25 мл, после чего с прибавлением этилового 70% спирта в соответствии с меткой. Аликвоту (5 мл) полученного раствора использовали для реакции с концентрированной серной кислотой и далее вели спектрофотометрирование, используя длину волны 490 нм.

2.2.12. Исследование на наличие сесквитерпеновых лактонов

Хроматографический анализ

Для качественного анализа сесквитерпеновых лактонов использовали тонкослойную хроматографию, для чего на первом этапе проводили экстрагирование сесквитерпеновых лактонов из травы латука компасного, соблюдая следующие условия: навеска латука – 1,0 г, сырье с измельчением – 1 мм, в качестве экстрагента – спирт – 90%, экстракция на водяной бане, имеющей температуру нагрева 60 °С, время экстрагирования 0,5 часа.

Извлечение, полученное указанным способом, фильтровали через воронку с фильтром в выпарительную чашку, которое упаривали до объема около 2 мл. Извлечение концентрировали и капилляром наносили концентрированное извлечение на стартовую линию пластинки «Sorbfil» ПТСХ-АФ-А, которую помещали в систему растворителей: этилацетат–толуол (7:93). После проведения хроматографического исследования пластинку проявляли детектирующим раствором: раствором ванилина в кислоте серной концентрированной [62, 151].

Количественный анализ

Для количественного анализа сесквитерпеновых лактонов использовали метод гравиметрии [62]. Пробу сырья латука компасного измельчали в ступке до частиц, имеющих размер 1 мм (≈ 10 г). Экстракцию вели горячей водой очищенной ($t = 80$ °С) в течение 30 минут 5 раз; первый раз экстракцию вели 100 мл, в последующие 50 мл и в течение 1 часа. Из водных извлечений сесквитерпены экстрагировали хлороформом в делительной воронке (в первый раз соотношение 20:1, последующие 3 раза при соотношении 30:1). Хлороформные извлечения собирали и далее отгоняли хлороформом. К остатку приливали диэтиловый эфир (1:1), происходило выпадение осадка сесквитерпенов. Осадок отфильтровывали, сушили ($t = 60$ °С), взвешивали. Содержание сесквитерпеновых лактонов рассчитывали с учетом влажности и выражали в процентах [62].

2.2.13. Исследование жирнокислотного состава

Для изучения состава и содержания жирных кислот применяли метод газо-жидкостной хроматографии [31, 66, 135, 137]. Исследование проводили аналогично исследованию органических кислот (глава 2, раздел 2.2.6).

Идентификацию жирных кислот проводили путем сравнения данных с экспериментального исследования с данными стандартных образцов и данными, находящимися в банке библиотек, содержащих масс-спектры WILLEY 2007, NIST 2005, а также путем использования известных программ идентификации (NIST и AMDIS).

2.2.14. Исследование на содержание каротиноидов

Получение гексанового извлечения

Для получения извлечения 1,0 г измельченной сухой травы латука компасного экстрагировали гексаном (150 мл) при встряхивании содержимого колбы на магнитной мешалке (температура комнатная) 1 час. Приготовленное извлечение исследовали методом хроматографического анализа после концентрирования.

Качественный анализ

Для качественного анализа аликвоту концентрированного извлечения наносили капилляром на пластинку «Sorbfil» с алюминиевой подложкой ПТСХ-АФ-А. Пластинку с нанесенными и высушенными пробами хроматографировали в системе растворителей гексан-ацетон (8:2) [39, 68]. Каротиноиды появляются в виде желтых пятен.

Количественный анализ

Количественный анализ каротиноидов проводили спектрофотометрическим методом [39, 67]. Экстрагирование каротиноидов из травы латука компасного (1,0 г) проводили гексаном четырехкратной

экстракцией по 20 мл в течение 15 минут при встряхивании на магнитной мешалке. Извлечения, полученные экстракцией гексаном, вносили в колбу на 100 мл, туда же вносили гексан до объема 100 мл и проводили спектрофотометрирование, используя спектрофотометр СФ-2000 и длину волны 453 нм.

2.2.15. Исследование минеральных элементов

Минеральный состав травы латука компасного

Минеральный состав исследовали с использованием метода эмиссионного спектрального анализа на оптико-эмиссионном спектрометре ICP-OES Agilent 5110 [78]. 0,5 г травы латука компасного вносили в герметичный фторопластовый сосуд, приливали азотную кислоту концентрированную (3 мл) и выдерживали в муфельной печи, нагревая до 105 °С в течение 2-х часов. Содержимое вначале охлаждали на воздухе, вносили в колбу на 25 мл, туда же вносили воду до объема 25 мл. Затем проводили испытания на оптико-эмиссионном спектрометре ICP-OES Agilent 5110 [78, 115].

Изучение экологической безопасности сырья по содержанию токсичных элементов

Определение экологической безопасности сырья проводили методом атомно-адсорбционной спектрофотометрии на атомно-адсорбционном спектрометре CONTRAA 300 производителя «AnalytikJena AG», Германия, 2009 г.

Точную навеску ($\approx 5,0$ г) аналитической измельченной до размера частиц 1 мм пробы сырья помещали в фарфоровый или другой подходящий

тигель и проводили обугливание на электроплитке, не допуская сильного дымления. Затем тигель помещали в электропечь с температурой около 250°С и проводили минерализацию, постепенно повышая (на 50°С каждые 30 мин) температуру до 500°С. Продолжали минерализацию при 500°С до получения серой золы. Затем тигель охлаждали и смачивали содержимое по каплям минимальным количеством кислоты азотной, свободной от свинца и кадмия.

Выпаривали кислоту досуха на электроплитке со слабым нагревом, охлаждали. К содержимому приливали 1 мл хлорной кислоты концентрированной, осторожно выпаривали до влажных солей. Остаток должен быть белого цвета, иначе минерализацию необходимо повторить. После охлаждения пробы добавляли к ней 5-10 мл воды деионизированной, выпаривали до влажных солей, повторяя процедуру еще раз. К остатку после выпаривания приливали кислоту азотную (1%) с целью растворения и раствор вносили в колбу на 25 мл. В колбу добавляли азотную кислоту 1 % до 25 мл, взбалтывали, фильтровали через воронку с бумажным фильтром «синяя лента». Контрольным раствором служил раствор, который готовили в таком же тигле, куда помещали те же реактивы, в тех же количествах и в той же последовательности, как и при получении испытуемого раствора и проводили те же операции, используя аналогичную посуду. При этом оставляли половину контрольного раствора для последующего испытания на кадмий, если невозможно одновременное определение нескольких металлов. Далее в пламя горелки прибора последовательно вводили холостой раствор («нулевой» стандарт – 1% раствор азотной кислоты), калибровочные стандартные растворы, контрольный и испытуемые растворы. И далее рассчитывали содержание металла в испытуемом сырье в мкг/г [78].

2.3. Методы изучения углеводов

2.3.1. Получение полисахаридных комплексов и исследование их состава

Полисахаридные комплексы выделяли фракционно из сырьевой массы латука, полученной квартованием из основной массы сырья.

Отобранную пробу (50 г), приготовленную для выделения полисахаридных комплексов, очищали от липофильных и фенольных веществ, экстрагируя их хлороформом и спиртом этиловым 70%. Далее очищенный шрот использовали для выделения фракций полисахаридов. Первоначально выделяли водорастворимые полисахариды экстрагированием очищенного шрота горячей водой в трех повторностях при нагревании до 95°C: первую экстракцию проводили два часа 1л воды очищенной, вторую и третью по 1 часу каждую, используя соотношение 1:10 по отношению к шроту (50 г). Окончание экстракции завершилось отделением растительного материала от извлечения при помощи центрифугирования. После центрифугирования извлечения объединяли, концентрировали упариванием до получения 1/5 объема извлечения по отношению к первоначальному объему. К концентрированному извлечению прибавляли спирт этиловой 96% (трехкратный объем по отношению к извлечению) с целью осаждения водорастворимой фракции и оставляли содержимое колбы при комнатной температуре для образования осадка (2 часа). Осадок от жидкой фазы отделяли на воронке Бюхнера, осадок последовательно промывали спиртом 70%, 96%, ацетоном, высушивали, взвешивали [35, 93, 115].

Шрот сырьевой массы латука использовали для получения пектиновых веществ. Для чего шрот помещали в колбу на 2 л, к нему приливали смесь 0,5% аммония оксалата и 0,5% щавелевой кислоты (1:1) в объеме 1,0 л, колбу помещали на водяную баню, температура которой 80-90⁰С и выдерживали в

течение 2-х часов. Кислое извлечение отделяли от сырьевой массы, а сырьевую массу подвергали повторному экстрагированию еще 2 раза, используя соотношение сырьевая масса:экстрагент – 1:10. Извлечения, полученные указанным способом, объединяли, упаривали, осаждали спиртом 96% (5 объемами) пектиновые вещества. Осадок отделяли, последовательно промывали на воронке Бюнхера спиртом 70%, 96%, высушивали, взвешивали [35, 93, 115].

Оставшуюся сырьевую массу латука компасного использовали для выделения гемицеллюлозы А и Б. С этой целью сырьевую массу помещали в колбу и заливали её 10% раствором натрия гидроксида (5 объемами), оставляли колбу на 18 часов в условиях лаборатории. Содержимое колбы подвергали процеживанию сквозь 4 слоя марли. Из фильтрата выделяли гемицеллюлозы, приливая к нему 2 объема кислоты уксусной. Наблюдали выпадение гемицеллюлозы А в виде осадка. Образовавшийся осадок помещали на воронку Бюнхера и отделяли от жидкой фазы, после чего осуществляется последовательное промывание осадка посредством спирта 96%, очищенной водой, высушивание, взвешивание. Фильтрат используется для того, чтобы выделить гемицеллюлозу Б, для этого к нему прибавляли 3 объема спирта этилового 96% для её осаждения. Осадок гемицеллюлозы Б отделяли от фильтрата на воронке Бюнхера, промывали его спиртом 96%, водой, высушивали, взвешивали.

Моносахаридный состав полученных полисахаридных фракций устанавливали, подвергая их кислотному гидролизу (серная кислота 2н). Гидролиз проводили, используя температурный режим 100-105 °С: 6 часов гидролизовали водорастворимую фракцию полисахаридов, 20-24 часа – пектиновые вещества и гемицеллюлозы А и Б, с дальнейшей идентификацией моносахаридного состава бумажной хроматографией [28].

2.3.2. Изучение содержания моносахаров выделенных полисахаридных комплексов

Количественное определение моносахаридов проводили денситометрическим методом после проведения гидролитического расщепления полисахаридных фракций и хроматографии в тонких слоях сорбента, параллельно хроматографируя образцы моносахаридов ЧДА (чистых для анализа). Для хроматографического исследования использовали систему растворителей: бутиловый спирт-кислота уксусная-вода (3:1:1). Детектирующим агентом для хроматограмм служил анилиндифениламино-фосфатный реактив. При этом моносахара окрашивались в синий, голубовато-зеленый, коричневый цвет. Содержание моносахаридов определяли на денситометре ERi фирмы «Карл Цейес Йена» (Германия) [28, 30].

2.3.3. ИК-спектроскопия

ИК-спектры полисахаридных комплексов записывали на инфракрасном спектрометре Alpha Sample Compartment RT-DLa Tis HR 0,9 (Bruker), интервал волн составил 400–4000 см⁻¹ [35, 146].

2.3.4. Исследование функциональных групп пектинов

Пектиновые вещества характеризуются наличием функциональных групп: свободных карбоксильных, метоксилированных карбоксильных, метоксилированных. Для их определения использовали титриметрический метод [30].

2.3.5. Сорбционная активность пектиновых веществ

Для изучения сорбционной активности полученных пектиновых веществ использовали метод спектрофотометрии. В качестве препарата сравнения были выбраны энтеросорбент «Полисорб» и уголь активированный. Сорбционную активность определяли следующим образом: к 50 мл стандартного раствора метиленового синего, помещенного в колбу на 250 мл, добавляли пектиновые вещества (0,15 г), растворяли их взбалтыванием на электромагнитной мешалке при температуре 36 °С в течение 20 минут. Полученное содержимое помещали в центрифужные пробирки и подвергали на протяжении 15 минут центрифугированию при 3000 об/минуту. Аликвоту (5 мл) полученной надосадочной жидкости вносили в колбу на 50 мл, прибавляли туда же воду до объема 50 мл и проводили спектрофотометрирование при 396 нм. Одновременно с этим, определяли оптическую плотность стандартного раствора метиленового синего [11].

2.4. Проведение испытаний по определению влажности, зольности экстрактивных веществ

2.4.1. Определение влажности и золы

Числовые показатели сырья латука компасного: влажность, золу определяли согласно методик ГФ XIV издания [39].

2.4.2. Определение экстрактивных веществ

Определение экстрактивных веществ проводили согласно методики ГФ XIV издания. Основу методики составляет их определение гравиметрическим методом. Растворителями были применены экстрагенты, применяемые в ГФ

XIV для этих целей: вода очищенная, спирт этиловый различных концентраций [39].

2.5. Проведение морфолого-анатомического анализа

Исследование морфологических и микродиагностически признаков осуществляется для того, чтобы провести анализ высушенных, свежих и гербарных образцов, заготовленных в Курской области, когда происходит цветение в интервале 2018-2020 гг. Исследование морфологических и анатомических признаков сырья «Латука компасного трава» проводили в соответствии с методикой ГФ XIV издания [39].

Фотографирование приготовленных микропрепаратов осуществляли на микроскопе «Биолам С-11», имеющем цифровую насадку. Фотографии подвергали обработке компьютерной программой Adobe Photoshop Lightroom 2.4.

2.6. Токсико-фармакологические исследования

Для скрининга фармакологической активности использовали беспородных белых мышей, у которых масса варьировала от 18,0 до 25,0 г.

Животные содержались в условиях вивария в клетках тип 2Lc площадью пола 530 см² по 5 животных в одной клетке, доступ к воде свободный, в качестве корма использовался гранулированный комбикорм для лабораторных животных, кормление животных один раз в сутки, через один час после того как был внутривентрикулярно введен исследуемый настой латука. Режим освещения 12/12.

Эксперименты по изучению фармакологической активности были выполнены в соответствии с установленными документами «Об утверждении правил лабораторной практики».

2.6.1. Определение острой токсичности

Острая токсичность была выполнена на беспородных белых мышах обоего пола, исходная масса тела которых варьировала в пределах 18,0 до 25,0 г. Для экспериментальных мышей осуществляли ввод настоя травы компасного латука, изготовление которого осуществляется с отношении сырья к воде 1:10; с одноразовым введением настоя, во внутреннюю брюшную полость 1 г/кг до 5 г/кг. После этого осуществляется помещение каждой группы мышей (не менее 6 в группе) в изолированные клетки. Содержание мышей осуществляли в стандартных условиях пищевого и температурного режима и наблюдали за ними в течение суток [60, 102, 103, 107].

2.6.2. Исследование антиэкссудативной активности

Антиэкссудативную активность настоя исследовали согласно методических рекомендаций [76, 103, 107]. Чтобы исследовать антиэкссудативные свойства, осуществляется применение модели образования в соответствии со строго воспалительным отеком, что формируется в результате того, что субплантарно вводится 0,1 мл 1% раствора каррагинина [60, 101, 102, 107].

Опыты проведены на половозрелых белых мышах массой 20-25 г.

Для исследования антиэкссудативной активности были использованы 2 группы животных (белые мыши-самцы) по 10 животных в исследуемой и контрольной группе.

Настой травы латука компасного вводили натошак внутрижелудочно утром в одно и то же время при помощи металлического зонда с оливой на конце в дозе 0,5 мл на одно животное в течение 7-ми суток. Группа контрольных мышей получала такой же объем воды, как и объем настоя.

Противовоспалительный эффект выражали степенью ингибирования прироста отека стопы после применения настоя из сырья латука компасного на фоне контрольной группы мышей. По прошествии 7 суток и 1 часа после введения настоя травы латука компасного или воды (в контрольной группе) внутрижелудочно в правую лапу каждого животного субплантарно вводили 0,1 мл 1% раствора каррагинина. По прошествии 3-х часов после введения каррагинина экспериментальных животных подвергали эвтаназии (путём дислокации шейных позвонков) и отделяли правую и левую стопу на уровне голеностопного сустава. Измеряли вес стопы на электронных весах FX-300 (точность до 1 мг), контролем выступала левая лапка той же мыши, которая наряду с введением флогистика была инъецирована равным объемом раствора натрия хлорида изотонического. Далее проводили расчет ингибирующего эффекта.

2.6.3. Изучение анальгетического действия

Анальгетическая активность настоя травы латука компасного изучена с использованием модели – корчи (химического болевого раздражения), которые вызываются у мышей под воздействием уксусной кислоты [43, 101, 103].

Для исследования анальгетической активности были использованы 2 группы животных (белые мыши-самцы) по 10 животных в исследуемой и контрольной группе.

Настой травы латука компасного вводили натошак внутрижелудочно утром в одно и то же время при помощи металлического зонда с оливой на конце в дозе 0,5 мл на одно животное в течение 7-ми суток. Группа контрольных мышей получала такой же объем воды, как и объем настоя. Доза 0,5 мл выбрана как максимально возможная для однократного внутрижелудочного введения данному виду животных.

«Корчи» – характеризуют движения животных, прогибание спины, включающие как сокращения, так и расслабления брюшных мышц, вытягивания задних конечностей. Для появления корчей вводили внутрибрюшинно 0,75% раствор уксусной кислоты в объеме 0,1 мл на 10 г массы тела мышей самцов по прошествии 60 минут после внутрижелудочного введения настоя латука компасного травы. «Корчи» подсчитывали на протяжении 15 минут. Фармакологический эффект учитывали по уменьшению числа «корчей» сравнительно с контрольными животными.

2.6.4. Изучение антиоксидантной активности

Антиокислительная активность

Основу определения антиокислительной активности латука компасного травы была положена химическая реакция, вызываемая взаимодействием соединений восстанавливающего характера, содержащихся в сырье латука компасного и калия перманганата [6, 49, 89].

Для проведения эксперимента готовили извлечения из травы латука компасного с помощью экстрагентов, рекомендуемых ГФ XIV издания: воды очищенной и спирта различной концентрации [39]. Антиоксидантную активность устанавливали следующим образом: брали стаканчик вместимостью 50 мл, вливали в него охлажденную и свежeproкипяченную воду (8 мл), в этот же стаканчик прибавляли кислоты серной 20% (1 мл), затем калия перманганат 0,05 Н (1 мл), содержимое перемешивали. Титрование проводили с использованием извлечения из сырья латука, об окончании титрования свидетельствовало появление розовой окраски. Антиокислительную активность выражали в мг/мл.

Определение антирадикальной активности

Антирадикальную активность оценивали с помощью спектрофотометрического метода, основу которого составила реакция ДФПГ (1,1 – дифенил – 2 – пикрилгидразила) с извлечениями из сырья латука, содержащими антиоксиданты [8]. При взаимодействии с антиоксидантом, содержащимся в извлечении, ДФПГ восстанавливается, что приводит к снижению его пурпурно-синей окраски. Результат реакции определяется спектрофотометрически по оптической плотности образующегося продукта, анализ вели в диапазоне волны 520 нм [4, 9, 82, 122].

Для определения антирадикальной активности готовили извлечения теми же экстрагентами, что и при определении антиокислительной активности.

Раствор ДФПГ (Токуо chemical industry) готовили по следующей методике: 0,004 г ДФПГ помещали в колбу на 100 мл, туда же медленно вносили 96% спирт этиловый, чтобы растворить, после чего осуществляется доведение объема спирта в соответствии с меткой на колбе. В качестве рабочего раствора выступали исходный раствор, который разводили в соотношении 1:10. К рабочему раствору (2 мл) приливали 1мл извлечения, полученного из латука компасного травы и 2 мл соответствующего экстрагента, который использовался для получения извлечения, содержимое взбалтывали, выдерживали 30 минут в темном месте, а далее раствор спектрофотометрировали при 520 нм.

2.7. Статистическая обработка результатов эксперимента

Статистическая обработка результатов исследования латука компасного травы (химического и фармакологического) проводили согласно с ГФ XIV и программы Microsoft Office Excel. При этом проводили расчет средних

значений полученных результатов (M) и ошибку средней арифметической ($\pm m$). Достоверность различий в фармакологических исследованиях оценивали t-test для групп с разными дисперсиями. Вероятность полученных результатов рассчитывали на уровне значимости не менее 95% ($p \leq 0,05$) [39].

ГЛАВА 3. ФИТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЫРЬЯ ЛАТУКА КОМПАСНОГО (*LACTUCA SERRIOLA* L.)

Приведенный обзор литературы показал, что латук компасный содержит разнообразный химический состав. В надземной его части обнаружены флавоноиды, сесквитерпены, стероидные и тритерпеноидные соединения; в листьях найдены углеводороды, витамины. Сырье латука было исследовано в основном иностранными авторами. Отечественное сырье латука изучено незначительно, в связи с чем целесообразно исследование химического состава латука компасного, широко произрастающего в областях Центрального Черноземья.

3.1. Определение углеводов

Углеводы – это биологически активные вещества, широко встречающиеся в растениях и выполняющие эссенциальную роль в организме человека и животных [36, 55].

Углеводы обладают разнообразным фармакологическим действием: противовоспалительным, противоязвенным, ранозаживляющим, а также способны улучшать растворение и всасывание лекарственных препаратов, усиливать их действие, снижать негативное воздействие на организм [85, 105, 106, 117, 124].

3.1.1. Определение свободных сахаров

Положительная реакция Бертрана – появление кирпично-красного осадка свидетельствует о содержании в траве латука свободных сахаров. Результаты хроматографического исследования на бумаге показали наличие в траве латука компасного глюкозы и ксилозы [глава 2, раздел 2.2.2].

3.1.2. Определение сахаров в виде гликозидов и полисахаридов

а) наличие сахаров в виде гликозидов установлено реакцией Фелинга, после предварительного гидролиза гликозидов кислотой серной 5% [глава 2, раздел 2.2.2], при этом образуется осадок большего объема, чем до проведения гидролиза. Подтверждением их наличия является реакция с α -нафтолом, при котором происходит образование вишнево-красного кольца.

б) наличие полисахаридов устанавливали прибавлением к упаренному водному извлечению [глава 2, раздел 2.2.2] спирта этилового 96%, полисахариды выпадают в виде рыхлого осадка.

3.2. Результаты исследования на наличие азотсодержащих соединений

3.2.1. Результаты исследования азотистых оснований

Азотистые основания имеют существенное значение для организма человека. Так, холин входит в состав фосфолипидов, является носителем метильных групп и в связи с этим участвует в процессах трансметилирования, т.к. для него характерно наличие липотропного действия [75]. Холин и бетаин являются участниками процессов возбуждения и торможения [75]. Поэтому определение их в траве латука компасного является целесообразным.

Качественный анализ

Положительные качественные реакции: образование осадка с фосфорновольфрамовой кислотой и реактивом Манделина, а также окрашивание с

раствором бриллиантового зеленого свидетельствует о том, что в латука компасного траве содержатся азотистые основания [глава, 2 раздел 2.2.3].

После хроматографических исследований просмотр бумажных хроматограмм после проявления в парах йода позволил обнаружить азотистые основания, которые были представлены 6 соединениями с R_f от 0,09 до 0,98 и имели оранжево-коричневую окраску (Рисунок 2).

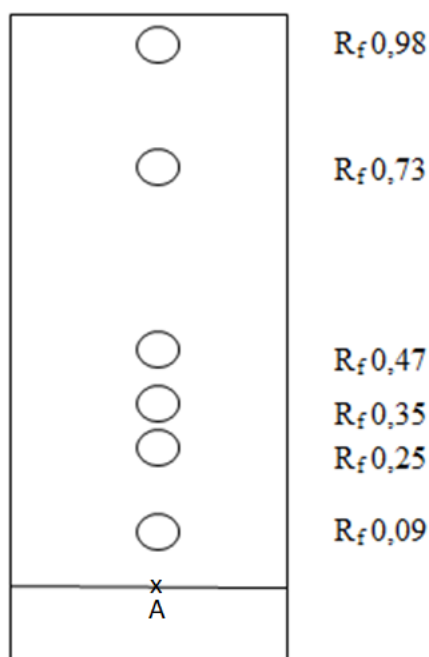


Рисунок 2 – Схема бумажной хроматограммы водного извлечения из травы латука компасного

A – латук компасный

Система растворителей: н-бутанол – кислота уксусная – вода (4:1:2)

Количественный анализ

В результате количественного анализа было установлено [глава 2, раздел 2.2.3] содержание азотистых оснований в латука траве, которое составляет $0,13 \pm 0,002\%$, для холина установлено меньшее значение – $0,05 \pm 0,003\%$.

3.2.2. Исследование аминокислотного состава

Аминокислоты являются участниками всех жизненных процессов организма. Аминокислоты – составные части белков, но могут содержаться и в свободном виде, аккумулируясь в клеточном соке и тканях организма. Аминокислоты – активные участники обменных реакций, биосинтеза различных соединений, как организма человека, так и растений [138]. Для них характерны иммуноактивные, инотропные, гиполипидические свойства. Аминокислоты влияют на секрецию клетками поджелудочной железы инсулина, способствуя ее увеличению, оказывают немало важное влияние на сосудистый тонус [70, 99, 138].

Аминокислоты – участники процессов нервной регуляции в организме человека [72, 75, 91, 138].

В связи с вышеуказанным лекарственные растения, содержащие аминокислоты в сочетании с микроэлементами и другими соединениями могут найти применение для лечения ряда патологий, и изучение аминокислот в растениях является целесообразным.

Качественный анализ аминокислот с нингидриновой реакцией [глава 2, раздел 2.2.4] показывает образование красно-фиолетового окрашивания, что подтверждает их наличие.

Проведенный хроматографический анализ [глава 2, раздел 2.2.4] позволил установить аминокислотный состав латука компасного травы, представленный 10 аминокислотами: аспарагиновой кислотой, глицином, серином, глутаминовой кислотой, гистидином, метионином, аргинином, аланином, лейцином, фенилаланином.

Подтверждением хроматографического анализа служило определение состава аминокислот методом ВЭЖХ; прибор Agilent 1260, детектор FLD (флуоресцентный) [глава 2 раздел 2.2.4] (Таблица 2).

Таблица 2 – Аминокислотный состав латука компасного травы

Наименование аминокислот	Содержание аминокислот	
	мг% в сырье	% от суммы
Алифатические аминокислоты		
Моноаминомонокарбоновые		
Аланин	2,09	10,53
Валин*	0,80	4,02
Лейцин*	4,23	21,36
Изолейцин*	0,12	0,63
Глицин	1,86	9,39
Общее содержание	9,10	45,93
Моноаминодикарбоновые		
Глутаминовая кислота	0,70	3,55
Аспарагиновая кислота	0,48	2,42
Общее содержание	1,18	5,97
Диаминомонокарбоновые		
Аргинин	5,49	16,95
Лизин*	0,61	3,08
Общее содержание	6,10	20,03
Оксимоноаминокарбоновые		
Треонин*	0,38	1,94
Серин	0,90	4,55
Общее содержание	1,28	6,49
Серосодержащие		
Метионин*	1,49	7,50
Общее содержание	1,49	7,50
Общее содержание алифатических аминокислот	19,15	85,92
Ароматические аминокислоты		
Тирозин	0,12	0,60
Фенилаланин*	1,20	6,05
Общее содержание ароматических аминокислот	1,32	6,65

Продолжение Таблицы 2

Гетероциклические аминокислоты		
Гистидин*	0,86	4,36
Пролин	0,61	3,07
Общее содержание гетероциклических аминокислот	1,47	7,43
Общее содержание незаменимых аминокислот	9,69	48,94

Примечание: * - содержание незаменимых аминокислот

Профиль аминокислот по структура характеризуется алифатическими моноаминокарбоновыми, моноаминодикарбоновыми, диаминомонокарбоновыми, оксимоноаминокарбоновыми, серосодержащими, ароматическими, гетероциклическими аминокислоты. Профиль по большей части характеризуется алифатическими аминокислотами, которые содержатся в количестве 85,92%.

В профиле алифатических аминокислот наибольшее содержание отмечено в соответствии с моноаминокарбоновыми кислотами (45,93%), среди которых отмечены высокое содержание аланина (2,09 мг%), глицина (1,86 мг%) и незаменимой аминокислоты лейцина (4,23 мг%). Среди диаминокарбоновых кислот отмечено высокое содержание аргинина (5,49 мг%). Общее содержание алифатических аминокислот составляет 19,15 мг%, что составляет 85,92% от суммы аминокислот. Ароматические и гетероциклические аминокислоты содержатся в одном диапазоне: 1,32 мг% и 1,47 мг% соответственно, что составляет около 14% от суммарного содержания аминокислот. Исследование аминокислотного состава свидетельствует о том, что латука компасного трава может явиться дополнительным источником аминокислот [63].

3.3. Результаты исследования дубильных веществ

Дубильные вещества – полифенольные соединения, обладающие вяжущим, противовоспалительным, кровоостанавливающим действием [87].

Содержание дубильных веществ устанавливали с помощью качественных реакций [глава 2, раздел 2.2.5]. Для установления группы дубильных веществ использовали реакцию взаимодействия дубильных веществ и формальдегида, когда также рассматривается концентрированная хлористоводородная кислота, реакции, в которых участвует железо-аммонийный квасцам, что впоследствии привел к следующим заключениям. Трава латука характеризуется дубильными веществами, которые относятся в соответствии с конденсированной группой.

Дубильные вещества, содержатся в количестве $4,97 \pm 0,20\%$, что было выявлено в соответствии со способом пермангонатометрии [глава 2, раздел 2.2.5].

3.4. Результаты определения органических кислот

В растениях органические кислоты принимают участие во многих жизненных процессах организма: включая процессы дыхания и биосинтеза различных веществ [39, 131].

Органические кислоты имеют существенное значение для организма человека [118]. Они принимают активное участие в процессах обмена, стимулируя деятельность пищеварения, оказывая бактерицидное, желчегонное действие [131]. Примером важности органических кислот является препарат «Осельтамивир», основу которого составляет шикимовая кислота [34, 39]. Так, аскорбиновая кислота является антиоксидантом, снижает воспалительные процессы и усиливает процессы регенерации [118]. Янтарная кислота активизирует клеточное дыхание, стимулирует ионный

синтез белков [6], лимонная кислота – активатор обменных процессов человеческого организма [128].

3.4.1. Результаты качественного и количественного анализа

Просмотр хроматограмм ПТСХ-АФ-А после проведения хроматографического анализа [глава 2, раздел 2.2.6] позволил установить наличие органических кислот, которые были представлены 3 соединениями с R_f 0,78, R_f 0,50, R_f 0,09 и были окрашены в соответствии с желтым цветом на синем фоне. Использование в анализе известных образцов органических кислот позволило идентифицировать аскорбиновую и лимонную кислоты (Рисунок 3).

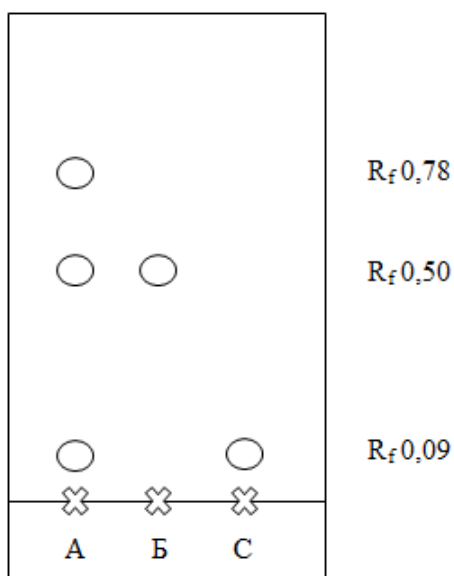


Рисунок 3 – Схема хроматограммы водного извлечения из латука копеечного травы
 А – водное извлечение; Б – аскорбиновая кислота; С – лимонная кислота
 Система растворителей: спирт этиловый 96% – конц. раствор аммиака (16:4,5)

На следующей стадии изучаются органические кислоты в соответствии с газо-жидкостной хроматографией [глава 2, раздел 2.2.6], в результате чего установлено и идентифицировано 12 органических кислот, определено их содержание в сырье (Таблица 3, Рисунок 17) [19].

Таблица 3 – Результаты изучения органических кислот в латука компасного траве

№ п/п	Наименование кислоты	Содержание органической кислоты, (мг/кг)
1.	Щавелевая кислота	1595,75±1,57
2.	Малоновая кислота	3558,62±3,31
3.	Левулиновая кислота	7526,72±0,86
4.	Янтарная кислота	900,15±1,7
5.	Яблочная кислота	11924,91±2,77
6.	Лимонная кислота	13489,95±1,59
7.	Фумаровая кислота	362,40±1,44
8.	Бензойная кислота	46,98±2,45
9.	4-оксибензилуксусная кислота	1122,88±1,31
10.	2-окси-3-метилглутаровая	33,17±1,41
11.	Азелаиновая кислота	346,51±1,61
12.	Фенилуксусная кислота	54,94±1,83

Важно отметить, что три кислоты среди них: яблочная, лимонная, левулиновая доминируют по отношению к содержанию других кислот, незначительно меньшее содержание отмечается у малоновой кислоты.

Суммарное содержание кислот в траве латука компасного определено с использованием метода титриметрии и использованием в качестве титранта 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия [глава 2, раздел 2.2.6], составило 1,27±0,15%.

Содержание аскорбиновой кислоты в траве латука компасного было определено методом алкалометрии с использованием в качестве титранта натрия гидроксида [глава 2, раздел 2.2.6] и её содержание составило 0,17±0,02% [19].

3.5. Результаты исследования фенолкарбоновых кислот

Просмотр хроматограммы (бумага FN – 5) после исследования, с использованием хроматографического метода [глава 2, раздел 2.2.8], позволил установить в латука компасного траве наличие фенолкарбоновых

кислот, которые представлены 4 соединениями, с R_f 0,31, R_f 0,42, R_f 0,57, R_f 0,70 и были окрашены в голубой цвет (Рисунок 4); со стандартными образцами идентифицированы две из них: феруловая и хлорогеновая кислоты.

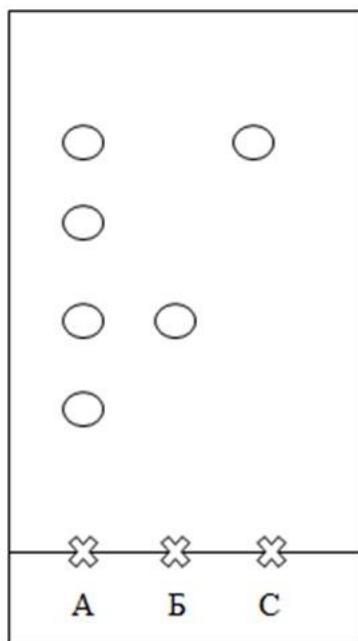


Рисунок 4 – Схема бумажной хроматограммы этилацетатной фракции спирто-водного извлечения из травы латука компасного

А – латук компасный

Б – феруловая кислота (Ph. Eur. Reference Standart)

В – хлорогеновая кислота (Ph. Eur. Reference Standart)

Система растворителей: 5% уксусная кислота

После проведения хроматографического анализа (бумажной хроматографии) определяли состав гидроксикоричных кислот с использованием метода ГЖХ (Таблица 4) [18].

Таблица 4 – Результаты исследования гидроксикоричных и фенолокислот латука компасного травы

№ п/п	Наименование кислоты	Время удерживания	Содержание фенолкарбоновых кислот (мг/кг)
1	Салициловая кислота *	19,227	51,36±1,20
2	Ванилиновая кислота *	34,285	407,33±1,36
3	Сиреневая кислота *	39,734	114,44±1,21
4	Гентизиновая кислота *	40,314	143,21±1,85
5	Феруловая кислота *	42,561	602,74±3,98

Примечание: * - кислота в траве латука компасного идентифицирована впервые

Результаты исследования показали, что комплекс фенолкарбоновых кислот латука компасного травы включает 5 соединений, их содержание находится в диапазоне от 51,36±1,20 мг/кг до 602,74±3,98 мг/кг. В соответствии с проведенным анализом, стоит сделать вывод, что феруловая и ванилиновые кислоты характеризуются максимальным их содержанием 602,74±3,98мг/кг и 407,33±1,36 мг/кг соответственно. Выявленные кислоты в латука компасного траве были установлены впервые.

Количественный анализ гидроксикоричных кислот

Анализ содержания в сырье латука гидроксикоричных кислот, который был определен спектрофотометрическим методом [глава 2, раздел 2.2.8] позволил установить их содержание, которое составило – 3,22±0,06% [110].

3.6. Результаты исследования флавоноидов

Положительные качественные реакции на флавоноиды [глава 2, раздел 2.2.9] свидетельствуют, что латука компасного трава содержит как их гликозиды, так и агликаны.

Просмотр и анализ хроматограмм [глава 2, раздел 2.2.9] показал наличие семи веществ, отнесенных к флавоноидным соединениям (Рисунок 5). После обработки хроматограммы детектирующим раствором (2% раствором алюминия хлорида) 3 пятна имели желтую флуоресценцию, 2 желто-зеленую и 2 пятна – коричневую окраску. Со стандартными образцами флавоноидов были идентифицированы рутин, лютеолин и цинарозид.

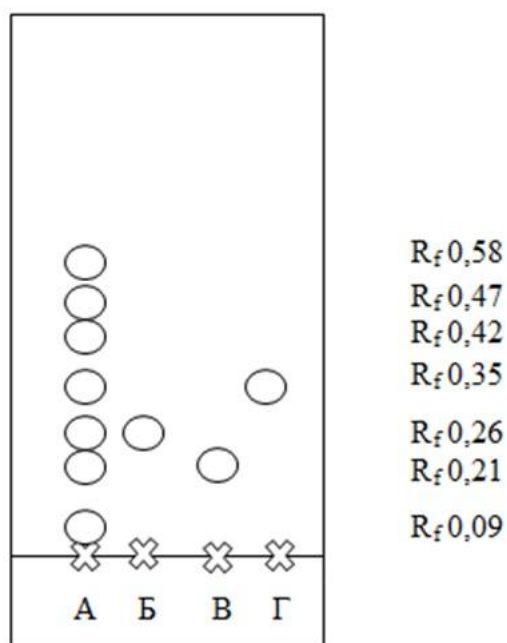


Рисунок 5 – Схема бумажной хроматограммы спирто-водного извлечения из травы латука компасного

А – латук компасный

Б – рутин (Ph. Eur. Reference Standart)

В – лютеолин (Фитопанацея)

Г – цинарозид (Фитопанацея)

Система растворителей: 30% уксусная кислота

3.7. Изучение фенольного состава методом ВЭЖХ-УФ/МС

ВЭЖХ является одним из актуальных методов анализа, в том числе и фенольных соединений. При изучении фенольного состава растительного сырья эффективно сочетать ВЭЖХ с масс-спектрометрией, что позволяет расширить возможности метода и дает возможность проводить разделение

соединений, содержащихся в сырье и их идентификацию в течение небольшого промежутка времени. Кроме того, использование двух детекторов (УФ- и масс-селективного) и 2-х режимов сканирования дает возможность получить максимум сведений о фенольных соединениях, которые содержатся в латука компасного траве.

Исследования проводили с водно-спиртовыми извлечениями, которые были получены из латука компасного травы, в качестве экстрагента для которых использовался спирт этиловый 70% [глава 2, раздел 2.2.10].

ВЭЖХ-УФ/МС хроматограммы расшифровывали путем сравнения УФ- и масс-спектров с такими же характеристиками стандартных фенольных веществ и литературными данными, а также полученных времен удерживания фенольных веществ. При проведении идентификации фенольных веществ основу составили классические исследования [69, 145, 152, 154, 155].

Хроматограмма (ВЭЖХ-УФ/МС) из латука компасного травы имеет пик со временем удерживания на протяжении 4,27÷4,28 минут и ультрафиолетовый спектр с максимумами длин волн 246 нм, 295 нм, 332 нм (Рисунок 6б). Данный пик отнесен к гидрокикоричным кислотам. Аналогичный спектр характерен для хлорогеновой кислоты (Рисунок 6а).

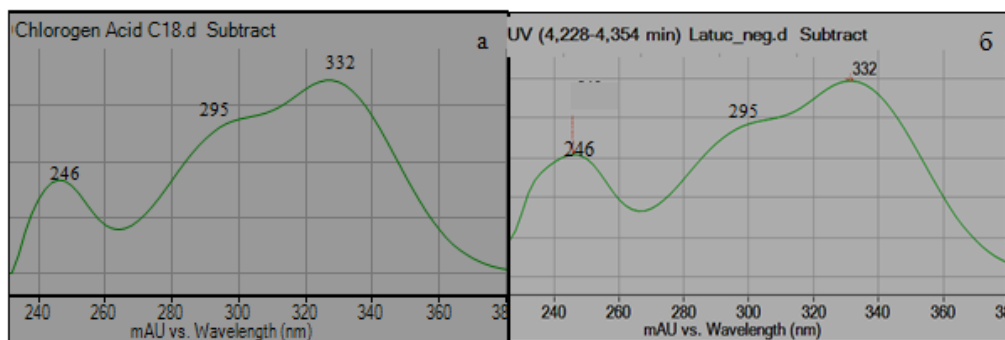


Рисунок 6а – УФ-спектр стандартного образца хлорогеновой кислоты (Ph. Eur. Reference Standard); 6б – УФ-спектр соединения водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 4,23÷4,35

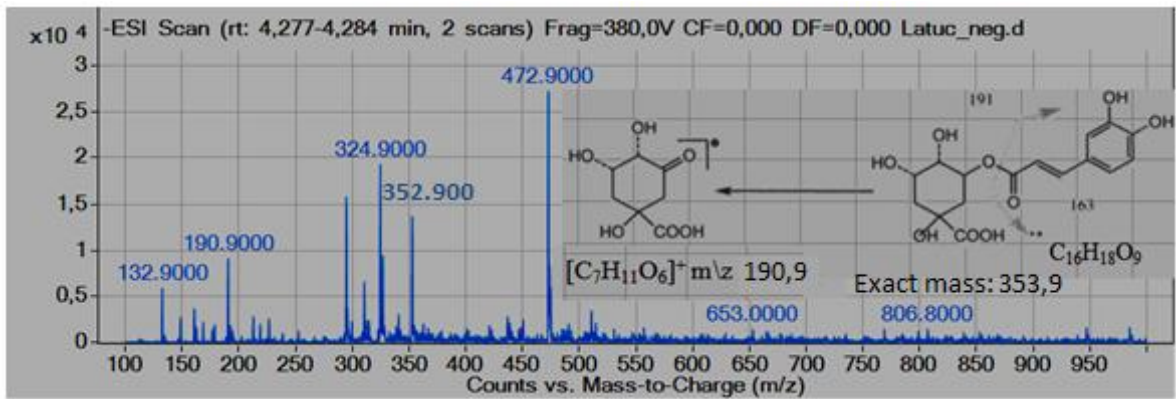


Рисунок бв – Масс-спектр соединения водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 4,27-4,28 в режиме XII APCI Neg. Scan.

Данное заключение подтверждено расшифровкой масс-спектра (Рисунок бв). В масс-спектре, регистрация которого проведена в режиме APCI Neg. Scan. присутствует пик $[M]^+$, имеющий $m/z = 352,9$ (Рисунок бв). Кроме него, масс-спектр содержит пик $m/z = 190,9$, он соответствует молекулярному фрагменту молекулы, когда происходит отщепление остатка ($C_6H_{10}O_5^+$).

В результате была получена точная информация, показывающая молекулярную массу исследуемого соединения (м.м. 353,9) (для вычисления молекулярной массы соединений в режиме APCI Neg. Scan. необходимо прибавить «1» к максимальной цифре m/z) и совокупность полученных данных, а также сравнение их с полученным УФ-спектром и таковыми данными стандарта хлорогеновой кислоты позволили установить, что соединение является хлорогеновой (5-О-кофеил-D-хинной) кислотой.

Хроматограмма (ВЭЖХ-УФ/МС) извлечения из латука компасного травы имеет пик со временем удерживания на протяжении 8,42÷8,43 минут с ультрафиолетовым спектром с максимумами длин волн 242 нм, 295 нм, 330 нм, что в текущей работе было целесообразно представить в схематическом виде на рисунке бб. Данный пик свойственен фенолкарбоновым кислотам и соответствует УФ-спектру кислоты кофейной.

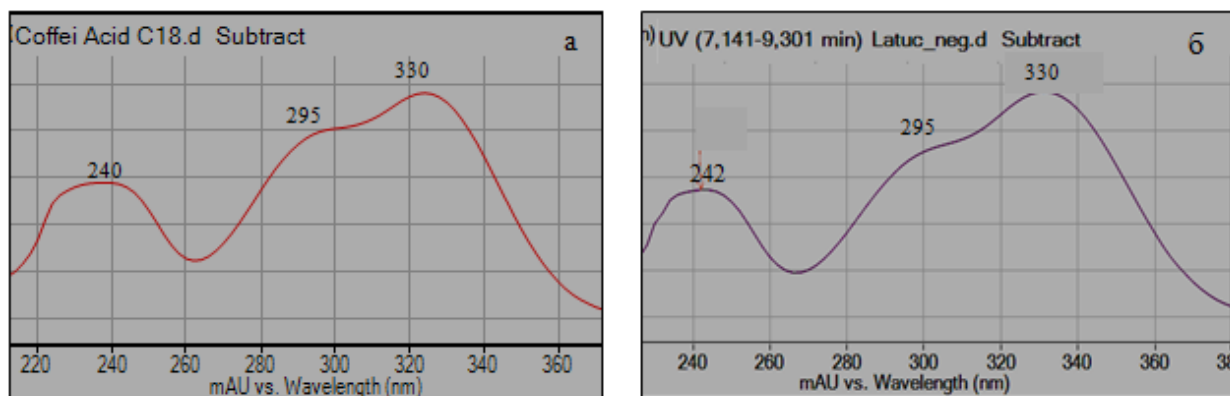


Рисунок 7а – УФ-спектр стандартного образца кофейной кислоты (Dr. Ehrenstorfer GmbH);
7б – УФ-спектр соединения водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 7,14÷9,30

При расшифровке масс-спектра (Рисунок 7в) подтверждено данное заключение. Масс-спектр исследуемого соединения (режим АРСІ Neg. Scan.) содержит пик молекулы иона – $[M+H]^+$ с $m/z = 179,0$.

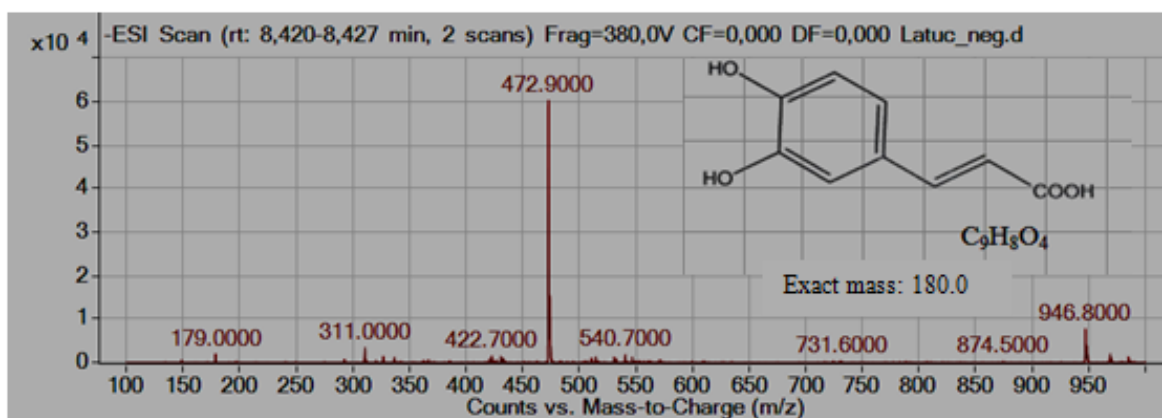


Рисунок 7в – Масс-спектр соединения водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 8,42÷8,43 в режиме XII АРСІ Neg. Scan.

В результате установлена точная информация, показывающая молекулярную массу исследуемого соединения (м.м. 180,0) (Рисунок 7в), Совокупность полученных данных, а также сравнение их с УФ-спектром, и соответствующими данными стандартного образца кофейной кислоты (Рисунок 7а) позволило установить, что соединение является кофейной (3,4 – диоксикоричной) кислотой.

Хроматограмма (ВЭЖХ-УФ/МС) извлечения из латука компасного травы имеет пик со временем удерживания 13,56÷13,58 и он соответствует УФ – спектру с длинами волн 230 нм, 296 нм, 330 нм (Рисунок 8б). Данный пик отнесен к гидроксикоричным кислотам. Аналогичный УФ-спектр характерен для феруловой кислоты (Рисунок 8а).

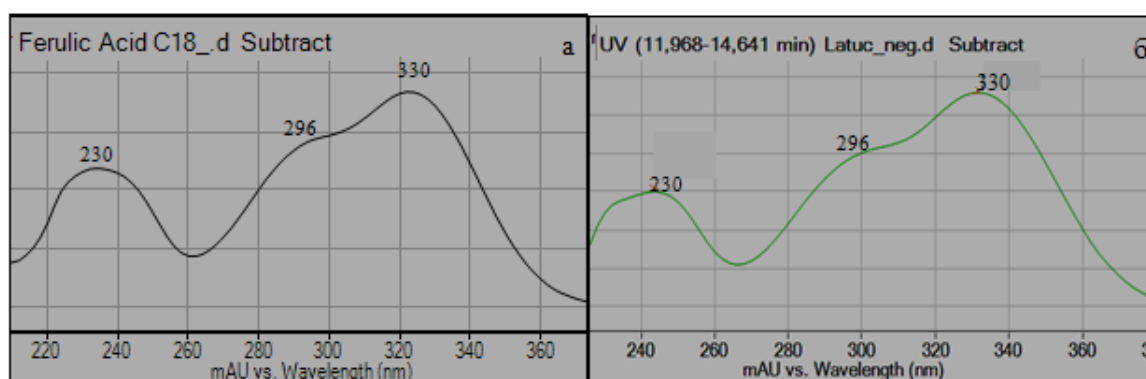


Рисунок 8а – УФ-спектр стандартного образца феруловой кислоты (Ph.Eur.ReferenceStandard); 8б – УФ-спектр соединения водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 11,97÷14,64

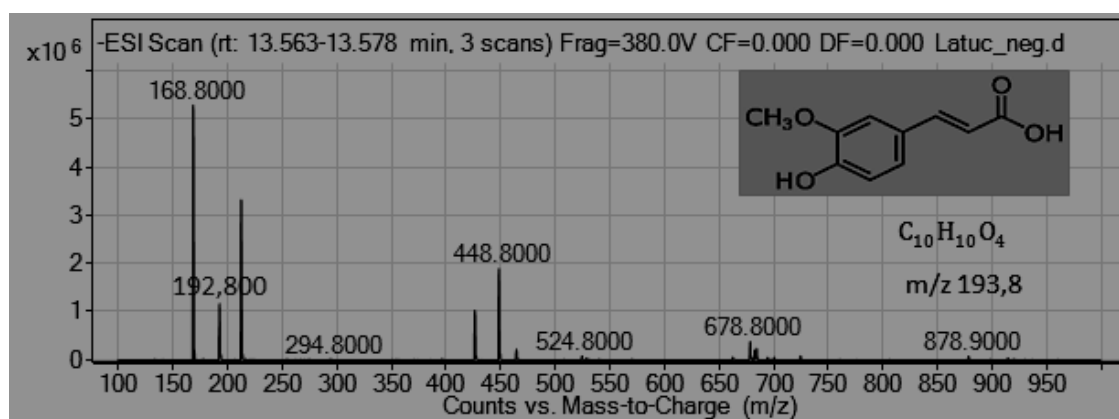


Рисунок 8в – Масс-спектр соединения водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 13,56-13,58 в режиме ХИ АРСИ Neg. Scan.

При расшифровке масс-спектра (сканирование отрицательных ионов) установлено, что у исследуемого соединения имеется пик с $m/z = 192,8$ (Рисунок 8в), что соответствует молекулярной массе данного соединения м.м. 193,8, и совместно с УФ – спектром (Рисунок 8а), а также сравнением с таковыми стандартного образца феруловой кислоты с большой степенью

вероятности установлено, что исследуемое соединение является феруловой (4-окси-3-метоксикоричной) кислотой.

Хроматограмма (ВЭЖХ-УФ/МС) извлечения из латука компасного травы имеет пик, который удерживается на протяжении 16,74÷16,77 с ультрафиолетовым спектром, имеющим максимум поглощения на отметке 310 нм, что в текущей работе было целесообразно представить в схематическом виде на Рисунке 9б. Указанный пик характеризует оксикоричные кислоты. Аналогичный ультрафиолетовый спектр характерен для п-кумаровой кислоты, что представлено на Рисунке 9а.

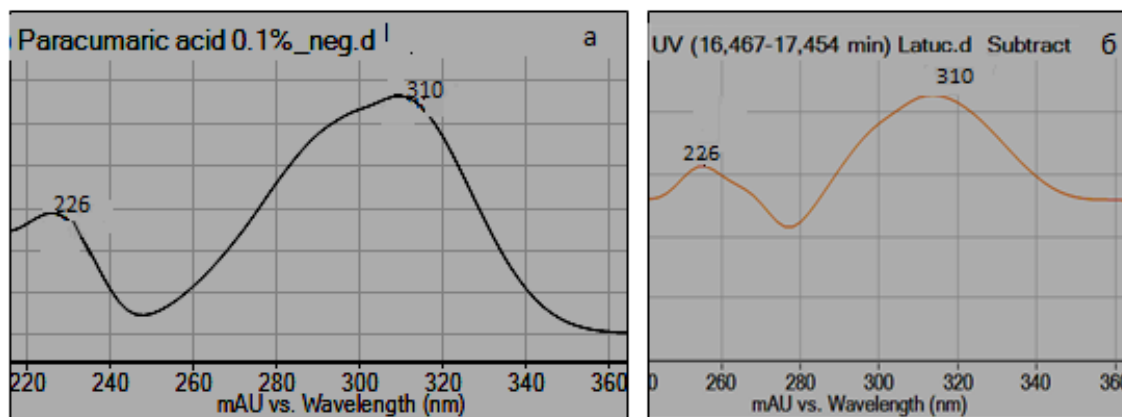


Рисунок 9а – УФ- спектр достоверного образца п-кумаровой кислоты; 9б – УФ-спектр соединения водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 16,47÷17,45

Данное заключение подтверждено расшифровкой масс-спектра, регистрация которого проведена в режиме APCI Pos. Scan. (Рисунок 9в). В масс-спектре присутствует пик с m/z 162,90 (Рисунок 9в).

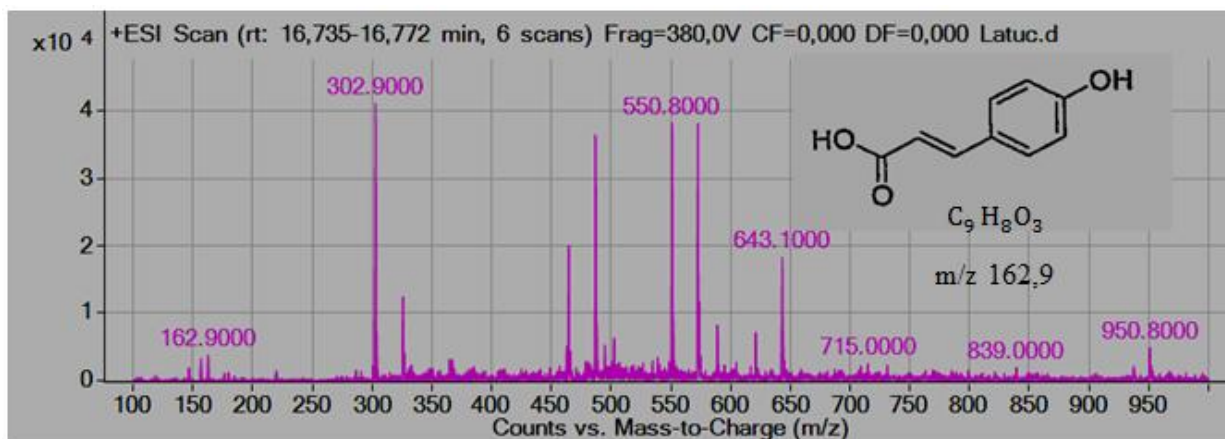


Рисунок 9в – Масс-спект соединения водно-спиртового извлечения со временем удерживания 16,74-16,77 в режиме ХИ АРСИ Pos. Scan.

В результате масс-спектроскопия подтверждает его молекулярную массу, соответствующую м.м. 162,9 и сопоставление УФ-спектра поглощения исследуемого соединения с таковым известного образца п-кумаровой кислоты, в конечном итоге исследуемое соединение с большой степенью вероятности определено как п-кумаровая (п-оксикоричная) кислота.

В соответствии с исследуемым извлечением, если детально проанализировать хроматограмму (ВЭЖХ-УФ/МС) имеется пик, который удерживается на протяжении 39,31÷39,32 минут с ультрафиолетовым спектром с максимумами длин волн 258 нм, 264 нм и 352 нм, что в текущей работе было целесообразно представить в схематическом виде на рисунке 10б. Данный пик отнесен к флавоноидным соединениям. Аналогичный УФ-спектр характерен для стандартного образца цинарозида (Рисунок 10а).

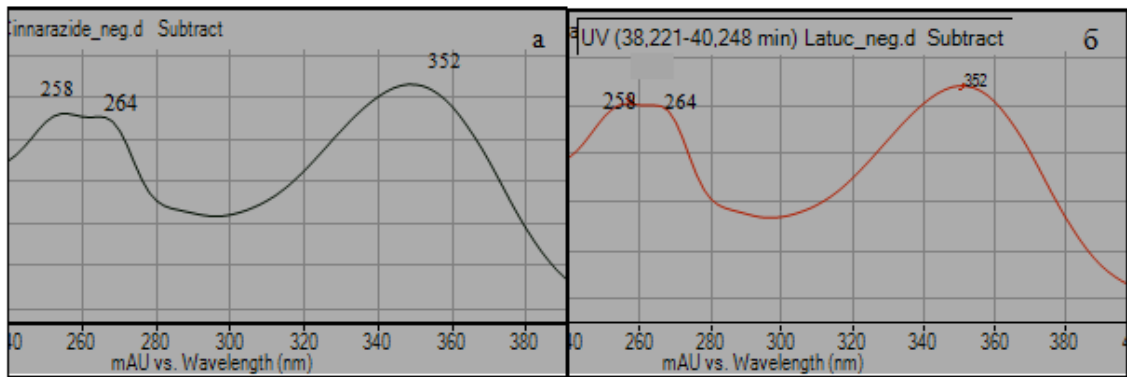


Рисунок 10а – УФ-спектр стандартного образца цинарозида («Фитопанацея»); 10б – УФ-спектр соединения водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 38,22-40,24

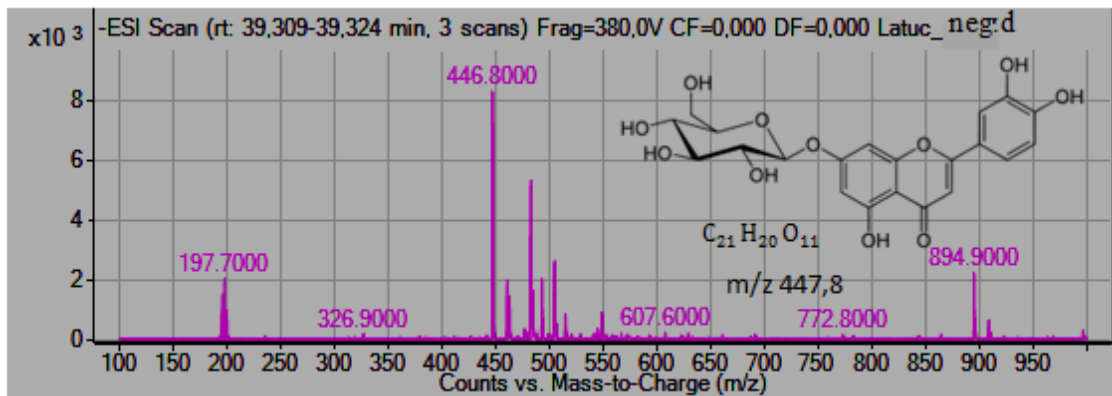


Рисунок 10в – Масс-спектр соединения водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 39,31-39,32 XII APCI Neg. Scan.

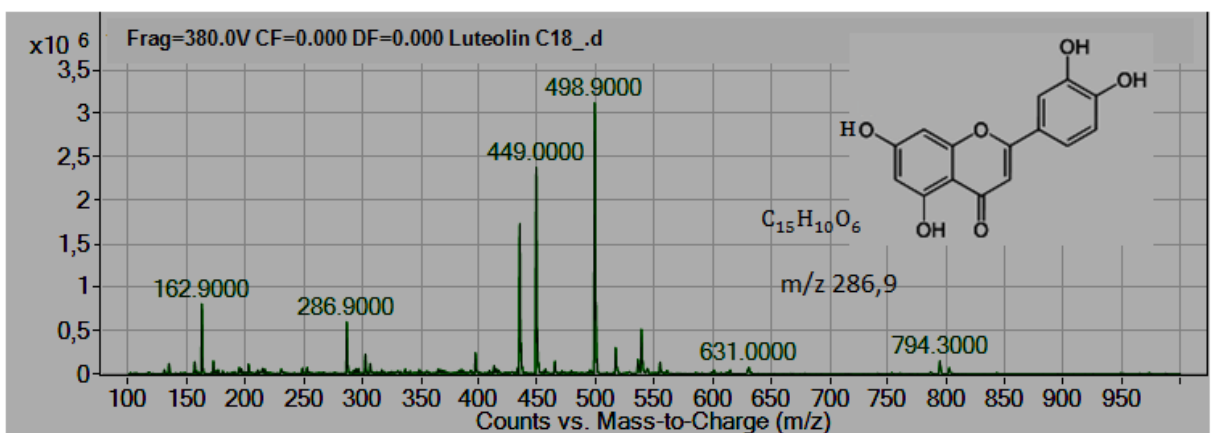


Рисунок 10г – Масс-спектр фрагментации молекулярного иона стандартного образца лутеолина (фирма «Фитопанацея») в режиме XII APCI Pos. Scan.

Данное заключение подтверждено расшифровкой масс-спектров (Рисунки 10в, 10г). При регистрации масс-спектра, проведенной в режиме

сканирования отрицательных ионов, отмечен пик молекулярного иона, масса которого составляет 446,8 (Рисунок 10в). В режиме сканирования положительных ионов в масс-спектре наблюдается пик, имеющий $m/z = 286,9$, и его молекулярная масса идентична массе лютеолина. Молекулярная масса исследуемого соединения была определена как м.м. 447,8, а также установлен его агликон (лютеолин, имеющий м.м.286,9). По полученным данным исследуемое соединение можно отнести к лютеолин-7-О- β -D-глюкозиду (цинарозиду).

В соответствии с исследуемым извлечением, если детально проанализировать хроматограмму (ВЭЖХ-УФ/МС) имеется пик, который удерживается на протяжении 41,28÷41,32 минут и соответствует ультрафиолетовому спектру с максимумами длин волн 256 нм и 370 нм, что в текущей работе было целесообразно представить в схематическом виде на Рисунке 11б. Данный пик отнесен к флавоноидам и стоит отметить совпадение данного ультрафиолетового спектра с ультрафиолетовым спектром стандартного вещества рутина (Рисунок 11а).

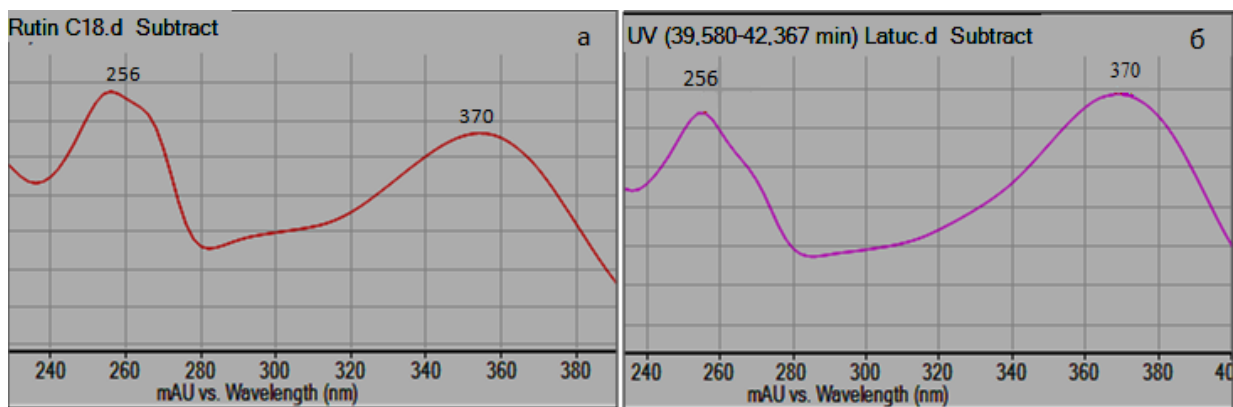


Рисунок 11а – УФ-спектр стандартного образца рутина; 11б – УФ-спектр соединения водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 39,58÷42,37

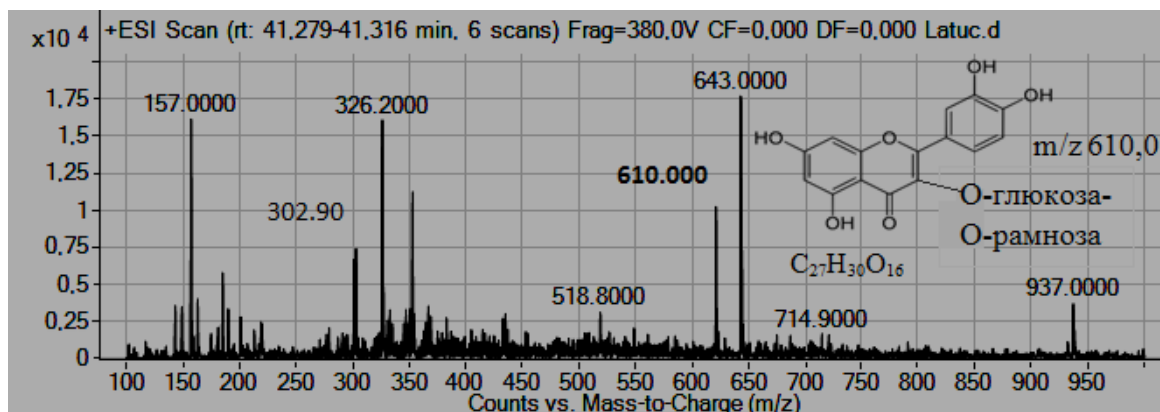


Рисунок 11в – Масс-спектр соединения водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 41,28-41,32 в режиме XII APCI Pos. Scan.

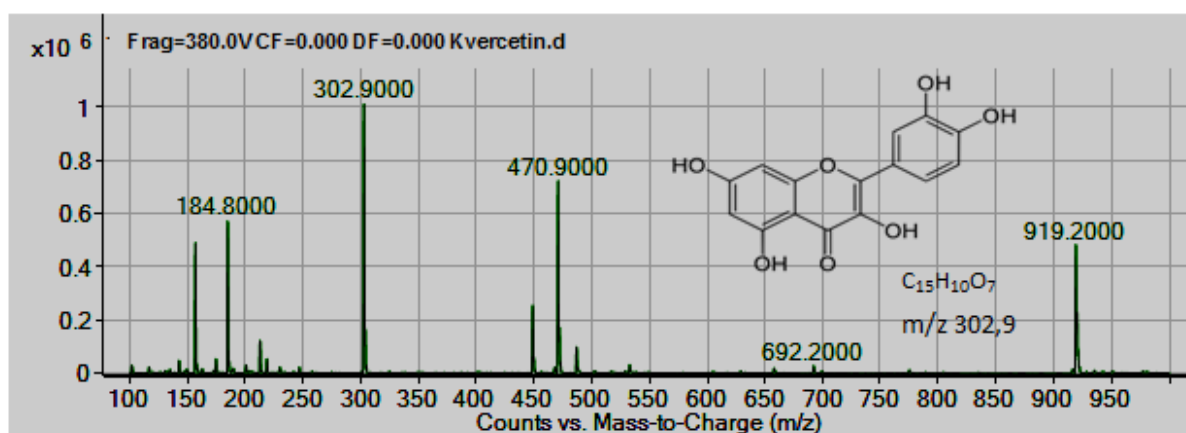


Рисунок 11г – Масс-спектр фрагментации молекулярного иона стандартного образца кверцетина (USP Reference Standard) в режиме XII APCI Pos. Scan.

При расшифровке масс-спектра (сканирование отрицательных ионов) установлено присутствие пика, имеющего молекулярную массу = 610,0 (Рисунок 11в) и пика с $m/z=302,9$ (Рисунок 11г).

В конечном итоге масс-спектрокопия подтверждает его молекулярную массу (м.м. 610,0), соответствующую рутину (Dr. Ehrenstorfer YmbH), а также характеризуют молекулярную массу агликона (кверцетина, м.м. 302,9). В конечном счете, исследуемое вещество отнесено к рутину (кверцетин-3-O-β-D-глюкозидо – (1→6)-O-α-L-рамнозиду).

В соответствии с исследуемым извлечением, если детально проанализировать хроматограмму (ВЭЖХ-УФ/МС) имеется пик со временем удерживания на протяжении 54,76÷54,77 минут и соответствующий

ультрафиолетовому спектру с максимумами длин волн 265 нм, 355 нм (Рисунок 12б). Данный пик отнесен к флавоноидам и стоит отметить совпадение данного ультрафиолетового спектра с ультрафиолетовым спектром известного образца изокверцетрина (кверцетин-3-глюкозида) (Рисунок 12а).

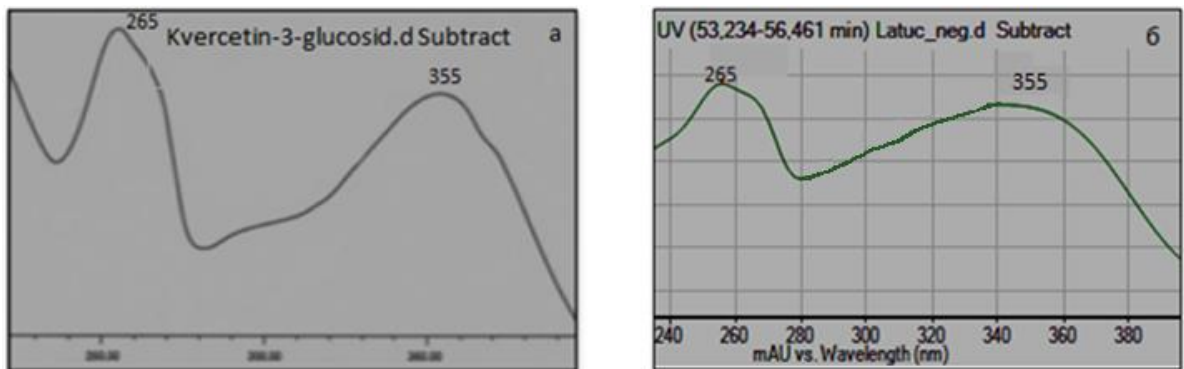


Рисунок 12а – УФ-спектр известного образца изокверцетрина (кверцетин-3-О-глюкозида);
12б – УФ-спектр соединения водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 53,23÷56,46

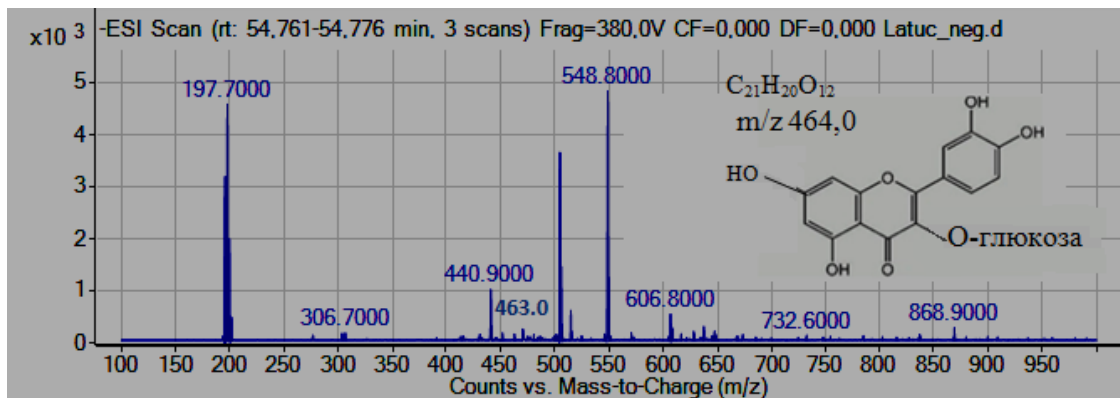


Рисунок 12в – Масс-спектр водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 54,76-54,77 в режиме XII APCI Neg. Scan.

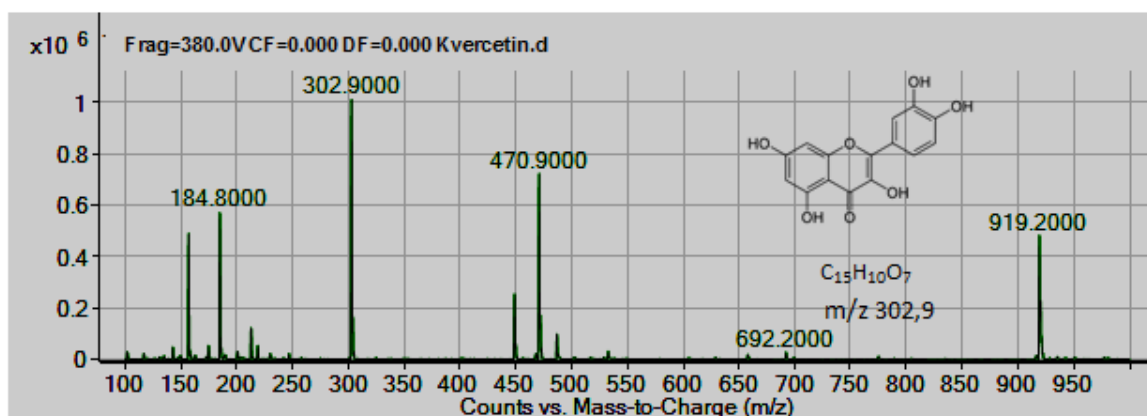


Рисунок 12г – Масс-спектр фрагментации молекулярного иона стандартного образца кверцетина (USP Reference Standard) в режиме ХИ АPCI Pos. Scan.

При расшифровке масс-спектра (сканирование отрицательных ионов) установлено присутствие пика с $m/z = 463,0$ (Рисунок 12в) и пик с $m/z 302,9$, который соответствует агликону после отщепления молекулы глюкозы (Рисунок 12г).

Полученные экспериментальные данные позволяют установить молекулярную массу исследуемого соединения (м.м.464,0), а также природу его агликона (кверцетин, м.м.302,9). Полученные данные, а также их сочетание с таковыми известного образца изокверцетрина и литературными данными с большой степенью достоверности позволяет охарактеризовать исследуемое соединение как изокверцетрин или кверцетин-3-О- β -D-глюкозид [154].

Хроматограмма (ВЭЖХ-УФ/МС) извлечения из травы латука компасного имеет пик со временем удерживания $55,50 \div 55,52$ минут, характеризующий УФ-спектр, у которого максимумы поглощения находятся при 254 нм, 265 нм, 350 нм (Рисунок 13б). Представленный спектр характерен для УФ-спектра лютеолина (фирма «Фитопанацея») (Рисунок 13а).

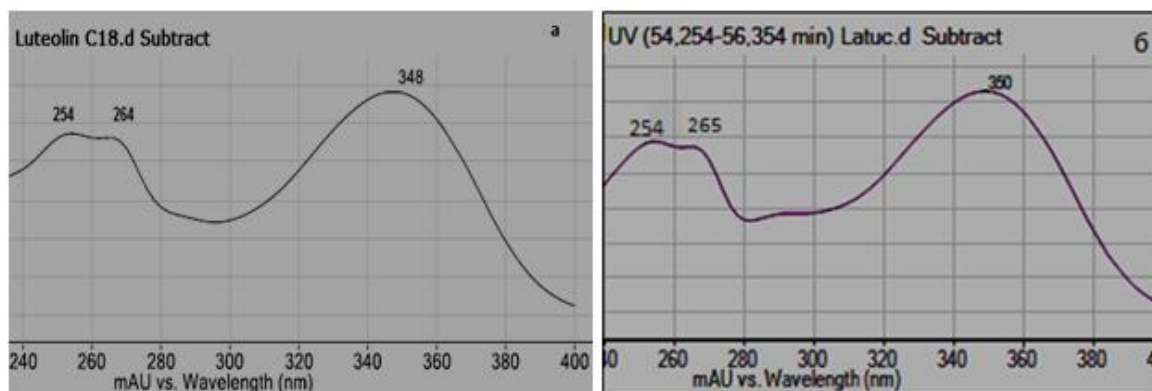


Рисунок 13а – УФ-спектр стандартного образца лютеолина (фирма «Фитопанацея»); 13б – УФ-спектр вещества водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 54,25÷56,35

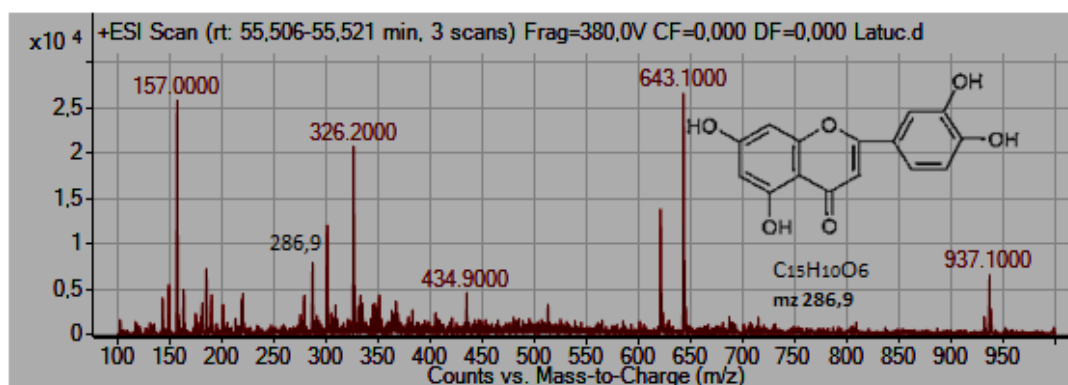


Рисунок 13в – Масс-спектр водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 55,50-55,52 в режиме XII APCI Pos. Scan.

При расшифровке масс-спектра (режим сканирования положительных ионов) установлен максимум, молекулярная масса которого составила 286,9 и данный пик соответствовал фрагменту молекулярного иона лютеолина, что позволило определить молекулярную массу исследуемого соединения (м.м. 286,9). В результате определенные УФ- и масс спектры, сравнение их со стандартными веществами позволили установить, что соединение является лютеолином.

Хроматограмма (ВЭЖХ-УФ/МС) извлечения из латука компасного травы имеет пик на протяжении 76,10÷76,11 минут с ультрафиолетовым спектром с максимумами длин волн 268 нм и 336 нм (Рисунок 14б). Стоит отметить совпадение данного ультрафиолетового спектра с

ультрафиолетовым спектром стандартного образца апигенин-7-глюкозида («Phytolab») (Рисунок 14а).

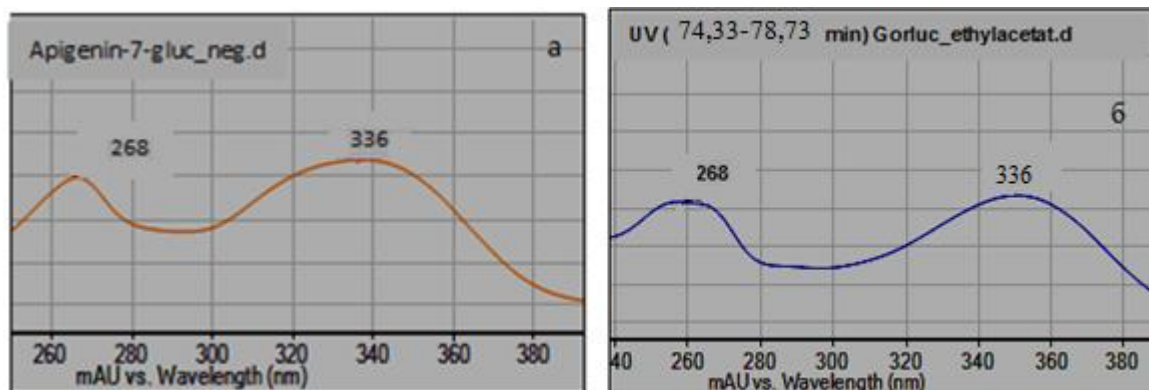


Рисунок 14а – УФ-спектр стандартного образца апигенин-7-глюкозида (фирма «Phytolab»); 14б – УФ-спектр соединения водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 74,42-79,28

Масс-спектр, регистрация которого проведена в режиме АРСІ Neg. Scan., содержит пик с $m/z=431,6$, что способствовало установлению его молекулярной массы (м.м. 432,6) и пик с молекулярной массой 268,9, соответствующий фрагменту молекулярного иона апигенина (269,9) (Рисунок 14в).

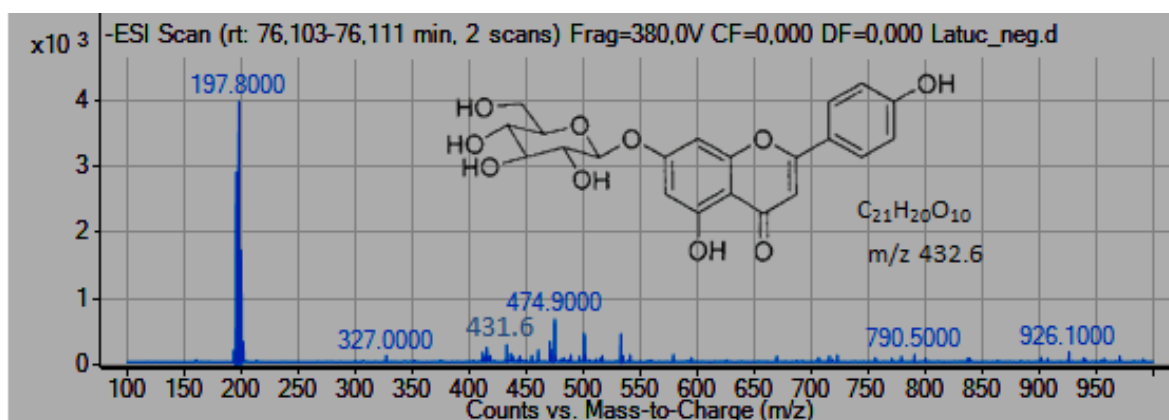


Рисунок 14в – Масс-спектр соединения водно-спиртового извлечения латука компасного со временем удерживания 76,10-76,11 в режиме XII АРСІ Neg. Scan

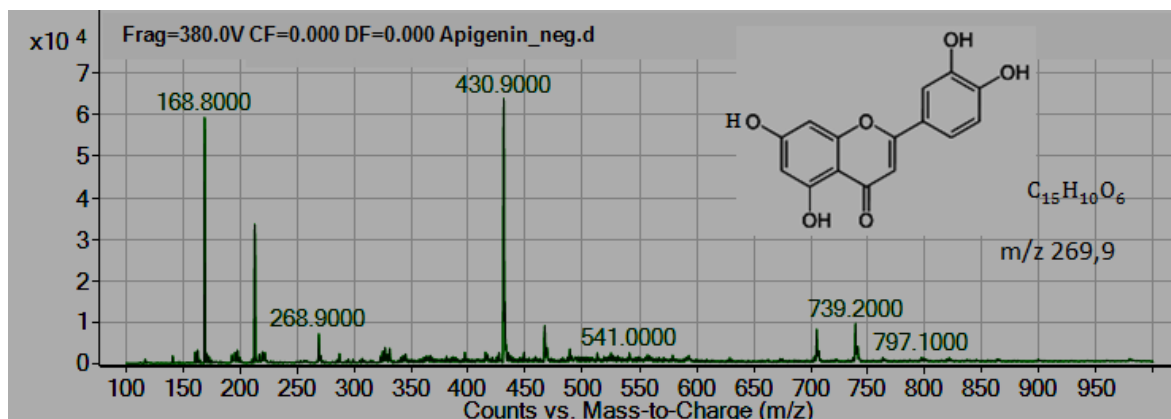


Рисунок 14г – Масс-спектр стандартного образца апигенина (фирмы «Phytolab») в режиме ХИ АРСИ Neg. Scan.

Таким образом, масса исследуемого соединения была определена как м.м. 432,6, а молекулярная масса его агликона апигенина м.м. 269,9. По полученным данным исследуемое соединение установлено как космоссин или апигенин - 7 – О – β – D – глюкозид.

Количественный анализ фенольных соединений, проведенный с применением внешнего стандарта приведен в Таблице 5.

Таблица 5 – Фенольные соединения латука компасного травы идентифицированные методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Время удерживания, мин	Название идентифицированных соединений	m / z	λ_{max} , нм	Содержание в мг/г
4,27-4,28	Хлорогеновая кислота*	353,9	246, 295, 332	0,94 \pm 3,19
8,42-8,43	Кофейная кислота*	180,0	240, 295, 330	0,81 \pm 4,94
13,56-13,58	Феруловая кислота*	195,6	230, 296, 330	0,90 \pm 5,53
16,73-16,77	П-кумаровая кислота*	162,9	226, 310	0,65 \pm 4,62
39,30-39,32	Цинарозид	447,8	258, 264, 352	0,64 \pm 4,67

Продолжение Таблицы 5

1	2	3	4	5
41,28-41,31	Рутин*	610,0	256, 370	0,21±4,81
54,76-54,77	Изокверцетрин	463,8	265, 335	0,35±5,65
55,50-55,52	Лютеолин	286,9	254, 265, 350	0,92±4,36
76,10-76,11	Апигенин – 7 – глюкозид*	432,6	268, 336	0,12±8,47

Примечание: соединения, обозначенные * идентифицированы впервые

Изучение фенольных соединений латука компасного травы указанным методом с использованием двух детекторов: масс-спектрофотометрического и диодно-матричного спектрофотометрического детекторов позволило нам определить 9 фенольных соединений с установлением их количественного содержания. Максимальное содержание среди оксикоричных кислот отмечено у феруловой ($0,90 \pm 5,53$ мг/г) и хлорогеновой ($0,94 \pm 3,19$ мг/г) кислот (Таблица 5). В составе флавоноидных соединений латука компасного найдены флавоны и флавонолы. Флавоны представлены 3 соединениями, к которым относятся агликон лютеолин, и гликозиды лютеолина и апигенина. Гликозид лютеолина идентифицирован как цинарозид (лютеолин-7-O- β -D-глюкозид), гликозид апигенина как космоссин (апигенин-7-O- β -D-глюкозид). Флавонолы были идентифицированы как рутин (кверцетин-3-O- β -D-глюкозидо-(1 \rightarrow 6)-O- α -L-рамнозид) и изокверцетрин (кверцетин-3-O- β -D-глюкозид). Превалирующими флавоноидными соединениями являются лютеолин ($0,92 \pm 4,36$ мг/г) и цинарозид ($0,64 \pm 4,67$ мг/г). Оксикоричные кислоты: хлорогеновая, кофейная, феруловая, п-кумаровая, а также флавоноиды: рутин, апигенин – 7 – глюкозид в траве латука компасного установлены впервые; подтверждено присутствие лютеолина, цинарозида, изокверцетрина.

3.8. Результаты исследования тритерпеновых соединений

Качественный анализ

Качественные реакции (Фонтан-Канделя и пенообразования) [глава 2, раздел 2.2.11] показали положительный результат, тем самым подтвердили наличие в латуке компасном траве тритерпеновых сапонинов и послужили основанием для их отнесения к тритерпеновой природе.

Просмотр хроматографических пластин после проведения тонкослойной хроматографии показал наличие на них четырех пятен малинового цвета, R_f которых колебалось от 0,32, до 0,95 (Рисунок 15). Использование стандартных образцов тритерпеновых соединений позволило идентифицировать в латука компасного траве олеаноловую кислоту.

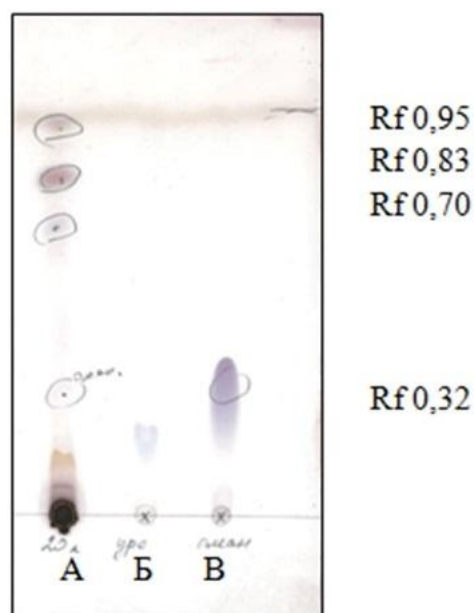


Рисунок 15 – Фотография тонкослойной хроматограммы бутанольной фракции из травы латука компасного

А – латук компасный

Б – урсоловая кислота (Ph. Eur. Reference Standart)

В – олеаноловая кислота (Ph. Eur. Reference Standart)

Система растворителей: хлороформ – этилацетат (9:1)

Количественный анализ, проведенный методом спектрофотометрии [глава 2 раздел 2.2.11] позволил определить содержание тритерпеновых сапонинов в латука компасного траве – $0,25 \pm 0,005\%$.

3.9. Результаты исследования сесквитерпеновых лактонов

Просмотр хроматограмм ПТСХ-АФ-А после проведения хроматографического анализа [глава 2, раздел 2.2.12] позволил установить соединения, имеющие окраску в интервалах синей, розовой, фиолетовой и причислить их к сесквитерпеновым лактонам (Рисунок 16).

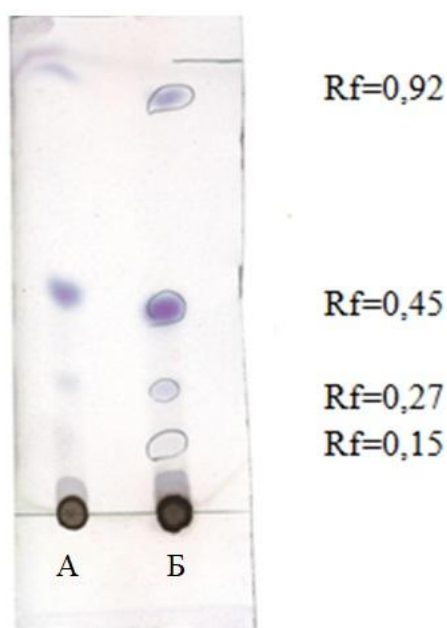


Рисунок 16 – Фотография тонкослойной хроматограммы водно-спиртового извлечения из травы латука компасного

А – 10 капель водно-спиртового извлечения

Б – 20 капель водно-спиртового извлечения

Система растворителей: толуол – этилацетат (93:7)

Содержание сесквитерпеновых лактонов, определенное гравиметрическим методом [глава 2, раздел 2.2.12] в латуке компасном траве составило $0,15 \pm 0,006\%$.

3.10. Результаты исследования жирных кислот

Жирные кислоты в растительном мире приобретают все большее значение. Они принимают участие в деятельности различных систем организма, принимают участие в обмене веществ, воспрепятствуют развитию возрастного окислительного стресса [42, 116]. Кроме этого, они обладают антисклеротическим, антиоксидантным действиями [25, 139]. Результаты, полученные в процессе изучения жирных кислот, послужат основой для расширения сведений о химическом составе исследуемого растения.

В результате того, что жирные кислоты были исследованы экспериментальным путем [глава 2, раздел 2.2.13], отмечаются жирные кислоты в количестве 18, у которых также установлено их содержание, что было целесообразно в текущем исследовании представит в Таблице 6.

Таблица 6 – Результаты исследования жирных кислот в латука компасного траве методом ГЖХ

№ п/п	Тривиальное название	Время удерживания	Систематическое название (IUPAC)	IUPAC формула	Содержание кислоты (мг/кг)	Доля в суммарном содержании жирных кислот
1	2	3	4	5	6	7
1.	Капроновая кислота	5,904	Гексановая	C6:0	155,36±1,95	0,23%
2.	Каприновая кислота	15,441	Декановая	C10:0	48,21±0,58	0,07%
3.	Лауриновая кислота	19,869	Додекановая	C12:0	533,73±4,15	0,80%
4.	Миристиновая кислота	24,269	Тетрадекановая	C14:0	2832,72±4,72	4,24%
5.	Пентадециловая кислота	26,104	Пентадекановая	C15:0	228,03±2,28	0,34%
6.	Пальмитиновая кислота	28,457	Гексадекановая	C16:0	19442,60±1,02	29,13%

Продолжение Таблицы 6

1	2	3	4	5	6	7
7.	Пальмитолеиновая кислота	29,065	Цис-9-гексадеценовая	C16:1 ω7	714,86±0,77	1,07%
8.	Маргариновая кислота	30,052	Гептадекановая	C17:0	1156,57±1,36	1,73%
9.	Стеариновая кислота	32,06	Октадекановая	C18:0	3692,88±2,02	5,53%
10.	Олеиновая кислота	32,127	Цис-9-октадеценовая	C18:1 ω9	3470,07±2,09	5,20%
11.	Линолевая кислота	33,203	Цис, цис – 9,12 – октадекатриеновая	C18:2 ω6	23706,18±0,13	35,52%
12.	α-Линоленовая кислота	34,023	Цис,цис,цис-9, 12,15-октадекатриеновая	C18:3 ω3	6836,65±2,18	10,24%
13.	2-оксипальмитиновая кислота	35,216	2-оксигексадекановая	C16:0	463,53±1,72	0,69%
14.	Арахидиновая кислота	35,083	Эйкозановая	C20:0	1261,22±0,93	1,89%
15.	Генейкоциловая кислота	36,588	Хенейкозановая	C21:0	273,54±1,90	0,41%
16.	Бегеновая кислота	38,167	Докозановая	C22:0	982,89±2,31	1,47%
17.	Трикоциловая кислота	39,572	Трикозановая	C23:0	140,71±1,26	0,21%
18.	Лигноцериновая кислота	41,117	Тетракозановая	C24:0	820,56±2,62	1,23%

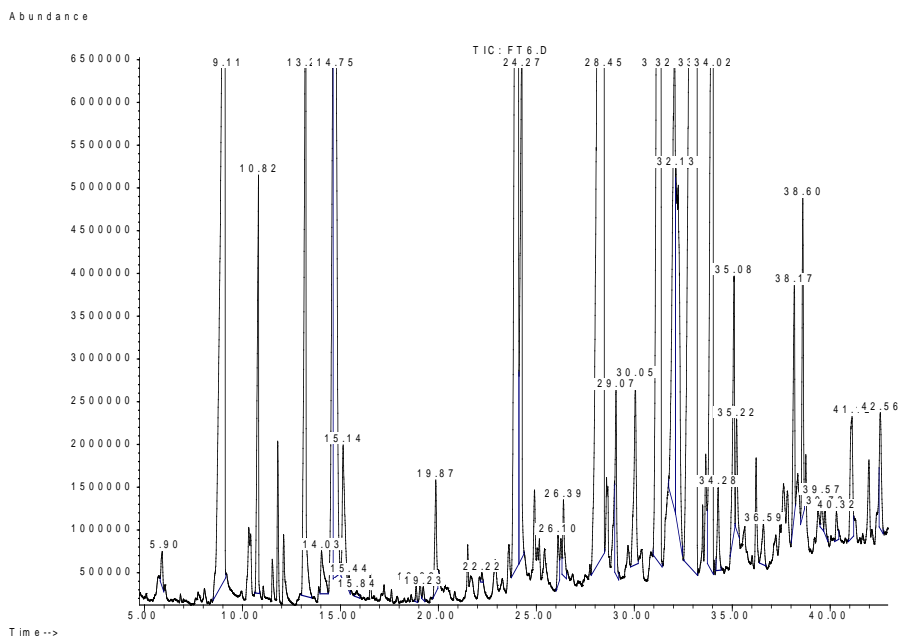


Рисунок 17 –Хроматограмма липофильной фракции латука компасного травы

Проведенный анализ жирнокислотного состава позволил установить, что в состав липидов латука входит 18 жирных кислот, содержащих в своем составе от 6 до 24 углеродных атомов. Среди жирных кислот латука травы идентифицированы как насыщенные, так и ненасыщенные кислоты, с преобладанием ненасыщенных кислот (52,02%). Ненасыщенные жирные кислоты включают полиненасыщенные (45,75%), и мононенасыщенные кислоты (6,27%). В составе полиненасыщенных жирных кислот наибольшее содержание отмечено у линолевой (35,52%) и линоленовой (10,24%) кислот, которые являются эссенциальными омега – 3 и омега – 6 жирными кислотами. Содержание насыщенных кислот несколько ниже по сравнению с ненасыщенными и оно составляет 47,98%. В состав насыщенных жирных кислот входят кислоты, у которых содержится 6, 10, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 23, 24 углеродных атомов. Наибольшее содержание отмечено у пальмитиновой (29,13%) и стеариновой (5,53%) кислот. Большая часть насыщенных жирных кислот накапливается в незначительных количествах, и их содержание колеблется от 0,07% и до 4,24% [165]. Итогом проведенных исследований явилось то, что латук компасный может использоваться в

качестве источника омега – 3 жирных кислот, потому что в составе его жирных кислот установлен низкий коэффициент полиненасыщенных жирных кислот (линолевая/линоленовая) [143].

3.11. Результаты исследования каротиноидов

Просмотр хроматограмм ПТСХ-АФ-А после проведения хроматографического анализа [глава 2, раздел 2.2.14] позволил установить 2 соединения, которые имели желтую окраску (R_f 0,11, R_f 0,95) (Рисунок 18). Использование стандартного образца β -каротина (Dr. Ehrenstorfer) позволило идентифицировать β -каротин в латука компасного траве.

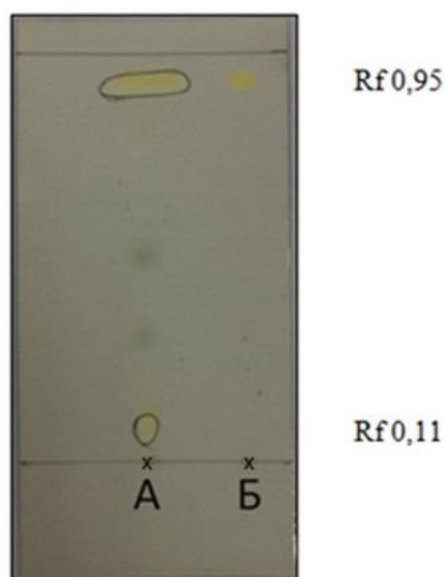


Рисунок 18 – Фотография тонкослойной хроматограммы гексанового извлечения из травы латука компасного

А – латук компасный

Б – β -каротин (Dr. Ehrenstorfer)

Система растворителей: гексан – ацетон (8:2)

Содержание каротиноидов, определенное с использованием спектрофотометрического метода [глава 2, раздел 2.2.14] позволил

установить их содержание в траве латука компасного, которое составило $3,21 \pm 0,2 \text{ мг\%}$ [64].

3.12. Результаты изучения минерального состава

3.12.1. Исследование минерального комплекса

Актуальной до настоящего времени остается проблема комплексного изучения растений, уделяя значительное внимание веществам минерального происхождения.

Минеральные элементы, во-первых, играют большое значение в жизнедеятельности организма человека, во-вторых, характеризуются разнообразной биологической активностью [86, 90, 111]. Минеральные элементы участвуют в различных биохимических процессах, происходящих в организме, а также в обмене веществ [70, 90].

Отсутствие или недостаток в организме минеральных элементов может привести к микроэлементозам человека и животных [90].

Лекарственные растения и сырье могут рассматриваться в качестве источника минеральных элементов [90].

Эмиссионным спектральным анализом проводили исследование минеральных элементов [глава 2, раздел 2.2.15] (Таблица 7).

Таблица 7 – Минеральный комплекс латука компасного травы

Наименование элемента	Содержание, мг/кг	Наименование элемента	Содержание, мг/кг
Фосфор (P)	1107,01	Бор (B)*	140,33
Кальций (Ca)	18085,65	Никель (Ni)*	1,71
Натрий (Na)	78,41	Кремний (Si)*	97,90
Калий (K)	27434,58	Ванадий (V)*	0,07
Магний (Mg)	2372,73	Барий (Ba)	18,19
Железо (Fe)**	145,16	Алюминий (Al)	81,88
Кобальт (Co)**	0,05	Свинец (Pb)	0,13
Медь (Cu)**	6,43	Стронций (Sr)	47,33
Марганец (Mn)**	41,07	Серебро (Ag)	0,14
Хром (Cr)**	1,10	Галлий (Ga)	0,12
Цинк (Zn)**	25,71	Титан (Ti)	0,37

* - условно-эссенциальные микроэлементы

** - эссенциальные микроэлементы

В составе минерального комплекса латука травы установлено 22 элемента, включающие как макро-, так и микроэлементы. Макроэлементный комплекс представлен кальцием, калием, магнием, натрием, фосфором, максимальное содержание среди них отмечено для кальция и калия. Кальций имеет важное значение для человека – он способствует выведению радионуклидов и солей тяжелых металлов из организма человека, обладает антиоксидантной, антиаллергической активностью. Калий обладает защитными свойствами при избытке натрия и нормализует кровяное давление. Он играет важную роль в регуляции водно-солевого обмена, необходим для нормальной деятельности мышц, в частности участвует в проведении нервных импульсов к мышцам [90].

Микроэлементы латука компасного травы включают в себя эссенциальные элементы – марганец, кобальт, медь, железо, цинк, хром, а также условно-эссенциальные – кремний, никель, ванадий, бор. Роль марганца в организме заключается в активации ферментов, что способствует его участию в процессах углеводного, фосфатного и белкового обмена.

Кроме того, марганец оказывает влияние на уровень глюкозы, содержащейся в крови [90]. Такие элементы как железо, цинк, медь активно участвуют в процессах кроветворения, коррекции иммунитета [90]. В изучаемом растении накапливается изотоп стронция, влияющий на обмен кальция и, в связи с этим, препятствующий развитию остеопороза и кариеса [90]. Накопление меди и стронция способствует проявлению антиоксидантных свойств травы латука компасного [90]. В сырье латука компасного наблюдается достаточно высокая концентрация алюминия (81,88 мг/кг). Алюминий является ценным микроэлементом для человеческого организма, и его суточная норма потребления составляет 25 мг [100]. В данной концентрации алюминий благоприятно влияет на человеческий организм; он используется для восстановления эпителиальной и костной тканей, участвует в образовании фосфатных и белковых комплексов. Однако, наряду с полезными свойствами, высокая концентрация алюминия оказывает нейротоксическое действие [80]. Представленные данные показывают необходимость в разработке нормативов по содержанию алюминия в сырье растительного происхождения и накопления сведений о его содержании.

3.12.2. Установление экологической безопасности латука травы по содержанию токсичных элементов

Содержание токсических элементов является одним из показателей качества сырья. Государственная фармакопея XIV издания регламентирует содержание токсичных элементов, таких как свинца, кадмия, ртути, мышьяка в лекарственном растительном сырье. В связи с чем нами были определены токсичные элементы в латука компасного траве [глава 2, раздел 2.2.15] (Таблица 8).

Таблица 8 – Содержание токсичных элементов в траве латука компасного

Показатели качества	Требования НД	Результаты испытаний
Свинец	ААС не более 6,0 мкг/г	Менее 6,0 мкг/г
Кадмий	ААС не более 1,0 мкг/г	Менее 1,0 мкг/г
Ртуть	ААС не более 1,0 мкг/г	Менее 1,0 мкг/г
Мышьяк	ААС не более 0,5 мкг/г	Менее 0,5 мкг/г

Результаты анализа показали, что содержание токсичных элементов в сырье латука компасного не превышает показатели, установленные государственной фармакопеей XIV издания, что указывает на экологическую безопасность латука компасного сырья по содержанию токсичных элементов.

3.13. Исследование полисахаридов

Сырьевая масса латука компасного была использована для фракционного выделения водорастворимой фракции полисахаридов, гемицеллюлозы А и Б, пектинового комплекса [25].

3.13.1. Содержание и состав фракций полисахаридов

Водорастворимая фракция выделена из водного концентрированного извлечения, которое осаждали пребавлением спирта этилового 96% [глава 2, раздел 2.3.1]. Ее содержание в траве латука компасного составило $8,61 \pm 0,27\%$ (Таблица 9).

Таблица 9 – Содержание и состав фракций полисахаридов в сырьевой массе латука компасного (*LactucaserriolaL.*), %

Фракции полисахаридов, %				
	Водорастворимый полисахаридный комплекс	Пектиновый комплекс	Гемицеллюлоза А	Гемицеллюлоза Б
Содержание, %	8,61±0,27	5,03±0,14	6,51±0,27	3,05±0,15
Моносахаридный состав	галактоза	галактоза	галактоза	галактоза
	глюкоза		глюкоза	глюкоза
	арабиноза	арабиноза	арабиноза	арабиноза
	ксилоза		ксилоза	ксилоза
	рамноза	рамноза	рамноза	рамноза
	галактуроновая кислота	галактуроновая кислота		
	глюкуроновая кислота			

Для водорастворимой фракции характерно выступать в качестве аморфного порошка, который обладает светло-серыми или светло-коричневыми оттенками. Растворение данной фракции осуществляется в водной, кислотной и щелочных средах. Органические растворители не позволяют растворить данную фракцию. Установлена рН 1%-го водного раствора водорастворимой фракции полисахаридов, находящаяся в пределах 5-6 [28, 68].

Пектиновый комплекс выделен из кислых извлечений путем прибавления к ним спирта этилового 96% для осаждения, содержание его составило 5,03±0,14% (Таблица 9). Данный комплекс состоит из аморфного порошка, который имеет светло-кремовый или кремовый цвет. На основании пектинового комплекса осуществляется формирование вязкого водного раствора с рН = 3-4. Когда сульфат алюминия добавляется в соответствии с водным раствором пектинов, образуются пектаты, как осадок [30, 50].

Процентное содержание гемицеллюлозы А в составе сырьевой массы латука компасного составляло 6,51±0,27%, гемицеллюлозы Б – 3,05±0,15%

(Таблица 9). Гемицеллюлозы по своему физическому состоянию выделены в виде аморфных порошков, которые имеют светло-коричневый цвет.

Показано, что в состав выделенных комплексов входит 7 моносахаридов [глава 2, раздел 2.3.2] [25]. Основу водорастворимой фракции полисахаридов составили галактоза и арабиноза. Также стоит отметить, что в ее структуре найдены глюкоза, рамноза, глюкуроновая и галактуроновая кислоты (Рисунки 19 и 20, Таблица 9).

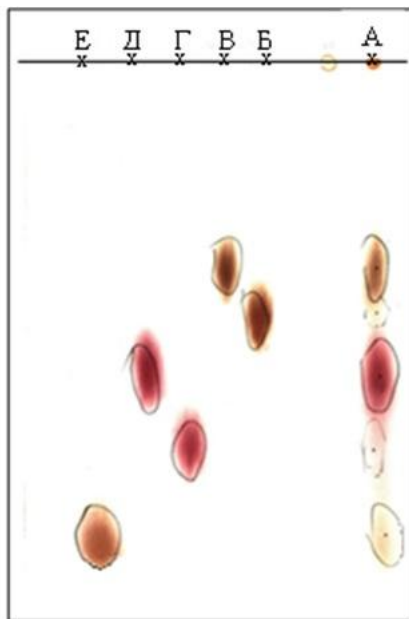


Рисунок 19 – Фотография нисходящей хроматограммы продуктов кислотного гидролиза полисахаридного комплекса из травы латука компасного

А – латук компасный

Б – глюкоза

В – галактоза

Г – арабиноза

Д – ксилоза

Е – рамноза

Система растворителей: н-бутанол – пиридин – вода (6:4:3)

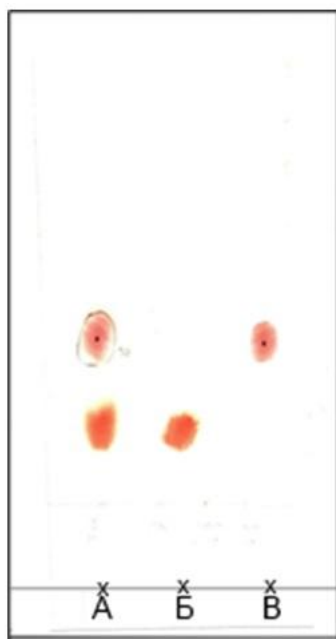


Рисунок 20 – Фотография хроматограммы продуктов кислотного гидролиза водорастворимого полисахаридного комплекса из травы латука компасного

А – латук компасный

Б – глюкуроновая кислота

В – галактуроновая кислота

Система растворителей: этилацетат – уксусная кислота – муравьиная кислота – вода (18:3:1:4)

Состав моносахаридов пектинового комплекса представлен 4 сахарами (Рисунки 21, 22, Таблица 9): галактозой, арабинозой, рамнозой и галактуроновой кислотой. В его составе преобладала галактуроновая кислота.

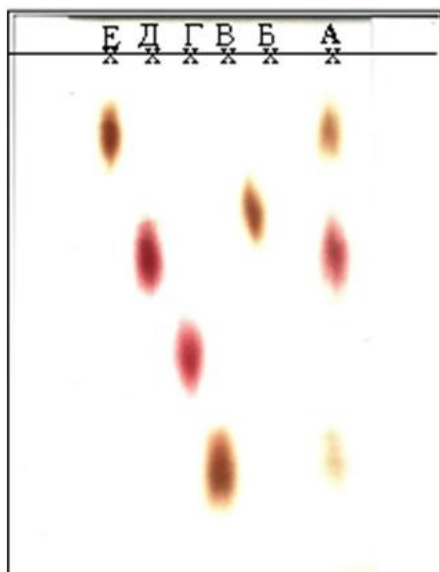


Рисунок 21 – Фотография нисходящей хроматограммы продуктов кислотного гидролиза пектиновых веществ из травы латука компасного

А – латук компасный

Б – глюкоза

В – фруктоза

Г – ксилоза

Д – арабиноза

Е – галактоза

Система растворителей: н-бутанол – пиридин – вода (6:4:3)

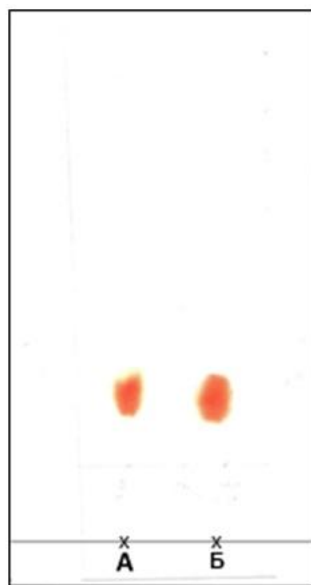


Рисунок 22 – Фотография хроматограммы продуктов кислотного гидролиза пектинового комплекса из травы латука компасного

А – латук компасный

Б – галактуроновая кислота

Система растворителей: этилацетат – уксусная кислота – муравьиная кислота – вода (18:3:1:4)

В составе сахаров гемицеллюлоз А и Б определены 5 моносахаров (Рисунок 23, Таблица 9): арабиноза, галактоза, глюкоза, ксилоза, рамноза. Среди них наибольшее содержание имеют галактоза, глюкоза и ксилоза.

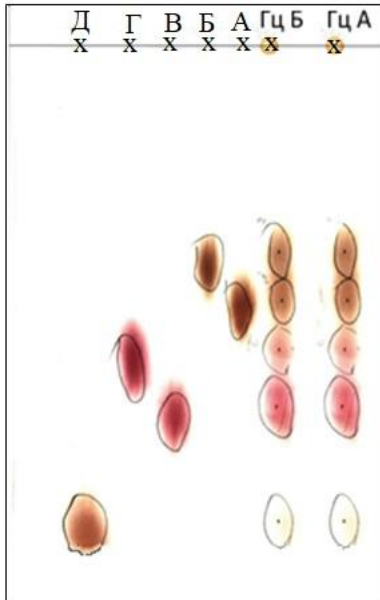


Рисунок 23 – Фотография нисходящей хроматограммы продуктов кислотного гидролиза гемицеллюлозы А и гемицеллюлозы Б из травы латука компасного

ГцА – гемицеллюлоза А

ГцБ – гемицеллюлоза Б

А – глюкоза

Б – галактоза

В – ксилоза

Г – арабиноза

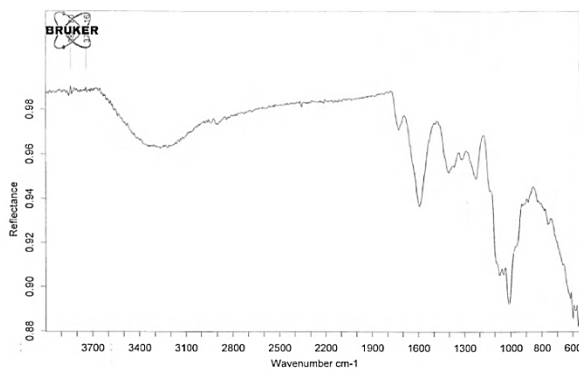
Д – рамноза

Система растворителей: н-бутанол – пиридин – вода (6:4:3)

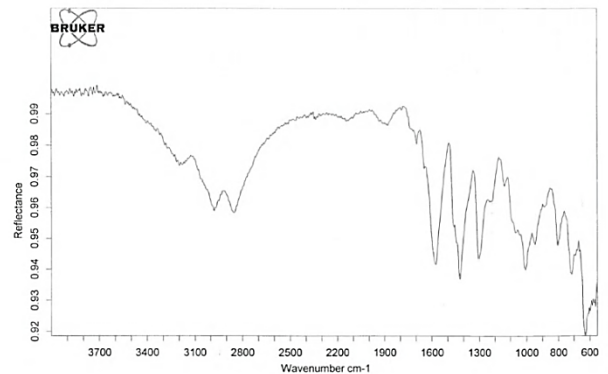
В составе ИК-спектра [глава 2, раздел 2.3.3] фракции водорастворимых полисахаридов наблюдаются полосы поглощения, имеющие длины волн: 1730, 1610, 1415, 1320, 1240, 1140, 1020 см^{-1} , которые соответствуют функциональным группам полисахаридов, а именно $\text{C}=\text{O}$, COO^- , COO^- , $-\text{OH}$, $-\text{OH}$, $\text{C}-\text{O}-\text{C}$, $\text{C}-\text{OH}$. В составе ИК-спектра пектинового комплекса наблюдаются полосы поглощения, имеющие длины волн: 1720, 1610, 1430, 1320, 1240, 1140, 1020 см^{-1} , характеризующие функциональные группы: $\text{C}=\text{O}$, COO^- , COO^- , $-\text{OH}$, $-\text{OH}$, $\text{C}-\text{O}-\text{C}$, $\text{C}-\text{OH}$ и соответствующие полисахаридам.

Наблюдаемые полосы поглощения при $1730-1720\text{ см}^{-1}$, 1610 см^{-1} у полисахаридов и пектиновых веществ характеризуют $\text{C}=\text{O}$, COO^- группы и показывают наличие глюкуроновой и галактуроновой кислот, подтверждающие данные, которые были получены при исследовании состава сахаров [45].

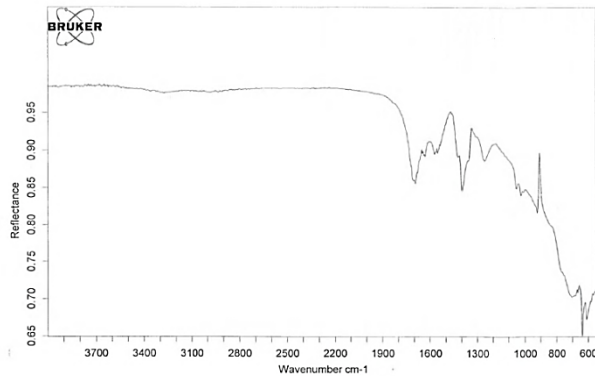
ИК-спектры гемицеллюлозы А и гемицеллюлозы Б имеют полосы поглощения, которые находятся в области $1476-1480$, $1341-1348$, $1185-1187$, $908-910$, они характеризуют функциональные группы: $\text{C}-\text{H}$, $-\text{OH}$, $\text{C}-\text{O}-\text{C}$, $\text{C}-\text{OH}\text{ см}^{-1}$, содержащиеся в гемицеллюлозах. Гемицеллюлоза А содержит в ИК-спектре ещё одну полосу поглощения при 1042 см^{-1} , что скорее всего обусловлено химическими связями между различными исследуемыми группами [45] (Рисунок 24).



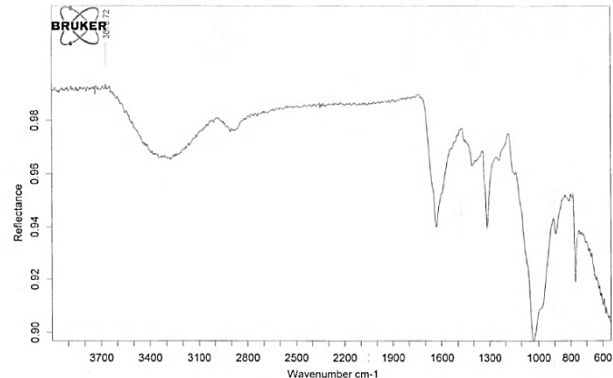
А – ИК-спектр водорастворимой фракции полисахаридов



Б – ИК-спектр пектиновых веществ



В – ИК-спектр гемицеллюлозы А



Г – ИК-спектр гемицеллюлозы Б

Рисунок 24 – ИК-спектры выделенных полисахаридных комплексов

3.13.2. Содержание моносахаридного состава

Количественный анализ моносахаридов проведен методом денситометрии после гидролитического расщепления и тонкослойной хроматографии [глава 2, раздел 2.3.2] (Таблица 10).

Таблица 10 – Моносахаридный состав и его содержание в составе выделенных полисахаридов травы латука компасного

Наименование полисахарида, %	Фракции полисахаридов, %			
	Водорастворимый полисахаридный комплекс	Пектиновый комплекс	Гемицеллюлоза А	Гемицеллюлоза Б
Арабиноза	14,67±0,40	4,64±0,14	2,33±0,10	1,82±0,09
Глюкоза	0,71±0,03		5,82±0,13	6,37±0,19
Галактоза	11,05±0,45	3,23±0,11	6,43±0,17	5,90±0,13
Ксилоза	0,91±0,04		7,87±0,19	8,17±0,22
Рамноза	1,11±0,05	1,62±0,06	1,14±0,04	0,95±0,04
Глюкуроновая кислота	2,81±0,12			
Галактуроновая кислота	1,30±0,06	83,74±2,54		

Результаты Таблицы 10 показывают, что в водорастворимая фракция в качестве преобладающих моносахаридов содержит арабинозу (14,67±0,40%) и галактозу (11,05±0,45%); в основе пектинового комплекса – галактуроновая кислота (83,74±2,54%); преобладающим моносахаридом в гемицеллюлозах была ксилоза (7,87±0,19% и 8,17±0,22% соответственно) [21].

В результате проведенных экспериментальных исследований выявлено, что трава латука компасного может послужить в качестве источника водорастворимых полисахаридов и пектиновых веществ, что в дальнейшем расширит ее спектр практического применения в медицинской и фармацевтической практике.

3.13.3. Функциональные группы пектиновых веществ

Пектиновые вещества в основном растительные биополимеры, в основе которых лежит галактуроновая кислота. Одним из основных свойств их являются способность к желеобразованию и комплексообразованию, что обусловлено функциональными группами в их составе [57].

Пектины характеризуются способностью связывания катионов тяжелых металлов и радиоактивных изотопов. Это происходит потому что в их структуре имеется водород карбоксильных групп, благодаря чему они могут применяться при отравлениях металлами и изотопами [30].

Пектины в фармации находят применение в качестве желирующих средств. Их способность образовывать гели определяется наличием карбоксильных групп, а именно их степенью метилирования.

Все вышесказанное побудило нас к изучению их функциональных групп [глава 2, раздел 2.3.4] (Таблица 11).

Таблица 11 – Содержание функциональных групп

Функциональные группы	Содержание, %	Степень метоксилированности (λ), %
Карбоксильные свободные	7,04±0,18	13,24±0,38
Карбоксильные метоксилированные	1,07±0,02	
Карбоксильные общие	8,11±0,18	
Метоксилированные	0,74±0,01	

Отмечается определение функциональных групп в соответствии со свободными карбоксильными группами – 7,04±0,18%, метоксилированными

карбоксильными группами – $0,74 \pm 0,01\%$. Для выделенного пектинового комплекса характерно наличие невысокого уровня этерификации ($\lambda < 50\%$) [20].

3.13.4. Изучение сорбционных свойств пектиновых веществ

Возможность применения сорбента в медицинской практике характеризуется его сорбционной активностью. Одним из аспектов использования сорбентов является энтеросорбция, применяемая в медицине для удаления эндо- и экзотоксинов [113]. Поэтому поиск новых сорбентов является актуальным. Спектрофотометрическим методом было проведено изучение сорбционной способности исследуемых пектиновых веществ, полученных из латука компасного травы [глава 2, раздел 2.3.5] в отношении метиленового синего, что позволило установить его сорбционную активность (Таблица 12).

Таблица 12 – Сорбционная активность пектиновых веществ из латука компасного травы (*Lactucaserriola*L.)

Наименование сорбента	Метрологическая характеристика				
	X	S ²	S	ΔX	E отн.%
«Полисорб»	709,17	10,1933	3,1927	8,88	1,25
Активированный уголь	430,13	3,4357	1,8536	5,15	1,20
Пектин из травы латука компасного	533,54	46,4743	6,8172	18,95	3,55

Сорбционная способность была несколько ниже, чем наблюдаемая у препарата сравнения «Полисорб», но превышала таковую активированного угля. Полученные результаты свидетельствуют о сорбционной активности выделенного пектинового комплекса.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3

1. Качественный анализ проведен с помощью качественных реакций и хроматографии, количественный анализ методами титриметрии, фотоэлектроколориметрии, гравиметрии, спектрофотометрии. При этом установлено наличие и определено содержание: аминокислот (16 аминокислот); азотсодержащих соединений – $0,13 \pm 0,002\%$, в том числе холина – $0,05 \pm 0,003\%$; дубильных веществ преимущественно катехинов – $4,97 \pm 0,20\%$; тритерпеновых сапонинов – $0,25 \pm 0,005\%$, среди них олеаноловая кислота; органических кислот – $1,27 \pm 0,15\%$, среди них аскорбиновой кислоты, сесквитерпеновых лактонов – $0,15 \pm 0,006\%$, каротиноидов – $3,21 \pm 0,2\text{мг}\%$, среди них β -каротин; гидроксикоричных кислот – $3,22 \pm 0,06\%$, среди которых феруловая и хлорогеновая кислоты; флавоноидов, среди них рутин, лютеолин, цинарозид; жирных кислот.

2. Газожидкостная хромато-масс-спектрометрия позволяет осуществлять исследование органических кислот, что и было проведено в настоящей работе. Их комплекс характеризуется 12 кислотами – левулиновой, янтарной, щавелевой, малоновой, лимонной, яблочной, 4-оксибензилуксусной, безнзойной, фумаровой, 2-окси-3метилглутаровой, азелаиновой, фенилуксусной. Органические кислоты содержались в широком диапазоне: от $33,12 \pm 1,41\text{мг/кг}$ (2-оксиметилглутаровая) до $13489,95 \pm 1,59\text{мг/кг}$ (лимонная кислота).

3. Впервые изучен жирнокислотный состав методом газожидкостной хромато-масс-спектрометрии. Идентифицировано 18 жирных кислот, в составе которых найдены как насыщенные (47,98%), так и ненасыщенные (52,02%). В состав ненасыщенных жирных кислот установлены линолевая (35,52%) и α -линоленовая (10,24%) кислоты, среди насыщенных – пальмитиновая кислота (29,13%).

4. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии установлено присутствие 16 аминокислот, среди которых содержание незаменимых аминокислот составляет 48,94% от общей суммы аминокислот. Состав аминокислот в траве латука исследован впервые.

5. С использованием эмиссионного спектрального анализа изучен состав минеральных элементов латука компасного травы, среди которых идентифицированы 22 элемента. Показано, что среди макроэлементов доминируют калий и кальций, среди микроэлементов – железо, бор, алюминий и кремний.

6. Проведено изучение экологической безопасности латука компасного травы методом атомно-адсорбционной спектроскопии по содержанию тяжелых металлов. Изучено содержание свинца, кадмия, меди и ртути. Установлено, что в траве латука компасного содержание указанных элементов не превышает допустимые нормы.

7. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием двух детекторов: диодно-матричного спектрофотометрического и масс-спектрофотометрического изучены фенольные соединения, среди них идентифицированы 9 фенольных веществ. Показано наличие четырех фенолкарбоновых кислот: хлорогеновой, феруловой, кофейной, п-кумаровой, среди которых доминируют феруловая ($0,90 \pm 5,53$ мг/г) и хлорогеновая ($0,94 \pm 3,19$ мг/г) кислоты; пяти флавоноидных соединений: 3 флавонов – лютеолина, цинарозида, апигенин-7-О- β -D-глюкозида и 2 флавонолов – рутина, изокверцетрина, среди которых доминируют лютеолин ($0,92 \pm 4,36$ мг/г) и цинарозид ($0,64 \pm 4,67$ мг/г). Хлорогеновая, кофейная, феруловая, п-кумаровая кислоты, рутин, апигенин-7-глюкозид в латука компасного траве идентифицированы впервые; подтверждено наличие лютеолина, цинарозида, изокверцетрина.

8. Изучение углеводного состава показало, что в траве латука компасного в свободном виде идентифицированы глюкоза и ксилоза. Среди

полисахаридных комплексов выделены и изучены водорастворимая фракция полисахаридов, её содержание составило $8,61 \pm 0,27\%$, пектиновые вещества, содержание которых составило $5,03 \pm 0,14\%$, гемицеллюлозы А и Б, их содержание составило $6,51 \pm 0,27\%$ и $3,05 \pm 0,15\%$ соответственно. Изучение моносахаридного состава полисахаридов показало, что в водорастворимой фракции полисахаридов преобладают арабиноза ($14,67 \pm 0,40\%$), галактоза ($11,05 \pm 0,45\%$), в основе пектинового комплекса лежит галактуроновая кислота ($83,74 \pm 2,54\%$), в составе гемицеллюлоз преобладают ксилоза, содержание которой составляет $7,87 \pm 0,19\%$ в гемицеллюлозе А и $8,17 \pm 0,22\%$ в гемицеллюлозе Б, глюкоза $5,82 \pm 0,13\%$ и $6,37 \pm 0,19\%$ соответственно, галактоза $6,43 \pm 0,17\%$ и $5,90 \pm 0,13\%$ соответственно. Принадлежность выделенных групп полисахаридов доказана с помощью ИК-спектроскопии.

9. Исследованы функциональные группы выделенного пектинового комплекса. Установлена их невысокая ($\lambda = 13,24 \pm 0,38\%$) степень этерификации. Определена сорбционная активность пектиновых веществ по отношению к метиленовому синему спектрофотометрическим методом, которая была несколько ниже препарата «Полисорб» и выше, чем у активированного угля.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ХАРАКТЕРИСТИК ПОДЛИННОСТИ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ТРАВЫ ЛАТУКА КОМПАСНОГО

4.1. Определение подлинности сырья

Анализ проведенного фитохимического анализа травы латука компасного показал возможность его дальнейшего применения в медицине, что предусматривает необходимость разработки характеристик его подлинности и показателей качества сырья.

С целью разработки характеристик подлинности изучены макро- и микроскопические признаки латука компасного травы, а для установления показателей качества разработаны характеристики качества сырья.

4.1.1. Изучение морфологических признаков латука компасного травы

Изучение макроскопических признаков сырья латука компасного проводили на свежем растительном материале, гербарных образцах и высушенном сырье. Для изучения макроскопических признаков использовали бинокулярную увеличительную лупу в соответствии со статьей ГФ XIV издания – ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» [39].

Проведенный макроскопический анализ позволил разработать раздел «Определение подлинности» для сырья латука в части определения макроскопических признаков (Рисунок 25): сырье включает олиственные стебли, которые могут быть цельными или частично измельченными, длина которых не превышает 25 см, а также цветки и незрелые плоды. В состав сырья входят также отдельные листья. Стебли в сырье могут быть голыми,

либо покрыты жесткими щетинками, они бороздчатые. Листья имеют форму от продолговатой до ланцетовидной, листовая пластинка перистонадрезанная, перистолопастная, иногда цельная; край её шиповато-зубчатый. Основание у листьев стреловидное. На нижней стороне листа по главной жилке располагаются жесткие щетинки. Цветки в корзинках, имеющих продолговатую или цилиндрическую форму, в состав которых входит 15-25 язычковых цветков. Корзинки располагаются на цветоносах, обычно длиннее корзинок. Наружные листочки у обертки яйцевидные или треугольные, поверхность их пупырчатая или опушена паутинистыми или шерстистыми волосками, внутренние листочки у обертки линейно- или продолговато-ланцетовидные, край их пленчатый со слегка волнистой каймой. Общее соцветие – щитковидно-метельчатое. Плод – семянка яйцевидной формы с 7-9 продольными ребрышками, несущая хохолок, который включает белые мягкие волоски. Листья имеют зеленый или сизоватый, стебли – беловатый или желтоватый, цветки – желтый, плоды серый или светло-коричневый цвет. Для сырья характерно наличие слабого, травянистого запаха. Водное извлечение характеризуется горьким привкусом.



Рисунок 25 – Трава латука компасного (фото автора)

4.1.2. Изучение микродиагностических признаков травы латука компасного

Для проведения микроскопического анализа использовали свежесобранные растения, которые подвергали консервации. Свежезаготовленные части растения фиксировали спиртом этиловым 95%, что способствовало сохранению объектов длительное время, обесцвечиванию сырья за счет удаления хлорофилла из тканей, а также уплотнению сырья, что вело к более легкому выполнению поперечных срезов [88, 95, 104].

Микродиагностические признаки изучали на временных микропрепаратах, для приготовления которых использовали методики ГФ XIV издания – ОФС.1.5.3.0003.15. Как только микропрепараты были приготовлены, осуществляется проведение микрофотосъемки [39]. В процессе исследования были изучены лист, стебель, листочки обертки и язычковые цветки. Приготовление поверхностных препаратов из высушенного сырья осуществляли после кипячения сырья в растворе натрия гидроксида 3% с дальнейшим промыванием водой очищенной.

Стебель. Исследование стебля проводили в верхней, средней и нижней частях. Итогом явилось установление микродиагностических признаков, которые необходимы для определения подлинности сырья латука: стебель пучкового типа строения, в поперечнике стебель округлый (Рисунок 26). У клеток эпидермиса стебля кутинизированные наружные стенки. Клетки эпидермиса стебля характеризуется прозенхимной формой, имеют прямые или скошенные концы, что в текущем исследовании было целесообразно представить их в схематическом виде на Рисунке 28. Устьичный комплекс стебля аномоцитного типа. Отмечается опушение эпидермиса стебля посредством волосков 2-х групп: простых многоклеточных многорядных и

простых перекрученных тонкостенных, что в текущей работе было целесообразно представить в схематическом виде на Рисунках 29 и 30.

Эпидермис стебля подстиляется 2-3 слоями пластинчатой колленхимы, с которых начинается первичная кора стебля. Основная ткань стебля – основная паренхима, располагающаяся в 4-5 слоев. Эндодерма состоит из одного слоя крупных клеток, она разделяет первичную кору и центральный цилиндр (Рисунок 27). В промежутках между сосудистыми пучками центрального цилиндра присутствуют значительные участки склеренхимы. Сосудистые пучки биколлатеральные, расположены по кругу и сдвинуты к периферии. Флоэма сосудистых пучков представлена мелкими клетками. В паренхиме пучков, её флоэмной части содержатся членистые млечники. Сосуды в ксилеме располагаются в виде вертикальных рядов. Камбий в пучках хорошо выражен. Паренхима сердцевинки состоит из тонкостенных клеток, укрупняющихся к сердцевине (Рисунок 27).

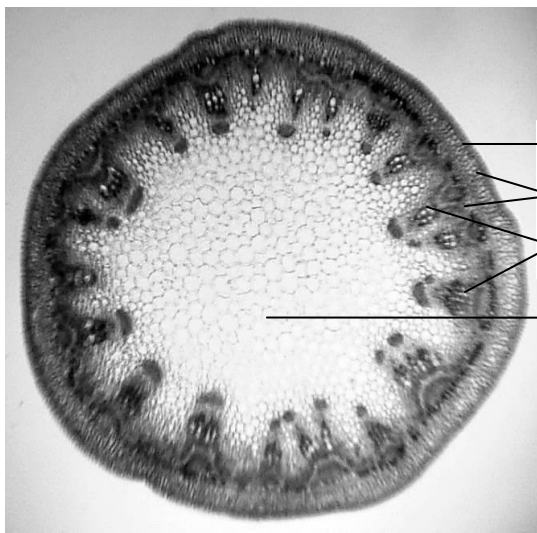


Рисунок 26 – Поперечный срез стебля латука компасного (Увел.х 52,5)
1- эпидермис;
2- первичная кора;
3- биколлатеральный пучок;
4- паренхима сердцевинки

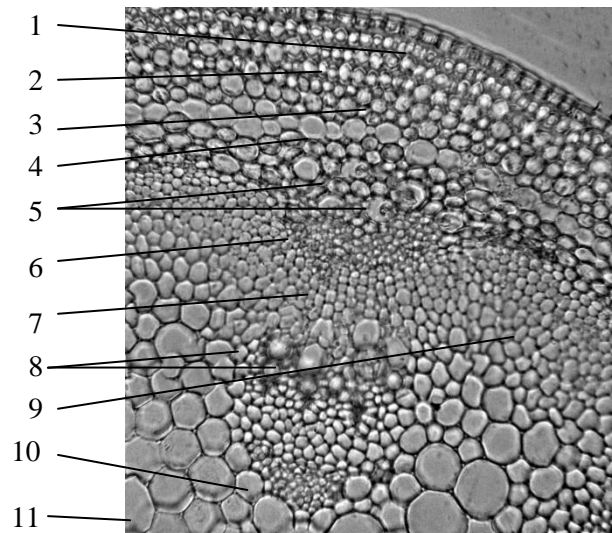


Рисунок 27 – Фрагмент поперечного среза стебля латука компасного (Увел.х 200)
1- эпидермис; 2- пластинчатая колленхима; 3-основная паренхима;
4-эндодерма (крахмалоносное влагалище); 5- млечники; 6- флоэма;
7- камбий; 8- сосуды ксилемы; 9- склеренхима; 10- внутренняя флоэма;
11- основная паренхима

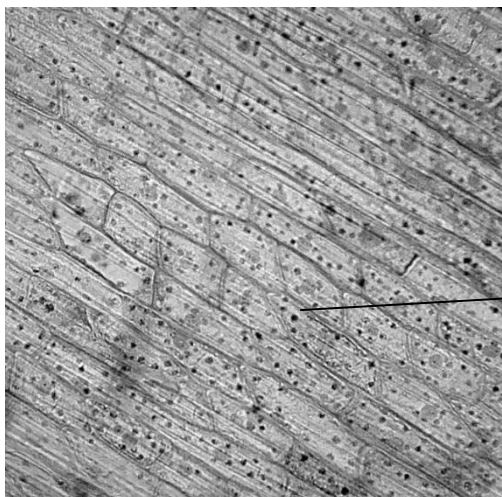


Рисунок 28 – Фрагмент эпидермиса
стебля латука компасного
(Увел.х 300)
1- клетки эпидермиса

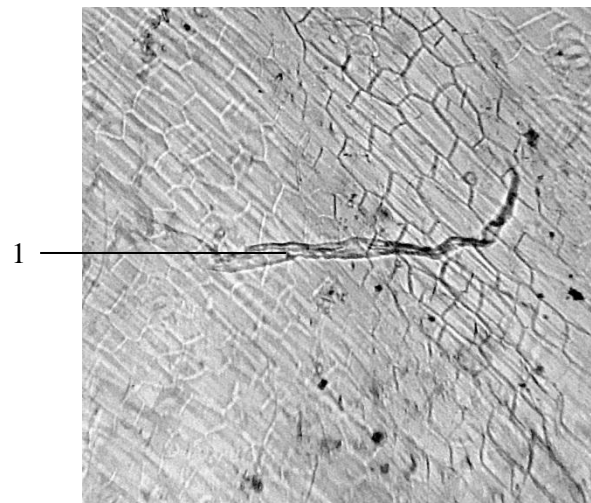


Рисунок 29 – Фрагмент эпидермиса
стебля латука компасного (Увел.х 120)
1 - простой перекрученный
тонкостенный волосок

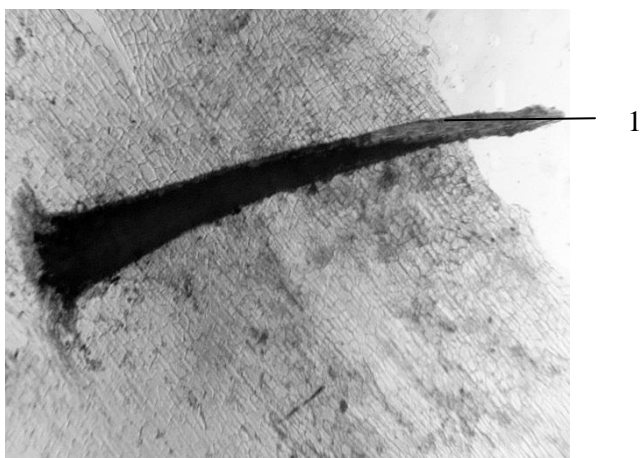


Рисунок 30 – Фрагмент эпидермиса
стебля латука компасного
(Увел.х 120)
1 - простой, многоклеточный,
многорядный волосок

Лист. Верхний эпидермис листа латука компасного имеет клетки со слабоизвилистыми контурами. На нижнем эпидермисе клетки более извилистостенные (Рисунки 31, 32). Продольная часть жилок листа

характеризуется эпидермальными клетками с прямыми, удлинёнными снизу стенками, прямыми или скошенными концами, что в текущей работе было целесообразно представить в схематическом виде на Рисунке 34. Для клеток эпидермиса по краю листа характерно наличие удлинённых прямых, обладающих шиповатыми выростами и покрытыми толстым слоем кутикулы стенками, что в текущей работе было целесообразно представить в схематическом виде на Рисунке 33. Устьичный аппарат относится к аномоцитному типу, устьица встречаются на двух поверхностях листа (Рисунки 31, 32). Вдоль жилок листа проходят членистые млечники (Рисунок 35). Лист опушен простыми многоклеточными многорядными волосками, которые встречаются с нижней стороны листа, и вдоль жилок. Верхний эпидермис характеризуется простыми длинными волосками, имеющими достаточно тонкие стенки, что в текущей работе было целесообразно представить в схематическом виде на Рисунках 36, 37 и 38.

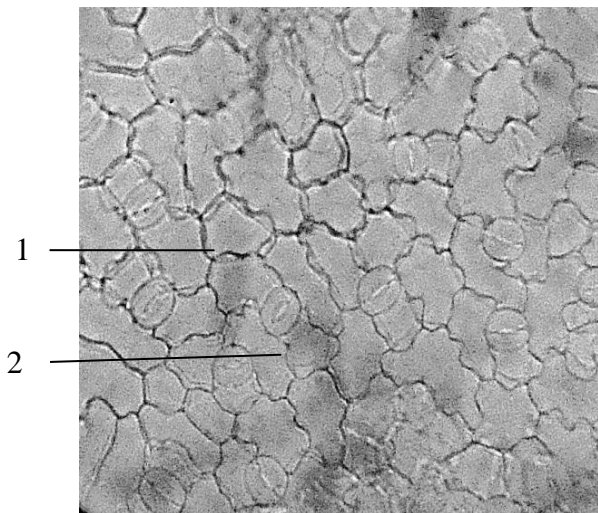


Рисунок 31 – Фрагмент верхнего эпидермиса листа латука компасного (Увел.х 300)
1- клетки эпидермиса
2- устьице

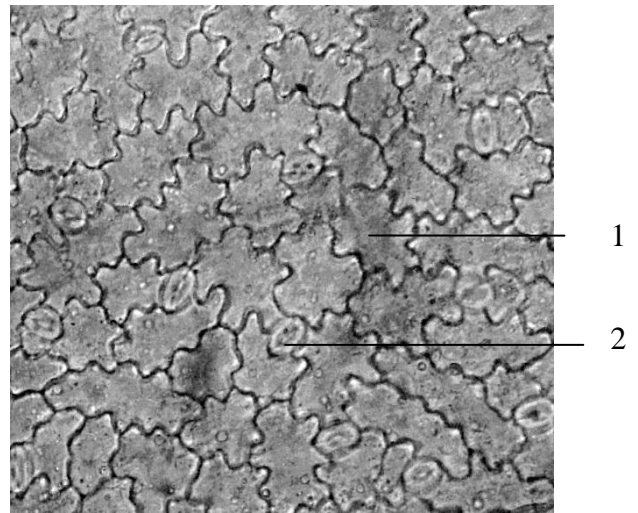


Рисунок 32 – Фрагмент нижнего эпидермиса листа латука компасного (Увел.х 300)
1- клетки эпидермиса
2- устьице

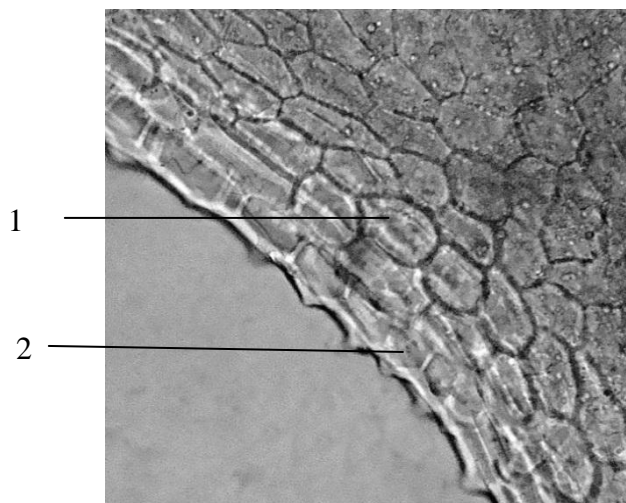


Рисунок 33 – Фрагмент эпидермиса по краю листа латука компасного (Увел.х 300)

1- клетки эпидермиса
2- шиповатые выросты

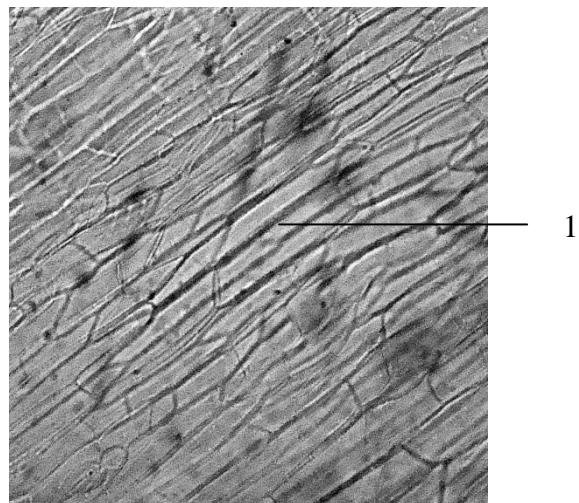


Рисунок 34 – Фрагмент эпидермиса вдоль жилки листа латука компасного (Увел.х 300)

1- клетки эпидермиса

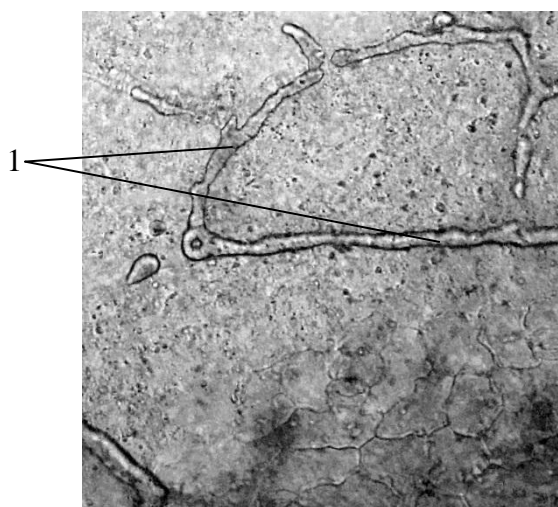


Рисунок 35 – Фрагмент эпидермиса листа латука компасного (Увел.х 300)

1- членистые млечники

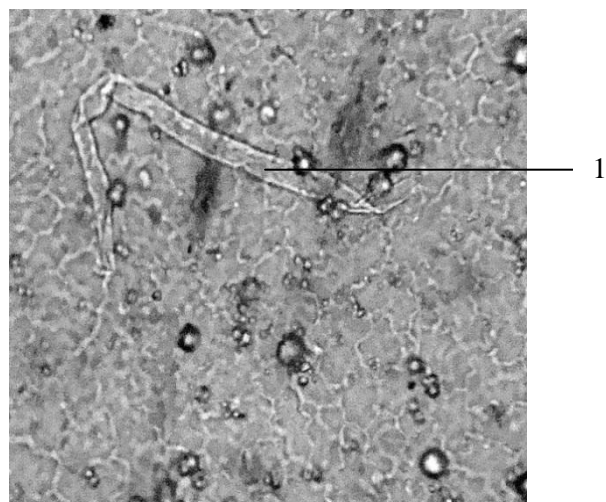


Рисунок 36 – Фрагмент эпидермиса листа латука компасного (Увел.х 300)

1- простой тонкостенный волосок

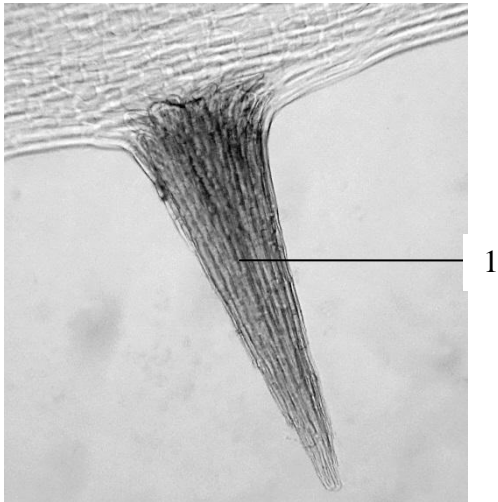


Рисунок 37 – Фрагмент эпидермиса вдоль жилки листа латука компасного (Увел.х 300)
1 - простой многоклеточный многорядный волосок

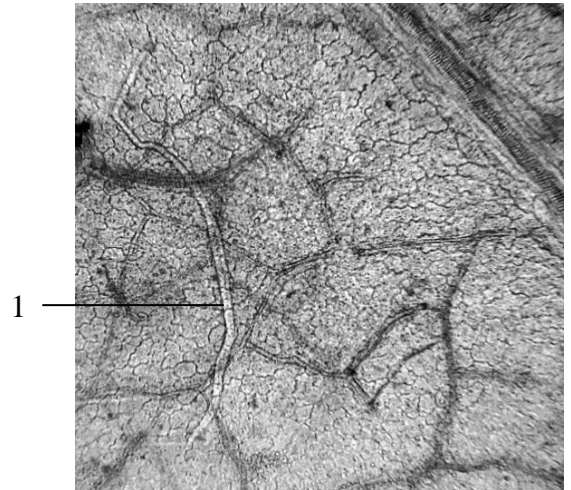


Рисунок 38 – Фрагмент эпидермиса листа латука компасного (Увел.х 120)
1- простой тонкостенный волосок

Листочки обертки. Эпидермальные клетки наружной стороны обертки имеют прозенхимную форму, извилистость контуров клеток и сосочковидные выросты (Рисунки 39, 42). Эпидермальные клетки на внутренней стороне листочков обертки имеют менее извилистые стенки (Рисунок 40). Эпидермальные клетки, расположенные близ основания листочков обертки имеют прямые стенки и скошенные концы (Рисунок 41). Устьица располагаются большей частью на наружной поверхности. Устьичный комплекс анамоцитного типа (Рисунок 39). В соответствии с эпидермисом обертки отмечается расположение простых одноклеточных волосков, которые характеризуются конической формой, расширенным основанием и толстыми стенками. Данные волоски сидят по несколько штук (2-4), наряду с сосочковидными клетками эпидермиса (Рисунки 42, 43). Верхушка листочков обертки содержит скопления простых многоклеточных тонкостенных перекрученных волосков, у которых стенки часто спадаются (Рисунок 44). Членистые млечники располагаются вдоль жилок листочков обертки (Рисунок 45).

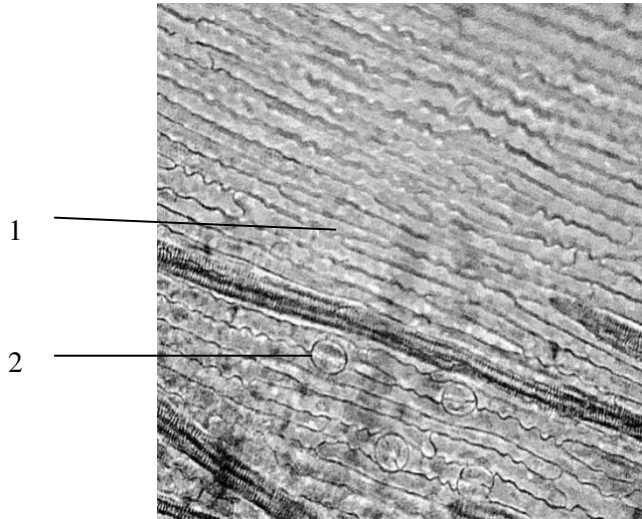


Рисунок 39 – Фрагмент эпидермиса наружной стороны листочков обертки латука компасного (Увел.х 300)

1 - извилистостенные клетки эпидермиса
2 - устьица аномоцитного типа

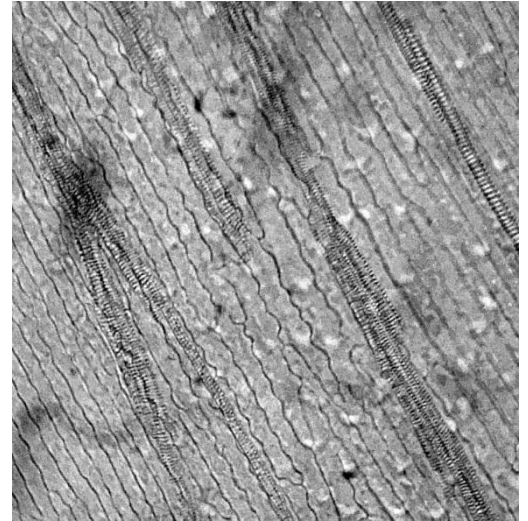


Рисунок 40 – Фрагмент эпидермиса внутренней стороны листочка обертки латука компасного (Увел.х 300)

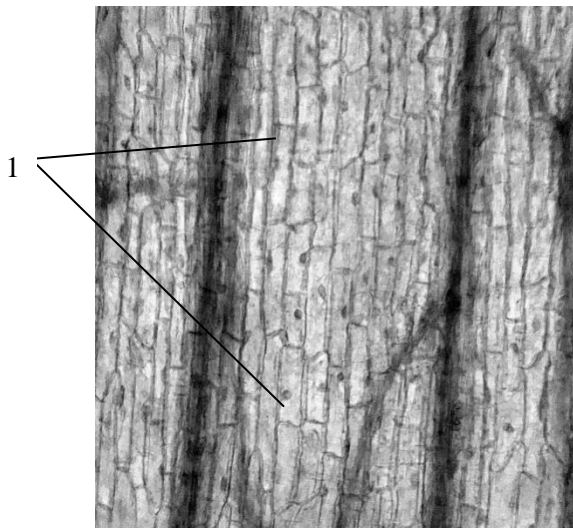


Рисунок 41 – Фрагмент эпидермиса ближе к основанию листочков обертки латука компасного (Увел.х 300)

1- клетки прямостенные с прямыми или со скошенными концами

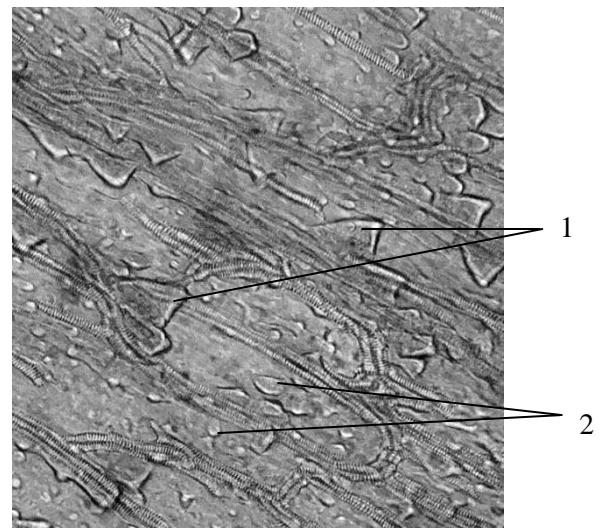


Рисунок 42 – Фрагмент эпидермиса в средней части наружной стороны листочков обертки латука компасного (Увел.х 300)

1 - простые одноклеточные толстостенные конические волоски с расширенным основанием
2 - сосочковидные выросты эпидермиса

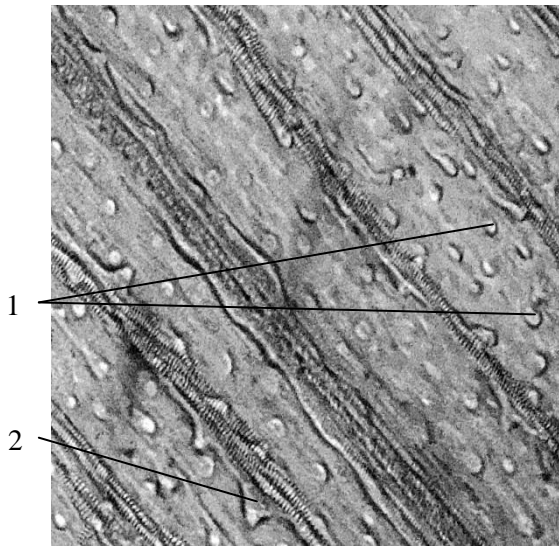


Рисунок 43 – Фрагмент эпидермиса в средней части внутренней стороны листочка обертки латука компасного (Увел.х 300)

1 - сосочковидные выросты эпидермиса

2 - простые одноклеточные толстостенные конические волоски с расширенным основанием

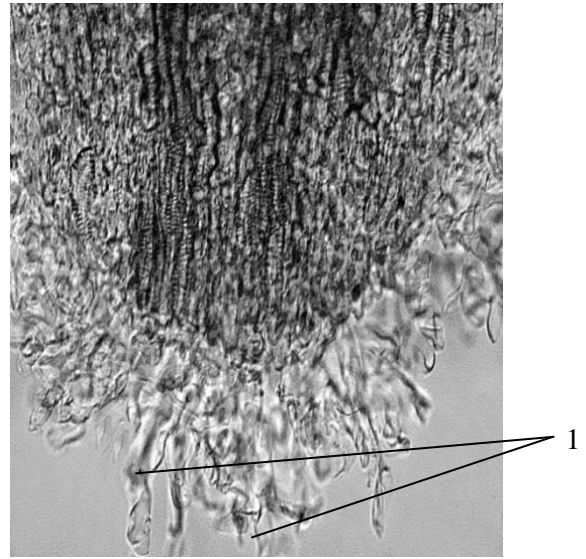


Рисунок 44 – Фрагмент эпидермиса на верхушке листочка обертки латука компасного (Увел.х 300)

1 - многоклеточные тонкостенные простые волоски со спадающимися стенками

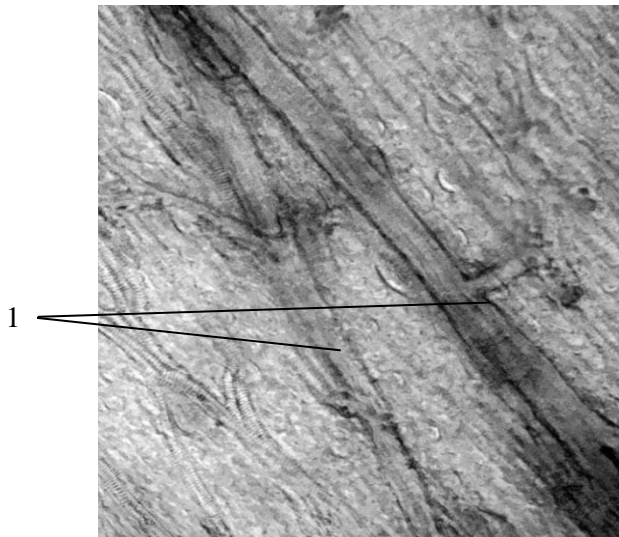


Рисунок 45 – Фрагмент эпидермиса в средней части листочка обертки латука компасного (Увел.х 300)

1 - членистые млечники

Венчик. Зубцы венчика характеризуются извилистостенными эпидермальными клетками и наличием сосочковидных выростов, что в текущей работе было целесообразно представить в схематическом виде на Рисунке 46. Средняя зона венчика характеризуется эпидермальными клетками, боковые стенки которых имеют мелкозубчатости, что в текущей работе было целесообразно представить на Рисунке 47. Эпидермис трубки венчика состоит из клеток с прямыми или слегка извилистыми стенками, у которых концы могут быть прямыми или скошенными (Рисунок 48).

Язычковый цветок имеет волоски двух типов: простые многоклеточные, имеющие тонкие и часто спадающиеся стенки и округлую или слегка заостренную конечную клетку, они встречаются на эпидермисе трубки венчика (Рисунок 49). На вершукке завязи имеются простые остроконечные волоски с тонкими стенками; они расположены многорядно (Рисунки 50, 51) [17].

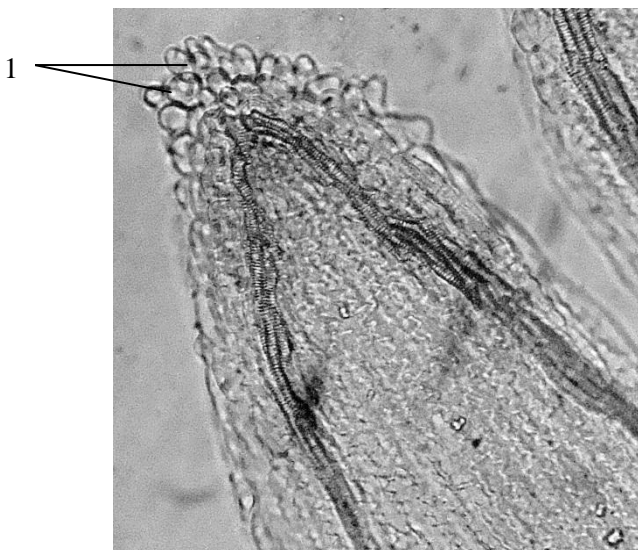


Рисунок 46 – Фрагмент верхушки зубцов венчика язычкового цветка латука компасного (Увел.х 300)
1 - сосочковидные выросты эпидермиса

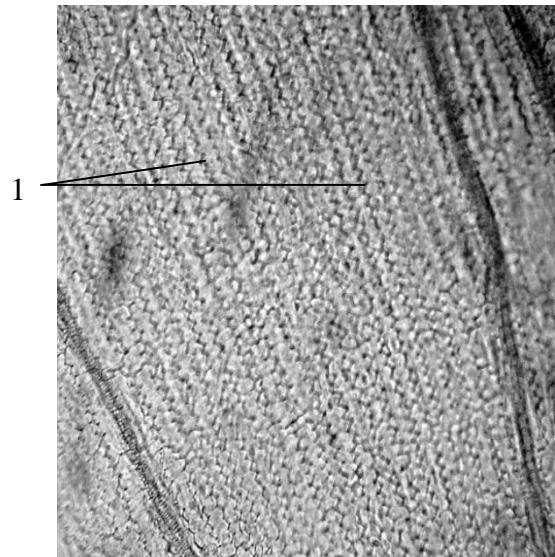


Рисунок 47 – Фрагмент эпидермиса в средней части зубцов венчика язычкового цветка латука компасного (Увел.х 300)
1 - клетки эпидермиса с мелкозубчатыми боковыми стенками

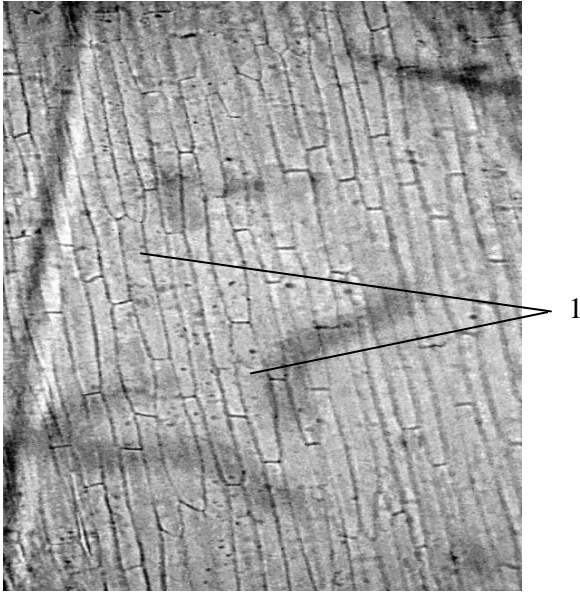


Рисунок 48 – Фрагмент эпидермиса в трубке венчика язычкового цветка латука компасного (Увел.х 300)
1 - клетки эпидермиса с прямыми или со скошенными концами

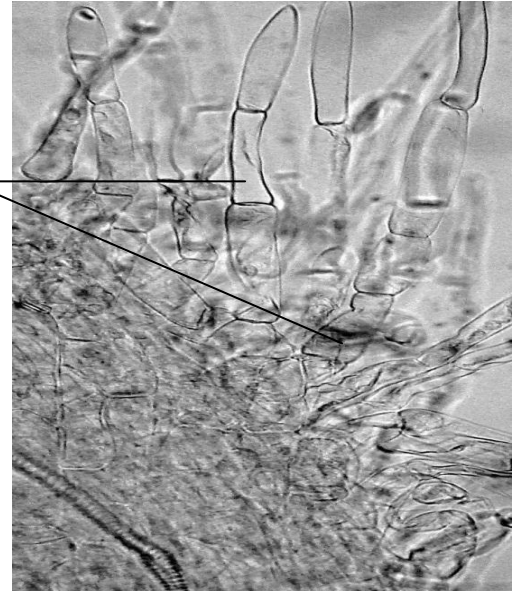


Рисунок 49 – Фрагмент эпидермиса в трубке венчика язычкового цветка латука компасного (Увел.х 300)
1 - многоклеточные тонкостенные простые волоски, часто со спадающимися клеточными стенками

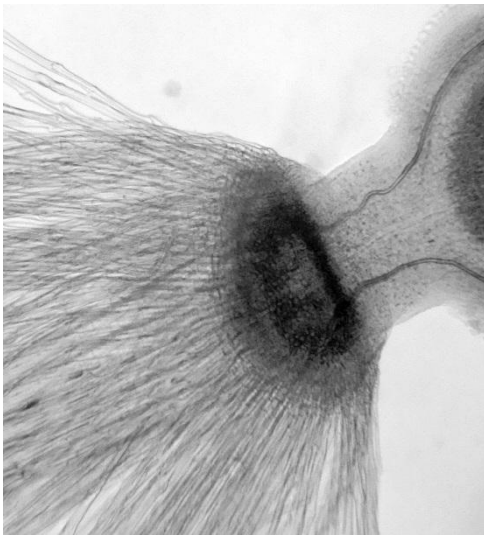


Рисунок 50 – Фрагмент завязи язычкового цветка латука компасного (Увел.х 300)

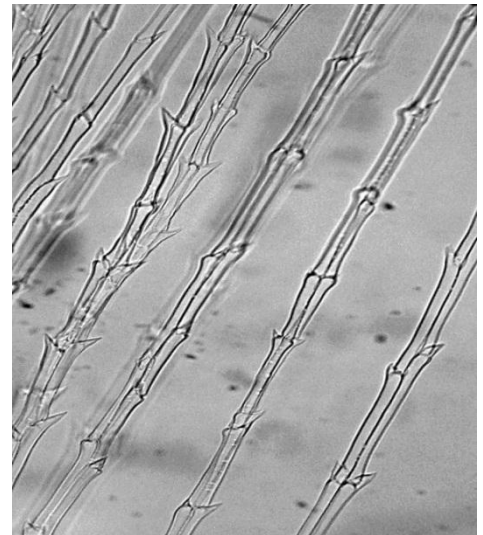


Рисунок 51 – Фрагмент простых многорядных остроконечных тонкостенных волосков латука компасного по завязи язычкового цветка (Увел.х 300)

4.2. Результаты проведения испытаний травы латука компасного

Раздел «Испытания» является составной частью нормативных документов на растительное сырье. В связи с чем, показатели, входящие в данный раздел, были определены в латука компасного траве.

4.2.1. Результаты исследования влаги, золы

Для определения содержания влаги, зола общая и не растворимая в 10% кислоте хлористоводородной в латука компасного траве использовали фармакопейные методики [глава 2, разделы 2.4.1] [39].

Таблица 13 – Результаты проведения испытаний сырья латука компасного по содержанию влаги и золы

Время и место сбора	Метрологическая характеристика методики				
	X ср., %	S ²	S	Δx	Eотн, %
Влажность					
2018 год Курская область, Мантуровский р-н	8,40	0,01823	0,13502	0,38	4,47
2019 год Курская область, Курский р-н	11,18	0,01652	0,12853	0,36	3,22
2019 год Белгородская область	12,15	0,02292	0,15139	0,42	3,46
Зола общая					
2018 год Курская область, Мантуровский р-н	13,03	0,02285	0,15116	0,42	3,22
2019 год Курская область, Курский р-н	11,80	0,00793	0,08905	0,25	2,12
2019 год Белгородская область	13,50	0,02698	0,16426	0,46	3,41
Зола, не растворимая в растворе кислоты хлористоводородной 10%					
2018 год Курская область, Мантуровский р-н	0,60	0,00008	0,00894	0,02	3,36
2019 год Курская область, Курский р-н	0,80	0,00032	0,01789	0,05	6,27
2019 год Белгородская область	1,20	0,00052	0,02280	0,06	4,99

Проведенные испытания сырья латука компасного стали основой для установления нормативов качества сырья латука. Итоги определения влажности (Таблица 13) позволили установить критерий её содержания не более 13%. Проведенные испытания по определению золы (Таблица 13) показали, что данные показатели колебались в пределах значений от 11,80%-13,50% общей золы и в соответствии с 0,60%-1,20% не растворимой золы в 10% кислоте хлористоводородной. Учитывая полученные данные установлены их критериальные значения: не более 14% и не более 2% соответственно.

4.2.2. Итоги изучения экстрактивных веществ

Установление критерия содержания экстрактивных веществ в латука компасного траве проводили с использованием методики ГФ XIV издания методом гравиметрии [глава 2, раздел 2.4.2]. Для установления критерия по содержанию экстрактивных веществ сырья латука компасного было проэкстрагировано различными растворителями, применяя воду и этиловый спирт разной концентрации.

Таблица 14 – Результаты определения экстрактивных веществ в латука компасного траве

Используемый экстрагент	X, %	S ²	S	Δx	Еогп,%
Вода очищенная	39,92	0,416480	0,645350	1,79	4,48
Спирт этиловый 30%	38,07	0,110170	0,331920	0,92	2,42
Спирт этиловый 50%	36,00	0,105718	0,325143	0,90	2,51
Спирт этиловый 70%	34,86	0,227420	0,476890	1,33	3,82
Спирт этиловый 96%	22,50	0,114840	0,338880	0,94	4,18

При оценке полученных результатов по определению экстрактивных веществ было выявлено, что максимальное их содержание наблюдается при экстракции сырья водой очищенной ($39,92 \pm 1,79\%$), что связано с преобладанием в траве латука компасного гидрофильных соединений. Таким образом, рекомендованный норматив: содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой, не менее 35%.

4.3. Исследование флавоноидов

Результаты фитохимического исследования травы латука компасного показали, что растение имеет перспективу для введения в фармацевтическую и медицинскую практику.

Анализируя литературные данные [глава 1, раздел 1.2] и результаты собственных исследований мы предположили, что одной из групп действующих веществ травы латука компасного являются флавоноиды. В связи с вышесказанным стандартизацию травы латука компасного предложено проводить по флавоноидам.

4.3.1. Качественная идентификация флавоноидов

В основу качественной идентификации действующих веществ (флавоноидов) в латукасырье были положены тонкослойная хроматография, а также стандартизированная процедура, в составе которой изучены: проведение выбора и установление стандартных веществ, установление систем растворителей и детектирующих реагентов [96].

Разработка качественной идентификации флавоноидов в латука компасного траве предусматривала изучение:

- условия для экстрагирования флавоноидов;

- проведение выбора подвижной фазы (системы растворителей), в которой наблюдалось бы четкое разделение зон и четкость пятен на исследуемых хроматограммах;
- проведение выбора количества извлечений для их нанесения на хроматографическую пластинку;
- проведение выбора стандартных веществ для исследования;
- проведение выбора проявляющего реагента.

Для изучения условий экстрагирования флавоноидов были использованы два способа экстракции, которые наиболее часто были представлены в ГФ XIV издания для этих целей [39].

Для получения извлечения первым способом применяли методику, которая одновременно используется как для качественной идентификации флавоноидов, так и для их количественного определения: масса навески сырья – 1,0 г, спирт этиловый 70% в качестве экстрагента, объем извлечений от 2,5 мл до 100 мл; предлагается два варианта экстракции: экстракция до полного истощения сырья или экстракция до наступления равновесия [39]. При втором способе экстракция сырья (1,0 г) проводится спиртом этиловым (10 мл), концентрация которого может быть различной (96%, 70%, 50%), продолжительность экстракции 10 минут на кипящей водяной бане.

При выборе способа экстрагирования флавоноидов установлено, что применение и одного, и другого способа экстрагирования дают похожие хроматографические профили, что позволило нам выбрать второй, проведение которого требует небольшой отрезок времени (10 минут). Наиболее качественное разделение флавоноидов происходило при экстракции спиртом этиловым 96%. Проведение хроматографического разделения осуществляли на пластинках «Sorbfil», разных серий производства и имеющих разные основы: алюминиевой, полиэтилентерефталатной. Полученные различными экстрагентами извлечения, с помощью микропипетки вносили на стартовую линию в

различных объемах 10, 20, 30 и 50 мкл, в виде полос 10x2 мм. На расстоянии 2 см от нанесенных полос извлечений, микропипеткой наносили растворы стандартных веществ (СО) флавоноидов (10 мкл). Пластинку высушивали и помещали в камеру для хроматографирования в трех вариантах: 1) вносили в камеру систему растворителей, а затем сразу пластинку с пробами; 2) вносили в камеру систему растворителей и через 30 минут насыщения камеры пластинку с пробами; 3) вносили в камеру систему растворителей и через 60 минут насыщения камеры пластинку с пробами. После проведения указанного объема исследований выбраны следующие параметры: хроматографические пластинки «Sorbfil» с алюминиевой подложкой; нанесение объема 10 мкл показывает достаточно хорошее разделение флавоноидов, в связи с чем установлен данный объем; насыщение камеры, проведенное 30 минут, т.к. флавоноиды лучше делились в насыщенной камере, а вот время ее насыщения не влияло на разделение флавоноидов. Выбор стандартных веществ для исследования проводили по результатам собственных исследований (глава 3) по наличию флавоноидов в сырье латука. В итоге были предложены стандартные вещества флавоноидов: цинарозид (ООО «Фитопанацея»), Cas № 5373-11-5, производитель Россия, лютеолин (ООО «Фитопанацея»), Cas № 491-70-31, производитель Россия, кверцетин (USP Reference Standart), Cas №6151-25-3, апигенин-7-глюкозид (фирма «Phytolab»), Cas № 578-74-5, производитель Германия.

Хроматографический анализ проводили в системе растворителей, наиболее часто применяемых при исследовании флавоноидов:

- а) с применением этилацетата – кислоты муравьиной безводной – воды (70:15:15);
- б) с применением бензола – кислоты уксусной – воды (4:1:2);
- в) с применением бутилового спирта – уксусной кислоты – воды (4:1:2).

Итогом исследования являлось обнаружение на хроматограммах испытуемых извлечений трех основных зон адсорбции, одна из которых

имела коричневую флюоресценцию и была аналогична стандартному образцу цинарозида (в соответствии с данными R_f) и две дополнительные зоны адсорбции, имеющие синевато-голубую флюоресценцию, аналогичные оксикоричным кислотам. Проведенные экспериментальные исследования послужили основанием для выбора в качестве стандартного образца цинарозида (лютеолин-7-глюкозида). На хроматограммах исследуемых извлечений зоны на уровне стандартных образцов лютеолина и кверцетина либо слабо проявлялись, либо отсутствовали. В итоге стандартные образцы флавоноидов: лютеолина и кверцетина не были включены в качестве образцов для идентификации флавоноидов латука компасного травы.

Проявителем хроматограмм (детектирующим реагентом) явился раствор 5% алюминия хлорида в спирте 70%. После проведения хроматографического исследования пластинки высушивали и исследовали в УФ-свете для установления зон хроматографического профиля. Далее пластинки проявляли детектирующим реактивом, помещали их в сушильный шкаф при 105 °C на 2-3 минуты, после охлаждения пластинки просматривали в УФ-свете. При этом наблюдали и отмечали изменения в окраске пятен и появление новых пятен.

Валидация методики идентификации флавоноидов осуществлена в соответствии с критериями воспроизводимости, робастности, специфичности.

При определении воспроизводимости сравнивали хроматографические профили из пластинок различных серий и подложек, анализов, проведенных в разные дни и двумя аналитиками. В итоге были установлены хроматографические профили, имеющие близкие значения R_f и окраску пятен, а также одну и ту же последовательность расположения зон флавоноидов внутри профиля.

При определении специфичности сравнивали хроматографические профили, которые были получены из сырья латука и стандартного образца флавоноида – цинарозида. Результат определения специфичности позволил

установить, что выбранный стандарт цинарозида подходит для анализа флавоноидов латука, т.к. его зона адсорбции находится на уровне середины хроматографической пластинки и другие зоны флавоноидов могут рационально располагаться по отношению к цинарозиду.

Для определения робасности изучали влияние степени насыщения хроматографической камеры на разделение флавоноидных соединений с целью получения качественного хроматографического профиля.

Вышеуказанные экспериментальные исследования проведены с разработкой методики, которая направлена на то, чтобы идентифицировать флавоноиды из латука компасного травы, которая имеет следующий вид: изначально осуществляется помещение измельченного сырья, имеющего размер частиц 1 мм (1.0 г) в колбу на 100 мл с прибавлением 10 мл этилового спирта 96%, экстракция – 10 минут. Как только экстрагирование завершается, осуществляется охлаждение содержимого и фильтрация с применением бумажного фильтра. Профильтрованное извлечение (10 мкл) наносят на стартовую линию пластинки ПТСХ-АФ-А-УФ полосой 10 мм x 2 мм и на нее же через 2 см микрокапилляром помещают стандартный раствор цинарозида в виде точки. Пластинку помещают в хроматографическую камеру, насыщенную в течение 30 минут подвижной фазой: бутиловый спирт-уксусная кислота-вода (4:1:2). По прохождении подвижной фазы 12 см от линии старта анализ заканчивали. Пластинку вынимают, высушивают, исследуют в УФ-свете. Исследуемое извлечение на хроматограмме должно иметь зону адсорбции на уровне стандартного образца цинарозида и имеющую коричневое окрашивание. Далее пластинку обрабатывают детектирующим реагентом, высушивают и выдерживают 2-3 минуты в термостате при температуре 100-105 °С.

Хроматограмму исследуют в УФ-свете. Зона, аналогичная цинарозиду в испытуемом растворе и зона стандартного образца цинарозида изменяют окраску на желтую (Рисунок 52) [22].

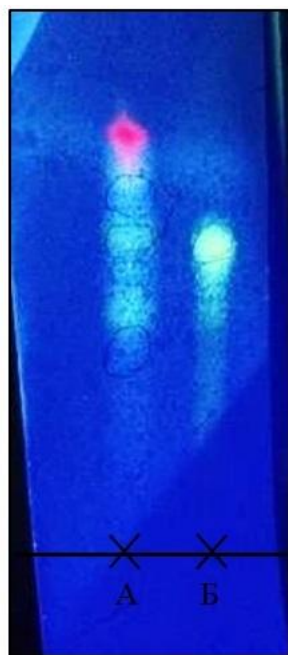


Рисунок 52 – Хроматограмма спиртового извлечения травы латука компасного
 А – извлечение из травы латука компасного
 Б – СО цинарозид
 Система растворителей: н-бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2)

4.3.2. Количественный анализ флавоноидов

Для количественного анализа флавоноидов в сырье растительного происхождения разработано достаточное количество методов. В первую очередь к ним относятся весовые методы, которые находят применение в анализе сырья, содержащего большое количество флавоноидов и в настоящее время для анализа флавоноидов практически не используются. Кроме него, описано применение объемных методов: комплексометрия, титрование в неводных растворителях с потенциометрическим определением; полярографического метода, флуорометрического метода [145]. Для научных исследований находят применение методы, сочетающие в себе хроматографическое разделение флавоноидов: бумажной или тонкослойной хроматографией со спектрофотометрическим или флуорометрическим их определением [13, 123]. В настоящее время наибольшее распространение

получили спектрофотометрические методы в УФ-области спектра, в видимой области спектра [145].

В последнее время для анализа флавоноидов предлагаются методы высокоэффективной жидкостной хроматографии [47].

Анализ методов определения содержания флавоноидов, приведенный в ГФ XIV издания показал, что чаще всего рекомендуется спектрофотометрический метод, в основе которого лежит способность флавоноидов взаимодействовать с алюминия хлоридом и образовывать при этом окрашенные комплексные соединения, имеющие максимумы поглощения в видимой области спектра в интервале длин волн 395 нм - 435 нм в зависимости от структуры флавоноидных соединений [39].

4.3.2.1. Разработка подходов к стандартизации флавоноидов

Стандартизацию латука компасного травы проводили по содержанию флавоноидов, для определения которых была взята спектрофотометрическая методика их определения, наиболее часто представленная в ГФ XIV издания. Основу методики составляет реакция, в результате которой происходит образование комплексов флавоноидов с алюминия хлоридом с дальнейшим проведением дифференциальной спектрофотометрии. Для определения флавоноидов рекомендуется использовать водно-спиртовые извлечения из сырья латука без применения дополнительных стадий очистки [38, 127, 141].

Разработка методики определения флавоноидов включала:

- условия экстракции;
- условия спектрофотометрирования;
- условия проведения реакции комплексообразования.

Изучение условий количественного определения флавоноидов

Изучение условий экстрагирования флавоноидов из латука компасного травы предусматривало: выбор измельченности сырья, выбор соответствующего экстрагента, установление времени экстракции, выбор соотношения сырье – растворитель.

При выборе измельченности сырья исследование проводили в интервалах дисперсности (брали навески с размером частиц) от 1 мм до 3 мм [56].

В результате экспериментального исследования установлена оптимальная степень измельченности латука компасного сырья – 1 мм (Таблица 15).

Таблица 15 – Условия экстрагирования флавоноидов из латука компасного травы

Условия экстрагирования	Содержание флавоноидов (на абсолютно сухое сырье), %
<i>Степень измельченности сырья, мм</i>	
1	2
1	1,22±0,05
2	1,10±0,05
3	1,06±0,04
<i>Экстрагенты</i>	
Вода	0,80±0,03
30% спирт этиловый	0,92±0,04
50% спирт этиловый	0,85±0,04
70% спирт этиловый	1,22±0,06
96% спирт этиловый	0,66±0,03
<i>Время экстрагирования, мин</i>	
30	1,21±0,05
45	1,22±0,06
60	1,21±0,05

Для экстрагирования из сырья растительного происхождения флавоноидов предусмотрено применение различных экстрагентов, наиболее часто спиртов и спирто-водных растворов (Таблица 15).

Данные таблицы 15 показывают, что 70% спирт этиловый является тем растворителем, который обеспечивает максимальное извлечение флавоноидов из сырья латука компасного, что и было положено в основу методики.

Извлечение флавоноидов из сырья растительного происхождения осуществляется различными способами: 1) проведение экстракции в аппарате Сокслета; 2) проведение экстракции спиртом этиловым многократно; 3) проведение экстракции до наступления равновесия [56]. При проведении разработки методики нами использовано проведение экстрагирования до наступления равновесия и соотношение сырья по отношению к экстрагенту 1:100.

При установлении времени наступления равновесия экстрагирование флавоноидов из латука сырья проводили спиртом 70% (сырье:экстрагент – 1:100). Равновесие наступило при экстрагировании флавоноидов в течение 30-45 минут (Таблица 15), что и было использовано в разработанной методике.

Как уже указывалось ранее основу разрабатываемой методики составляет реакция образования комплексов флавоноидов с алюминия хлоридом [14].

Установление максимума достижения окраски в реакции комплексообразования проводили по определению оптимальной концентрации комплексообразователя (5% раствора алюминия хлорида) и его объема (Таблица 16).

Таблица 16 – Условия проведения реакции комплексообразования

Условия комплексообразования	Комплексообразователь									
	Концентрация раствора алюминия хлорида, %					Объем 5% раствора алюминия хлорида, %				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Содержание флавоноидов (на абсолютно сухое сырье), %	0,97 ± 0,04	0,97 ± 0,04	1,00 ± 0,04	1,02 ± 0,04	1,07 ± 0,04	1,00 ± 0,04	0,93 ± 0,04	1,03 ± 0,05	0,94 ± 0,04	0,98 ± 0,04

Итог проведенных экспериментальных исследований показал (Таблица 16), что реакция комплексообразования происходит полностью при объеме 3 мл алюминия хлорида раствора 5%, данные показатели были положены в основу разрабатываемой методики.

Далее нами было определено время образования окраски полученных комплексов и ее сохранение, для чего измеряли оптическую плотность полученного комплекса каждые 15 минут в течение 2-х часов после прибавления алюминия хлорида (Таблица 17).

Таблица 17 – Выбор времени проведения реакции комплексообразования

Время прохождения реакции, мин	Оптическая плотность продукта реакции комплексообразования с алюминия хлоридом
15	0,3056
30	0,4334
45	0,4369
60	0,4405
90	0,4405
120	0,4395

При этом наблюдали, что максимальная оптическая плотность устанавливается через 30 минут и далее её величина остается стабильной в течение 2-х часов.

Изучение условий спектрофотометрирования начинали с исследования спектров поглощения извлечений 70% спиртом этиловым с хлоридом алюминия. Использование УФ-спектроскопии позволило установить максимум поглощения из извлечений латука (395 нм) (Рисунок 53).

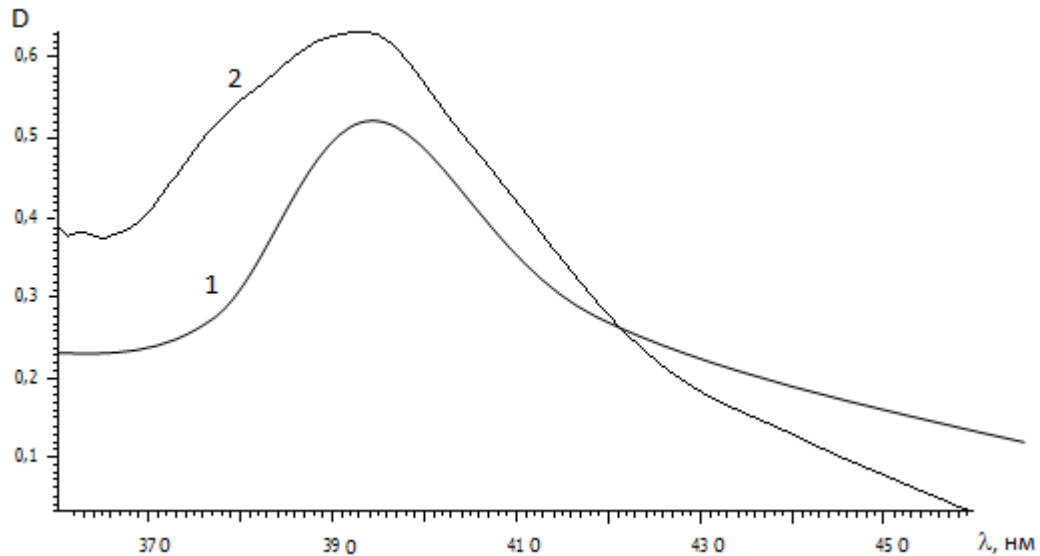


Рисунок 53 – Дифференциальные спектры поглощения водно-спиртового извлечения из травы латука компасного с алюминия хлоридом (1) и цинарозида с алюминия хлоридом (2) в видимой области спектра

В этой области спектра нет других сопутствующих веществ, которые могли бы оказывать влияние на определение флавоноидов, содержащихся в извлечении из сырья.

Далее исследования были направлены на установление стандартного вещества для проведения расчета флавоноидов. Анализ данных литературного обзора (глава 1, раздел 1.2), а также анализ результатов собственных фитохимических исследований (глава 3, разделы 3.6, 3.7) показали, что в латука компасного траве содержатся флавоноиды, основные из которых лютеолин и цинарозид. Анализ определенного ранее максимума (λ_{\max} 395 нм) аналогичен таковому цинарозида с алюминия хлоридом (Рисунок 53), что дало нам основание в качестве стандартного образца

рекомендовать цинарозид (фирмы ООО «Фитопанацея»). Содержание флавоноидов в латуке траве рассчитывали, применяя удельный показатель поглощения СО цинарозида с алюминия хлоридом.

Спектрофотометрирование проводили в варианте дифференциальной спектрофотометрии [38, 127]. Для достижения лучшей воспроизводимости результатов при проведении определения к исследуемому извлечению, и извлечению, когда не применяется хлорид алюминия (раствор сравнения), добавляли 2-3 капли уксусной кислоты, что приводит к переходу флавоноидов и близких к ним веществ в недиссоциированную форму [38, 127].

На основании проведенных экспериментальных исследований разработана методика, с помощью которой анализируются флавоноиды в латука компасного траве.

4.3.3. Валидационные исследования по разработанной методике

Следующий этап исследований включал валидационные исследования. Валидационная оценка разработанной методики проводилась по параметрам: специфичность, линейность, диапазон использования, прецизионность, сходимость, воспроизводимость и правильность [37, 39, 77].

Специфичность методики оценивали по сравнению максимумов поглощения при длине волны 395 нм комплекса с извлечения из сырья с алюминия хлоридом и комплекса раствора стандартного образца флавоноида цинарозида с алюминия хлоридом, при их сравнении максимумы совпадали.

Для определения критерия линейности готовили модельные смеси на 6 уровнях концентраций СО цинарозида. Исходный раствор цинарозида (0,05%) использовали для приготовления растворов в диапазоне: 0,25, 0,50, 0,75, 1,00, 1,25, 1,50 мл, а также осуществлено исследование приготовленных

растворов по содержанию флавоноидов, проведение измерений осуществлялось в соответствии с длиной волны 395 нм.

Наличие линейной зависимости отмечается, когда изучаются все исследуемые концентрации, значение коэффициента корреляции находится на отметке порядка 0,999614, в результате чего для такой зависимости характерно выступать в качестве линейной, что в текущей работе было целесообразно представить на Рисунке 54, Таблице 18.

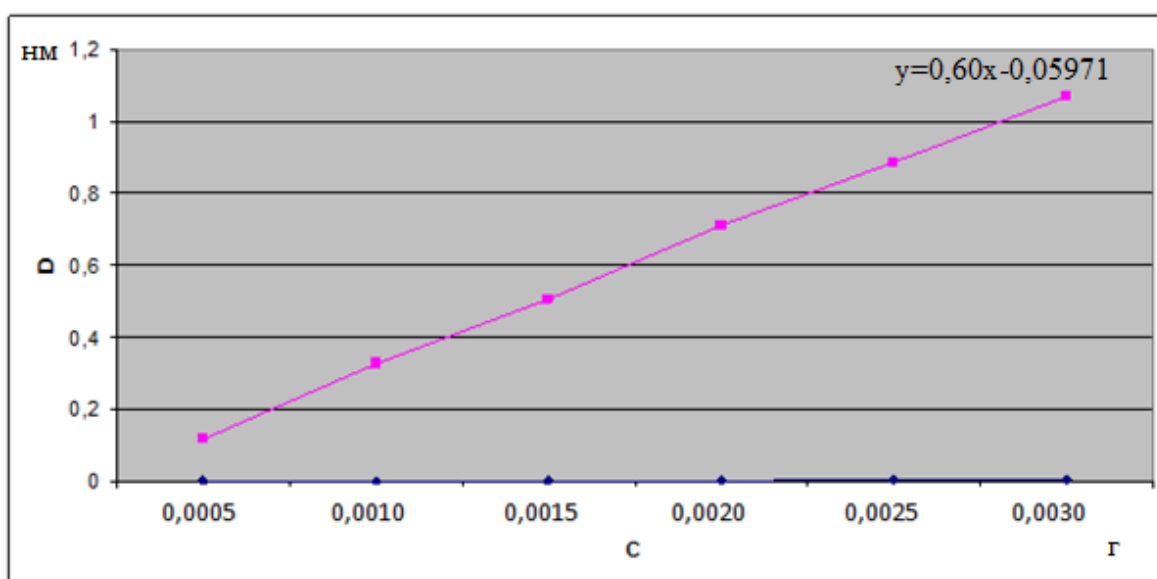


Рисунок 54 – Зависимость оптической плотности СО раствора цинарозида от его концентрации

Таблица 18 – Изучение линейной зависимости

F	\bar{x}	\bar{y}	b	a	R
5	0,00175	0,603017	378,7029	-0,05971	0,999614

Диапазон использования разработанной методики изучали на 5 экспериментальных точках (навесках сырья): 0,75 г, 1,00 г, 1,25 г, 1,50 г, 1,75 г (Рисунок 55).

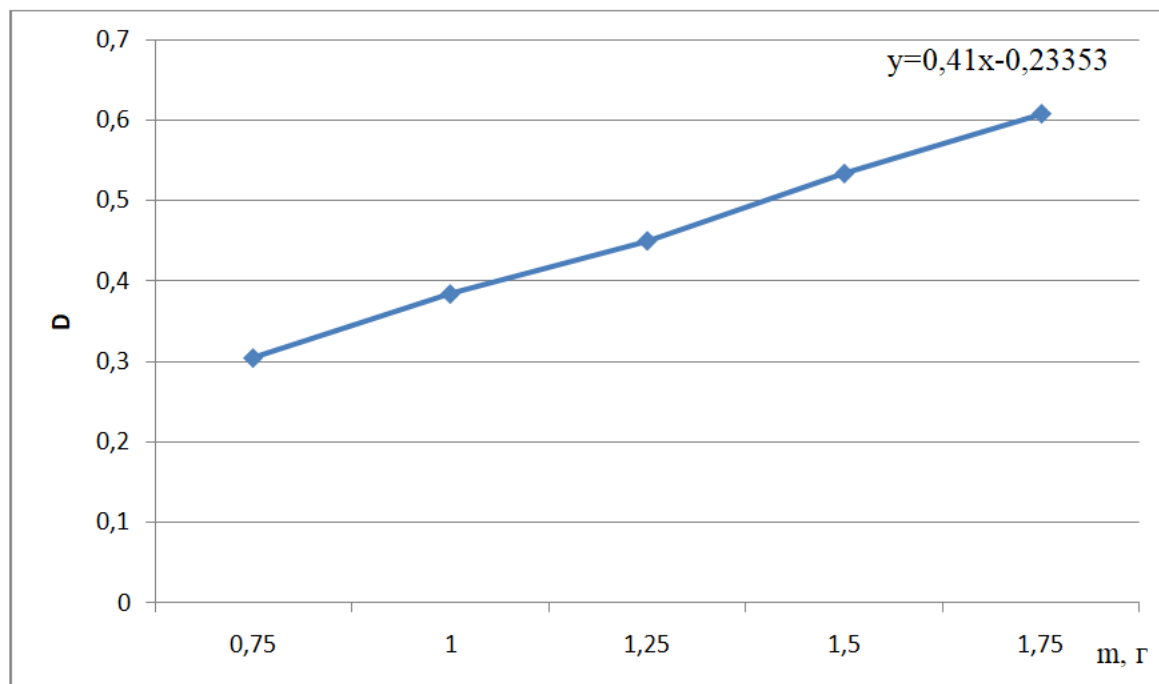


Рисунок 55 – Зависимость оптической плотности извлечений из латука компасного травы от навески сырья

Таблица 19 – Диапазон использования методики

f	\bar{x}	y	b	A	R
4	0,45606	0,41100	1,41327	-0,23353	0,99689

Рассчитанный коэффициент корреляции составил ($R=0,99689$) и соответствовал требованиям к характеристике линейности (должен быть близким к единице), что свидетельствует о возможности использования

разработанной методики для анализа флавоноидов в траве латука компасного (Таблица 19, Рисунок 55).

Установление прецизионности методики включало определение сходимости (повторяемости) и промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности (воспроизводимости).

Сходимость (повторяемость) методики определяли, при использовании одного образца сырья, анализ проведен одним аналитиком, в одной лаборатории на одном оборудовании, с применением одних и тех же реактивов; в ходе исследования проведено шесть параллельных определений. Критерий приемлемости составил 4,80%, что удовлетворяет критерию сходимости (данный критерий не должен превышать 5%) (Таблица 20).

Таблица 20 – Сходимость (повторяемость) методики

№ п/п	Содержание суммы флавоноидов, %	Метрологические характеристики методики
1	1,054	$x_{cp}=1,04$
2	1,033	$Sx^2=0,00044$
3	1,074	$Sx_{cp}=0,02098$
4	1,012	$\Delta x=0,05$
5	1,036	$E_{отн}=4,80$
6	1,047	$x_{cp}\pm\Delta x_{cp}=1,04\pm 0,05$

Внутрилабораторную воспроизводимость определяли 2 аналитика в 6 повторностях на извлечениях из латука, приготовленных в течение 2-х дней независимо друг от друга (Таблица 21). Оценка воспроизводимости проводится с применением критерия приемлемости (стандартное отклонение не должно превышать 15%).

Таблица 21 – Оценка воспроизводимости методики

Повторность	Аналитик 1	Содержание суммы флавоноидов в перерасчете на цинарозид в траве латука компасного		
		Образец №1	Образец №3	Образец №5
1	1	1,25	1,29	1,06
2	1	1,15	1,26	1,03
3	1	1,18	1,22	1,10
	Аналитик 2			
4	2	1,14	1,23	1,07
5	2	1,19	1,28	1,05
6	2	1,15	1,33	1,01
Среднее значение		1,17	1,26	1,05
Относительное стандартное отклонение, (RSD%)		8,92	8,25	7,66

Данная величина не превысила 8,92%, что позволяет считать внутрилабораторную воспроизводимость приемлемой (Таблица 21).

Для оценки правильности разработанной методики при экстрагировании сырья по разработанной методике в колбу прибавляли известные количества стандартного образца цинарозида в рамках проведения 9 измерений и использования 3-х уровней концентраций. Критерий приемлемости при этом должен входить в интервал $100 \pm 5\%$ [40].

Таблица 22 – Подтверждение правильности методики (эксперименты с добавлением цинарозида)

№ п/п	Содержание суммы флавоноидов, мг	Добавлено СО цинарозида, мг	Ожидаемое содержание, мг	Полученное содержание, мг	Открываемость, %	Статистические характеристики
1	0,106	0,125	0,231	0,234	101,30	$\bar{X}_{\text{ср}} = 100,62$ $S^2 = 11,9194$ $S = 3,452448$ $\Delta X = 7,975$ $E_{\text{отн}} = 7,93$
2	0,106	0,125	0,231	0,226	97,84	
3	0,106	0,125	0,231	0,229	99,13	
4	0,106	0,175	0,281	0,283	100,71	
5	0,106	0,175	0,281	0,277	98,58	
6	0,106	0,175	0,281	0,279	99,29	
7	0,106	0,225	0,331	0,332	100,30	
8	0,106	0,225	0,331	0,328	99,09	
9	0,106	0,225	0,331	0,362	109,37	
Среднее значение выхода 100,62 % Относительная ошибка 7,93 %						

Разработанная методика количественного определения характеризуется приемлемой правильностью (Таблица 22), разброс показателей процента восстановления на исследованных уровнях концентрации колебался в пределах концентраций от 97,84% до 109,37%, при этом установлена величина среднего значения процента воспроизводимости, которая составила 100,62%.

Разработанные валидационные характеристики предложенной методики исследований позволили установить её валидность и сделать вывод о пригодности методики для спектрофотометрического определения флавоноидов в траве латука компасного.

4.3.4. Содержание суммы флавоноидов в различных образцах латука компасного травы

Для установления критериальных показателей по содержанию флавоноидов нами проведены исследования по установлению их содержания

в траве латука компасного из различных мест произрастания и собранной в различные годы (Таблица 23), разработанной нами методикой.

Таблица 23 – Содержание флавоноидов в различных образцах латука компасного травы (n=5, P= 95%)

№ п/п	Год заготовки, место сбора сырья	Метрологическая характеристика методики				
		X, %	S ²	S	Δx	Eотн, %
1	2018 год Курская область, Мантуровский р-н	1,22	0,00027	0,01643	0,05	4,09
2	2019 год Курская область, Курский р-н	1,58	0,00065	0,0255	0,07	4,43
3	2018 год Белгородская область	1,21	0,00027	0,01643	0,05	4,13
4	2019 год Белгородская область	1,27	0,00043	0,02074	0,06	4,71
5	2019 год Орловская область	1,10	0,00037	0,01924	0,05	4,54

Содержание флавоноидов в исследуемых образцах латука травы находится в интервалах концентраций от $1,10 \pm 0,05$ до $1,58 \pm 0,07\%$. Итогом данного фрагмента исследования явилось установление критерия содержания флавоноидов, не менее 1,00% (Таблица 23).

4.4. Установление количественных характеристик сырья латука

Для установления количественных характеристик латука компасного травы проводили изучение основных действующих веществ по органам растения (Таблица 24).

Таблица 24 – Количественные характеристики сырья «латука компасного трава» (Образец №1)

№ опыта	Характеристика сырья	Содержание суммы флавоноидов (дифференциальная спектрофотометрия), %
1	Листья латука компасного	1,48±0,05
2	Стебли латука компасного	0,21±0,01
3	Верхушки латука компасного длиной 20 см + листья	1,35±0,03
4	Верхушки латука компасного длиной 25 см + листья	1,24±0,03
5	Верхушки латука компасного длиной 30 см + листья	1,10±0,03

Результат эксперимента показал, что максимальное количество флавоноидов накапливается в листьях растения ($1,48 \pm 0,05\%$), а также в верхушках растения длиной 20 и 25 см вместе с листьями ($1,35 \pm 0,03\%$ и $1,24 \pm 0,03\%$). В связи с чем в качестве сырья рекомендовано использовать верхушки растения длиной 20-25 см в совокупности с листьями.

4.5. Установление фазы заготовки сырья латука

Установление сроков заготовки растительного сырья предусматривает проведение исследований по накоплению действующих веществ – флавоноидов в сырье (траве латука компасного) в различные фазы развития растения. С этой целью использовали траву латука компасного, заготовленную в Курском районе Курской области в 2019 году в различные фазы вегетационного периода растения (Таблица 25).

Таблица 25 – Содержание суммы флавоноидов в сырье латука компасного по фазам вегетации (Образец №2)

Время и место сбора сырья	Фаза развития	Метрологическая характеристика				
		X ср, %	S2	S	Δx	Еотн,%
2019 год Курская область, Курский район	Фаза бутонизации	Флавоноиды				
		1,25	0,00038	0,01949	0,05	4,01
	Фаза цветения	1,58	0,00058	0,02408	0,07	4,44
	Фаза плодоношения	1,33	0,00053	0,02302	0,06	4,52

Полученные результаты экспериментов по накоплению флавоноидов в различные фазы вегетации растения позволили установить, что максимальное их количество наблюдается в фазу цветения растения ($1,58 \pm 0,07\%$), что обуславливает рекомендации установления времени заготовки сырья – фазу цветения, что соответствует рекомендациям, предъявляемым к группе сырья «Трава».

4.6. Установление срока годности латука компасного травы

Лекарственное растительное сырье при хранении подвержено действию разнообразных факторов, влияющих на качество сырья, что вызывает необходимость установления сроков годности сырья.

Определение сроков годности сырья проводили на сырье, собранном и заготовленном в 2018 году, которое хранили в надлежащих условиях [39], температура помещения 20-25 °С. Анализ проводили в 2018-2021 годах с интервалом 0,5 года (Таблица 26).

Полученные экспериментальные данные в процессе хранения сырья (2,5 года) говорят о том, что все изучаемые показатели качества исследуемого сырья соответствуют таковым, полученным при первичном анализе, что

позволило рекомендовать для установления сроков годности сырья – 2 года.
Исследования в данном направлении будут продолжены.

Таблица 26 - Результаты определения числовых показателей латука компасного сырья в процессе хранения (Образец №1)

Дата и место сбора сырья	Сроки хранения, год	Числовые показатели								Микробиологическая чистота
		Влажность, (не более 13%), %	Зола общей (не более 14%), %	Зола, нерастворимой в растворе кислоты хлористоводородной 10% (не более 2%), %	Экстрактивных веществ, извлекаемые водой (не менее 35 %), %	Суммы флавоноидов (не менее 1 %), %	Частиц проходящих сквозь сито 7 мм (не более 10%), %	Органической примеси (не более 1 %), %	Минеральной примеси (не более 1 %), %	
2018 год Курская область, Мантуровский р-н	-	8,40±0,29	13,03±0,51	0,60±0,03	39,92±1,71	1,22±0,05	7,50±0,18	0,70±0,03	0,61±0,03	Категория 4А
	0,5	8,38±0,15	13,11±0,39	0,62±0,03	39,81±1,97	1,23±0,06	7,51±0,28	0,71±0,03	0,60±0,02	Категория 4А
	1,0	8,37±0,11	13,26±0,26	0,59±0,02	39,92±1,80	1,18±0,06	7,62±0,13	0,68±0,03	0,62±0,03	Категория 4А
	1,5	8,43±0,11	13,07±0,44	0,61±0,03	38,42±1,62	1,19±0,05	7,54±0,26	0,71±0,04	0,60±0,03	Категория 4А
	2,0	8,40±0,28	13,18±0,32	0,60±0,02	39,45±1,57	1,22±0,05	7,49±0,19	0,70±0,02	0,59±0,03	Категория 4А
	2,5	8,34±0,23	13,02±0,36	0,59±0,02	38,74±2,24	1,21±0,05	7,44±0,22	0,69±0,03	0,60±0,03	Категория 4А

4.7. Разработка проекта НД «Латука компасного трава»

Экспериментальные исследования по разработке характеристик подлинности и показателей качества сырья, в числе которых и содержание флавоноидов, сроков годности сырья положены в основу разработки фармакопейной статьи на траву латука компасного (Приложение Д).

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4

1. Установлены морфологические признаки, характеризующие сырье латука компасного: стебель – бороздчатый, голый или покрыт жесткими щетинками, беловатый или желтоватый; листья – продолговатые, реже ланцетовидные, листовая пластинка перистонадрезанная, перистолопастная, иногда цельная, край её шиповато-зубчатый. Основание у листьев стреловидное. Нижняя сторона листа по главной жилке покрыта жесткими щетинками; цветки в корзинках, состоящих из 15-25 язычковых цветков. Общее соцветие щитковидно-метельчатое. Плоды – семянки яйцевидной формы, с 7-9 продолговатыми ребрышками, несущие хохолок, включающий белые, мелкие волоски. Установлены цвет, запах и вкус водного извлечения из сырья латука.

2. Впервые изучены и выявлены микроскопические признаки, которые позволяют проводить микродиагностику сырья латука компасного: стебель в поперечном сечении округлый и имеет пучковый тип строения, наличие простых многоклеточных многорядных волосков, наличие простых перекрученных тонкостенных волосков часто со спадающимися клетками на эпидермисе стебля; наличие двух типов волосков на листьях: нижняя сторона по жилкам листа опушена простыми многоклеточными многорядными волосками, верхний эпидермис покрыт простыми длинными тонкостенными

волосками; устьица анамоцитного типа; наличие простых одноклеточных толстостенных конических волосков с расширенным основанием на эпидермисе листочков обертки, которые встречаются по 2-4, верхушка листочков обертки содержит скопления простых многоклеточных тонкостенных перекрученных волосков, стенки у которых часто спадаются. Наличие на эпидермисе трубки венчика простых многоклеточных тонкостенных волосков часто со спадающимися стенками и заканчивающиеся округлой или слегка заостренной конечной клеткой. Наличие многорядных остроконечных тонкостенных волосков на завязи язычкового цветка; наличие сосочковидных выростов клеток эпидермиса на листочках обертки и зубцах венчика, наличие млечников, расположенных вдоль жилок листа и листочков обертки.

3. Впервые проведены испытания сырья по определению числовых показателей и установлению их нормативов для сырья латука компасного таких как влага, зола, экстрактивные вещества.

4. Для качественной идентификации флавоноидов в сырье латука разработана методика тонкослойной хроматографии. Проведено экспериментальное обоснование оптимальных условий экстрагирования флавоноидов, установлен объем извлечения и стандартных веществ, необходимый для четкого разделения флавоноидов, проявляющего реактива, системы растворителей. Рассчитаны валидационные характеристики разработанной методики по параметрам воспроизводимость, робасность, специфичность.

5. Разработана методика количественного анализа флавоноидов латука компасного травы методом дифференциальной спектрофотометрии. Экспериментально подобраны и обоснованы условия экстракции, условия спектрофотометрирования, условия проведения реакции комплексообразования. Содержание флавоноидов варьировало в интервалах

от $1,10 \pm 0,05$ до $1,58 \pm 0,07\%$, что послужило основой для установления норматива по содержанию флавоноидов, нижний предел которого составляет не менее 1%. Рассчитанные валидационные параметры методики характеризуют её положительно.

6. Изучение динамики накопления флавоноидов по фазам вегетации позволило установить фазу заготовки сырья – период цветения; исследование флавоноидов по органам растения показало более высокое содержание флавоноидов в листьях растения ($1,48 \pm 0,05\%$) и цветущих верхушках длиной до 20 см ($1,35 \pm 0,03\%$) и 25 см ($1,24 \pm 0,03\%$), что позволило их установить в качестве сырья.

7. Результаты экспериментальных исследований по разработке характеристик подлинности и показателей качества включены в проект нормативного документа «Латука компасного трава».

ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ, АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЕЙ ТРАВЫ ЛАТУКА КОМПАСНОГО И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЕГО НАСТОЯ

Фармакологическая активность растительного сырья, а также препаратов, получаемых из него, определяется биологически активными веществами, входящими в их состав [65, 81]. Итогом проведения фитохимического анализа латука компасного травы и данными литературного обзора показано, что среди биологически активных веществ латука компасного травы преобладают полисахариды, фенольные соединения, сесквитерпеновые лактоны. Все перечисленное, а также данные народной медицины показали возможность использования травы латука компасного в качестве противовоспалительных, обезболивающих и антиоксидантных средств. В связи с чем, в процессе фармакологического скрининга были изучены:

- острая токсичность;
- противовоспалительная активность;
- анальгетическая активность;
- антиоксидантная активность.

5.1. Острая токсичность

Острую токсичность исследовали с использованием водных извлечений, которые готовили в различных концентрациях (глава 2, раздел 2.6.1). В результате наблюдали, что в течение первых суток состояние животных было не совсем обычное, у них проявлялась симптомы вялости, заторможенности, угнетения двигательной активности. Причем при увеличении дозы исследуемого настоя наблюдалось усиление данных симптомов. Однако,

после суточного наблюдения состояние животных приходило в норму, поведение соответствовало интактным мышам (Таблица 27).

Таблица 27 – Итоги изучения острой токсичности настоя из латука компасного травы

Дозы настоя, мг/кг/мышь	Число (n=6) мышей в группе	
	Погибших мышей	Живых мышей
1000	0	6
2000	0	6
3000	0	6
4000	0	6
5000	0	6

При определении токсичности мышам вводили внутривенно настой латука компасного травы, используя дозы от 1000-5000 мг/кг на мышь, отмечали, что гибель животных не наблюдается, что позволило нам сделать заключение, что извлечение не является токсичным. Введение максимально возможного объема извлечения латука гибели животных не вызывало, что не позволило установить LD₅₀. Итог полученных данных позволяет отнести водное извлечение (настой) латука компасного травы к практически нетоксичным в соответствии с классификацией К.К. Сидорова.

5.2. Противовоспалительная (антиэкссудативная) активность

Растительное сырье и препараты, полученные из него, обладают рядом преимуществ при практическом использовании: низкая токсичность, лучшая переносимость, полифункциональность.

Противовоспалительную активность настоя латука компасного травы оценивали по изучению его влияния на процессы экссудации по общепринятой схеме [глава 2, раздел 2.6.2].

Субплантарная инъекция 1% раствора каррагинина приводит к развитию острого воспалительного экссудативного отека, который у нелеченных мышей достигает максимума к 3 часу. Как известно, в течение первых 10-20 минут наблюдается высвобождение гистамина и серотонина за счет дегрануляции тучных клеток, далее происходит накопление брадикинина и других кининов, а к 3 часу накапливаются простагландины. Таким образом, в течение трех часов в патогенез каррагининового воспаления включаются все основные медиаторы, на которые направлено действие вводимого настоя.

Данные, характеризующие антиэкссудативную активность исследуемого настоя травы латука компасного представлены в Таблице 28.

Таблица 28 – Противовоспалительная (антиэкссудативная) активность настоя травы латука компасного

Препараты, дозы (мл/мышь/сутки)	n	Прирост массы стопы %	Ингибирующий эффект %
Контроль (вода) / 0,5 мл	10	67,7±3,7	-
Настой травы латука компасного / 0,5 мл	10	54,2±1,6*	17,5%

Примечание: * - значения достоверны при $p \leq 0,05$ в сравнении с контролем.

Проведенный эксперимент показывает, что внутрижелудочное введение в течение 7-ми суток настоя травы латука компасного в дозе 0,5 мл на животное (белые мыши, масса тела которых от 20,0 до 25,0 г) проявляет антиэкссудативное действие, которое приводит к уменьшению степени увеличения массы стопы по отношению к нелеченым животным.

Следовательно, представленные данные позволяют заключить, что исследуемый настой травы латука компасного обладает статистически

значимой противовоспалительной активностью и его можно рекомендовать для более углубленного изучения в этом плане.

5.3. Анальгетическая активность

По ходу воспалительного процесса составляющим компонентом является боль. Для анализа обезболивающей активности ненаркотических анальгетиков наиболее часто используется тест уксуснокислых «корчей». При развитии болевой реакции в этом тесте происходит активация биосинтеза простагландинов, возникающая при умеренном раздражении брюшины действием слабого раствора уксусной кислоты.

При проведении внутрибрюшинной инъекции раствором кислоты уксусной у мышей, не принимающих исследуемый настой возникает болевая реакция, проявляющаяся в виде «корчей» в виде сокращения мышц брюшины и вытягивания задних конечностей. Наблюдение за мышами ведется в течение 15 минут и число «корчей» в течение этого времени находится в интервале от 20 до 40 (Таблица 29).

Таблица 29 – Анальгетическая активность настоя травы латука компасного у мышей (n=10)

Группа животных	Доза мл/сутки	n	Абсолютное число «корчей»	Анальгетический эффект %
Настой травы латука компасного	0,5	10	23,9 ± 1,1*	27,1%
Контроль (вода)	0,5	10	32,8 ± 1,9	-

Примечание: индексом * отмечены значения при $p < 0,05$ в сравнении с контролем.

Как свидетельствуют данные, представленные в Таблице 29 предварительное введение в течение 7-ми суток настоя травы латука

компасного в дозе 0,5 мл на мышь (с массой тела 20-25 г) оказывает статистически значимый ($p < 0.05$) анальгетический эффект, проявляющийся в уменьшении числа «корчей» по сравнению с мышами, получавшими воду. Величина анальгетического эффекта настоя травы латука компасного составляет 27,1%, что свидетельствует о наличии анальгетического эффекта у исследуемого настоя при применении в течение 7-ми суток в максимальной дозе для данного вида животных.

5.4. Антиоксидантная активность

Причина различным патологическим заболеваниям – сердечно-сосудистым, атеросклерозу, сахарному диабету, лучевой болезни, воспалительным заболеваниям, онкологии и прочим заключается в антиокислительных стрессах, когда в избытке содержатся свободные радикалы [132]. Также стоит отметить, что снижаются защитные функции в организме, антиоксидантные системы характеризуются сниженной активностью. В лечении таких (свободнорадикальных) патологий традиционно используются антиоксиданты, которые обладают способностью подавлять свободно радикальные реакции [1, 83, 84].

Антиоксидантные соединения могут иметь различную химическую природу, быть синтетическими или природными веществами, но на сегодняшний день активно применяются антиоксиданты из растительного сырья, биологических веществ. Одной из характеристик растительного сырья является наличие его антиоксидантной активности [7, 9, 41, 45]. Антиоксидантная активность характерна для различных групп растительных веществ: фенольных соединений: фенолкарбоновые кислоты [8], флавоноидов [129, 162], кумаринов [167, 168], дубильных веществ [94, 148,

164]; витаминов: каротиноиды [156], аскорбиновая кислота [156, 159]; тритерпеновых сапонинов [161]; эфирного масла [10] и другие.

Данные литературного обзора включают исследования антиоксидантной активности различных извлечений и флавоноидных соединений, извлекаемых из латука компасного травы, которые были исследованы методом, в основе которого лежат процессы свободно – радикального окисления [150]. Все вышесказанное побудило нас к проведению изучения антиоксидантной, а именно антиокислительной и антирадикальной активностей травы латука компасного флоры центрального Черноземья.

Определение антиоксидантной активности проводят различными методами: титриметрическим, хроматографическим, спектральным, биологическим и другими [117]. Нами для исследования использованы: титриметрическая методика определения антиокислительной активности и спектрофотометрическое определение свободных радикалов, в основе которого лежит реакция стабильного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразида (ДФПГ) с ингибитором радикалов [117].

5.4.1. Антиокислительная активность

Антиокислительную активность (глава 2, раздел 2.6.4) исследовали с применением водных и водно-спиртовых извлечений, используя соотношение сырья латука компасного: полученное извлечение – 1:10 [39]. Для сравнения результатов антиокислительной активности были использованы растворы стандартов: цинарозида, являющегося одним из доминирующих флавоноидных соединений латука компасного травы, а также рутин, кверцетин – известные антиоксиданты [129]. Содержание фенольных соединений влияет на значение антиоксидантной активности, с этой целью проводили определение гидроксикоричных кислот и

флавоноидов. Флавоноиды по содержанию определялись на основании разработанной методики – дифференциальной спектрофотометрии, когда содержание рассчитывается на СО цинарозида, оптическая плотность измеряется в соответствии с длиной волны в 395 нм, расчет ведется по удельному показателю поглощения цинарозида с хлоридом алюминия. Гидроксикоричные кислоты определяли методом прямой спектрофотометрии; оптическую плотность измеряли при 325 нм; содержание рассчитывали в пересчете на хлорогеновую кислоту [27].

Экспериментальные исследования по определению антиокислительной активности позволили установить наличие таковой у всех извлечений, полученных из латука компасного травы с использованием воды, спирта этилового различных концентраций (Таблица 30).

Таблица 30 – Уровень антиокислительной активности латука компасного травы и содержание флавоноидных соединений и гидроксикоричных кислот

Извлечение из латука компасного травы	Антиокислительная активность, мг/кг			Содержание полифенолов, %	
	по отношению к рутину	по отношению к цинарозиду	по отношению к кверцетину	флавоноиды, %	гидроксикоричные кислоты, %
Водное извлечение	27,57 ± 1,31	27,42 ± 1,31	16,36 ± 0,78	0,32 ± 0,013	2,22 ± 0,09
Водно-спиртовое извлечение (30%)	27,88 ± 1,21	27,68 ± 1,21	16,55 ± 0,72	0,36 ± 0,013	2,45 ± 0,011

Продолжение Таблицы 30

1	2	3	4	5	6
Водно-спиртовое извлечение (50%)	$45,18 \pm 2,16$	$44,85 \pm 2,14$	$26,81 \pm 1,28$	$0,30 \pm 0,014$	$3,59 \pm 0,14$
Водно-спиртовое извлечение (70%)	$37,60 \pm 1,73$	$37,32 \pm 1,72$	$22,31 \pm 1,03$	$0,67 \pm 0,020$	$3,17 \pm 0,10$
Спиртовое извлечение (96%)	$16,04 \pm 0,44$	$15,92 \pm 0,44$	$09,52 \pm 0,25$	$0,33 \pm 0,014$	$0,81 \pm 0,04$

Из проведенных экспериментальных исследований видно, что показатели антиокислительной активности варьируют в разной степени в зависимости от экстрагента. Самая высокая антиокислительная активность обнаружена у водно-спиртовых извлечений (спирт этиловый 50% и 70%), которая колебалась от $26,81 \pm 1,28$ мг/кг и $22,31 \pm 1,03$ мг/кг (по отношению к кверцетину), до $45,18 \pm 2,16$ и $37,60 \pm 1,73$ мг/кг (по отношению к рутину). Корреляционный анализ между антиокислительной активностью и содержанием полифенолов показал их достоверную положительную связь. Так экстракция 70% спиртом обуславливает максимальное содержание флавоноидов $0,67 \pm 0,020\%$, а экстракция 50% спиртом этиловым максимальное содержание гидроксикоричных кислот – $3,59 \pm 0,14\%$.

Самые низкие значения антиокислительной активности выявлены у спиртовых извлечений. Показатели антиокислительной активности водных извлечений выше, чем спиртовых (96% спирт), что возможно объясняется наличием в них других антиоксидантов, присутствующих в латука компасного траве, например, водорастворимых соединений: тритерпеновых сапонинов, аминокислот, дубильных веществ, полисахаридов, которые в определенной степени вносят вклад в антиокислительную активность [27].

5.4.2. Антирадикальная активность

Антирадикальную активность исследовали с использованием водно-спиртовых извлечений, полученных для определения антиокислительной активности.

Антирадикальную активность устанавливали спектрофотометрическим методом [глава 2, раздел 2.6.4]. Антирадикальная активность оценивается в соответствии с антиоксидантной активностью (АОА%) и уровнем ингибирования ДФПГ (СИ, %) [глава 2, раздел 2.6.4] (Таблица 31).

Таблица 31 – Антирадикальная активность извлечений из травы латука

Извлечение из латука компасного травы	Антирадикальная активность (АОА, %)	Степень ингибирования (СИ, %)
Водное извлечение	56,48±1,98	79,70±2,53
Водно-спиртовое извлечение(30%)	57,40±1,55	80,46±1,54
Водно-спиртовое извлечение(50%)	60,43±2,10	81,04±2,39
Водно-спиртовое извлечение(70%)	54,69±1,63	89,98±3,09
Спиртовоеизвлечение 96%	41,64±1,52	75,20±2,30

Представленные результаты эксперимента дали возможность отметить, что исследуемые извлечения характеризуются антирадикальной активностью, при этом максимальная антирадикальная активность отмечена для извлечения, полученного с использованием спирта этилового 50%, наименьшая антирадикальная активность отмечена у спирта этилового 96%.

В итоге установлено, что водные, спиртовые и водно-спиртовые растительные извлечения из латука компасного травы проявляют антирадикальную активность, что большей частью обусловлено наличием фенольных соединений в них (флавоноидов, дубильных веществ,

оксикоричных кислот), что может быть в дальнейшем основанием для использования латука как антиоксиданта.

5.5. Определение показателей качества настоя из латука компасного травы

Лекарственное сырье растительного происхождения до настоящего времени широко применяется в форме настоев, отваров. В связи с чем разработка методик стандартизации водных извлечений является одной из важных задач фармацевтической практики. Проведенные нами ранее экспериментальные исследования позволили разработать стандартизацию сырья латука по содержанию флавоноидов. Придерживаясь принципа сквозной стандартизации от сырья до фитопрепарата, нами предложено проводить стандартизацию настоя также по содержанию флавоноидов. За основу нами была взята разработанная нами спектрофотометрическая методика определения флавоноидов в латука компасного траве, которую адаптировали для настоя.

Настой латука компасного травы получали согласно фармакопейной статьи «ОФС.1.4.1.0018.15 Настои и отвары» ГФ XIV издания [39]. Для получения настоя использовали инфундирный аппарат и далее проводили оценку качества полученного настоя.

Качество настоя из латука компасного травы оценивали в соответствии с ГФ XIV издания, используя характеристики, представленные в Таблице 32.

Таблица 32 – Характеристики качества настоя латука травы

Характеристики стандартизации	Результаты анализа
Описание внешнего вида	Прозрачная жидкость красно-коричневого цвета, запах слабый травянистый, горького вкуса
pH	6,05±0,21
Содержание сухого остатка, %	1,78±0,09
Содержание флавоноидов в пересчете на цинарозид, %	0,07±0,01

Итогом проведения исследований настоя из латука компасного травы явилось установление показателей качества (Таблица 32).

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5

1. При исследовании острой токсичности установлено, что настой из латука компасного травы является практически нетоксичным.

2. Настой латука компасного травы обладает антиэкссудативным действием. Противовоспалительный эффект при изучении антиэкссудативной активности составил 17,50%.

3. Настой травы латука компасного проявляет анальгетическую активность, при этом анальгетический эффект составляет 27,1%.

4. Проведено определение антиокислительной активности в соответствии с водным, спиртовым, водно-спиртовым раствором из травы латука компасного. Антиокислительная активность на максимальном уровне отмечается в соответствии с водными спиртовыми извлечениям (50%): 45,18±2,16 мг/кг (при расчете на рутин), 44,85±2,14 мг/кг (при расчете на цинарозид) и 26,81±1,28 мг/кг (при расчете на кверцетин), и у извлечений, полученных с помощью 70% спирта: 37,60±1,73% (при расчете на рутин), 37,32±1,72% (при расчете на цинарозид) и 22,31±1,03% (при расчете

накверцетин). При этом экстракция 70% спиртом этиловым обуславливает максимальное содержание флавоноидов – $0,67 \pm 0,02\%$, а экстракция 50% спиртом этиловым максимальное содержание гидроксикоричных кислот – $3,59 \pm 0,14\%$. Антиокислительная активность исследованных извлечений показывает корректирующую зависимость от содержания флавоноидов и гидроксикоричных кислот.

5. Определена антирадикальная активность водных, спиртовых и водно-спиртовых извлечений травы латука компасного. Максимальные показатели антирадикальной активности отмечены у водно-спиртовых извлечений (50%), что обуславливается наличием в них фенольных соединений.

6. При разработке показателей качества настоя латука компасного травы, установлен норматив содержания флавоноидов, не менее 0,05%.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Проведен анализ и систематизация данных литературы по химическому составу, применению в народной медицине, фармакологическим исследованиям латука компасного травы, что позволило установить недостаточность ее изученности.

2. Проведен фитохимический анализ, включающий качественные реакции, хроматографические, титриметрические, спектрофотометрические методики, с помощью которых установлено наличие и содержание групп БАВ и отдельных компонентов с их идентификацией: углеводов, в числе которых свободные сахара (глюкоза, ксилоза), полисахаридов; азотистых оснований – $0,13 \pm 0,002\%$, (холина – $0,05 \pm 0,003\%$); органических кислот – $1,27 \pm 0,15\%$ (аскорбиновой кислоты – $0,17 \pm 0,02\%$); аминокислот, включающих 16 соединений; дубильных веществ, преимущественно конденсированной группы – $4,97 \pm 0,20\%$, гидроксикоричных кислот – $3,22 \pm 0,06\%$ (феруловой и хлорогеновой кислот), флавоноидов (рутина, лютеолина, цинарозида); тритерпеновых соединений – $0,25 \pm 0,005\%$ (олеаноловой кислоты); сесквитерпеновых лактонов – $0,15 \pm 0,006\%$; каротиноидов $3,21 \pm 0,20\text{мг}\%$ (β -каротина). Изучен минеральный состав.

Выделены фракции полисахаридов: водорастворимая фракция полисахаридов ($8,61 \pm 0,27\%$), пектиновые вещества ($5,03 \pm 0,14\%$), гемицеллюлозы А и Б ($6,51 \pm 0,27\%$ и $3,05 \pm 0,15\%$ соответственно). С применением метода денситометрии изучен их моносахаридный состав.

3. Изучение фенольных соединений латука компасного травы методом ВЭЖХ-УФ/МС позволило идентифицировать среди них 9 соединений и установить их содержание. В составе фенольных соединений идентифицированы оксикоричные кислоты: хлорогеновая, феруловая, кофейная, п-кумаровая; флавоноиды: флавоны - агликон лютеолин и

гликозиды лютеолина и апигенина, флавонолы - монозид и биозид кверцетина: изокверцетрин и рутин. Среди оксикоричных кислот доминируют феруловая ($0,90 \pm 5,53$ мг/г) и хлорогеновая кислоты ($0,94 \pm 3,19$ мг/г), среди флавоноидов преобладающими являются лютеолин ($0,92 \pm 4,36$ мг/г) и цинарозид ($0,64 \pm 4,67$ мг/г). Оксикоричные кислоты: хлорогеновая, кофейная, феруловая, п-кумаровая, а также флавоноиды: рутин, апигенин – 7 – глюкозид в траве латука компасного установлены впервые; подтверждено присутствие лютеолина, цинарозида, изокверцетрина.

4. Изучены морфолого-анатомические диагностические признаки латука компасного травы, включенные в раздел «Подлинность» проекта ФС. К морфологическим признакам отнесены: форма и опушение стеблей, характеристика листьев, цветков, соцветий. Микродиагностические признаки: стебель округлый пучкового типа строения; простые многоклеточные многорядные волоски (стебель, нижняя поверхность листа вдоль жилок); простые тонкостенные перекрученные волоски, часто со спадающимися стенками (стебель, верхняя поверхность листа), на верхушке листочков обертки наблюдается их скопление, на язычковом цветке такие волоски часто имеют округлую конечную клетку; простые толстостенные одноклеточные волоски конической формы (листочки обертки); шиповидные выросты клеток эпидермиса (край листа); сосочковидные выросты клеток эпидермиса (листочки обертки, зубцы венчика); многорядные остроконечные тонкостенные волоски (верхушка завязи); членистые млечники. Результаты данных исследований составили основу раздела «Подлинность» проекта нормативного документа на траву латука компасного.

5. Данные, полученные в процессе эксперимента по определению оптимальных условий экстрагирования флавоноидов, были положены в основу разработки и валидации методик идентификации и количественного

определения флавоноидов. Установлена объективность применения цинарозида в качестве стандартного образца, аналитической длины волны – 395 нм. Установлена величина числового показателя содержания флавоноидов в пересчете на цинарозид, не менее 1,0%. Показана возможность применения разработанной методики количественного определения суммы флавоноидов наряду с сырьем для стандартизации настоя из латука компасного травы.

Исследована динамика накопления флавоноидов по фазам вегетации и органам латука компасного. Установлено, что максимальное количество их накапливается в листьях ($1,48 \pm 0,05\%$) и верхушках стеблей длиной 20 см и 25 см в совокупности с листьями ($1,35 \pm 0,03\%$ и $1,24 \pm 0,03\%$ соответственно), что было положено в основу характеристики сырья. Заготовку латука компасного травы рекомендовано проводить в период цветения.

6. Результаты изучения подлинности, числовых показателей, характеризующих качество сырья позволили установить критерии качества сырья и включить их в проект нормативного документа «Латука компасного трава», который согласован с ООО «Здоровье».

7. В ходе фармакологического скрининга настой, полученный из латука компасного травы, отнесен к малоопасным веществам, а также выявлены его противовоспалительное, анальгетическое, антиокислительное и антирадикальное действия, что показывает целесообразность его дальнейшего изучения для введения в номенклатуру лекарственного растительного сырья.

Практические рекомендации

Диссертационная работа позволяет расширить сведения о составе БАВ латука компасного травы, её фармакологической активности, что имеет важное научно-практическое значение для фармакогнозии. Разработанные в процессе выполнения работы методики определения подлинности сырья,

качественного и количественного определения суммы флавоноидов целесообразно использовать в учебном и научном процессе при преподавании фармакогнозии в высших учебных заведениях и организациях, которые осуществляют производство и контроль качества лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Данные исследования представляют интерес для проведения доклинических и клинических исследований латука компасного с целью расширения номенклатуры лекарственного растительного сырья с антиокислительной, антирадикальной, противовоспалительной, анальгетической активностями.

Выражаем искреннюю признательность и благодарность всем сотрудникам указанных подразделений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Активация свободнорадикального окисления – эффективное звено типовых патологических процессов / под ред. Н.П. Чесноковой, М.Ю. Ледванова. – Саратов, 2006. – С.177.
2. Аль-Гифри, С. К. Фармакогностическое изучение растений рода Дурнишник : специальность 14.00.25 «Фармакология, клиническая фармакология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук: / Салех, Кассим Аль-Гифри; Курский государственный медицинский университет. – Курск, 2010. – 174 с.
3. Аминокислотный, жирнокислотный и углеводный состав сока некоторых видов рода *Betula* / Шуляковская Т.А., Ветчинникова Л.В., Ильинова М.К. [и др.] // Растит. ресурсы. – 2006. – Т. 42, вып. 2. – С. 69–77.
4. Анализ антиоксидантных свойств экстрактов растений / И.В. Лагута, О.Н. Ставинская, О.И. Дзюба, Р.В. Иванников // Доп. НАН України. – 2015. – №5. – С. 130–137.
5. Андреева, И.И. Ботаника / И.И. Андреева, Л.С. Родман. – Москва: Колос, 2002. – 488 с.
6. Антиоксидантная активность водно-спиртовых извлечений листьев крапивы двудомной / О.В. Тринеева, Е.Ф. Сафронова, С.С. Воропаева, А.И. Сливкин // Фармация. – 2013. – №1. – С. 11–12.
7. Антиоксидантная активность настоя чая / А. А. Федосеева, О. С. Лебедкова, Л. В. Каниболоцкая, А. Н. Шендрик // Химия растительного сырья. – 2008. – №3. – С. 123–127.
8. Антиоксидантная активность стевии и продуктов ее переработки / Подпоринова Г.К., Верзилина Н.Д., Рудакова Л.В. [и др.] // Известия вузов. Пищевая технология. – 2005. – № 5/6. – С.121–122.

9. Антиоксидантная и антирадикальная активность *in vitro* экстрактов травы *Sanguisorba officinalis* L., собранной в различные фазы развития / Мальцева Е. М., Егорова Н. О., Егорова И. Н. [и др.] // Медицина в Кузбассе. – 2017. – т.16. – №2. – С. 32–38.
10. Арзамасцев, А. П. Оценка показателей антиоксидантной активности препаратов на основе лекарственного растительного сырья / А. П. Арзамасцев, Е. И. Шкарина, Т. В. Максимова // Хим.-фармацевт. журн. – 1999. – № 11. – С. 17–20.
11. Бабешина, Л.Г. Сорбционная активность и механизм сорбции сфагновых мхов / Л.Г. Бабешина, Н.В. Келус, А.А. Кузнецов // Фармация. – 2017. – Т. 66, №2. – С. 33–37.
12. Бандюкова, В. А. Фенолокислоты растений, их эфиры и гликозиды / В. А. Бандюкова // Химия природных соединений. – 1983. – № 3. – С. 263–273.
13. Беккер, Ю. Инструментальная аналитика: методы хроматографии капиллярного электрофореза / Ю. Беккер. – М.: Техносфера, 2009. – 427 с.
14. Беликов, В. В. Избирательный метод анализа флавоноидов в фитохимических препаратах / В. В. Беликов, Т. В. Точкова, Л. Г. Колесник // Проблемы стандартизации и контроля качества лекарственных средств: материалы докл. всесоюз. конф. – М., 1991. – Т. 2, ч. 2. – С. 13, 142.
15. Ботаника: учебник для вузов / под ред. Г.П. Яковлева, М.Ю. Гончарова. – 4-е изд. и доп. – Санкт-Петербург: Спец. Лит, 2018. – 879 С.
16. Бубенчиков, Р. А. Изучение азотсодержащих соединений травы герани сибирской (*Geranium sibiricum* L.) / Р. А. Бубенчиков, Т. А. Позднякова // Вопр. обеспечения качества лек. средств. – 2013. – № 1. – С. 27–28.

17. Бубенчиков, Р. А. Изучение морфолого-анатомического строения латука компасного / Р.А. Бубенчиков, Т.В. Кораблева, А.С. Рыжжина // Фармация. – 2020. - № 2. – Т. 69. – С. 29-32.

18. Бубенчиков, Р. А. Изучение фенолкарбоновых кислот латука компасного / Р.А. Бубенчиков, Т.В. Кораблева, И.Н. Купчинская // Сборник материалов XXVII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». Тезисы докладов. 6-9 апреля 2020 г. – М.: Видокс, 2020. – С. 83.

19. Бубенчиков, Р. А. Исследование органических кислот травы латука компасного (*Lactuca serriola* L.) / Р.А. Бубенчиков, Т.В. Кораблева // Материалы международной конференции, посвященной 60-летию фармацевтического факультета учреждения образования «Витебский ордена Дружбы народов медицинский университет» «Современные достижения фармацевтической науки и практики». 31 октября 2019 г. – г. Витебск 2019. – С. 46-48.

20. Бубенчиков, Р. А. Исследование пектиновых веществ травы латука компасного / Р.А. Бубенчиков, Т.В. Кораблева, А.С. Рыжжина // Сборник материалов XXVI Российского национального конгресса «Человек и лекарство». Тезисы докладов. – М.: Видокс, 2019. – С. 100-101.

21. Бубенчиков, Р. А. Полисахариды травы латука компасного (*Lactuca serriola* L.) флоры Центрального Черноземья / Р.А. Бубенчиков, Т.В. Кораблева, О.Ю. Скрипкина // Традиционная медицина. Научно-практический журнал. - 2020 - №1(60) – С. 57-62.

22. Бубенчиков, Р. А. Разработка методик идентификации и количественного определения флавоноидов в траве латука компасного (*Lactuca serriola* L.) / Р.А. Бубенчиков, Т.В. Кораблева // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2019. - № 2. – С. 87-94.

23. Бубенчиков, Р.А. Фитохимическое изучение травы кульбабы осенней (*Leontodon autumnalis* L.) / Р.А. Бубенчиков, Н.Н. Гончаров, Ю.А.

Мастихина // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2015. – №1. – С. 41–43.

24. Бубенчикова, В. Н. Азотистые основания хондриллы ситниковидной *Chondrilla juncea* L. / В. Н. Бубенчикова, В. Н. Левченко // Свободные радикалы в химии и жизни: тез. докл. Междунар. конф. (Минск, 25 – 26 июня 2015 г.) – Минск. – 2015. – С. 59–60.

25. Бубенчикова, В. Н. Аминокислотный, жирнокислотный и полисахаридный состав травы тимьяна Палласа (*Thymus Pallasianus*) / В. Н. Бубенчикова, Ю. А. Старчак // Химия растительного сырья. – 2014. – №3 . – С. 191–194.

26. Бубенчикова, В. Н. Изучение аминокислотного состава травы колокольчика круглолистного (*Campanula rotundifolia* L.) / В. Н. Бубенчикова, Л. Е. Сипливая, Е. А. Никитин // Традиционная медицина. – 2016. – № 3 (46). – С. 44–47.

27. Бубенчикова, В. Н. Изучение антиоксидантной активности травы горлюхи ястребинковой (*Picris hieracioides* L.) / В. Н. Бубенчикова, И. В. Степнова // Традиционная медицина. – 2017. – №3(50). – С. 33–35.

28. Бубенчикова, В. Н. Изучение полисахаридного и минерального состава герани луговой (*Geranium pratense* L.) / В. Н. Бубенчикова, Ж. А. Булатникова // Физическое и духовное здоровье: традиции и инновации : сб. науч. тр. междунар. конгр. – Москва, 2011. – С. 166–168.

29. Бубенчикова, В.Н. Горлюха ястребинковая – перспективный источник биологически активных веществ / В.Н. Бубенчикова, И.В. Степнова // Фармация и Фармакология. – 2018. – № 1. – С. 33–46.

30. Бубенчикова, В.Н. Изучение пектиновых веществ травы хондриллы ситниковидной / В.Н. Бубенчикова, В.Н. Левченко, Д.С. Наседкин // Вопр. обеспечения качества лек. средств. – 2014. – №5. – С. 43–45.

31. Бубенчикова, В.Н. Жирнокислотный и минеральный состав травы горлюхи ястребинковой (*Picris hieracioides* L.) / В.Н. Бубенчикова, И.В. Степнова // Химия растительного сырья. – 2018. – №1. – С. 113–119.
32. Буданцев, А.Л. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность / А.Л. Буданцев, Л.М. Беленовская, Е.Е. Лесиовская // СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК. – 2013. – Т.5, Ч.2. – 312 с.
33. Буянкин, В.И. Удивительный мир растений / В.И. Буянкин // Научно-агрономический журнал. – 2014. – С. 50–53.
34. Ву Вьет Зунг. Роль органических кислот в механизмах устойчивости растений амаранта к действию тяжелых металлов: диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Ву Вьет Зунг; Санкт-Петербургский государственный университет. – Санкт-Петербург, 2018. – 178 с. – URL: <https://disser.spbu.ru/files/disser2/disser/vWhJtpyys.pdf> (дата обращения: 16.05.2019)
35. Выделение и изучение физико-химических свойств галактоманнанов из растительного сырья / Азимова Л.Б., Нормахаматов Н.С., Хайтметова С.Б. [и др.] // Химия растительного сырья. – 2019. – №2. – с. 35–41.
36. Выделение комплекса полисахаридов каштана конского и изучение его химического состава / В.А. Соболева, В.Н. Чушенко, А.А. Коломиец, О.С. Данькевич // Провизор. – 2009. – №16. – С.21–24.
37. Гаврилин, М. В. Валидация аналитических методов: метод. указания / М. В. Гаврилин, С. П. Сенченко. – Пятигорск, 2009. – 40 с.
38. Галишевская, Е. Е. Фенольные соединения двух видов растений рода Марьянник / Е. Е. Галишевская, В. М. Петриченко // Хим.-фармацевт. журн. – 2010. – Т. 44, № 9. – С. 30–33.

39. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд., Т. 4. «Лекарственное растительное сырье» [Электронный ресурс]. – URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/1/index.html (дата обращения: 19.02.2019)
40. Евдокимова, О. В. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в столбиках с рыльцами кукурузы / О. В. Евдокимова // Фармация. – 2008. – № 7. – С. 14–17.
41. Ершик, О. А. Антиоксидантная активность сабельника болотного *Comarum palustre* L. / О. А. Ершик, Г. Н. Бузук // Вестник фармации. – 2013. – № 3. – С. 81–85.
42. Захарова, И.Н. Роль полиненасыщенных жирных кислот в формировании здоровья у детей / И.Н. Захарова, Е.Н. Суркова // Педиатрия. – 2009. – №88(6). – С. 84–91.
43. Зеленская, К. Л. Обезболивающий эффект спиртовых извлечений из *Inula Helenium* L. / К. Л. Зеленская, Т. Н. Поветьева, В. Г. Пашинский // Растительные ресурсы. – 2003. – Вып. 2. – С. 82–86.
44. Землинский С.Е. Лекарственные растения СССР. 3-е изд. М., 1958. – 610 С.
45. Злобин, А. А. Антиоксидантная и антимикробная активность пектинов ряда растений Европейского севера России / А. А. Злобин, Е. А. Мартинсон, Ю. С. Оводов // Известия Коми НЦ УрО РАН. – 2011. – № 7. – С. 33–37.
46. Идентификация и количественное определение основных биологически активных веществ травы пустырника с помощью ВЭЖХ – масс – спектрометрии / Жогова А.А., Перова И.Б., Самылина И.А. [и др.] // Химико – фармацевтический журнал. – 2014. – Т. 48. – №7. – С. 54–59.
47. Изучение биологически активных веществ водных извлечений караганы гривастой (*Caragane jubata* (Pall.) Poir.) / Какорин П.А., Перова И.Б.,

Рыбакова Е.Д. [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2017. – Т. 51. – №11. – С. 29–34.

48. Иллюстрированный определитель растений Средней России / И.А. Губанов, К.В. Киселева, В.С. Новиков, В.Н. Тихомиров. – Москва, 2004. – Т. 3. – С. 520.

49. Исследование фитохимического состава плодов облепихи крушиновидной (*Hipporhaes Rhamnoides L.*) / О. В. Тринеева, М.А. Рудая, А.И. Сливкин, Е.Ф. Сафонова // Химия растительного сырья. – 2019. – №1. – С. 139-146.

50. Кайшева, Н. Ш. Исследование природных полиуронидов и получение лекарственных средств на их основе: специальность 15.00.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия»: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук / Кайшева Нелля Шаликовна; Пятигорская государственная фармацевтическая академия. – Пятигорск, 2004. – 46 с.

51. Камышев, Н.С. Флора центрального Черноземья и ее анализ / Камышев Н.С. – Воронеж, 1978. – 116 с.

52. Каржаубекова, Ж. Ж. К фитохимическим исследованиям *Cistanche Salsa* (Orobanchaceae) / Ж. Ж. Каржаубекова, Н. Г. Гемеджиева, Ж. С. Набиева // Химия растительного сырья. – 2016. – № 4. – С. 123–130.

53. Карнаух Э.В. Комбинированные препараты с седативным действием / Э.В. Карнаух, М.В. Майорова // Студенческий научный форум: V Международная студенческая электронная научная конференция, 15 февраля - 31 марта 2013 г. – Режим доступа: <http://www.scienceforum.ru/2013/254/5530>

54. Кароматов, И.Д. Салат, латук перспективное лекарственное растение / И.Д. Кароматов, А.М. Рамазоновна // Биология и интегративная медицина. Фитотерапия [Электронный ресурс]: электронный научный журнал – 2018. – № 4. – С. 122–129. – URL:

<https://cyberleninka.ru/article/n/salat-latuk-perspektivnoe-lekarstvennoe-rastenie/viewer> (дата обращения: 22.05.2018)

55. Количественное определение полисахаридов в траве горца почечуйного / Чистякова А.С., Логунова С.А., Мальцева А.А. [и др // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ: материалы 5-й международной научно-методической конференции «Фармообразование-2013». – Воронеж, 2013. – С. 588–590.

56. Количественное определение суммы флавоноидов в надземной части и настойке *Iris Lactea* (Iridaceae) / Е.Ю. Загоруйко, М.Г. Ожигова, И.И. Чемесова, В.Г. Лужанин // Химия растительного сырья. – 2018. – №2. – С. 105-113.

57. Комиссаренко, С. Н. Пектины – их свойства и применение / С. Н. Комиссаренко, В. Н. Спиридонов // Растительные ресурсы. – 1998. – Т. 34, вып. 1. – С. 111–119.

58. Компасные растения – Википедия : сайт. – Последнее изменение 12.04.2016. – URL: http://wp.wiki-wiki.ru/wp/index.php/Компасные_растения (дата обращения 14.03.2018).

59. Компонентный состав полисахаридного комплекса листьев *Crataegus sanguinea* (Rosaceae) из флоры республики Башкортостан / Хасанова С. Р., Кривошеков С.В., Кудашкина Н.В. . [и др.] // Растительные ресурсы. – 2015. – т. 51. – вып. 3. – С. 397–406.

60. Кондратова, Ю. А. Изучение противовоспалительной и антимикробной активности вероники ключевой / Ю. А. Кондратова // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки : сб. науч. тр. II междунар. науч.-практ. конф. – Владикавказ, 2011. – Ч. 1. – С. 217–218.

61. Кондратова, Ю. А. Тритерпеновые соединения вероники австрийской / Ю. А. Кондратова, О. С. Самофалова, Е. Артюшенко //

Молодежная наука и современность : материалы 74-й межвуз. итог. науч. конф. студентов и молодых ученых, посвященной Году молодежи в России (Курск, 21-22 апр. 2009 г.) : в 3 ч. – Курск : Изд-во КГМУ, 2009. – Ч. II. – С. 182–183.

62. Коновалова, Д. С. Хроматографическое изучение биологически активных соединений пиретрума девичьего / Д. С. Коновалова, Д. А. Коновалов // Курск. науч. – практ. вестн. «Человек и здоровье». – 2008. – №1. – С. 123–125.

63. Кораблева Т.В. Изучение азотсодержащих соединений латука компасного (*lactuca serriola* l.) /Т.В. Кораблева, Р.А. Бубенчиков // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств, №1 (31) 2021, С. 29-34.

64. Кораблева, Т.В. Исследование каротиноидов травы латука дикого / Т.В. Кораблева // Материалы 85-ой Международной научной конференции студентов и молодых ученых «Молодежная наука и современность», посвященной 85-летию КГМУ, Курск 2020, стр. 520-522.

65. Корсун, В. Ф. Клиническая фитотерапия в урологии / В.Ф. Корсун, Е.В. Корсун, А.П. Суворов. – Москва, 2011. – 336 с.

66. Кроткова, О. А. Сравнительное изучение липофильных веществ растений рода *Euphrasia* L. / О. А. Кроткова, Т. В. Бомбела, В. М. Петриченко // Химия растительного сырья. – Пермь. – 2014. – №1. – С. 147 – 151.

67. Курегян, А.Г. Спектрофотометрия в анализе каротиноидов / А.Г. Курегян // Фундаментальные исследования. – 2015. – №2, ч. 23. – С.5166-5172.

68. Лекарственные растения Государственной фармакопеи. Фармакогнозия / под ред. И. А. Самылиной, В. А. Северцева. – Москва, 2003. – 534 с.

69. Литвиненко, В. И. Химия природных флавоноидов и создание препаратов при комплексной переработке растительного сырья: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора химических наук: 02.00.10; 15.00.02 / В. И. Литвиненко. – Харьков, 1990. – 80 с.
70. Лукманова, К. А. Аминокислотный и минеральный состав фитопрепарата люцерн / К. А. Лукманова, В. А. Рябчук, Н. Х. Салихова // Фармация. – 2000. – № 1. – С. 25–27.
71. Маевский, П. Ф. Флора средней полосы европейской части России / П.Ф. Маевский. – Москва: Товарищ. научн. изд., 2014. – 635 с.
72. Макарова, Л. М. Поиск и изучение церебропротекторов в ряду производных тормозных нейромедиаторных аминокислот : специальность 14.00.25 «Фармакология, клиническая фармакология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Макарова Лариса Михайловна; Пятигорская государственная фармацевтическая академия. – Пятигорск, 2002. – 170 с.
73. Мартынов, А. М. Полифенольные соединения и аминокислоты надземной части *Viola uniflora* (Violaceae) / А. М. Мартынов, А. М. Собенин // Растительные ресурсы. – 2011. – Т. 47, вып. 2. – С. 118–122.
74. Махлаюк, В.П. Лекарственные растения в народной медицине / В.П. Махлаюк. – Саратов: Приволж. кн. изд-во, 1993. – 542 с.
75. Машковский, М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – 16-е изд., перераб., испр. и доп. – Москва: Новая Волна, 2019. – 1216 с.
76. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению нестероидных противовоспалительных фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. В. П. Фисенко. – Москва: ИИА Ремедиум, 2000.

77. Мешковский, А. П. Валидация аналитических методов / А. П. Мешковский // Современные требования к организации и деятельности контрольно-аналитических лабораторий отделов контроля качества фармацевтических предприятий. – Москва, 2002. – С. 26–30.
78. Микроэлементы-биофилы и тяжелые металлы в *Artemisia Frigida* Willd. и *Artemisia Jacutica* Drob / Дыленова Е.П., Жигжитжапова С.В., Рандалова Т.Э. [и др.] // Химия растительного сырья. – 2019. – №4. – с. 199–205.
79. Мирзоева, Х. А. Содержание основных действующих веществ в траве и экстракционных препаратах травы *Thymus Marshallianus* Wild. / Х. А. Мирзоева, Ф. М. Юнусов // Химия растительного сырья. – 2017. – №2. – С. 75–79.
80. Некоторые аспекты влияния алюминия и его соединений на живые организмы / И.В. Шугалей, А.В. Гарабаджиу, М.А. Илюшин, А.М. Судариков // Экологическая химия. – 2012. – №21(3). – С. 172–186.
81. Никонов, Г. К. Основы современной фитотерапии / Г.К. Никонов, Б.М. Мануйлов. – Москва: Медицина, 2005. – 520 с.
82. Новиченко, О. В. Получение биологически активных веществ высших водных растений Волго – Каспийского бассейна на примере *Potamogeton perfoliatus* L. и *Zostera Noltii*: состав, свойства и перспективы применения: специальность 05.18.07 «Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Новиченко Ольга Викторовна; Астраханский государственный университет. – Астрахань, 2016. – 24 с.
83. О роли активации свободнорадикального окисления в структурной и функциональной дезорганизации биосистем в условиях

патологии / Чеснокова Н.П., Моррисон В.В., Понукалина Е.В. [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2008. – №3. – С. 25–33.

84. О роли активации свободнорадикального окисления в структурной и функциональной дезорганизации биосистем в условиях патологии / Чеснокова Н.П., Моррисон В.В., Понукалина Е.В. [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2009. – №5. – С. 122–130.

85. Определение простых сахаров в листьях лимонника китайского, заготовленных в Воронежской области / Ю.В. Добрина, А.А. Гудкова, А.И. Сливкин, А.А. Сорокина // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств: материалы 7-й Международной научно-методической конференции «Фармообразование-2018», г. Воронеж, 28-30 марта 2018 г. – Воронеж, 2018. – С. 258–260

86. Орджоникидзе, З. Г. Значение микроэлементов для достижения высоких спортивных результатов и сохранения здоровья спортсменов / З. Г. Орджоникидзе, О. А. Громова, А. В. Скальный // Микроэлементы в медицине. – 2001. – Т. 2, № 2. – С. 12–14.

87. Орлова, А.А. Обзор методов качественного и количественного анализа танинов в растительном сырье / А.А. Орлова, М.Н. Пovyдыш // Химия растительного сырья. – 2019. – №4. – С. 29-45.

88. Оценка безопасности лекарственного растительного сырья в бадах и фитопрепаратах / С.А. Хотмиченко [и др.] // Фармация. – 2009. – №1. – С. 3-5. – URL: <http://www.fesmu.ru/elib/Article.aspx?id=196745> (дата обращения: 14.01.2018).

89. Патент №2170930 Российская Федерация, МПК: G01N33/50, G01N33/52. Способ определения антиокислительной активности : №2000111126/14; заявл. 05.05.2000; опубл. 20.07.2001 / Т. В. Максимова, И.Н. Никулина, В.П. Пахомов, Е.И Шкарина, З.В. Чумакова, А.П.

Арзамасцев ; заявитель и патентообладатель Моск. мед. акад. им. И. М. Сеченова.

90. Пилат, Т. Л. Биологически активные добавки к пище (теория, производство, применение) / Т. Л. Пилат, А. А. Иванов. – Москва: Авваллон, 2002. – 710 с.

91. Погорелый, В. Е. Препараты аминокислот как нейропротекторы / В. Е. Погорелый, Н. Е. Слюнькова, Л. М. Макарова // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения : материалы VII Междунар. съезда «Фитофарм 2003» (С.-Петербург – Пушкин, 3-5 июля 2003 г.). – СПб., 2003. – С. 244–250.

92. Позднякова, Т. А. Герань сибирская : содержание жирных и органических кислот / Т. А. Позднякова, Р. А. Бубенчиков // Фармация. – 2014. – № 8. – С.13–15.

93. Полисахариды трех видов *Saussurea* Dc. (*S. Controversa*, *S. Salicifolia*, *S. Frolovii*): выделение, характеристика и влияние на NO-продуцирующие свойства макрофагов / Решетов Я.Е., Лигачёва А.А., Авдеева Е.Ю. [и др.] // Химия растительного сырья. – 2019. – №4. – с. 77–85

94. Прида, А. И. Танин из виноградных семян – источник натуральных антиоксидантов (проантоцианидинов) / А. И. Прида, С. В. Вылку // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов растительного происхождения : материалы VII Междунар. съезда «Фитофарм 2003» (С. Петербург-Пушкино, 3-5 июля 2003 г.). – СПб, 2003. – С. 369–372.

95. Пяк, А.И. Материалы к флоре Алтая / А.И. Пяк, А.Л. Эбель // *Turczaninowia*. – 2001. – №4 (1-2). – С. 86–94.

96. Разработка методики идентификации фенольных соединений в цветках и листьях подсолнечника однолетнего / О.А. Соколова, А.Г. Котов, Т.Н. Гонтовая, Э.Э. Котова // Вестник фармации. – 2018. – №2 (80). – С. 18–23.

97. Растительные ресурсы СССР: цветковые растения, их химический состав, использование. Семейство Asteraceae (Compositae). – СПб.: Наука, 1993. – 352 с.
98. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т.5. Семейство Asteraceae (Compositae). Часть 2. Роды Echinops – Youngia / отв. Ред. А.Л. Буданцев. СПб., 2013. – 312 с.
99. Регистр лекарственных средств России. РЛС. Энциклопедия лекарств : ежегодный сборник / [Ю. А. Александровский и др. ; гл. ред. Г. Л. Вышковский]. – Москва : Веданта, 2012. – 1612 с. : ил.; 27 см.
100. Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ. Методические рекомендации. МР 2.3.1.1915-04. - Москва: Ремедиум, 2004. – 28 с.
101. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств Часть первая. – Москва: Гриф и К, 2013, С.748–761.
102. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – Москва: ИИА Ремедиум, 2000. – 398 с.
103. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических видов / под ред. Р. У. Хабриева. – Москва, 2005. – 832 с.
104. Свежая трава горца почечуйного: разработка проекта фармакопейной статьи / А.А. Гудкова, А.С. Чистякова, А.А. Сорокина, А.И. Сливкин // Фармация. – 2017. – Т. 66, №8. – С. 3–8.
105. Селезнев, Н.Г. Идентификация и количественное определение углеводов в лекарственном растительном сборе «Лорполифит» / Н.Г. Селезнев, У.Н. Буханова, Д.М. Попов // Актуальные вопросы медицины в современных условиях: сборник научных трудов по итогам международной

научно-практической конференции. – Санкт-Петербург, 2015. – Вып. 2. – URL: <https://izron.ru/articles/aktualnye-voprosy-medsiny-v-sovremennykh-usloviyakh-sbornik-nauchnykh-trudov-po-itogam-mezhdunarod/sektsia-50-tekhnologiya-polucheniya-lekarstv-spetsialnost-14-04-01/identifikatsiya-i-kolichestvennoe-opredelenie-uglevodov-v-lekarstvennom-rastitelnom-sbore-lorpolifit/> (дата обращения: 15.06.2019)

106. Селезнев, Н.Г. Углеводы лекарственного сбора «Уваур» / Г.Н. Селезнев, Д.М. Попов, Г.Н. Селезнев // Фармация. – 2015. – №7. – С. 16–19.

107. Сернов, Л. Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л. Н. Сернов, В. В. Гацура. – Москва, 2000. – 352 с.

108. Сечин, Е.Н. Аминокислотный состав вегетативных органов *Dactylorhiza Maculata* (L.) Soo (Orchidaceae) / Е.Н. Сечин, О.А. Маракаев, Г.Б. Гаврилов // Химия растительного сырья – 2019 – №2. – С. 135–143.

109. Сидельникова, Л. Л. Содержание некоторых групп соединений у *Nemerocallis minor* в условиях интродукции / Л. Л. Сидельникова, Т. А. Кукушкина // Химия растительного сырья. – 2014. – №1. – С. 177–183.

110. Симакова, С.А. Количественное определение фенолкарбоновых кислот в латуке компасном методом спектрофотометрии / С.А. Симакова, Т.В. Кораблева // Материалы 86-ой Международной научной конференции студентов и молодых ученых «Молодежная наука и современность», посвященной 86-летию КГМУ, Курск 2021, стр. 378-380.

111. Скальный, А. В. Химические элементы в физиологии и экологии человека / А. В. Скальный. – Москва: ОНИКС 21 век, Мир, 2004. – 216 с.

112. Скляревская, Н.В. Фармакогностическое изучение надземной части сабельника болотного (*Comarum palustre* L.) произрастающего на Северо-Западе России : специальность 15.00.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Скляревская Нелли Владимировна;

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия. – СПб., 2009. – 135 с.

113. Сорбенты для экстракорпорального удаления токсических веществ и молекул с нежелательной биологической активностью (обзор) / А.С. Морозов, И.В. Бессонов, А.В. Нуждина, В.М. Писарев // *Общая реаниматология*. – 2016. – Т. 12, № 6. – С. 82-107. DOI: 10.15360/1813 – 9779 – 2016 – 6-82-107.

114. Сравнительное исследование содержания флавоноидов в препаратах седативного сбора №3 / М. Н. Быстрова, Г. А. Панина, М. А. Демидова, Е. В. Харитоновна // *Физическое и духовное здоровье: традиции и инновации: сб. науч. тр. междунар. конгр.* – М., 2011. – С. 174–177.

115. Сравнительное исследование элементарного состава и биологически активных веществ растений рода *Saussurea* Dc. флоры восточной Сибири / Решетов Я.Е., Белоусов М.В., Авдеева Е.Ю., Шурупова М.Н. // *Химия растительного сырья*. – 2018. – №4. – с. 205–214.

116. Терешина, Е. В. Роль жирных кислот в развитии возрастного окислительного стресса. Гипотеза // *Успехи герантологии*. – 2007. – №20(1). – С. 59–65.

117. Тринеева О. В. Определение суммы полисахаридов и простых сахаров в листьях крапивы двудомной / О.В. Тринеева, А.И. Сливкин // *Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация*. – 2017. – №1. – С. 164–169.

118. Федотова, В. В. Изучение органических кислот золотарника кавказского (*Solidsgocaucasicakem.-Nath.*) и черноголовника многобрачного (*Poteriumpolygamumwaldst. &Kit*) / В.В. Федотова, А.В. Охремчук, В.А. Челомбитько // *Научные ведомости. Сер. Медицина. Фармация*. – 2012. – №16 (135), вып. 19. – URL: <https://core.ac.uk/download/pdf/151229573.pdf> (дата обращения: 16.05.2019).

119. Фитохимическое исследование травы *Sanguisorba officinalis* L. в республике Башкортостан / Казеева А.Р., Пупыкина К.А., Денисова С.Г. [и др.] // Химия растительного сырья. – 2019. – №4. – С. 279-284.
120. Флавоноиды травы горца почечуйного / Перова И.Б., Эллер К.И., Мальцева А.А. [и др.] // Фармацевтическая химия и фармакогнозия. – 2017. – Т. 66. – №2. – С. 15-19.
121. Флора СССР под ред. В. Л. Комарова / Б.К. Шишкин, Е.Г. Бобров, Н.Н. Цвелев // М.-Л. – 1964. – Том XXIX. – 796 с.
122. Хасанов, В. В. Методы исследования антиоксидантов / В. В. Хасанов, Г. Л. Рыжова, Е. В. Мальцева // Химия растительного сырья. – 2004. – №3. – С. 63–75.
123. Хроматография. Практическое приложение метода. – Москва: Мир, 1986. – 397 с.
124. Чистякова А.С. Изучение состава полисахаридов травы горца почечуйного методом ТСХ / А.С. Чистякова, А.А. Мальцева // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ: материалы 6 Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2016», г. Воронеж, 21-23 апреля 2016 г. – Воронеж, 2016. – С. 589–592.
125. Чопик, В.И. Дикорастущие полезные растения Украины / В.И. Чопик, Л.Г. Дудченко, А.Н. Краснова // Киев. – 1983. – 398 с.
126. Щемелинина, Т. В. Содержание аскорбиновой кислоты и органических кислот в траве донника лекарственного / Т. В. Щемелинина, А. А. Сорокина // Фармация. – 2015. – №2. – С. 22–24.
127. Щербакова, О. В. Спектрофотометрический метод определения суммарного содержания флавоноидов в надземной части *Linaria vulgaris* (Scrophulariaceae) / О. В. Щербакова, В. М. Петриченко, Л. А. Чекрышкина // Растительные ресурсы. – 2011. – Т. 47, вып. 4. – С. 141–147.

128. Экспериментальное исследование противовоспалительной активности композиций глюкозамина сульфата и пектина с органическими кислотами / Д.В. Компанцев, Л.М. Макарова, В.Е. Погорельй, Е.В. Компанцева // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2007. – №1. – С. 13–15.

129. Чекман, І.С. Флавоноїди – клініко - фармакологічний аспект / І.С. Чекман // Фітотерапія в Україні. – 2000. – №2. – С. 3–5.

130. Al-Marzoqi, A.H. Antibacterial Activity of the Crude Phenolic, Alkaloid and Terpenoid Compounds Extracts of *Lactuca serriola* L. on Human Pathogenic Bacteria / A.H. Al-Marzoqi, H.J. Hussein, N.M. Sahi Al-Khafaji // Chemistry and Materials Reseach. – 2015. – Vol. 7, No. 1. – P. 8–11.

131. Analysis of organic acids of tricarboxylic acid cycle in plants using GC-MS, and system modeling / Vinod Kumar, Anket Sharma, Renu Bhardwaj, Kumar Thukral // Journal of Analytical Science and Technology. – 2017. – Vol. 8, №20. – URL: <https://jast-journal.springeropen.com/track/pdf/10.1186/s40543-017-0129-6> (дата обращения: 16.05.2019)

132. Andonova, L. Free radicals oxidative stress, and diseases associated with them / L. Andonova, M. Georgieva, Al. Zlatkov // Pharmacia. – 2015. – Vol. 62, №2. – Pp. 26–39.

133. Antipseudomonal activity of aqueous and methanolic leaf extracts of *Lactuca serriola* Linn. (Asteraceae) / Balogun S. T., Stephenson C., Akanmu A.O. [et al.] // International journal of advances in pharmacy, biology and chemistry. – 2017. – Vol. 6 (1), Jan – Mar. – Pp. 1–6.

134. Briant, E. T. A note of the differentiation between flavonoid glycosides and their aglicones / E. T. Briant // J. Am. Pharm. Assoc. – 1950. – Vol. 39, N 8. – P. 480–488.

135. Calder, P. C. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes : New twists in an old tale / P. C. Calder // *Biochimie.* – 2009. – Vol. 91, N 6. – P. 791–795.
136. Carrapiso, A. I. Development in lipid analysis: some new extraction techniques and in situ transesterification / A. I. Carrapiso, C. Carcia // *Lipids.* – 2000. – Vol. 35. – P. 1167–1177.
137. Christie, W. W. Preparation of lipid extract from tissues // *Advances in lipid methodology.* Dundee, Stotland. – 1993. – Vol. 2. – P. 195–213.
138. Davies, J. S. Aminoacids, peptides and proteins / J. S. Davies. – Cambridge : The Royal Society of Chemistry, 2006. – 472 p.
139. Effect of supplementation of probiotics and phytosterols alone or in combination on serum and hepatic lipid profiles and thyroid hormones of hypercholesterolemic rats / Awaisheh S.S., Khalifeh M.S., Al-Ruwaili M.A. [et al.] // *Journal of dairy science.* – 2013. – Vol. 96. – № 1. – P. 9–15.
140. Elsharkawy, E. Anticancer activity of lactuca steriolla growing under dry desert condition of Northern Region in Saudi Arabia / E. Elsharkawy, M. Alshathly // *Journal of Natural Sciences Research.* – 2013. – Vol. 3, No. 2. – P. 5–15.
141. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods / C. Chang, M. Yang, H. Wen, J. Chern // *J. Food Drug Anal.* – 2002. – N 10. – P. 178–182.
142. Faizal, A. Saponins and their role in biological processes in plants / A. Faizal, D. Geelen // *Phytochem Rev.* – 2013. – P. 877–893.
143. Fatty acids profiles of some Spanish wild vegetables / Morales P., Ferreira I.C.F.R., Carvalho A.M. [et al.] // *Food Sci. Technol. Int.* – 2012. – Vol. 18. – P. 281–290.
144. Fayyaz, A. Study of analgesic and anti inflammatory activity from plant extracts of *Lactuca scariola* and *Artemisia Absinthium* / A. Fayyaz, R. A.

Khan, S. Rasheed // Journal of Academy of Sciences. Pharmacology. – 1992. – P. 111–114.

145. Flavonoids. Chemistry, biochemistry and application / ed. M. Andersen, K. R. Markham. – Boca Raton ; London ; New York, 2006. – 1198 p.

146. FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses / Kacurakova M., Capek P., Sasinkova V. [et al.] // Carbohydrate polymers. – 2000. – Vol. 43, №2. – 195–203.

147. Geissman, T. A. Chemistry of flavonoid compounds / T. A. Geissman. – Oxford : Pergamon Press, 1962. – 666 p.

148. Hagerman, A. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants / A. Hagerman, K. Riedl, G. Jones // J. Agric. Food Chem. – 1998. – Vol. 46. – P. 1887–1892.

149. Identification and comparison of natural rubber from two *Lactuca* species / Bushman B.S., Scholte A.A., Cornish K. [et al.] // Phytochemistry, 67. – 2006. – P. 2590–2596.

150. Kim, D.-K. Antioxidative Components from the Aerial Parts of *Lactuca scariola* L. / D.-K. Kim // Arch Pharm Res. – 2001. – Vol. 24, No. 5. – P. 427–430.

151. Kisiel, W. Sesquiterpene lactones from *Picris heiracioides* subsp. *heiracioides* / W. Kisiel // Planta medica. – 1992. - № 52. – P. 115.

152. Mabry, T. J. The systematic identification of flavonoids / T.J. Mabry, K.R. Markham, M.B. Thomas. – New York-Heidelberg-Berlin. – 1970. – 354 p.

153. Marco, J. A. A Sesquiterpene ester from *Lactuca serriola* / J.A. Marco, J.F. Sanz, R. Albiach // Phytochemistry. – 1992. – Vol. 31, No. 7. – P. 2539–2540.

154. Markham, K. R. Structure information from HPLC and on-line measured absorption spectra: Flavones, Flavonols and Phenolic acids / K.R. Markham. – Coimbra. – 2007. – 118 p.

155. Markham, K. R. Carbon – 13 NMR Spectroscopy of flavonoids / K.R. Markham, V.M. Chari, T.J. Mabry / In: Harbone, J.B., Mabry, T.J. (Eds.), *The Flavonoids: Advances Research*. Chapman & Hall, London. – 1982. – P. 19 – 34;

156. Michalska, M. Antioxidant capacities of natural supplements with high does of vitamin C / M. Michalska, M. Wasek // *Actual problems of creation of new medicinal preparations of natural origin PHYTOPHARM 2003: proceedings of the 7 Intern. Cong. (3-5 july; 2003; St. – Peterburg – Pushkin, Russia)*. – Spb, 2003. – P. 491–494.

157. Mohammad, A. Traditional use of Kahu (*Lactuca scariola* L.) – a review / A. Mohammad // *Global J Res. Med. Plants & Indigen. Med.* – 2013. – Vol. 2, Issue 6. – P. 465–474.

158. Pharmacological effect of *Lactuca serriola* L. in experimental model of gastrointestinal, respiratory, and vascular ailments / Janbaz K.H., Latif M.F., Saqib F. [et al.] // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. – Vol. 2013, 9 pages.

159. Podmore, I. D. Vitamin C exhibits pro-oxidant properties / I. D. Promore, H. R.Griffiths, K. E. Herbert // *Nature*. – 1998. – Vol. 392. – P. 559.

160. Pyrek, J. S. Terpenoidy roślin Compositae: Laktony seskwiterpenowe *Lactuca serriola* L. // *Rocz. chem.* – 1977. – vol. 51, fasc. 11. – 2165–2170.

161. Recio, M. C. Structural requirements for the antiinflammatory activity of natural triterpenoids / M. C. Recio // *Planta Med.* – 1995. – Vol. 61, N 2. – P. 182–185.

162. Rossetto, M. Synergistic antioxidant effect of catechin and malvidin 3-glucoside on free radical-initiated peroxidation of linoleic acid in micelles / M. Rossetto, P. Vanzani, F. Mattivi // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2002. – Vol. 408. – P. 239–245.

163. Seaman F.C. Sesquiterpene lactones as taxonomic characters in the Asteraceae. *The botanical review*, 1982; 48 (2): 491–2.

164. Sugihara, N. Differences in antioxidative efficiency of catechins in various metal-induced lipid hydroperoxidation in cultured hepatocytes / N. Sugihara, M. Ohnishi, M. Imamura. // *J. Health Sci.* – 2001. – Vol. 47, N 2. – P. 99–106.
165. The study of the Fatty acid composition of Compass Lettuce (*Lactuca serriola* L.) / R.A. Bubenchikov, T.V. Korableva, T.A. Pozdnyakova, E.S.Kuleshova // *Research J. Pharm. and Tech.* 13(12): December 2020. P. - 6105-6108.
166. Urmila, G. H. Physicochemical and Preliminary Phytochemical Screening for Medicinal Plants / G.H. Urmila, B.Ganga Rao, T. Satyanarayana // *International journal of pharmaceutical and chemical sciences.* – 2013. – Vol. 2(4), Oct-Dec. – P. 1738–1742.
167. Vladimirov, Y. A. Coumarin derivatives enhance the chemiluminescence accompanying lipid peroxidation / Y. A. Vladimirov // *Free Radical Bioi. Med.* – 1995. – Vol. 18. – P. 739–745.
168. Vladimirov, Y. A. Quinolizin-coumarins as physical enhancers of chemiluminescence during lipid peroxidation in live HL-60 cells / Y. A. Vladimirov // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2000. – Vol. 384, N 1. – P. 154–162.
169. Wagner, H. *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas* / H. Wagner, S. Blads. – Berlin ; Heidelberg ; N. Y. : Springer Verlag, 1996. – 348 p.
170. Yadava, R.N. A new bioactive triterpenoid saponin from the seeds of *Lactuca scariola* Linn. / R.N. Yadava, J. Jitendra // *Natural Product Research.* – 2007. – Vol. 21, No. 6. – P. 500–506(7).

Приложение А

Акт о внедрении результатов научно-исследовательской работы в учебный процесс

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе и
инновационному развитию ФГБОУ
ВО «Курский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации, доктор
медицинских наук, профессор



Липатов В.А.

_____ сентября _____ 2021 г.

АКТ 50

о внедрении результатов научно – исследовательской работы в учебный процесс

Автор внедрения: аспирант кафедры фармакогнозии и ботаники Кораблева Татьяна Владимировна

Источник предложения: результаты диссертационной работы Кораблевой Татьяны Владимировны «Фармакогностическое изучение латука компасного (*Lactuca serriola* L.)» на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Название объекта внедрения: латук компасный (*Lactuca serriola* L.). Результаты фармакогностического и фитохимического изучения надземной части растения.

Наименование организации, где используются результаты исследования: ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России, кафедра фармакогнозии и ботаники.

Дата начала отсчета внедрения: используется с ноября 2020 года в учебном процессе (курс лекций и практических занятий) и научно-исследовательской работе кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России.

Заключение об эффективности внедрения: предоставленная информация используется в лекционном курсе дисциплины фармакогнозии и ботаники, что позволяет расширить знания студентов и аспирантов по диагностическим морфолого-анатомическим признакам и химическому составу новых перспективному виду лекарственного растительного сырья латука компасного.

Зав. кафедрой фармакогнозии и ботаники
доктор фармацевтических наук, профессор

Бубенчикова В.Н.

Ответственный за внедрение,
аспирант кафедры фармакогнозии и ботаники

Кораблева Т.В.

Приложение Б

Акт о внедрении (использовании) результатов научной и инновационной деятельности

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
по качеству ООО Фирма «Здоровье»



М.А. Смирнова

« 15 января » 2018 г.

АКТ

о внедрении (использовании) результатов научной и инновационной деятельности

1. **Авторы внедрения:** Бубенчикова Валентина Николаевна, Кораблева Татьяна Владимировна.
2. **Источник предложения:** диссертационное исследование на тему «Фармакогностическое изучение латука дикого (*Lactuca serriola* L.)».
3. **Название объекта внедрения:** изучение морфолого – анатомического строения травы латука дикого.
4. **Наименование организации, где используются результаты исследования:** ОКК ООО Фирма «Здоровье».
5. **Дата начала отсчета внедрения:** используется с января 2018 года в работе ОКК ООО Фирма «Здоровье» при морфолого – анатомическом анализе лекарственного растительного сырья.
6. **Заключение об эффективности внедрения:** Разработанный микродиагностический анализ травы латука дикого характеризуется простотой выполнения, позволяет провести анализ цельного сырья с выявлением всех микродиагностических признаков характерных для латука дикого.

Руководитель подразделения,
из которого исходит внедрение:
д.ф.н., зав. каф. фармакогнозии и ботаники КГМУ
профессор

 Бубенчикова В. Н.

Ответственный за внедрение:
начальник ОКК ООО Фирма «Здоровье»

 Белоус Т. А.

Приложение В

Акт о внедрении (использовании) результатов научной и инновационной деятельности

УТВЕРЖДАЮ
 Заместитель генерального директора
 по качеству ООО Фирма «Здоровье»
 М.А. Смирнова
 «26» _____ 2019 г.

АКТ о внедрении (использовании) результатов научной и инновационной деятельности

- 1. Авторы внедрения:** Бубенчикова Валентина Николаевна, Кораблева Татьяна Владимировна.
- 2. Источник предложения:** диссертационное исследование на тему «Фармакогностическое изучение латука дикого (*Lactuca serriola* L.)».
- 3. Название объекта внедрения:** определение суммы флавоноидов в траве латука дикого.
- 4. Наименование организации, где используются результаты исследования:** ОКК ООО Фирма «Здоровье».
- 5. Дата начала отсчета внедрения:** используется с января 2018 года в работе ОКК ООО Фирма «Здоровье» при фитохимическом анализе сырья, содержащего флавоноидные соединения.
- 6. Заключение об эффективности внедрения:** данная методика позволяет определить суммарное содержание флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии, в среде спирта этилового 70%, в области 395 нм, в пересчете на цинарозид.
Методика валидирована по показателям линейности, воспроизводимости и правильности.

Руководитель подразделения,
 из которого исходит внедрение:
 д.ф.н., зав. каф. фармакогнозии и ботаники КГМУ
 профессор

 Бубенчикова В. Н.

Ответственный за внедрение:
 начальник ОКК ООО Фирма «Здоровье»

 Белоус Т. А.

Приложение Г

Акт об апробации результатов научной и инновационной деятельности

 ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР ФАРМОБОРОНА		Адрес: 141074, Королев, Московская область, ул. Гагарина 46А Тел.: +7 495 511-01-10 e-mail: leader@farmoborona.ru Сайт: www.farmoborona.ru	
Сертифицированная система менеджмента качества в соответствии с ГОСТ Р ИСО 9001-2011 (9001:2008)			
Утверждаю			
 Генеральный директор ООО ИЦ «ФАРМОБОРОНА» Степнова И. В.			
 02 20 20 г.			
АКТ			
об апробации результатов научной и инновационной деятельности			
<p>1. Авторы внедрения: Бубенчикова Валентина Николаевна, Кораблева Татьяна Владимировна</p> <p>2. Источник предложения: диссертационное исследование на тему «Фармакогностическое изучение латука дикого (<i>Lactuca serriola</i> L.)».</p> <p>3. Название объекта внедрения: определение суммы флавоноидов в траве латука дикого.</p> <p>4. Наименование организации, где используются результаты исследования: ООО Испытательный Центр «ФАРМОБОРОНА».</p> <p>5. Дата начала отсчета внедрения: используется с января 2018 года в работе ООО Испытательный Центр «ФАРМОБОРОНА» при фитохимическом анализе сырья, содержащего флавоноидные соединения.</p> <p>6. Заключение об эффективности внедрения: данная методика позволяет определить суммарное содержание флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии, в среде спирта этилового 70%, в области 395 нм, в пересчете на цинарозид.</p> <p>Методика валидирована по критериям «линейность», «воспроизводимость» и «правильность».</p>			
<p>Руководитель подразделения, из которого исходит внедрение: д.ф.н., профессор, зав. каф. фармакогнозии и ботаники КГМУ</p>			
			В.Н. Бубенчикова
<p>Ответственный за внедрение: Генеральный директор ООО ИЦ «ФАРМОБОРОНА»</p>			
			И.В. Степнова

Приложение Д – Проект нормативного документа

Проект НД «Латука компасного трава» (показатели, нормы)

<i>Наименование показателей</i>	<i>Методы</i>	<i>Характеристика показателей и их нормы</i>
Время сбора сырья		Цветение
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ		
Внешние признаки	Визуальный ГФ XIV	<p>Олиственные стебли, которые могут быть цельными или частично измельченными, длина которых не превышает 25 см, а также цветки и незрелые плоды. В состав сырья входят также отдельные листья. Стебли в сырье могут быть голыми, либо покрыты жесткими щетинками, они бороздчатые. Листья имеют форму от продолговатой до ланцетовидной, листовая пластинка перистонадрезанная, перистолопастная, иногда цельная; край её шиповато-зубчатый. Основание у листьев стреловидное. На нижней стороне листа по главной жилке располагаются жесткие щетинки. Цветки в корзинках, имеющих продолговатую или цилиндрическую форму, в состав которых входит 15-25 язычковых цветков. Корзинки располагаются на цветоносах, обычно длиннее корзинок. Наружные листочки у обертки яйцевидные или треугольные, поверхность их пупырчатая или опушена паутинистыми или шерстистыми волосками, внутренние листочки у обертки ланцетовидные или продолговато-ланцетовидные, край их пленчатый со слегка волнистой каймой. Общее соцветие – щитковидно-метельчатое. Плод – семянка яйцевидной формы с 7-9 продольными ребрышками, несущая хохолок, который</p>

		<p>включает белые мягкие волоски. Листья имеют зеленый или сизоватый, стебли – беловатый или желтоватый, цветки – желтый, плоды серый или светло-коричневый цвет. Для сырья характерно наличие слабого, травянистого запаха. Водное извлечение характеризуется горьким привкусом.</p>
Микроскопия	Микроскопический ГФ XIV	<p>Стебель пучкового типа строения, в поперечнике стебель округлый. У клеток эпидермиса стебля кутинизированные наружные стенки. Клетки эпидермиса стебля характеризуется прозенхимной формой, имеют прямые или скошенные концы. Устьичный комплекс стебля аномоцитного типа. Отмечается опушение эпидермиса стебля посредством волосков 2-х групп: простых многоклеточных многорядных и простых перекрученных тонкостенных.</p> <p>Эпидермис стебля подстиляется 2-3 слоями пластинчатой колленхимы, с которых начинается первичная кора стебля. Основная ткань стебля – основная паренхима, располагающаяся в 4-5 слоев. Эндодерма состоит из одного слоя крупных клеток, она разделяет первичную кору и центральный цилиндр. В промежутках между сосудистыми пучками центрального цилиндра присутствуют значительные участки склеренхимы. Сосудистые пучки биколлатеральные, расположены по кругу и сдвинуты к периферии. Флоэма сосудистых пучков представлена мелкими клетками. В паренхиме пучков, её флоэмной части содержатся членистые млечники. Сосуды в ксилеме</p>

		<p>располагаются в виде вертикальных рядов. Камбий в пучках хорошо выражен. Паренхима сердцевины состоит из тонкостенных клеток, укрупняющихся к сердцевине.</p> <p>Лист. Верхний эпидермис листа латука компасного имеет клетки со слабоизвилистыми контурами. На нижнем эпидермисе клетки более извилистостенные. Продольная часть жилок листа характеризуется эпидермальными клетками с прямыми, удлиненными снизу стенками, прямыми или скошенными концами. Для клеток эпидермиса по краю листа характерно наличие удлиненных прямых, обладающих шиповатыми выростами и покрытыми толстым слоем кутикулы стенками. Устьичный аппарат относится к аномоцитному типу, устьица встречаются на двух поверхностях листа. Вдоль жилок листа проходят членистые млечники. Лист опушен простыми многоклеточными многорядными волосками, которые встречаются с нижней стороны листа, и вдоль жилок. Верхний эпидермис характеризуется простыми длинными волосками, имеющими достаточно тонкие стенки.</p> <p>Листочки обертки. Эпидермальные клетки наружной стороны обертки имеют прозенхимную форму, извилистость контуров клеток и сосочковидные выросты. Эпидермальные клетки на внутренней стороне листочков обертки имеют менее извилистые стенки. Эпидермальные клетки, расположенные близ основания листочков обертки имеют прямые стенки и скошенные концы.</p>
--	--	---

		<p>Устьица располагаются большей частью на наружной поверхности. Устьичный комплекс анамоцитного типа. В соответствии с эпидермисом обертки отмечается расположение простых одноклеточных волосков, которые характеризуются конической формой, расширенным основанием и толстыми стенками. Данные волоски сидят по несколько штук (2-4), наряду с сосочковидными клетками эпидермиса. Верхушка листочков обертки содержит скопления простых многоклеточных тонкостенных перекрученных волосков, у которых стенки часто спадаются. Членистые млечники располагаются вдоль жилок листочков обертки.</p> <p>Венчик. Зубцы венчика характеризуются извилистостенными эпидермальными клетками и наличием сосочковидных выростов. Средняя зона венчика характеризуется эпидермальными клетками, боковые стенки которых имеют мелкозубчатости. Эпидермис трубки венчика состоит из клеток с прямыми или слегка извилистыми стенками, у которых концы могут быть прямыми или скошенными.</p> <p>Язычковый цветок имеет волоски двух типов: простые многоклеточные, имеющие тонкие и часто спадающиеся стенки и округлую или слегка заостренную конечную клетку, они встречаются на эпидермисе трубки венчика. На верхушке завязи имеются простые остроконечные волоски с тонкими стенками; они расположены многорядно.</p>
--	--	--

<p>Определение основных групп биологически активных веществ</p>	<p>Тонкослойная хроматография:</p> <p>Качественные реакции: - реакция со спиртовым раствором алюминия хлорида (флавоноиды); - реакция с железом-</p>	<p>Измельченное сырье, имеющее размер частиц 1 мм (1.0 г) помещают в колбу на 100 мл с прибавлением 10 мл этилового спирта 96%, экстракция – 10 минут. Как только экстрагирование завершается, осуществляется охлаждение содержимого и фильтрация с применением бумажного фильтра. Профильтрованное извлечение (10 мкл) наносят на стартовую линию пластинки ПТСХ-АФ-А-УФ полосой 10 мм x 2 мм и на нее же через 2 см микрокапилляром помещают стандартный раствор цинарозида в виде точки. Пластинку помещают в хроматографическую камеру, насыщенную в течение 30 минут подвижной фазой: бутиловый спирт-уксусная кислота-вода (4:1:2). По прохождении подвижной фазы 12 см от линии старта анализ заканчивали. Пластинку вынимают, высушивают, исследуют в УФ-свете. Исследуемое извлечение на хроматограмме должно иметь зону адсорбции на уровне стандартного образца цинарозида и имеющую коричневое окрашивание. Далее пластинку обрабатывают детектирующим реагентом, высушивают и выдерживают 2-3 минуты в термостате при температуре 100-105 °С. Хроматограмму исследуют в УФ-свете. Зона, аналогичная цинарозиду в испытуемом растворе и зона стандартного образца цинарозида изменяют окраску на желтую.</p> <p>Окрашивание раствора в желтый цвет</p> <p>Образование осадка и</p>
---	--	--

	аммонийными квасцами (дубильные вещества)	окрашивание раствора в черно- зеленый цвет
ИСПЫТАНИЯ		
Влажность	ГФ XIV, ОФС.1.5.3.0007.15	не более 13%
Зола общая	ГФ XIV, ОФС.1.2.2.2.0013.15	не более 14%
Зола нерастворимая в 10% растворе кислоты хлористоводородной	ГФ XIV, ОФС.1.5.3.0005.15	не более 2%
Измельченность частиц, проходящих сквозь сито, с отверстиями размером 7 мм	ГФ XIV, ОФС.1.5.3.0004.15	не более 10%
Допустимые примеси: -Органические примеси -Минеральные примеси	ГФ XIV, ОФС.1.5.3.0004.15	не более 1,0% не более 1,0 %
Тяжелые металлы	ОФС «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»	Соответствует требованиям
Содержание радионуклидов	ОФС «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»	Соответствует требованиям
Остаточные количества пестицидов	ОФС «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»	Соответствует требованиям
Микробиологическая чистота	ОФС «Микробиологическая чистота», ГФ XIV	Категория 4 А
КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ		
Экстрактивных веществ, извлекаемых водой	ГФ XIV	не менее 35%
Сумма флавоноидов в	Дифференциальная	не менее 1%

пересчете на цинарозид	спектрофотометрия	
Упаковка	ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»	
Маркировка		
Хранение	ОФС «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»	
Срок годности	2 года	