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

На правах рукописи

Шейхмагомедова Патимат Айгумовна

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФАЦЕЛИИ ПИЖМОЛИСТНОЙ (*PHACELIA TANACETIFOLIA BENTH.*)

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор

Попова Ольга Ивановна

Пятигорск – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 6
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ БОТАНИЧЕСКИХ И ФИТОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ФАЦЕЛИИ ПИЖМОЛИСТНОЙ (*PHACELIA TANACETIFOLIA BENTH)* 15
1.1 Систематическое положение *Phacelia tanacetifolia Benth*., ботаническая характеристика 15
1.2 Географическое распространение и этнофармакология фацелии пижмолистной 20
1.3 Химический состав *Phacelia tanacetifolia Benth*. 21
1.4 Потенциал применения фацелии пижмолистной как источника биологически активных веществ 28
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ 33
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 35
2.1 Объекты исследования 35
2.2 Оборудование и реактивы 36
2.3 Методы исследования 37
2.3.1 Морфолого-анатомическое исследование 37
2.3.1.1 Люминесцентная микроскопия 37
2.3.2 Качественные реакции на основные группы биологически активных веществ 38
2.3.3 Физико-химические методы 39
2.3.4 Определение показателей качества сырья 47
2.3.5 Фармакологические исследования 47
2.3.6 Интродукционное исследование, определение способа заготовки и режима сушки сырья 53
2.3.7 Статистическая обработка экспериментальных данных 56
ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ 57
3.1 Обоснование выбора объекта исследования 57
3.2. Изучение биологически активных веществ 60

3.2.1 Идентификация фенольных соединений 60
3.2.1.1 Идентификация фенольных соединений качественными реакциями 60
3.2.1.2 Идентификация фенольных соединений методом тонкослойной хроматографии 61
3.2.1.3 Идентификация фенольных соединений методом тонкослойной хроматографии после предварительного фракционирования 63
3.2.1.4 Идентификация фенольных соединений методом высоко эффективной жидкостной хроматографии 63
3.2.2 Количественное определение фенольных соединений 67
3.2.2.1 Количественное определение фенолкарбоновых кислот 67
3.2.2.2 Количественное определение флавоноидов 70
3.2.2.3 Количественное определение дубильных веществ 73
3.2.2.4 Количественное определение антоцианов 74
3.2.3 Определение сапонинов и полисахаридов 76
3.2.4 Количественное определение аскорбиновой кислоты 77
3.3 Изучение макро- и микроэлементного состава 80
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ 82
ГЛАВА 4. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ФАЦЕЛИИ ПИЖМОЛИСТНОЙ 84
4.1 Определение макроскопических признаков 84
4.2 Определение микроскопических признаков 86
4.2.1 Люминесцентная микроскопия 98
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ 100
ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ И НОРМ КАЧЕСТВА ФАЦЕЛИИ ПИЖМОЛИСТНОЙ ТРАВЫ 101
5.1 Подлинность 101
5.2 Определение показателей качества 104
5.3 Разработка методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот травы фацелии пижмолистной 110
5.3.1 Обоснование выбора основного соединения 110

5.3.2 Выбор условий количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот травы фацелии пижмолистной 111
5.3.3 Валидационная оценка методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот травы фацелии пижмолистной 113
5.4 Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов травы фацелии пижмолистной 116
5.4.1 Выбор условий количественного определения суммы флавоноидов травы фацелии пижмолистной 116
5.4.2 Валидационная оценка методики количественного определения суммы флавоноидов травы фацелии пижмолистной 118
5.5 Определение фазы, способа заготовки и режима сушки сырья 121
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ 126
ГЛАВА 6. ИНТРОДУКЦИОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ *PHACELIA TANACETIFOLIA BENTH.* В РЕСПУБЛИКЕ ДАГЕСТАН И В УСЛОВИЯХ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ПЯТИГОРСКОГО МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА 128
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ 132
ГЛАВА 7. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ 133
7.1 Изучение острой токсичности 133
7.2 Изучение гиполипидемической активности в условиях твиновой гиперлипидемии 133
7.3 Изучение гиполипидемической активности на модели острого алкогольного поражения печени 136
7.4 Изучение антиоксидантной активности на модели острого алкогольного поражения печени 138
7.5 Изучение антимикробной активности 140
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ 142
ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ 143
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 145

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... 147
ПРИЛОЖЕНИЯ..... 166

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Концепция укрепления здоровья населения нашей страны и активного долголетия является ключевым ориентиром Национальной стратегии развития фармацевтического рынка «Фарма 2030» и предусматривает расширение номенклатуры лекарственных средств для лечения и профилактики многих заболеваний.

Известно, что в мире происходит демографическое старение населения, увеличивается количество страдающих ожирением и эти процессы значительно ускоряются (Ким О.Т. с соавт.). Избыточная масса тела – установленный факт ишемической болезни сердца. Увеличение жировой ткани приводит к дисбалансу синтеза адипоцитов, что играет ключевую роль в развитии метаболического синдрома, дислипидемии, неалкогольной жировой болезни печени, сахарному диабету II типа (Баланова Ю.А. с соавт.). Лечение этих заболеваний долгое, большая часть лекарственных препаратов являются синтезируемыми, а их длительное применение приводит к побочных реакциям. Поэтому, представляет интерес создание безопасных лекарственных препаратов на основе лекарственного растительного сырья (Самбукова Т.В. с соавт., Хотим Е.Н. с соавт., Stones S. et al.). Особого внимания заслуживают растения, содержащие фенольные соединения, проявляющие антиоксидантную, противовоспалительную, антимикробную, гепатопротекторную и другие виды активности (Куликов А.А. с соавт.).

Исходя из вышесказанного, к таким растениям вполне обоснованно и целесообразно можно отнести фацелию пижмолистную (*Phacelia tanacetifolia Benth.*) семейства Бурачниковые (*Boraginaceae*).

Фацелия пижмолистная, представляющая собой однолетнее травянистое растение (Abrams L.R. et al.), происходит из Северной Америки (штат Калифорния). Тем не менее, она легко вводится в культуру в регионах с умеренным климатом, имеет способность к самосеву, и органично вписывается в

местную флору. В России фацелия пижмолистная известна с конца 19 века, к настоящему времени широко культивируется. Одним из преимуществ фацелии пижмолистной является высокая продуктивность: растение может давать до нескольких урожаев в год; нетребовательна к уходу (Чумакова В.В.).

В нашей стране фацелия пижмолистная известна как популярный медонос, дающая высококачественный монофлёрный мёд. Также фацелия пижмолистая известна как растение-сидерат, особенно рекомендуют ее использовать для обогащения почв после посева злаковых культур (Чумакова В.В.).

Следует отметить, что к настоящему времени накоплено мало сведений о химической изученности фацелии пижмолистной. Исследования зарубежных ученых (Bajkacz S. et al.) были направлены на выявление фенольных соединений. Обнаружены фенолкарбоновые кислоты (галловая, хлорогеновая, кофейная) и флавоноиды (рутин, кверцетин, нарингенин).

Фенолкарбоновые кислоты имеют широкий спектр терапевтической активности (противовоспалительная, желчегонная, антибактериальная, антиоксидантная, иммуномодулирующая) (Нестерова Н.В. с соавт., Тыхеев Ж.А. с соавт.). Отмечено гипогликемическое, гипохолестеринемическое, гепатопротекторное, противоопухолевое действие хлорогеновой кислоты. По данным Мазо В. К. с соавт., хлорогеновая кислота путем снижения уровня малонового диальдегида в плазме крови и в составе липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), уменьшает чувствительность ЛПНП к окислению, тем самым снижая риск сердечно-сосудистых заболеваний.

Флавоноиды уменьшают окисление ЛПНП, ингибируют агрегацию тромбоцитов, замедляют скорость образования атеросклеротических бляшек, снижают артериальное давление (Almeida Rezende B. et al., Аникина В.А., Зверев Я.Ф.).

Таким образом, фацелия пижмолистная является интересным объектом для фармакогностического изучения с целью использования данного растения в качестве источника биологически активных веществ (БАВ), проявляющих гиполипидемическую и антиоксидантную активности.

Обоснование перспектив изучения природных соединений как источников создания лекарственных средств для коррекции жирового и углеводного обменов является актуальной проблемой. Это особенно важно, так как по прогнозам экспертов (Bodirsky B. L. et al.), при сохраняющейся тенденции к 2050 году 45% населения нашей планеты будут иметь избыточный вес, а 16% - ожирение.

Степень разработанности темы исследования

Фацелия пижмолистная – малоизученный объект. В основном имеются сведения о фацелиевом мёде (Castle D. et al.). Согласно результатам исследований этого продукта идентифицированы основные природные соединения, отвечающие за его терапевтическую активность, установлен минеральный состав, описаны свойства мёда фацелии (Kus P.M. et al., Czipa N. et al, 2018).

Польскими учеными (Stanek N. et al.) была изучена антиоксидантная активность фацелиевого мёда спектрофотометрическим методом, основанном на взаимодействии антиоксидантов со стабильным хромоген-радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH).

В китайской народной медицине мёд фацелии пижмолистной широко известен как мочегонное средство, он обладает эстрогенным действием, омолаживающим эффектом, полезен при лечении заболеваний носовых пазух, поддерживает уровень холестерина в крови, оказывает дезинфицирующее действие, помогает при лечении ожогов (Popovic V.M. et al.).

В народной медицине Западной Сибири, по данным электронного ресурса polzaverd.ru, мёд применяют для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, для нормализации обменных процессов, укрепления иммунитета, в качестве общеукрепляющего средства.

Исследования зарубежных ученых (Bajkacz S. et al.) позволили установить состав фенольных соединений методом ВЭЖХ. Состав фенолкарбоновых кислот представлен хлорогеновой, галловой, кофейной кислотами, из флавоноидов были выделены рутин, кверцетин, нарингенин.

Целью исследования явилось обоснование возможности использования фацелии пижмолистной травы в качестве перспективного лекарственного

растительного сырья для получения фармацевтических субстанций, обладающих гиполипидемическим и гепатопротекторным действием.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи:**

1. Изучить и проанализировать литературные сведения о химическом составе фацелии пижмолистной, осуществить сбор образцов сырья в различные фазы вегетации из разных мест интродукции, дать краткую характеристику проблеме избыточной массы тела, ожирения, и перспективе лекарственных средств из лекарственного растительного сырья, используемых при данной патологии;
2. Провести фитохимическое изучение комплекса биологически активных веществ травы фацелии пижмолистной (фенольных соединений: фенолкарбоновых кислот, флавоноидов, дубильных веществ, антоцианов; минерального состава);
3. Провести морфолого-анатомическое изучение травы фацелии пижмолистной, выявить и охарактеризовать основные макро- и микродиагностические признаки;
4. Разработать методики идентификации основных биологически активных веществ, разработать и валидировать методики количественного определения фенольных соединений (фенолкарбоновых кислот и флавоноидов), определить оптимальные условия заготовки и сушки сырья и разработать показатели качества фацелии пижмолистной травы;
5. Провести фармакологические исследования для установления гиполипидемической и антимикробной активности извлечений травы фацелии пижмолистной.

Научная новизна

Проведено фармакогностическое изучение фацелии пижмолистной травы с использованием современных физико-химических методов анализа, в том числе методом ВЭЖХ. Установлено присутствие фенолкарбоновых кислот, флавоноидов, тритерпеновых сапонинов, дубильных веществ, антоцианов.

Результаты показали, что ведущими группами БАВ фацелии пижмолистной травы являются фенолкарбоновые кислоты и флавоноиды.

Впервые разработаны методики количественного определения основных групп БАВ и доминирующих компонентов, по которым предложено производить стандартизацию сырья.

Впервые разработана, научно обоснована и валидирована методика количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту спектрофотометрическим методом.

Впервые разработана и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин методом дифференциальной спектрофотометрии.

Впервые изучена динамика накопления фенолкарбоновых кислот и флавоноидов, определена фаза заготовки сырья, условия сушки для максимального сохранения суммы фенольных соединений. Установлены показатели и нормы качества, необходимые для разработки нормативного документа на лекарственное растительное сырье.

Впервые диагностированы основные морфолого-анатомические диагностические признаки сырья фацелии пижмолистной, которые могут использоваться при определении подлинности.

Впервые проведены фармакологические исследования по определению острой токсичности; изучению гиполипидемической активности субстанции фацелии пижмолистной для фармацевтического применения, демонстрирующие гиполипидемическое действие, обусловленное снижением триглицеридов и общего холестерина. Проведено исследование антибактериальной активности спиртовых извлечений травы фацелии пижмолистной.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты диссертационного исследования дополняют сведения о химическом составе и количественном содержании основных групп биологически активных веществ фацелии пижмолистной.

Выявлены основные макро- и микроскопические признаки травы фацелии пижмолистной, установлены диагностически значимые, которые могут быть использованы для определения подлинности сырья.

Предложена методика определения количественного содержания суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту, и флавоноидов в пересчете на рутин, проведена стандартизация фацелии пижмолистной травы. Определены условия заготовки и сушки, показатели подлинности и качества.

Результаты исследования гиполипидемического действия являются перспективными направлениями и отражают важность дальнейшего изучения фацелии пижмолистной, как источника для получения ценных фармацевтических субстанций, применяемых для профилактики и лечения избыточной массы тела, ожирения, сердечно-сосудистых болезней, и заболеваний гепатобилиарной системы.

На основе экспериментальных данных по изучению динамики накопления основных БАВ, фазы вегетации, способа заготовки и режима сушки сырья, разработана «Инструкция по заготовке и сушке травы фацелии пижмолистной», которая апробирована и утверждена Всероссийским научно-исследовательским институтом лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР).

На основании разработанных методик определения подлинности (ТСХ, спектрофотометрия, микроскопия) и качества сырья подготовлен проект фармакопейной статьи, который направлен и принят к рассмотрению в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, (Вх. №15827).

В ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России апробирована «Инструкция по заготовке и сушке травы фацелии пижмолистной», апробированы методики анализа основных БАВ, включенные в проект ФС на растительное сырье «Фацелии пижмолистной трава», в учебный процесс кафедры фармации внедрена методика количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту в траве фацелии пижмолистной.

В ФГБОУ ВО ДГМУ Минздрава России апробированы методики анализа основных БАВ, включенные в проект ФС на растительное сырье «Фацелии

пижмолистной трава», в учебный процесс кафедры фармации внедрена методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве фацелии пижмолистной.

Методология и методы исследования

Методология исследования фацелии пижмолистной травы основана на результатах изучения данных научной литературы о степени изученности выбранного объекта.

В работе использовали химические и физико-химические методы анализа. Проводили морфолого-анатомическое исследование согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV и XV издания. Из фацелии пижмолистной травы получали водные, водно-спиртовые извлечения. Качественный анализ проводили с использованием качественных реакций, тонкослойной хроматографии (ТСХ), ТСХ с фракционированием, как предварительные методы, и методом ВЭЖХ для достоверной идентификации. Количественное определение основных групп биологически значимых соединений проводили методом спектрофотометрии, титриметрии. Показатели качества (влажность, зола, экстрактивные вещества и др.) определяли гравиметрическим методом. Фармакологические исследования проведены с использованием стандартных методик.

Положения, выносимые на защиту:

– результаты фитохимического анализа компонентного состава основных БАВ фацелии пижмолистной травы;

– результаты морфолого-анатомического исследования фацелии пижмолистной травы;

– результаты разработки методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот и флавоноидов, валидационная оценка методик;

– оптимальные сроки заготовки и сушки сырья, методики определения подлинности травы фацелии пижмолистной, результаты разработки показателей и норм качества;

– результаты изучения гиполипидемической активности на модели «твиновой» гиперлипидемии и модели острого алкогольного поражения печени, антимикробной активности извлечений из фацелии пижмолистной травы.

Степень достоверности и апробация результатов

Экспериментальные данные получены на современном оборудовании, отвечающем всем необходимым требованиям, в необходимых для аналитических методик повторностях. Результаты статистически обработаны, разработанные методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот и флавоноидов валидированы. По результатам экспериментальной части сформулированы основные выводы диссертационной работы.

Результаты диссертационного исследования доложены на конференциях: Всероссийская научная конференция молодых ученых и студентов с международным участием (Махачкала, 2019 г.); «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки» (Владикавказ, 2019 г.); Международная научно-практическая конференция «Беликовские чтения» (Пятигорск, 2019, 2020, 2022, 2023, 2024 гг.); Международная научно-практическая конференция «Актуальные вопросы современной фармакогнозии» (Пятигорск, 2023, 2024, 2025 гг.); Международная научно-практическая конференция «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» (Томск, 2021 г.); Международная научно-практическая конференция «Экологические и фармакогностические вопросы выращивания лекарственных растений» (Пятигорск, 2022 г.); Всероссийская научно-практическая конференция «Образование и наука – стратегическая платформа для будущего фармации» (Москва, 2023 г.); Международный съезд «Фитофарм – 2024» (Санкт-Петербург, 2024 г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки), а именно: п. 3 – разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления; п. 5 – изучение вопросов рационального

использования ресурсов лекарственного растительного сырья с учетом влияния различных факторов на накопление биологически активных веществ в сырье; п. 6 – изучение химического состава лекарственного растительного сырья, установление строения, идентификация природных соединений, разработка методов выделения, стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе; п. 7 – изучение биофармацевтических аспектов стандартизации и контроля качества лекарственного растительного сырья и лекарственных форм на его основе; изучение влияния экологических факторов на химические и биологические свойства лекарственных растений; оценка экотоксикантов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных средствах.

Личный вклад соискателя ученой степени в исследование

Выбор научной темы и анализ литературных данных по теме исследования. Проведение сбора изучаемых образцов сырья, проведение фитохимического исследования и выявление основных групп биологически активных веществ, разработка методики определения подлинности и качества сырья, проведение валидации методик. Все экспериментальные исследования выполнялись лично автором, обоснованы и обобщены полученные результаты экспериментов.

Личным вкладом являются подготовка материалов для публикаций, их оформление и выступления на научных конференциях различного уровня.

Публикации по диссертации

По теме диссертационного исследования опубликовано 18 научных статей, входящих в РИНЦ, из которых 5 статей опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 179 страницах машинописного текста, включает 44 таблицы и 30 рисунков, 144 источника литературы, в том числе 46 источников на иностранном языке, 8 приложений.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ БОТАНИЧЕСКИХ И ФИТОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ФАЦЕЛИИ ПИЖМОЛИСТНОЙ (*PHACELIA TANACETIFOLIA BENTH.)*

1.1 Систематическое положение *Phacelia tanacetifolia Benth*., ботаническая характеристика

Статус семейства *Hydrophyllaceae* неопределен и дискуссионен. Согласно классификации А.Л. Тахтаджяна – это самостоятельное семейство, относящееся к порядку Синюховые (*Polemoniales*) подкласс Астериды. В более поздних классификациях А.Л. Тахтаджяна семейство было отнесено к порядку Пасленовые (*Solanales*) подкласса Ламииды (*Lamiidae*), затем к порядку бурачникоцветные (*Boraginales*) того же подкласса [23].

Согласно западным системам цветковых растений, включая популярную базу The Plant of the World, семейство *Hydrophyllaceae* вообще не выделяется, либо выделяется в ранг подсемейства в составе семейства Бурачниковые (*Boraginaceae*), порядка Бурачникоцветные (*Boraginales*)[24].

В настоящее время актуальной признается система цветковых растений APG IV (Angiosperm Phylogeny Group 4th edition), согласно которой фацелия пижмолистная (*Phacelia tanacetifolia Benth.)* относится к семейству Бурачниковые (*Boraginaceae*) [25].

Раннее при изучении систематического положения фацелии пижмолистной и написании статей, тезисов для публикации, мы указывали, что растение относится к семейству Водолистниковые (*Hydrophyllaceae).* Однако, на момент оформления диссертационной работы, в научной литературе также появились сведения о том, что виды фацелии, в том числе фацелия пижмолистная, отнесены к семейству Бурачниковые (*Boraginaceae).*

Известно, что подсемейство *Hydrophyllaceae* (семейства *Boraginaceae*) включает 16 видов [24]. Все представители исключительно американские виды, не встречающиеся в естественной флоре Старого Света (Таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика представителей подсемейства *Hydrophyllaceae*

Род	Количество видов	Ареал	Жизненная форма
Draperia Torr. (драперия)	1	Калифорния	Многолетняя трава
Ellisia L. (эллизия)	1	Большая часть Сев. Америки, кроме Канады	Однолетняя трава
Emmenanthe Benth. (эмменанте)	1	Калифорния, северо-западная Мексика	Однолетняя трава
Eriodictyon Benth. (эриодиктион)(1)	9	Юго-запад США, северо-запад Мексики	Многолетние травы или кустарники
Eucrypta Nutt. (эукрипта)	2	Юго-запад США	Однолетние травы
Hesperochiron S.Watson (гесперохирон)	4	Западные штаты США, северо-запад Мексики, запад Канады	Многолетние травы
Howellanthus Walden&R.Patt. (хауэлантус)(2)	1	Северная Калифорния	Многолетние травы
Hydrophyllum L. (водолистник)	10	Почти вся территория США и большая часть Канады	Многолетние и двулетние травы
Nama L. (нама)(1)	54	Западные регионы США, Мексика, Центральная Америка, западные страны Южной Америки	Однолетние (реже многолетние) травы
Nemophila Nutt. (немофила)	13	Западные и юго-восточные штаты США, северо-запад Мексики	Однолетние травы
Phacelia Juss. (фацелия)	186	Почти вся территория США, южная часть Канады, Мексика и север Центральной Америки. Аргентина, Чили, Боливия, Перу	Однолетние и многолетние травы
Pholistoma Lilja (фолистома)	3	Калифорния, Аризона, северная Мексика	Однолетние травы
Romanzoffia Cham. (романзоффия)	5	Западные регионы Северной Америки: от Калифорнии до Аляски	Однолетние и многолетние травы
Tricardia Torr. (трикардия)	1	Пустыни западных штатов США	Многолетняя трава

Окончание таблицы 1 – Характеристика представителей подсемейства *Hydrophyllaceae*

Turricula A.Gray (туррикула)(1,3)	1	Южная Калифорния, северо-западная Мексика	Кустарник
Wigandia Kunth (вигандия)(1)	2	Мексика, Центральная Америка, северо-запад Южной Америки	Кустарники
Примечание: 1 - Выделенные из семейства *Hydrophyllaceae* в семейство *Namaceae* (2016) 2 - Иногда включается в род *Phacelia* (данные Plants of the World) 3 - Иногда включается в род *Eriodictyon* (Plants of the World)			

Как видно из данных таблицы 1 род Фацелия самый многочисленный в семействе, насчитывающий 186 видов, далее следуют роды: нама (54 вида), немофила (13 видов), водолистник (10 видов) и эриодиктион (9 видов).

Представители семейства в основном травянистые растения – однолетние или многолетние; реже встречаются кустарники и полукустарники. Кустарниковые формы больше характерны для рода эриодиктион. Многие водолистниковые приурочены к сухим ландшафтам.

Представители многочисленного рода *Phacelia* имеют обширный ареал, охватывающий почти всю Южную Америку и почти всю Северную Америку, простираясь на север до Аляски.

Характеристика рода *Phacelia Juss.*

Род *Phacelia* – самый многочисленный в семействе *Boraginaceae*, включающий от 186 до 209 видов [24].

Все фацелии – одно- или многолетние травы (возможны двулетние). Ареал обитания фацелий простирается от Аляски на севере до Аргентины на юге и больше тяготит к западной половине Американского континента. В то же время фацелия не встречается на полуострове Лабрадор (Канада) и в тропических лесах Бразилии, Венесуэлы и Колумбии. Естественные ландшафты обитания фацелии – сухие леса, степи и полупустыни, в том числе горные [7].

Для фацелий характерно цимоидное соцветие – завиток или извилина, объединенное в зонтиковидный тирс. Цветки правильные, околоцветник двойной,

пятичленный, венчик часто ярко окрашен в синий, фиолетовый или розовый цвет. Тычинок 5, у некоторых видов тычинки выступают из зева венчика. Плод – коробочка. Листья у разных видов фацелий варьируются от простых округлой формы листьев до сложных непарно-перисторассеченных.

Некоторые виды фацелии были введены в культуру в России [26]. В настоящее время в нашей стране культивируется 5 видов: фацелия шелковистая (*Phacelia sericea (Graham) A.Gray*), фацелия колокольчатая (*Phacelia campanularia A.Gray*), фацелия скрученная (*Phacelia congesta Hook*.), фацелия пурша (*Phacelia purshii Buckley*), фацелия пижмолистая (*Phacelia tanacetifolia Benth.)* [27].

Причем, первые четыре вида известны только как декоративные, и недостаточно широко распространены в культуре. Наиболее известна фацелия пижмолистная, которая попала в Россию в 19-м веке. Характеристика видов фацелии, интродуцируемых на территории России представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Виды фацелии, интродуцируемые на территории России

Вид	Ареал	Ботаническая характеристика	Использование
Фацелия шелковистая (*Phacelia sericea (Graham) A.Gray*)	Западные штаты США, Аляска, западная Канада	Многолетнее невысокое растение с большим колосовидным тирсом ярко-пурпурных цветков	Декоративное растение
Фацелия колокольчатая (*Phacelia campanularia A.Gray*).	Калифорния, Аризона	Однолетнее растение. Венчик ярко-синий	Декоративное растение
Фацелия скрученная (*Phacelia congesta Hook*.).	Северная и северо-восточная Мексика, Техас, Оклахома	Однолетнее либо двулетнее травянистое растение. Соцветие – тирс из крупных завитков	Декоративное растение; медонос
Фацелия пурша (*Phacelia purshii Buckley*)	Восточные штаты США, Онтарио (Канада)	Однолетнее растение	Декоративное растение; медонос

Окончание таблицы 2 – Виды фацелии, интродуцируемые на территории России

Фацелия пижмолистая (*Phacelia tanacetifolia Benth.*)	Калифорния, Аризона, Невада, северо-западная Мексика	Однолетнее растение. Венчик светло-фиолетово-синий	Медонос, сидерат

Характеристика вида *Phacelia tanacetifolia Benth.*

Фацелия пижмолистная является однолетним травянистым растением, высота которого может варьироваться от 60 до 120 см. В 1832 году фацелия была привезена в Шотландию собирателем растений Давидом Дугласом (1798-1834) после его путешествия по Северной Америке и Калифорнии. Затем её описал английский ботаник Г.Бентам в 1837 году. Вскоре фацелия попала и в Германию, а затем распространилась по всей территории Европы, в том числе и в России. Растение полностью покрыто густыми короткими и редкими длинными белыми волосками. Стебель прямостоячий, ветвящийся в верхней части. Листья очередные, перисто-рассеченные, длиной 8–9 см, шириной 4–5,5 см, неравномерно пильчато-зубчатые по краю, по форме и расчленению напоминают листья пижмы обыкновенной, что послужило присвоению видового названия [28].

Соцветие фацелии пижмолистной можно охарактеризовать как цимоид, что свойственно Бурачниковым. Соцветие представляет собой тирс из крупных колосовидных завитков. Цветки актиноморфные, иногда в соцветиях могут быть слегка зигоморфные, околоцветник двойной, собраны в густое одностороннее соцветие – колосовидный завиток.

Чашечка сростнолистная, 6–7 мм длиной, из пяти чашелистиков. Венчик сростнолепестный длиной 8 мм, колокольчатой формы, с ушками, лепестков пять, цвет венчика светло-фиолетовый, который в зависимости от фазы цветения может менять окраску. Тычинок пять, длинных отчетливо выступающих, цвет тычинок совпадает с цветом лепестков, что может выступать как характерный диагностический признак данного вида. Гинецей ценокарпный из двух плодолистиков, формирующий пестик. Плод – двустворчатая коробочка, шаровидной или яйцевидной формы [7, 28].

Изучение морфологических особенностей производящего растения, а затем морфологических и анатомических характеристик сырья – травы фацелии пижмолистной, позволит установить основные макро- и микроскопические диагностические признаки (глава 4).

1.2 Географическое распространение и этнофармакология фацелии пижмолистной

Родиной фацелии пижмолистной является западная часть Северной Америки: штаты Калифорния, Аризона (США); Верхняя и Нижняя Калифорния, Сонора и прилежащие территории (Мексика). Произрастает в сухом субтропическом климате. Поднимается в горы до высоты 1500 над уровнем моря[7,28].

Несмотря на то, что естественный ареал фацелии пижмолистной расположен в субтропическом географическом поясе, растение легко вводится в культуру в странах с умеренным климатом, вплоть до северного полярного круга. В настоящее время фацелия пижмолистная распространена почти по всей территории США и большей части Канады. Введена в культуру практически во всех странах Европы [29].

Мёд фацелии широко применяется в китайской народной медицине, он является хорошим мочегонным средством, обладает эстрогенным действием, сильным омолаживающим эффектом, полезен при лечении заболеваний носовых пазух, поддерживает уровень холестерина в крови, оказывает дезинфицирующее и увлажняющее кожу действие, помогает при лечении ожогов [21].

В России, в Западной Сибири мёд используется в народной медицине для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечных: гастрит, язвенная болезнь желудка; как общеукрепляющее и противовоспалительное средство [22].

Фацелия пижмолистная является ценным растением – сидератом. Как отмечают Schappert et al., фацелия более эффективно покрывает почву при

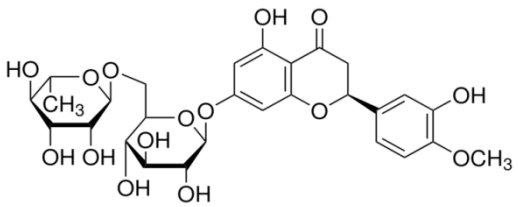
выращивании в монокультуре, а не в смесях, что оказывает большое влияние на уменьшение поверхностной эрозии [30]. Кроме того, она подавляет рост сорняков [31] и улучшает структуру почвы [32]. Tursun et al. доказали, что фацелия как покровная культура в абрикосовых садах уничтожает сорняки почти на 75% [33]. Живая фацелия менее эффективна, чем, например, глифосат или механическая борьба с сорняками, но после скашивания или вспашки она более эффективна, чем эти обработки. Некоторые авторы (Wesołowski M. et al) указывают, что участок после фацелии, по сравнению с горчицей белой (*Sinapis alba L.*), характеризуется большей численностью и биоразнообразием сопутствующих растений, например, при органическом возделывании овса [34]. На основании изучения стресса от засухи у растений в тепличном эксперименте было обнаружено, что фацелия пижмолистная имеет гораздо более высокую устойчивость к уменьшению количества воды по сравнению с *Sinapis alba L.* (Горчица белая) и *Avena strigosa Schreb*. (Овес щетинистый) [35]. Handlířová et al. обнаружили, что в агроэкосистеме с высокой среднегодовой температурой и малым количеством осадков фацелия достигает более высоких и стабильных урожаев по сравнению с гречихой посевной (*Fagopyrum esculentum Moench*.) [36-40].

1.3 Химический состав *Phacelia tanacetifolia Benth.*

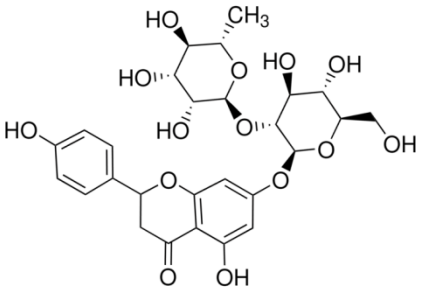
До недавнего времени поиск информации о химическом составе растения в научной литературе являлся трудной задачей. В связи с расширением площадей выращивания фацелии пижмолистной не только за рубежом, но и в России, все чаще исследователи занимаются изучением химического состава различных частей растения.

Так, изучение состава корней, листьев, стеблей и цветков фацелии методом ВЭЖХ позволило определить наличие фенольных соединений: некоторых фенолкарбоновых кислот и флавоноидов. В результате анализа учеными были обнаружены фенолкарбоновые кислоты: галловая, кофейная, 4-

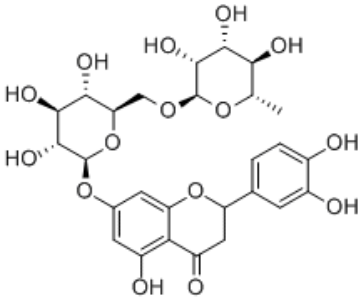
гидроксибензойная, 3,4-дигидроксибензойная; и флавоноиды: рутин, гесперидин, кверцетин, нарингенин, эриоцитрин (Рисунок 1) [9]. Обнаружение фенольных соединений проводилось с использованием извлечений, полученных из цветков, листьев, стеблей и корней фацелии пижмолистной. Количество фенольных соединений (фенолкарбоновых кислот и флавоноидов) в извлечениях фацелии составило 21,9 мкг/г [9].



Гесперидин



Нарингин



Эриоцитрин

Рисунок 1 – Гесперидин, Нарингин, Эриоцитрин
(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

Во всех исследованных образцах фацелии, проанализированных методом УВЭЖХ-МС/МС (ультра высоко-эффективная жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией), преобладали рутин и 4-гидроксибензойная кислота, однако существенной разницы между их содержанием в цветках и листьях не выявлено. Наибольшее содержание флавоноидов обнаружено в цветках фацелии (от 0,16 до 13 922 нг/г). Соединениями с самыми высокими концентрациями в образцах цветков был рутин, за ним следуют гесперидин и неогесперидин. Также более высокое содержание 4-гидроксибензойной кислоты наблюдалось в цветках фацелии (от 0,80 до 4784 нг/г). Данные, полученные для гиппуридной кислоты, 3-гидроксибензойной и 3-гидроксипиколиновой кислот, в

основном указывали на более низкие концентрации по сравнению с другими кислотами. На рисунке 2 представлены MRM-хроматограммы (multiple reaction monitoring – метод множественных реакций) для отобранных полифенолов, полученных после анализа экстрактов цветков, листьев, стеблей и корней фацелии. Результаты проведенного анализа химического состава разных частей фацелии пижмолистной приведены в таблице 3.

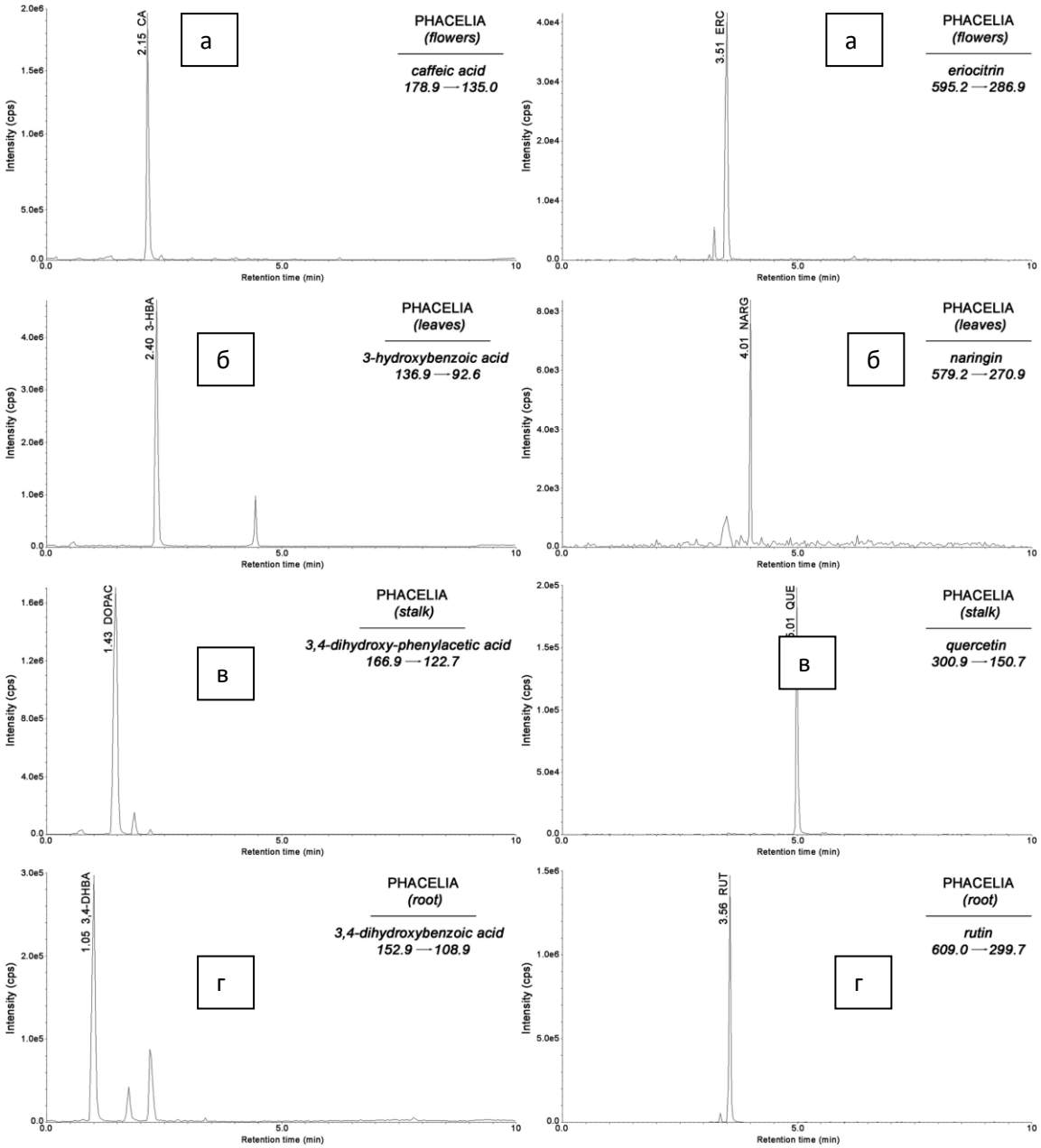
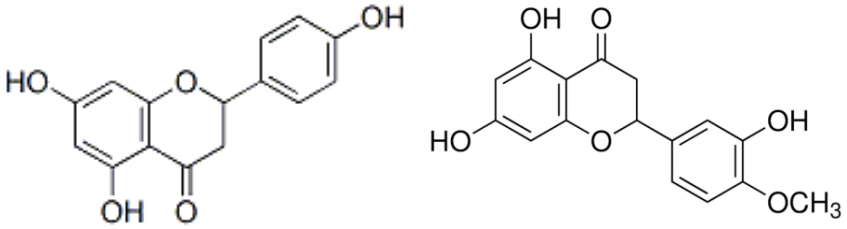


Рисунок 2 – Хроматограммы отдельных представителей фенольных соединений, содержащихся в различных частях фацелии пижмолистной (а – цветки, б – листья, в – стебли, г – корни)

Kruk J. и соавторы (2019 г.) в своем исследовании методом RP-UHPLC-ESI-MS/MS изучали распределение некоторых флаванонов (эриодиктиол, нарингенин, ликвиритигенин, гесперетин (Рисунок 3)) – энантиомеров в свободной форме и связанных с гликозидами в разных частях фацелии пижмолистной.



Нарингенин Гесперетин

Рисунок 3 – Нарингенин, Гесперетин
(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/S_-Naringenin)

В результате наибольшее содержание гесперетина определено в листьях фацелии (0,38 мкг/г), где он присутствовал в виде гликозида и только в виде (S)-энантиомера [41]. Количественное содержание исследуемых авторами флавоноидов в траве фацелии пижмолистной представлено в таблице 3.

Таблица 3 – Содержание химических веществ в различных частях фацелии пижмолистной, согласно Bajkacz et al. [9] – (B), и Kruk et al. [41] – (K)

Химический состав	Концентрация, нг/г$^{-1}$			
	Корни	Стебли	Листья	Цветки
Ароматические кислоты				
3,4-DHBA (3,4-дигидроксибензойная)	211,90 (B)	212,90 (B)	230,20 (B)	347,50 (B)
DOPAC (3,4-дигидроксифенилуксусная)	380,60 (B)	1199,0 (B)	1956,0 (B)	868,90 (B)
4-HBA (4-гидроксибензойная)	4049,0 (B)	3809,0 (B)	3915,0 (B)	4784,0 (B)
CA (кофейная кислота)	1444,0 (B)	873,0 (B)	911,90 (B)	404,10 (B)
HA (гиппуридная кислота)	0,73(B)	0,76 (B)	27,10 (B)	0,80 (B)
3-HBA(3-гидроксибензойная)	2,47(B)	0,27 (B)	0,34 (B)	21,60 (B)
3-HPA (3-гидроксипиколиновая)	0,22 (B)	0,20 (B)	1,37 (B)	7,90 (B)
HVA (4-гидрокси-3-метоксифенилуксусная)	43,50 (B)	25,0 (B)	13,0 (B)	24,10 (B)

Окончание таблицы 3 – Содержание химических веществ в различных частях фацелии пижмолистной, согласно Bajkacz et al. [9] – (В), и Kruk et al. [41] – (К)

3,4-HPPA (4-гидрокси-фенилпировиноградная)	237,20 (В)	141,40 (В)	161,50 (В)	77,90 (В)
p-CA (пара-кофейная кислота)	324,80 (В)	11778,0 (В)	297,90 (В)	173,40 (В)
FA (феруловая кислота)	823,80 (В)	608,10 (В)	610,10 (В)	385,60 (В)
BA (бензойная кислота)	197,30 (В)	170,90 (В)	360,90 (В)	648,50 (В)
Флавоноиды				
ERC (эриоцитрин)	-	-	3,09 (В)	3,09 (В)
ERI (эриодиктиол)	0,19 (В)	2,50 (В)	25,80 (В)	21,30 (В)
FIS (физетин)	-	-	-	14,70 (В)
HSD (гесперидин)	0,97 (В)	57,60 (В)	66,50 (В)	93,10(В)
HST (гесперетин)	0,42 (В)	-	0,67 (В)	0,16 (В)
NAR (нарингенин)	1,00 (В)	0,99 (В)	1,88 (В)	1,60 (В)
NARG (нарингин)	-	0,31 (В)	-	0,78 (В)
NHSD (неогесперидин)	0,52 (В)	34,10 (В)	22,20 (В)	62,10 (В)
NRI (нарирутин)	4,75 (В)	7,60 (В)	3,60 (В)	7,80 (В)
PIN (пиноцембрин)	-	-	0,33 (В)	0,24 (В)
QUE (кверцетин)	0,27 (В)	74,30 (В)	58,10 (В)	20,60 (В)
R-ERI (R-энантиомер эриодиктиола)	-	365,0 (К)	2574,0 (К)	1502,0 (К)
R-NAR (R-энантиомер нарингенина)	-	141,0 (К)	230,0 (К)	311,0 (К)
RUT (рутин)	2336,0 (В)	1129,0 (В)	10296,0 (В)	13992,0 (В)
S-ERI (S-энантиомер эриодиктиола)	-	460,0 (К)	4752,0 (К)	4461,0 (К)
S-HST (S-энантиомер гесперетина)	-	210,0 (К)	380,0 (К)	244,0 (К)
S-NAR (S-энантиомер нарингенина)	-	724,0 (К)	1298,0 (К)	1656,0 (К)
TAX (дигидрокверцетин)	4,00 (В)	1,59 (В)	5,90 (В)	0,79 (В)

Все чаще встречаются научные работы по изучению фацелии пижмолистной отечественными исследователями. Так, Оленников Д. Н. и соавторы в результате проведения высокоэффективной жидкостной хроматографии с фотодиодным детектором и времяпролетным масс-детектором (ВЭЖХ-ФДД-ВП-МС) в траве фацелии пижмолистной обнаружили флавоноиды, гидроксициннаматы и феноламиды [42]. Среди флавоноидов впервые были выявлены тифанеозид, кемпферол 3-О-неогесперидозид, календофлавозид,

изокверцитрин, никотифлорин, нарциссин, астрагалин, изорамнетин 3-О-глюкозид, изоориентин, космосиин, кверцетин 3`-О-глюкозид. Обнаруженные в траве фацелии пижмолистной гидроксициннаматы являлись циннамоилхинными кислотами (монокофеилхинные: 1-О-кофеилхинная (транс-), 4-О-кофеилхинная (транс-), 5-О-кофеилхинная (транс-), 3-О-кофеилхинная (транс-), 5-О-кофеилхинная (цис-) и моноферулоилхинные: 1-О-ферулоилхиинная (транс-), 4-О-ферулоилхинная (транс-), 5-О-ферулоилхинная (транс-), 5-О-ферулоилхинная (цис-), 3-О-ферулоилхинная (цис-). Среди установленных феноламидов можно выделить производные спермидина (саффлоспермидины А и В), а также выделен новый феноламид - фацелиазид, содержание которого было наибольшим [42].

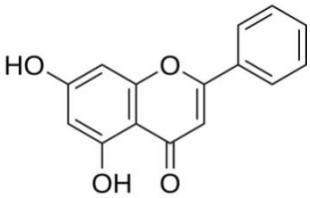
Проведение количественной оценки данных групп веществ в 8 отечественных сортах фацелии пижмолистной позволило установить содержание флавоноидов (от 0,99 до 3,61 мг/г), фенилпропаноидов (от 1,53 до 15,69 мг/г), гидроксициннаматов (от 0,57 до 5,71 мг/г) и феноламидов (от 0,89 до 9,5 мг/г) [42].

Во всем мире известны ценные свойства фацелиевого меда. Так, согласно результатам исследований этого продукта идентифицированы основные природные соединения, отвечающие за его физиологическую активность, известен минеральный состав, а также подробно описаны свойства меда фацелии [18].

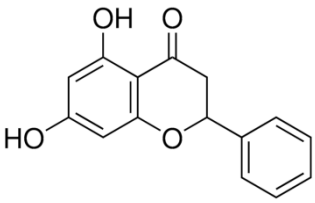
Растущая доступность больших площадей этого нектароносного растения, позволяет чаще получать монофлерный «фацелиевый мед», который до сих пор является довольно редким сортом [21]. Таким образом, важность изучения его состава с точки зрения потенциально полезных соединений, а также маркеров растительного происхождения, полезных для обеспечения его качества, становится все более актуальной [43].

Антиоксидантная, антибактериальная, противовирусная, противовоспалительная, антитромботическая и противоаллергическая способность меда объясняется многими факторами, такими как pH, содержание сахара, уровень перекиси водорода и содержание фенольных соединений,

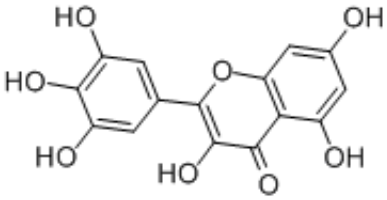
большинство из которых присутствуют в виде флавоноидов [43,44]. Благотворное влияние флавоноидов на здоровье человека обусловлено их антиоксидантной активностью в отношении катионов двухвалентных переходных металлов, участвующих в процессах образования радикалов [19, 45, 46, 47]. Основными соединениями, отвечающими за антиоксидантную активность меда, являются флавоноиды (хризин, пиноцембрин, кверцетин, галангин, кемпферол, гесперидин и мирицетин (Рисунок 4)), фенольные кислоты (кофейная, кумаровая, эллаговая, феруловая и хлорогеновая кислоты), аскорбиновая кислота, каталаза, пероксидаза, каротиноиды [48].



Хризин



Пиноцембрин



Мирицетин

Рисунок 4 – Основные флавоноиды фацелиевого меда
(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

Многочисленные исследования химического состава меда проводились в Польше. В 2019 году польскими учеными был проведен анализ химического состава меда фацелии, в результате которого были качественно и количественно обнаружены фенольные кислоты: галловая, кофейная, феруловая, хлорогеновая, а также флавоноиды: кверцетин, кемпферол, мирицетин, нарингенин, апигенин [20]. Соединениями с наибольшим содержанием в меде были кверцетин (0,293мг±0,008) и кемпферол (0,304мг±0,036) на 100г меда. Также ими была изучена антиоксидантная активность фацелиевого мёда спектрофотометрическим методом, основанном на взаимодействии антиоксидантов со стабильным хромоген-радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом. Метод УВЭЖХ позволил выявить в составе фацелиевого меда следующие химические вещества: 6 соединений азота, включая ароматические аминокислоты (тирозин (14,66±10,22 мг/кг), фенилаланин (20,41±11,99 мг/кг)), производные пурина (аденин

(18,45±4,63 мг/кг), ксантин (10,53±2,98 мг/кг)), нуклеозид уридин (42,84±9,26 мг/кг) [18].

По данным научной литературы, основным компонентом фацелиевого меда венгерского происхождения является флавонон – гесперидин, а в минеральном составе преобладающими элементами являются калий, магний, кальций и натрий (Таблица 4) [48].

Таблица 4 – Минеральный состав монофлорного меда фацелии пижмолистной

Тип меда	Происхождение	K, мг/кг	Mg, мг/кг	Ca, мг/кг	Na, мг/кг
Phacelia tanacetifolia	Венгрия	102-130	4,09-5,16	9,12-12,5	3,02-3,81

Сведения об использовании мёда фацелии пижмолистной в китайской народной медицине в качестве мочегонного, дезинфицирующего, противовоспалительного средства, а также его эстрогенное, гипохолестеринемическое, нормализирующее обменные процессы действие, позволили нам предположить, что данное растение содержит ценные БАВ и может стать объектом изучения его фармакологических свойств [21, 49, 50]. Особенно ценится мёд на основе фацелии лекарями Западной Сибири. Его используют для лечения гастрита, язвенной болезни желудка, как противовоспалительное, общетонизирующее средство, что подчеркивает перспективу проведения фармакогностического исследования данного растения [51,52].

1.4 Потенциал применения фацелии пижмолистной как источника биологически активных веществ

В настоящее время, сырье некоторых лекарственных растений, содержащих комплекс фенольных соединений, применяется в медицине и фармации для лечения и профилактики атеросклероза, для укрепления сосудов, как источник веществ, обладающих антиоксидантными, противовоспалительными свойствами

и антибактериальными свойствами [53]. Известно, что из сырья таких растений как боярышник (*Crataegus*), бессмертник песчаный *(Helichrysum arenarium (L.))*, шиповник майский *(Rosa majalis Herrm.)*, расторопша пятнистая *(Silybum marianum. (L.) Gaertn.)*, артишок колючий *(Cynara scolymus L.)*, в состав которых входят фенольные соединения, получены препараты как экстракт боярышника, «Фламин» (бессмертник), «Силибинин» и «Силимар» (расторопша), а также комплексный препарат «Сибектан», содержащий экстракты расторопши, пижмы, зверобоя и березы, «Хофитол» (артишок) и БАДы: КардиоАктив Боярышник, Кардио Боярышник Калий+Магний (Doppelherz), Кардиотон, Атероклефит Био, Гепатрин, Овесол, применяемые при заболеваниях сердечно - сосудистой системы, печени, для профилактики атеросклероза. Фацелия пижмолистная содержит соединения, относящиеся к данной группе, это фенолкарбоновые кислоты, различные флавоноиды, антоцианы и дубильные вещества.

Фенолкарбоновые кислоты представляют собой наибольший интерес как перспективная группа БАВ, поскольку является доминирующей в составе травы фацелии пижмолистной. Фенолкарбоновые кислоты имеют широкий спектр терапевтической активности, обладая антиоксидантной, противовоспалительной, желчегонной, антибактериальной и иммуномодулирующей активностью [54, 55, 56]. Фенолкарбоновые кислоты, входящие в состав сухого экстракта из листьев крапивы, проявили фармакотерапевтическую эффективность при экспериментальной гипоксии у белых крыс [57]. Также, было установлено, что данная группа биологически активных веществ, проявляет противовоспалительный эффект в отношении острого и хронического воспалительного процесса [58].

Кофеилхинные кислоты способны проникать через гематоэнцефалический барьер [59], обладают выраженными антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, способны ограничивать развитие сосудистых заболеваний и дегенеративных состояний нервной системы [60, 61].

Флавоноиды являются группой природных соединений, обладающей широким спектром фармакологического действия. Они являются мощными

антиоксидантами, обладают желчегонным, бактерицидным, спазмолитическим, кардиотоническим действием [62, 63]. На их основе в настоящее время получены противовоспалительные, противоязвенные, желчегонные, гепатопротекторные препараты с гипогликемическим и антимикробным действием [64].

В научной литературе имеются сведения о том, что растительные фракции, содержащие дубильные вещества и флавоноиды, проявляют ритмомодулирующую и антиоксидантную активность [65, 66].

Ярко выраженным представителем флавоноидов, обладающим наиболее выраженными антиоксидантными свойствами является кверцетин. Благодаря особенностям строения химической структуры, кверцетин обладает наибольшей способностью гасить свободные радикалы. Большое значение в механизме антиоксидантного действия флавоноидов имеет хелатирование металлов переменной валентности. Флавоноиды легко связывают ионы таких переходных металлов, как железо и медь, которые, инициируя перекисное окисление, способствуют образованию свободных радикалов. По мнению многих исследователей, хелатирование металлов является наиболее эффективным путем подавления процессов перекисного окисления флавоноидами [46].

Была установлена антирадикальная активность кверцетина и дигидрокверцетина путем измерения ингибирования Fe^{2}/аскорбат-зависимого набухания митохондрий печени крыс на фотометре ЛМФ-69. Результаты показали, что кверцетин и дигидрокверцетин оказывают протекторное действие на митохондрии [67]. Имеются данные о способности флавоноидов оказывать воздействие на различные аспекты синаптической пластичности путем активации нейрональных рецепторов и сигнальных белков, что приводит к восстановлению нейронов и долгосрочному потенцированию [68].

Флавоноиды – перспективный класс соединений для получения на их основе новых антимикробных средств [69, 70 , 71, 72]. Они обладают высоким потенциалом применения в антимикробной терапии таких заболеваний, как хронический пиелонефрит, стафилококковая пневмония, бактериальные стафилококковые поражения кожи, а также ряд нозокоминальных инфекций [64].

Так, есть данные об антимикробной активности теафлавинов в отношении возбудителей нозокоминальных инфекций (*Stenotrophomonas maltophilia* и *Acinetobacter baumannii*) in vitro [64, 73]. Вогонин имеет значительную антифунгальную активность в отношении грибков *Alternaria alternata* – причины респираторных заболеваний и бронхиальной астмы [64, 74]. Имеются данные о том, что сумма флавоноидов обладает лучшим терапевтическим эффектом, нежели применение изолированных соединений [64]. Применение препарата, содержащего экстракт ортосифона тычиночного, травы горца птичьего, листьев толокнянки обыкновенной, у больных с осложненным хроническим пиелонефритом сопровождается достоверным снижением бактериурии [64, 75].

Среди условно-патогенных микроорганизмов, которые составляют нормальную микрофлору тела человека, этиологически значимыми агентами могут являться грамположительные кокки, в первую очередь стафилококки, грамотрицательные палочки семейства энтеробактерий, например: *Escherichia coli, Klebsiella pneumonia* [76]. Исходя из сказанного, интерес для изучения представляет лекарственное растительное сырьё, которое потенциально обладает антимикробной активностью. Поскольку фацелия пижмолистная содержит в своем составе такие группы соединений как флавоноиды и дубильные вещества, то она потенциально может относиться к таким лекарственным растениям.

Антоцианы – это водорастворимые растительные пигменты, отвечающие за голубую, пурпурную и красную окраски различных вегетативных частей растений. Яркая окраска цветков имеет большую роль, привлекая насекомых-опылителей [77]. Антоцианы обладают антиканцерогенным действием, уменьшают риск развития сердечно - сосудистых заболеваний, улучшают остроту зрения, а также проявляют антиоксидантную активность. Как антиоксиданты, они показывают большую эффективность, чем α-токоферол и аскорбиновая кислота. Кроме того, антоцианы характеризуются противовоспалительными, антимикробными, гепатопротекторными свойствами [78].

Использование фенольных соединений в качестве средств предупреждения и уменьшения риска развития различных сердечно-сосудистых заболеваний

(ССЗ), а также перспектива создания на их основе новых высокоэффективных лекарственных препаратов представляет огромный практический интерес исходя из того, что каждый год от ССЗ умирает от 17,9 до 20,5 млн человек, из них на Россию приходится около полумиллиона смертей ежегодно. А в период с 2025 по 2050 год, по прогнозу Всемирной организации здравоохранения, ожидается 90% прироста распространенности ССЗ и 73% прироста смертности [79].

В настоящее время многие ученые и практикующие врачи отмечают кардиоваскулярную составляющую постковидного синдрома: перикардит, эндокардит, миокардит, инфаркт миокарда, инсульт, аритмии, тромбоэмболические события [80, 81]. Весьма актуальным остается изучение данного вопроса в возрастном аспекте, когда страдает в первую очередь система жизнеобеспечения – сердечно - сосудистая, дыхательная, мочевыделительная [82, 83].

Избыточная масса тела и ожирение также могут привести к ранней дисквалификации и сокращению активной профессиональной деятельности. Поэтому, для продления профессионального долголетия целесообразно использовать такой подход современной медицины, как профилактика.

Исходя из сказанного, имеющиеся данные об изученности фацелии пижмолистной, ее применении в народной медицине и потенциала применения в медицине и фармации как гиполипидемическое, гепатопротекторное и антимикробное средство, могут стать основой для разработки препаратов и БАДов на ее основе [84, 85].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ

1. Проблема расширения номенклатуры отечественных лекарственных средств на основе лекарственных растений, используемых для лечения и профилактики избыточной массы тела и ожирения, продления активного долголетия, актуальна.

2. Анализ научной информации, представленной в литературе, позволил выделить растения и группы БАВ, содержащие фенольные соединения, особенно комплекс фенолкарбоновых кислот и флавоноидов, как перспективных для разработки фитопрепаратов, рекомендуемых для снижения избыточной массы тела. К таким малоизученным растениям можно отнести фацелию пижмолистную.

3. Фацелия пижмолистная в России известна как ценный медонос и сидерат, однако, о ее применении в медицине сведения отсутствуют. О целесообразности фармакогностического изучения фацелии пижмолистной как потенциального объекта для обоснования и разработки препаратов для профилактики и лечения указанной патологии, свидетельствуют ряд факторов:

- в фармакотерапевтический эффект по снижению уровня холестерина и регуляции липидного обмена значительный вклад вносят вещества - метаболиты растений, обладающие гиполипидемической активностью: гидроксикоричные (фенолкарбоновые) кислоты, флавоноиды, антоцианы, высокомолекулярные танины и др., поэтому задача данного исследования – определить содержание БАВ в надземной части фацелии пижмолистной;

- фацелия пижмолистная содержит фенольные соединения (фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды, антоцианы и др.), однако, в литературе отсутствуют данные о количественном содержании основных групп БАВ;

- не разработаны методики качественного и количественного определения БАВ в фацелии пижмолистной;

- сведения по агротехнике фацелии пижмолистной подтверждают, что растение неприхотливо, легко размножается семенами, биологические

особенности роста и развития могут быть основой для механизированной обработки на всех этапах получения растительного сырья.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования

Объектом исследования выступала трава фацелии пижмолистной, собранная в фазу массового цветения из разных мест культивирования сорта «Услада», трава фацелии Пурша (образец 10) и фацелии колокольчатой (образец 11):

Образец 1: ФГБНУ «Северо-кавказский научный агрономический центр», в окрестности г. Михайловска, 2018г., сорт «Услада»;

Образец 2: Ставропольский край, Нефтекумский район, 2022г.;

Образец 3: Ставропольский край, Ботанический сад ПМФИ, 2022г.;

Образец 3.1: Ставропольский край, Ботанический сад ПМФИ, 2023г.;

Образец 3.2: Ставропольский край, Ботанический сад ПМФИ, 2024г.;

Образец 4: Республика Дагестан, окрестности г. Махачкала, 2023г.;

Образец 5: Республика Дагестан, окрестности г. Каспийск, 2023г.;

Образец 5.1: Республика Дагестан, окрестности г. Каспийск, 2024г.;

Образец 6: Краснодарский край, станица Северская, 2024 г.;

Образец 7: Кабардино-Балкарская Республика, район Зольский, 2024г;

Образец 8: Ставропольский край, Ботанический сад ПМФИ, 2024г. (фаза бутонизации);

Образец 9: Ставропольский край, Ботанический сад ПМФИ, 2024г. (фаза плодоношения);

Образец 10: Ставропольский край, пос. Горячеводский, 2018г. (фаза цветения);

Образец 11: Ставропольский край, пос. Горячеводский, 2018г. (фаза цветения).

Образцы сушили воздушно-теневым путем под навесом, без попадания солнечного света (образцы 1-11), конвективным способом сушки (образец 3.1), в СВЧ-печи без/с предварительным подвяливанием (образец 3.2).

2.2 Оборудование и реактивы

В работе использовали оборудование и приборы, отвечающие нормам надлежащей лабораторной практики, имеющим на момент исследования соответствующую аттестацию и квалификацию.

Пробоподготовка проводилась в соответствии с конкретными методиками определения БАВ. При проведении исследований использовали следующую лабораторную посуду: весы аналитические (ГОСТ Р 53228-2008), тигли фарфоровые (ГОСТ 9147-80), бюксы (ГОСТ 25336-82), конические колбы плоскодонные со шлифом вместимостью 100 мл, 250 мл, 500 мл (ГОСТ 25336-82), мерные колбы вместимостью 25 мл (ГОСТ 1770-74), пробирки лабораторные (ГОСТ 25336-82, ГОСТ 10515-75), бюретка для титрования типа 1 исполнения 3 без крана вместимостью 50 мл (ГОСТ 29251-91), обратный холодильник шариковый (ГОСТ 25336-82), воронка лабораторная (ГОСТ 25336-82), бумага фильтровальная лабораторная (ГОСТ 12026-76), фарфоровая ступка с пестиком (ГОСТ 9147-80). Реактивы классификации ч.д.а.: гидроокись натрия (ГОСТ 2263-79, Россия), уксусная кислота ледяная (ТУ 6-09-5467-90, «ЛенРеахим», Россия), серная кислота (ГОСТ 4204-77, ВЕКТОН, Россия), кислота соляная (ГОСТ 3118-77, ВЕКТОН, Россия), железо хлорное 6-водное (ГОСТ 4147-74 «НеваРеактив», Россия), этилацетат (ГОСТ 22300-76, ВЕКТОН, Россия), хлороформ (ВЕКТОН, Россия), спирт этиловый (ГФ РФ XV ФС.2.1.10178), магниевая пыль, лакмусовая бумага для определения pH среды. Реактивы хранили в темных склянках с притертыми пробками. В работе использовали муфельную печь ПРО-МЭП 1150-52 (СПб, 2020), микроскоп Микромед 1 вар.3-20 (Россия), Микромед 3 ЛЮМ (ООО «Наблюдательные приборы», Россия), цифровую камеру HY-1139 (Hayear, Китай), сушильная камера лабораторного типа «Venticell» (Чехия, BMTa.S.), микроволновую печь (мощность 500 Вт), жидкостной хроматограф Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, США) с УФ – детектором VD-3000 (Thermo Scientific, США), колонку Zorbax SB-C18 250*4.6мм (Agilent, США), хроматографические пластинки «Sorbfil ПТСХ-П-А» (Россия,10*15), «Сорбфил

ПТСХ-АФ-Ф-УФ», высокоэффективные хроматографические пластинки «Sorbfil ПТСХ-П-В-УФ», роторный испаритель Stegler RI-213, шприц микролитровый «Microliter Syringes» S009001:2015 («Высокий голубь», Китай).

2.3 Методы исследования

2.3.1 Морфолого-анатомическое исследование

Морфологическое и анатомическое исследования изучаемого объекта проводились с использованием методик, описанных в ГФ РФ XIV издания: ОФС.1.5.1.0002.15 «Травы» и ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника макроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» [86].

Микрофотографии получали с использованием микроскопа Микромед 1 вар.3-20 (Россия) и цифровой камеры HY-1139 (Hayear, Китай), разрешение камеры 34 MP (34MegaPixel).

При изучении микроскопических признаков растений важным является установление количественной характеристики анатомо-диагностических признаков (метрических показателей): размер, частота встречаемости [87]. Количественную характеристику анатомо-диагностических признаков проводили с помощью окуляр - микрометра и объект - микрометра.

2.3.1.1 Люминесцентная микроскопия

Люминесцентную микроскопию проводили с использованием микроскопа Микромед 3 ЛЮМ (ООО «Наблюдательные приборы», Россия). Полученные результаты фиксировали с помощью цифровой камеры HY-1139 (Hayear, Китай). Фотографии получали в программе ScopePhoto 3.0.

2.3.2 Качественные реакции на основные группы биологически активных веществ

Спиртовое извлечение получали путем экстракции сырья спиртом этиловым 70% в соотношении 1:10 на водяной бане в колбе с обратным холодильником в течение 30 минут. Полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр.

Водное извлечение получали таким же способом, время экстракции составило 60 минут.

Все реакции стандартные [88].

Определение флавоноидов

Флавоноиды обнаруживали в спиртовых извлечениях качественными реакциями: цианидиновая проба, с 1% раствором железа (III) хлорида, с 2% раствором натрия гидроксида.

Определение дубильных веществ

Наличие дубильных веществ устанавливали в водном извлечении с 1% раствором железоаммонийных квасцов, со свинца ацетата раствором 10% в 10% уксусной кислоте, по реакции Стиасни.

Определение антоцианов

Антоцианы идентифицировали реакциями с раствором хлористоводородной кислоты 10%, с 2% раствором гидроксида натрия.

Определение сапонинов

Качественное определение сапонинов проводили в водном извлечении по реакции пенообразования, осаждения с ацетатом свинца основным и средним, реакции Сальковского и Лафона.

Определение полисахаридов

Обнаружение полисахаридов устанавливали в водном извлечении реакцией осаждения спиртом этиловым 96%.

2.3.3 Физико-химические методы

Тонкослойная хроматография

Для обнаружения фенольных соединений выбран метод тонкослойной хроматографии, с использованием хроматографических пластинок «Sorbfil ПТСХ-П-А» (Россия,10*15), «Сорбфил ПТСХ-АФ-Ф-УФ». Спиртовое извлечение 1:10 (раздел 2.3.2) травы фацелии пижмолистной наносили полосой с помощью шприца микролитрового «Microliter Syringes» S009001:2015 («Высокий голубь», Китай) и однопроцентные спиртовые растворы стандартных образцов хлорогеновой, галловой, феруловой, кофейной кислот, флавоноидов: рутина и кверцетина. Хроматографирование проводили восходящим способом в предварительно насыщенных камерах трехкратно в пяти разных системах растворителей: бутанол – уксусная кислота ледяная– вода (4:1:5) (система I), бутанол – уксусная кислота ледяная – вода (4:1:2) (система II), бутанол – уксусная кислота – вода – этилацетат (8:8:8:4) (система III), муравьиная кислота безводная – уксусная кислота ледяная – этилацетат – вода (1:1:10:2) (система IV), муравьиная кислота безводная – метанол – вода – этилацетат (2,5:4:4:10) (система V). Пластинки сушили на воздухе под тягой. Детектирование веществ проводили при просматривании в УФ-свете до и после обработки 2% спиртовым раствором алюминия хлорида при длине волны 254 нм [89].

Тонкослойная хроматография с предварительным фракционированием

Спиртовое извлечение 1:10 (раздел 2.3.2) упаривали под вакуумом при температуре 40-45°С на роторном испарителе Stegler RI-213. При проведении жидкость – жидкостной экстракции использовали следующие растворители: п-гексан, хлороформ и п-бутанол. Полученные фракции наносили на хроматографические пластинки высокоэффективные «Sorbfil ПТСХ-П-В-УФ» на полимерной основе с индикатором с помощью шприца микролитрового «Microliter Syringes» S009001:2015 («Высокий голубь», Китай). Для проведения исследования использовали также растворы стандартных образцов: хлорогеновой,

кофейной, феруловой кислот, рутина, кверцетина, танина. Хроматографирование проводили в системе растворителей бутанол – уксусная кислота – вода – этилацетат (8:8:8:4) [89]. Идентификацию веществ проводили по окраске зон адсорбции, которые совпадали с зонами адсорции стандартных образцов.

Высокоэффективная жидкостная хроматография

Объектом исследования выступала трава фацелии пижмолистной (образцы 1-3), собранная в период цветения в Ботаническом саду ПМФИ.

Получение извлечения: к 1,0 г сырья заливали спирт этиловый 70% в количестве 50 мл, при нагревании на водяной бане 60 минут. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр Milipore (0,22 мкм).

Для количественного определения содержания флавоноидов 1 мл извлечения фацелии пижмолистной переносили в мерную колбу на 10 мл и доводили объем до метки 1% муравьиной кислоты.

Количественное содержание флавоноидов (X, %) рассчитывали, используя формулу:

$$X = \frac{S_x * a_0 * W_x * V_0}{S_0 * a_x * W_{01} * W_{02}} * P$$

где S_x – площадь пика соединения на хроматограмме испытуемого раствора извлечения;

S_o – площадь пика раствора стандартного образца;

a_x– объем используемого извлечения, мл;

a_0– навеска стандартного образца, г;

Wx – объем мерной колбы, используемой для приготовления раствора извлечения, мл;

W_{01} – объем первой мерной колбы, используемой для приготовления раствора стандартного образца, мл;

W_{02} – объем второй мерной колбы, используемой для приготовления раствора стандартного образца вещества, мл;

V_0– объем аликвоты раствора стандартного образца, мл;

Р – процентное содержание стандартного образца.

Анализ проводили с использованием жидкостного хроматографа Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, США), снабженным УФ – детектором VD-3000 (Thermo Scientific, США) с применением градиентного режима элюирования. Подвижной фазой (ПФ) выступали два раствора: ПФ А – 1,0% водный раствор муравьиной кислоты, и ПФ Б – ацетонитрил. Неподвижной фазой являлась колонка Zorbax SB-C18 250*4.6 мм (Agilent, США) с размером частиц 5 мкм. Условия проведения анализа и режим хроматографирования представлены в таблице 5 и 6 соответственно.

Таблица 5 – Условия анализа метода ВЭЖХ

Продолжительность анализа	80 минут
Температура колонки	30°С
Объем вводимой пробы	20 мкл
Длина волны детектирования	254 нм
Скорость потока	1,0 мл/мин

Таблица 6 – Режим хроматографирования методом ВЭЖХ

Время, мин	ПФ А, %	ПФ Б, %
0	95	5
25	80	20
50	80	20
60	60	40
70	50	50
71	95	5
80	95	5

В ходе анализа использовались стандартные образцы: галловая кислота, хлорогеновая кислота, резорцин, кофейная кислота, п-кумаровая кислота, кумарин, коричная кислота, рутин, нарингин, гесперидин, кверцетин.

Приготовление растворов стандартных образцов

Для приготовления раствора СО отвешивали 10 мг (точная навеска) СО галловой кислоты (98,0%, ООО «Геофарма», Россия, CAS 149-91-7), катехина

(98,0%, ОАО «ДИОД», Россия, CAS 154-23-4), хлорогеновой кислоты (99,0%, ООО «Геофарма», Россия, CAS 327-97-9), кофейной кислоты (99,5%, ООО «Геофарма», Россия, CAS 331-39-5), рутина (98,5%, ООО «Фитопанацея», Россия, CAS № 153-18-4), кверцетина (99,5%, ООО «Фитопанацея», Россия, CAS № 117-39-5), п-кумаровой кислоты (98%, Sigma Aldrich, США, CAS № 501-98-4), гесперидина (97,0%, ООО «Геофарма», Россия, CAS 520-26-3), коричной кислоты (99,5%, ООО «Геофарма», Россия, CAS 140-10-3), нарингина (99,0%, HPC Standards, Германия, CAS 10236-47-2), кумарина (99,0%, Sigma-Aldrich, США, CAS 91-64-5), лютеолина (98,0%, ООО «Фитопанацея», Россия, CAS № 491-70-3) в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляли 30 мл метанола. После его растворения полученный раствор доводили до метки метанолом. Затем переносили 2 мл полученного раствора СО в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводили объем до метки 1% муравьиной кислотой.

УФ–спектрофотометрия

Количественное определение фенолкарбоновых кислот

Для количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной использовали метод прямой спектрофотометрии на спектрофотометре СФ-2000 (ЗАО «ОКБ СПЕКТР», Россия). Извлечение получали согласно разработанной нами методике (глава 5, раздел 5.3.2), при разработке которой опирались на данные научной литературы [10, 55, 56, 90]. Раствором сравнения выступал раствор стандартного образца хлорогеновой кислоты. Оптическую плотность измеряли при длине волны 330 нм.

Алгоритм методики определения суммы фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной включает следующие стадии:

- измельчение сырья до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм;
- взятие навески – масса 1г (точная навеска);
- экстракция в колбе с обратным холодильником спиртом этиловым 70%, взятом в объеме 30 мл, в течение 30 минут;

- фильтрация извлечения через бумажный фильтр в мерную колбу на 100 мл;
- повторение экстракции еще 2 раза;
- взятие аликвоты в объеме 1 мл;
- разведение спиртом этиловым 70% в мерной колбе на 50 мл;
- измерение оптической плотности на спектрофотометре СФ-2000 (Россия).

Эксперимент подтвердил, что максимум поглощения спиртового извлечения травы фацелии пижмолистной при длине волны 330 нм, что соответствует максимуму поглощения СО хлорогеновой кислоты [91].

Расчет содержания суммы фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной в абсолютно-сухом сырье проводили в пересчете на хлорогеновую кислоту по формуле, представленной ниже:

$$X, \% = \frac{A * 100 * 50 * 0{,}5 * a_0 * 100 * 100}{A_0 * a * 1 * 100 * 25\ (100 - W)}$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0— оптическая плотность раствора СО хлорогеновой кислоты;

а – навеска сырья, г;

a_0 – навеска СО хлорогеновой кислоты;

W – влажность сырья, %.

Количественное определение флавоноидов

Определение суммы флавоноидов проводили методом дифференциальной спектрофотометрии, основанном на реакции комплексообразования с алюминия хлоридом. Опираясь на методики определения данной группы БАВ, описанные в литератературе и изучив подходы к стандартизации ЛРС, содержащего флавоноиды, нами разработана методика определения флавоноидов в фацелии пижмолистной траве [92, 93].

Для приготовления извлечения около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляли 60 мл спирта 70 %, присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 45 мин. Затем фильтровали

извлечение через бумажный фильтр в мерную колбу на 100 мл, доводили объем раствора в колбе спиртом 70 % до метки и тщательно перемешивали (извлечение 1). Таким же образом получали извлечение 2, где экстрагентом был спирт этиловый 40%, полученные извлечения фильтровали.

5,0 мл извлечения 1 помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 10 мл спирта 96%, 0,5 мл уксусной кислоты разведенной 30%, 1,5 мл алюминия хлорида раствора 5%, доводили объем раствора спиртом соответствующей концентрации до метки и тщательно перемешивали (раствор 1).

Оптическую плотность раствора 1 измеряли через 30 мин на спектрофотометре при длине волны 408 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения выступал раствор СО рутина.

Такие же операции проводили с извлечением 2 травы фацелии пижмолистной. Далее определяли содержание флавоноидов в пяти образцах на основе разработанной нами методики количественного определения суммы флавоноидов (глава 5, раздел 5.4.1).

Содержание суммы флавоноидов в абсолютно-сухом сырье в пересчете на рутин вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A * a_0 * P * 200}{A_0 * a * (100 - W)}$$

где: А - оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 - оптическая плотность раствора СО рутина;

а - навеска сырья, г;

a_0 - навеска СО рутина, г;

Р - содержание основного вещества в СО рутина, %;

W - влажность сырья, %.

Количественное определение антоцианов

Для определения суммы антоцианов применяли метод спектрофотометрии. Исследование проводили, опираясь на методики, представленные в литературе

[94, 95, 96]. Извлечение получали путём экстрагирования точной навески (около 1,0 г) сырья кислотой хлористоводородной 1% в объеме 100 мл в колбе со шлифом на водяной бане при температуре 40-45°С в течение 15 минут [97]. Полученное извлечение фильтровали, а фильтр с сырьём помещали в колбу и таким же образом получали второе извлечение [97]. Полученные извлечения объединяли, фильтровали в колбу на 250 мл, отбрасывали первые 10 мл, и содержимое колбы доводили до метки кислотой хлористоводородной 1%. Оптическую плотность полученного фильтрата измеряли на спектрофотометре СФ-2000 (Россия) при длине волны 510 нм [97]. Раствором сравнения выступал раствор 1% кислоты хлористоводородной. Содержание суммы антоцианов проводили по удельному показателю поглощения, взятому из данных научной литературы, равному 453, в пересчете на цианидин-3-5-дигликозид в абсолютно сухом сырье по формуле:

$$X\frac{A*250*100}{A_{1см}^{1\%}*a*(100-W)}$$, где

А - оптическая плотность испытуемого раствора;

а – навеска сырья, г;

$A_{1см}^{1\%}$ - удельный показатель поглощения цианидин-3-5-дигликозида при длине волны 510 нм, равный 453;

W – влажность сырья, %.

Титриметрический метод

Количественное определение дубильных веществ

Содержание суммы дубильных веществ в траве фацелии пижмолистной проводили методом перманганатометрии в пересчете на танин. Данна методика изложена в ГФ РФ XIV и XV изд. [86]. Для получения извлечения к точной навески (2,0 г) измельченного сырья прибавляли доведенную до кипения воду (250 мл) и проводили экстрагирование в течение 30 минут в колбе с обратным

холодильником. Полученное извлечение охлаждали, фильтровали через вату, доводили водой до метки в мерной колбе на 250 мл.

Для определения суммы дубильных веществ проводили следующие операции: 25,0 мл полученного водного извлечения помещали в коническую колбу вместимостью 1000 мл, прибавляли 500 мл воды, 25 мл раствора индигосульфокислоты и титровали при постоянном перемешивании калия перманганата раствором 0,02 М до золотисто-желтого окрашивания. Параллельно проводили контрольный опыт.

Содержание суммы дубильных веществ вычисляли в пересчете на танин в абсолютно сухом сырье по формуле:

$$X = \frac{(V - V1) * 0.004157 * 250 * 100 * 100}{a * 25 * (100 - W)}$$ где,

V - объем 0,02 М раствора калия перманганата, израсходованного на титрование водного извлечения, мл;

V - объем 0,02 М раствора калия перманганата, израсходованного на титрование в контрольном опыте, мл;

0,004157 - количество дубильных веществ, соответствующее 1 мл 0,02 М раствора калия перманганата (в пересчете на танин), г;

а - навеска лекарственного растительного сырья, г;

W - влажность лекарственного растительного сырья, %;

250 - общий объем водного извлечения, мл;

25 - объем водного извлечения, взятого для титрования, мл.

Количественное определение аскорбиновой кислоты

Для определения данной группы БАВ нами была адаптирована методика количественного определения аскорбиновой кислоты методом титриметрии, изложенная в ГФ РФ XIV изд. [98, 99, 100]. Подобрана масса навески и объем экстрагента. Навеску сырья массой около 5,0 г (точная навеска) измельчали до размера частиц 1-2 мм, помещали в фарфоровую ступку №4 [86], растирали,

постепенно добавляя 75 мл дистиллированной воды, настаивали в течение 10 минут, затем извлечение фильтровали.

2.3.4 Определение показателей качества сырья

Определение показателей качества сырья травы фацелии пижмолистной проводили опираясь на методики, включенные в ГФ РФ XV изд.: ОФС 1.5.3.0007 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов», ОФС 1.2.2.2.0013 «Зола общая», ОФС 1.5.3.0005 «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте», ОФС 1.5.3.0006 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» (метод 1) [86, 101].

2.3.5 Фармакологические исследования

Фармакологические исследования проводили совместно с преподавателями Пятигорского медико-фармацевтического института Сергеевой Е.О., Абисаловой И.Л., Саджая Л.А.

Изучение острой токсичности

Исследование проводили по методу Кербера на 30 белых крысах-самцах массой 200-220 г. Животные разделялись на 5 групп. В качестве объекта исследования использовали водное извлечение из травы фацелии пижмолистной, которое вводили в 5 дозах: 1000 мг/кг, 1500 мг/кг, 2000 мг/кг, 2500 мг/кг, 3000 мг/кг. За состоянием и поведением животным проводили наблюдение в течение 2 недель. Животные содержались в специальных клетках в условиях стационарного вивария. За LD_{50} принимали дозу, вызвавшую гибель 50% животных [102, 103].

Изучение гиполипидемической активности

Для получения объекта исследования – субстанции для фармацевтического применения фацелии пижмолистной (СФПФП), водно-спиртовое извлечение из

сырья, собранного в период цветения в 2018 году в г. Михайловск, и высушенного воздушно-теневым способом (образец 1) упаривали до остаточной влаги 25%. Таким же способом получали объекты для проведения фармакологических испытаний из других образцов сырья (образец 2-9) (раздел 2.1 Объекты исследования).

50 г измельченного сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 1000 мл и проводили трехкратную экстракцию с обратным холодильником на водяной бане. В качестве экстрагента использовали спирт этиловый 70%, время экстракций – 60,45,30 минут, количество добавленного спирта при этом – 600,400,400 мл соответственно. Далее извлечение упаривали до получения сгущенного исследуемого извлечения – СФПФП. Из 50 г сырья получено 16,0 г СФПФП [104].

Для каждой группы были рассчитаны среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (m), которые, наряду с количеством наблюдений (n), представлены в таблицах. В ходе эксперимента распределение изучаемых данных имело нормальный характер во всех группах. В качестве параметрического критерия применялся t-тест Стьюдента. Уровень статистической значимости считался достоверным при значении $p < 0,001–0,05$. Статистический анализ данных осуществлялся с помощью программного пакета «Stat Plus 2009» [104].

Изучение гиполипидемической активности на модели твиновой гиперлипидемии

Изучение гиполипидемической активности проводили на 24 белых крысах - самках «Wistar» массой 270-290 г. Животные получены из питомника Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, прошли двухнедельный карантин и содержались в штатных условиях вивария при естественном освещении. На протяжении процесса эксперимента животные содержались в контролируемых условиях: температура окружающего воздуха 22±2˚С, относительная влажность воздуха 65±5%. Для размещения животных использовались макролоновые клетки Т-3 (для

крыс), оборудованные стальными решетчатыми крышками, с кормовым углублением. В качестве подстилочного материала использовали контактные автоклавированные древесные опилки нехвойных пород древесины – преимущественно липовые. Кормление осуществлялось в фиксированное время. Вода водопроводная подавалась в стандартных питьевых емкостях (250 мл) ad libitum [104].

С целью изучения гиполипидемической активности исследуемой СФПФП использовали твиновую модель гиперлипидемии: однократное внутрибрюшинное введение твина-80 в дозе 250 мг /100 г массы тела [105].

Экспериментальные животные были разделены на 4 группы: 1 – интактные; 2 – контрольные; 3 – опытная (исследуемая СФПФП), 4 –группа сравнения – фенофибрат-канон.

Интактная группа получала дистиллированную воду без последующего введения твин-80; контрольная группа получала дистиллированную воду и на 7 сутки внутрибрюшинно твин-80. СФПФП и препарат сравнения вводили в форме водных суспензий перорально в дозах 300 мг/кг и 12,4 мг/кг соответственно, в течение 7 дней до внутрибрюшинного введения твина-80. Предварительное введение было направлено на насыщение действующими веществами ряда органов и тканей, связанных с метаболизмом липидов, что широко практикуется в случаях однократного введения агента, индуцирующего развитие гиперлипидемии. За 12 часов до введения твин-80 и за 12 часов до забора крови животные подвергались пищевой депривации. Через 12 часов после введения твин-80 под хлоралгидратным наркозом осуществляли забор крови из брюшной аорты [104]. Полученную кровь центрифугировали на аппарате Centrifuge CM-6M на скорости 1500 оборотов в течении 15 минут. Далее сыворотку анализировали на биохимическом анализаторе RAL GLIMA MC-15 с использованием реагентов фирмы DiaSys производства Германии и определяли содержание общего холестерина, триглицеридов, липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), ЛПНП и липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) в концентрации ммоль/л [104].

При проведении эксперимента на лабораторных животных руководствовались общепризнанными биоэтическими принципами «трех R», а также положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000) и принципами гуманной экспериментальной техники по программе UFAW [106, 107].

Изучение гиполипидемической активности на модели острого алкогольного поражения печени и антиоксидантной активности

Данное исследование также выполняли совместно с преподавателями Пятигорского медико-фармацевтического института Сергеевой Е.О., Абисаловой И.Л., Саджая Л.А.

Изучение гиполипидемической активности проводили на 20 белых крысах - самках «Wistar» массой 250-270 г. Условия содержания животных были те же, что и при проведении исследования на модели твиновой гиперлипидемии. Животные были разделены на 4 группы: интактная (вводили дистиллированную воду 10 дней), контрольная (вводили воду очищенную 10 суток, затем этанол 5 г/кг на 10 сутки эксперимента), опытная (вводили СФПФП в дозе 300 мг/кг в течение 10 дней, на 10 сутки этанол 5 г/кг), группа сравнения (вводили никотиновую кислоту в дозе 25 мг/кг в течение 10 дней, на 10 сутки этанол 5 г/кг) [108].

Исследуемую СФПФП вводили в форме водной суспензии в дозе 300 мг/кг. Эффективная доза СФПФП определялась на модели этаноловой гиперлипидемии путем оценивания показателей липидного профиля.

Профилактическое введение было направлено на насыщение действующими веществами ряда органов и тканей, связанных с метаболизмом липидов, что широко практикуется в случаях однократного введения агента, индуцирующего развитие гиперлипидемии. На 10-й день животным внутрижелудочно однократно вводили этиловый спирт в виде 40% водного раствора в дозе 5 г/кг (в пересчете на абсолютный этанол) (модель острой этаноловой гиперлипидемии) [109]. До введения этанола животные были лишены пищи в течение 8 ч при свободном доступе к воде. Через 6 ч после развития

острой гиперлипидемии под хлоралгидратным наркозом (в дозе 350мг/кг) проводили эвтаназию животных путем декапитации [108].

Контрольной группе животных вводили в течение такого же срока дистиллированную воду, на 10-й день – внутрижелудочно – 40% спирт этиловый, и через 6 часов осуществляли забой. В качестве препарата сравнения использовалась никотиновая кислота (ОАО «Фармстандарт» - УфаВита; страна производства Российская Федерация) в дозе 25 мг/кг при пероральном способе введения, учитывая пересчет максимальной суточной дозы человека на крысу с использованием межвидового коэффициента 5,9. При проведении эксперимента на лабораторных животных руководствовались общепризнанными биоэтическими принципами «трех R», а также положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000) и принципами гуманной экспериментальной техники по программе UFAW [106, 107]. Анализ уровня ТРГ и холестерина проводили на биохимическом анализаторе RAL GLIMA MC-15 с использованием реагентов фирмы DiaSys производства Германии.

Исходным материалом биохимического исследования являлись сыворотка крови и гомогенат печени. Забор венозной крови проводили из правой половины сердца (пункцию сердца осуществляли при помощи вакуумных пробирок BD Vacutainer), полученную кровь центрифугировали на центрифуге Centrifuge CM-6M на скорости 1500об/мин в течение 15 мин. Гомогенат печени готовили на 0,85% растворе NaCl в соотношении 1:8 [108].

Изучение антимикробной активности

Исследование антимикробной активности проводили совместно с сотрудниками кафедры микробиологии и иммунологии Сергеевой Е.О., Папаяни О.И.

Для исследования получали извлечения из травы фацелии пижмолистной, экстрагируя сырье спиртом этиловым различной концентрации: 40% (извлечение 1), 70% (извлечение 2) и 96% (извлечение 3). Методика получения извлечений: около 1 г сырья помещали в колбу со шлифом, прибавляли 10 мл спирта

этилового соответствующей концентрации, нагревали на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 минут, извлечение фильтровали.

Изучение антимикробной активности исследуемых экстрактов проводили в соответствии с требованиями ГФ XIV *in vitro* методом диффузии в агар [86]. Для определения чувствительности микроорганизмов к исследуемым экстрактам использовали метод «колодцев» [69, 86].

В работе использовали следующие клинические штаммы *Escherichia coli 19, Salmonella enterica 14, Proteus mirabilis II, Klebsiella pneumoniae 1.1, Shigella flexneri 16, Pseudomonas aeruginosa 22* (выделены из кишечника), *Staphylococcus aureus 31, Streptococcus pyogenes 32* (выделены из зева). Тест-штаммы были получены от сотрудников лаборатории микробиологии ФГБУ НИИ по изучению лепры Минздрава России г. Астрахань [69].

Культивирование микроорганизмов проводили с использованием следующих наборов коммерческих реагентов (питательные среды): мясопептонный бульон, среда АГВ (ООО «НИЦФ Санкт-Петербург» Россия) [69].

Инокулят тест-штаммов был приготовлен из суточной культуры, которая выращивалась в мясо-пептонном бульоне. Полученные культуры подвергали центрифугированию, затем их отмывали физиологическим раствором и отбирали надосадочную жидкость [69]. Полученный осадок использовали для разведения по шкале мутности 0,5 McFarland. Затем засевали заполненные средой АГВ (агар Гивенталя–Ведьминой, для постановки антибактериальной активности методом дисков) чашки Петри методом «газона» тампоном, смоченным в растворе тест-культур, в количестве 20 мл на одну чашку Петри [69]. Чашки подсушивали в термостате в течение 30 минут. После этого пробуривали сверлом (d=6 мм) отверстия («колодцы») на расстоянии 2,5 см от центра чашки Петри и на одинаковых расстояниях друг от друга. Колодцы заполняли исследуемыми объектами в объёме 0,05 мл [69]. Далее помещали чашки Петри в термостат при (37 °С) на 18-24 часа. Заключительным этапом являлся подсчет диаметра зон («колодца») задержки роста вокруг исследуемых объектов [69]. В качестве препарата сравнения использовали настойку календулы.

2.3.6 Интродукционное исследование, определение способа заготовки и режима сушки сырья

Интродукционное исследование

Для выполнения опытов использовали семена фацелии пижмолистной сорт «Услада», собранные в фазу массового плодоношения – август 2019 года – на экспериментальном участке ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр» в городе Михайловск, Ставропольский край, эти семена были использованы для получения образцов 3 (3.1, 3.2), 4, 5 (5.1), 8, 9. В данном разделе представлены результаты по интродукции фацелии пижмолистной, выполненные на территории дачного участка в окрестностях города Каспийска, Республика Дагестан (образец №5), и на территории Ботанического сада ПМФИ (образец №3). Посев семян производился 18 мая 2022 года (образец №3) и 4 мая 2023 года (образец №5) в предварительно разрыхленную почву, глубина заделки семян – 1,5-2,0 см. На 1 м^2 высевали 1,0-1,5 г семян [110]. Экспериментальный участок образца №5 расположен на низменности, вблизи Каспийского моря, высота над уровнем моря 0 м. Климат Каспийска – умеренно-континентальный с признаками субтропического: зима переменчивая в основном морозная, но с оттепелями, весна ранняя, теплая, в апреле температуры могут подниматься до +20 ºС. Климатическое лето наступает уже в мае, лето достаточно жаркое со средними температурами +24-26 ºС. В летние месяцы возможна засуха. Почвы региона преимущественно лугово-болотные и луговые засоленные [110].

Поскольку в дополнительном удобрении почвы фацелия пижмолистная не нуждается, при проведении исследования оноине проводилось [111, 112]. Лугово - болотные почвы формируются в условиях грунтового увлажнения, поэтому выращиваемые растения не поливались часто. Увлажнение почвы водой проводили 1 раз в 3-4 дня. Регулярно проводились мероприятия по очищению почвы от сорняков. Весной и в начале лета на сорняках появляются земляные блошки, капустная тля, паутинный клещ и другие вредители, поэтому уничтожение сорняков было необходимым приемом [110, 113].

Также, нами были интродуцированы образцы №10 и №11, которые были использованы в дальнейшем для обоснования выбора объекта исследования. Интродукция данных образцов проводилась в окрестностях г. Пятигорка в 2022 году.

Определение фазы сбора и способа заготовки сырья

Для установления рациональной фазы для сбора сырья, во время которой будет наблюдаться наибольшее содержание действующих веществ, проводили заготовку сырья в три различные фазы вегетации фацелии пижмолистной: в фазу бутонизации, фазу массового цветения и плодоношения. Исследование проводилось на образцах № 3.2, 8 и 9 (глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования). В образцах сырья определяли содержание суммы фенолкарбоновых кислот и флавоноидов.

Исследование по определению способа заготовки проводилось с использованием образцов сырья № 2,3,5,6,7 (глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования).

Фенологические наблюдения и биометрические измерения проводили в характерные фенологические фазы: начало вегетации, бутонизация, начало цветения и массовое цветение, полное созревание плодов (семян). Для определения урожайности надземную часть срезали на высоте 10, 20, 30 см от поверхности почвы, с учетом степени одревеснения стеблей. Урожайность определяли в свежесобранном сырье по методике И.Л. Крыловой, А.И. Шретера (1982 год) [114].

Срезание надземной части травы фацелии пижмолистной проводили ножницами, на высоте среза 10, 20 и 30 см от поверхности почвы. В полученных образцах определяли содержание основных БАВ на примере фенолкарбоновых кислот и флавоноидов.

Количественное содержание основных биологически значимых соединений в изучаемом растении проводили в соответствии с конкретными методиками в пятикратной повторности.

Определение режима сушки

Объектом исследования служила трава фацелии пижмолистной, выращиваемой в ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института (образец 3) (глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования). Образцы сырья собирали, срезая ножницами надземную часть фацелии пижмолистной на уровне 10-15 см от поверхности почвы в период массового цветения

Перед сушкой все образцы сырья измельчали на резаке на куски длиной до 2,5-3 см и тщательно перемешивали.

Для проведения эксперимента использовали следующие условия сушки:

– воздушно-теневая (на кафедре фармакогнозии в хорошо проветриваемом помещении), рассыпав сырье тонким слоем на бумаге и время от времени перемешивая. Время сушки составило 120 часов (5 суток), остаточная влажность составила от 7,9% до 8,5%;

– конвективная (искусственная) сушка при температуре 45°С в сушильной камере лабораторного типа «Venticell» (Чехия, BMTa.S.). Время сушки составило 7,5 часов, остаточная влажность находилась в инстервале от 7,5% до 8,0%;

– сушка в микроволновой печи (мощность 500 Вт) при 60% волн без предварительного подвяливания сырья. Время сушки составило 20 минут, остаточная влажность составила от 7,6% до 8,2%;

– сушка в микроволновой печи (мощность 500 Вт) при 60% волн после предварительного подвяливания сырья в течение 5 часов [115]. Время сушки составило 10 минут, остаточная влажность варьировалась от 7,8% до 8,4%.

Определение влажности сырья фацелии пижмолистной проводили по методике ГФ РФ XV издания, ОФС.1.5.3.0007 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения» [86].

Количественное определение суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту и суммы флавоноидов в пересчете на рутин проводили в соответствии с разработанными нами методиками [116].

Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре СФ-2000 (ЗАО «ОКБ СПЕКТР», Россия) в диапазоне длин волн 200-400 нм.

Определение каждой группы БАВ проводили в трехкратной аналитической повторности. Содержание БАВ выражали в процентах в пересчете на абсолютно сухое сырье.

2.3.7 Статистическая обработка экспериментальных данных

Полученные экспериментальные данные обрабатывали с помощью программы Microsoft Office Excel 2007 стандартными методами статистической обработки математических данных в соответствии с требованиями ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» ГФ РФ XV издания [86].

ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3.1 Обоснование выбора объекта исследования

С целью обоснования выбора объекта исследования, провели интродукцию трех видов растений рода *Phacelia*: фацелии пижмолистной (*Phacelia tanacetifolia Benth.*), фацелии Пурша (*Phacelia Purshii B.*) и фацелии колокольчатой (*Phacelia campanularia A. Gray.*). Семена фацелии Пурша и фацелии колокольчатой приобретали в оптово-розничной точке, фирма «Гавриш». Исследование проводили в Ставропольском крае, г. Пятигорск. Растения собирали в период цветения, сушили воздушно-теневым путем.

Далее проводили анализ по изучению содержания БАВ в интродуцированных видах фацелии.

Результаты проведенного интродукционного исследования показали, что хозяйственно-ценные признаки наиболее ярко выражены у фацелии пижмолистной, полученная сырьевая масса фацелии пижмолистной во много раз превосходила массу двух других видов. Фацелия пижмолистная – прямостоячее растение, достигало в высоту до 1 метра (Рисунок 5).

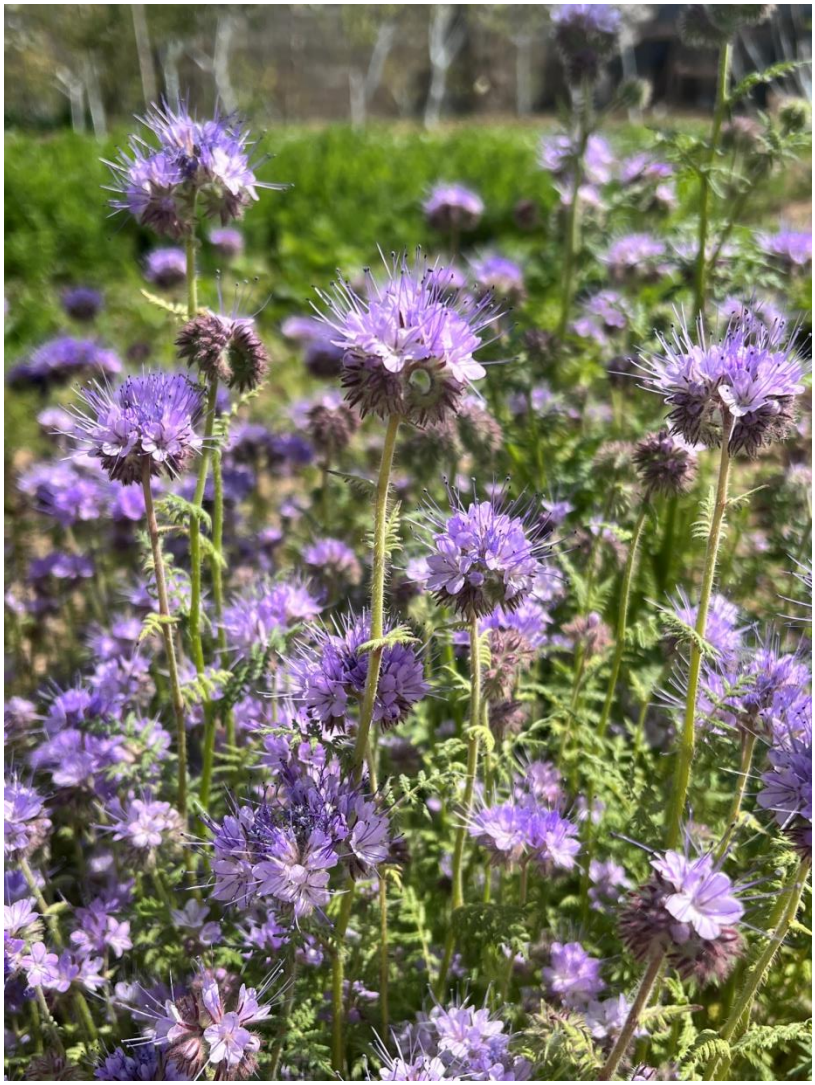


Рисунок 5 – Фацелия пижмолистная в фазу массового цветения (фото автора)

Фацелия Пурша и фацелия колокольчатая – низкорослые виды фацелии в высоту 30-32 см, они нашли свое применение как декоративные растения [117]. Габитус растений имеет важное значение при заготовке сырья. Фацелия пижмолистная имеет прямостоячий стебель, что дает возможность организовать механизированный сбор в промышленных масштабах. Характеризуя биологические особенности, растение очень продуктивно, в наших климатических условиях, возможно проводить сбор сырья дважды за один летний сезон, поскольку семена фацелии пижмолистной имеют высокую энергию прорастания [118]. Высокую жизнеспособность растения в условиях юга России обеспечивает самосев, который мы неоднократно наблюдали в Ботаническом саду нашего института. Также стоит отметить неприхотливость фацелии

пижмолистной при выращивании в условиях недостаточного увлажнения (Ставропольский край, Краснодарский край, Республика Дагестан).

Результаты исследования по содержанию биологически активных веществ в видах фацелии представлены в таблице 7 и на рисунке 6.

Таблица 7 – Содержание БАВ в видах фацелии, интродуцируемых на Северном Кавказе

Группа БАВ	Фацелия пижмолистная (*Phacelia tanacetifolia Benth.*)	Фацелия колокольчатая (*Phacelia campanularia A. Gray.*)	Фацелия Пурша (*Phacelia Purshii B.*)
Фенолкарбоновые кислоты,%	3,36±0,05	2,2±0,5	2,5±0,35
Дубильные вещества,%	5,9±0,19	5,8±0,13	5,0±0,25
Антоцианы,%	0,53±0,017	0,54±0,06	0,48±0,05
Флавоноиды,%	0,77±0,019	0,54±0,022	0,56±0,012
Органические кислоты,%	1,41±0,4	1,36±0,4	1,40±0,5
Аскорбиновая кислота,%	0,24±0,05	0,18±0,05	0,24±0,03

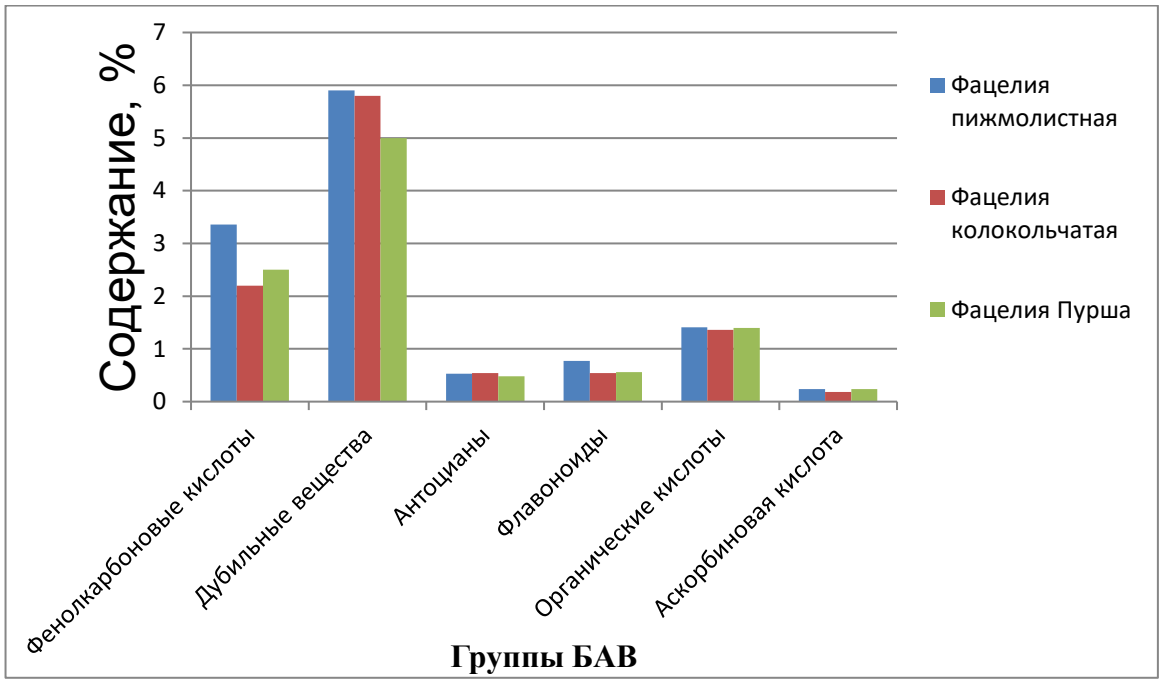


Рисунок 6 – Содержание БАВ в видах фацелии, интродуцируемых на Северном Кавказе

Таким образом, выполненный фрагмент исследований позволил обосновать целесообразность выбора в качестве объекта исследования фацелию пижмолистную в сравнении с фацелией Пурша и фацелией колокольчатой.

3.2. Изучение биологически активных веществ

3.2.1 Идентификация фенольных соединений

3.2.1.1 Идентификация фенольных соединений качественными реакциями

Объектом исследования послужила трава фацелии пижмолистной, собранная в фазу массового цветения – образцы 1-5 (глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования).

На основании анализа данных литературы о химическом составе травы фацелии пижмолистной, мы провели качественные реакции для обнаружения следующих классов фенольных соединений:

Флавоноиды

1. Цианидиновая проба: к спиртовому извлечению травы фацелии пижмолистной прибавляли концентрированную хлористоводородную кислоту и металлический цинк, наблюдали появление желтого окрашивания.

2. При добавлении к спиртовому извлечению раствора железа (III) хлорида получали зелено-черное окрашивание.

3. С раствором натрия гидроксида спиртовое извлечение окрашивалось в желтый цвет.

Результаты проведенных реакций подтвердили наличие флавоноидов в траве фацелии пижмолистной.

Дубильные вещества

1. К водному извлечению травы фацелии пижмолистной добавляли 1% раствор железоаммонийных квасцов, образовывалось черно-синее окрашивание;

2. К водному извлечению добавляли 10 % раствор ацетата свинца среднего и 10% уксусную кислоту, наблюдали появление белого осадка.

3. По реакции Стиасни, к водному извлечению прибавляли 40% раствор формальдегида и концентрированную хлористоводородную кислоту, нагревали колбу с обратным холодильником в течение 30 минут, осадка не наблюдали, к фильтрату прибавляли несколько капель 1% железоаммонийных квасцов и кусочек ацетата натрия кристаллического, наблюдали синее окрашивание.

По полученным аналитическим эффектам можно судить о наличии дубильных веществ гидролизуемой природы.

Антоцианы

1. К водному извлечению травы фацелии пижмолистной прибавляли раствор 10% кислоты хлористоводородной, наблюдали ярко-красное окрашивание.

2. К водному извлечению прибавляли раствор 10% гидроксида натрия, образовывалось сине-зеленое окрашивание.

В результате проведенных качественных реакций в извлечениях травы фацелии пижмолистной обнаружены следующие классы фенольных соединений: флавоноиды, дубильные вещества (гидролизуемые), антоцианы.

3.2.1.2 Идентификация фенольных соединений методом тонкослойной хроматографии

Состав фенольных соединений устанавливали методом тонкослойной хроматографии (глава 2, раздел 2.3.3). В качестве сырья для проведения эксперимента использовали образцы 1-5 (глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования).

Экспериментальным путем установлена система растворителей, при которой наблюдается наилучшее разделение веществ в водно-спиртовом извлечении [119]. Такой системой является бутанол - уксусная кислота-вода - этилацетат (8:8:8:4) (система III). На хроматограмме 70% спиртового извлечения

травы фацелии пижмолистной идентифицированы ярко-голубые зоны адсорбции, значения факторов удерживания которых указывают на наличие хлорогеновой и кофейной кислот, зоны адсорбции ярко-желтого и коричневого цвета на наличие рутина и кверцетина (Таблица 8) [89].

Таблица 8 – Хроматографические характеристики выявленных соединений в траве фацелии пижмолистной

Обнаруженные вещества	Окраска в УФ-свете		Значение фактора удерживания в системах растворителей			Значение фактора удерживания стандартного образца
	До проявления	Алюминия хлорид (III)				
1	2	4	5	6	7	8
Кислота галловая	сиренево-фиолетовая	Розовая	0,86 (I)		0,88 (IV)	0,88±0,02
Кислота хлорогеновая	ярко-голубая	зелено-голубая	0,62 (I)	0,64± 0,03 (III)	0,65 (IV)	*0,66±0,03*
Кислота феруловая (стандарт)	зелено-голубая	-	0,80 (I)		0,72 (IV)	*0,78±0,02*
Кислота кофейная	ярко-голубая	ярко-голубая	0,67 (I)	0,43± 0,05 (III)	0,42 (IV)	*0,40±0,05*
Рутин	Коричневая	ярко-желтая	0,54 (I)	0,50± 0,04 (III)	0,45 (IV)	*0,54±0,04*
Кверцетин	желто-зеленая	ярко-желтая	0,68 (I)	0,68± 0,03 (III)	0,68 (IV)	*0,68±0,03*

В таблице приведены данные значений факторов удерживания в трех системах растворителей, где зоны адсорбции разделялись наилучшим способом и выявлена более характерная визуализация пятен, что дает возможность использовать эти системы в качестве подвижной фазы для проведения ТСХ анализа, при этом оптимальной является система III.

3.2.1.3 Идентификация фенольных соединений методом тонкослойной хроматографии после предварительного фракционирования

Объектом исследования были образцы 1-5 (глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования).

В результате фракционирования спиртового извлечения, полученного из надземной части фацелии пижмолистной, обнаружены основные группы БАВ:

- в гексановой фракции – пигменты: хлорофилл и каротиноиды, ксантоны;
- в хлороформной фракции – фенолкарбоновые кислоты, кумарины и флавоноиды;
- в n-бутанольной фракции - фенолкарбоновые кислоты, танины и флавоноиды;
- в водной фракции – танины, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды.

Затем в бутанольной фракции методом ТСХ идентифицировали фенолкарбоновые кислоты: хлорогеновую, кофейную и феруловую, и флавоноиды: рутин и кверцетин.

Предварительное фракционирование извлечения позволило добиться лучшей визуализации зон адсорбции веществ, четкости и простоты в интерпретации результатов проведения ТСХ.

3.2.1.4 Идентификация фенольных соединений методом высоко эффективной жидкостной хроматографии

Объект исследования – образцы 1-5 (глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования). Методика получения извлечения травы фацелии пижмолистной и приготовления растворов стандартных образцов отражена в главе 2, раздел 2.3.5 Физико-химические методы).

На рисунке 7 представлен хроматографический профиль спиртового извлечения из травы фацелии пижмолистной. Поскольку полученная хроматограмма трудно читаема, нами проводилась работа по

усовершенствованию пробоподготовки, в результате которой были получены более четкие основные пики найденных соединений (Рисунок 8).

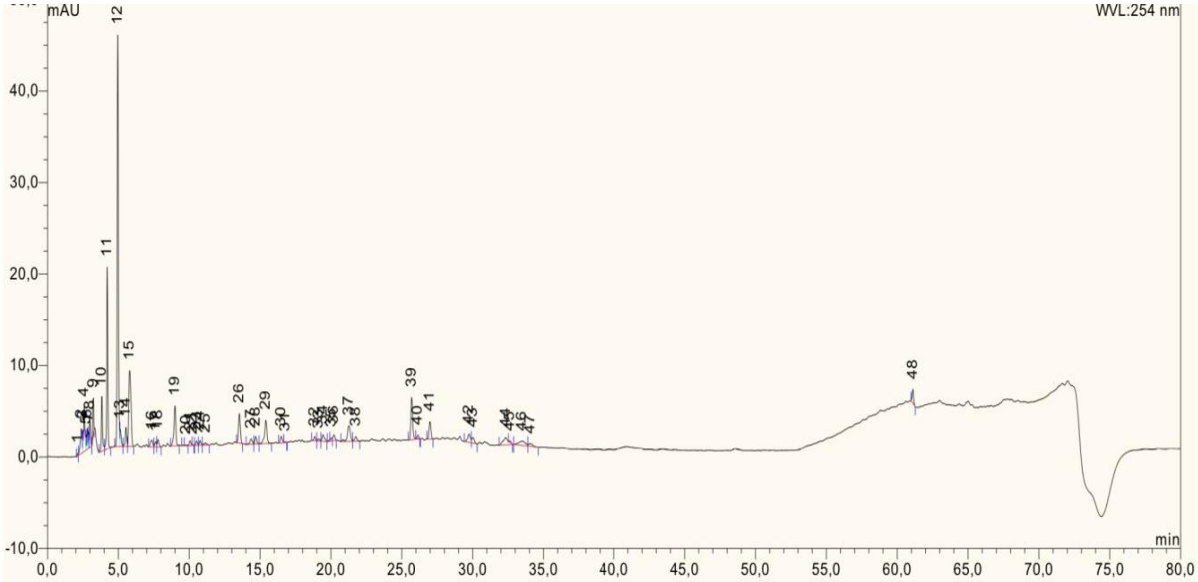


Рисунок 7 – Хроматографический профиль спиртового извлечения фацелии пижмолистной травы методом ВЭЖХ

Метод ВЭЖХ позволил установить состав фенольных соединений. В траве фацелии пижмолистной индентифицированы фенолкарбоновые кислоты: галловая, хлорогеновая, кофейная, кумаровая, феруловая кислоты, флавоноиды: рутин, нарингин и гесперидин (Рисунок 8). Также было установлено количественное содержание найденных веществ, однако выполненный объем исследований не позволил пока предложить этот метод для стандартизации сырья.

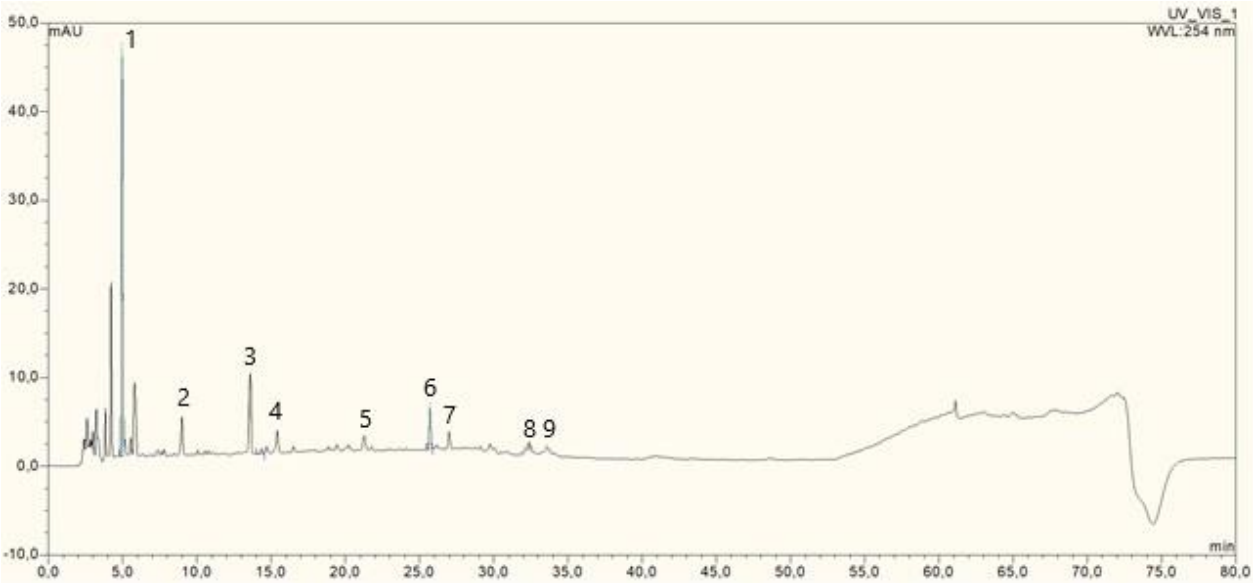


Рисунок 8 – Хроматограмма спиртового извлечения фацелии пижмолистной травы методом ВЭЖХ (1-галловая кислота, 2-катехин, 3-хлорогеновая кислота, 4-кофейная кислота, 5-кумаровая кислота, 6-рутин, 7-феруловая кислота, 8-нарингин, 9-гесперидин)

На рисунке 9 изображены хроматограммы растворов стандартных образцов идентифицированных нами соединений в траве фацелии пижмолистной методом ВЭЖХ.

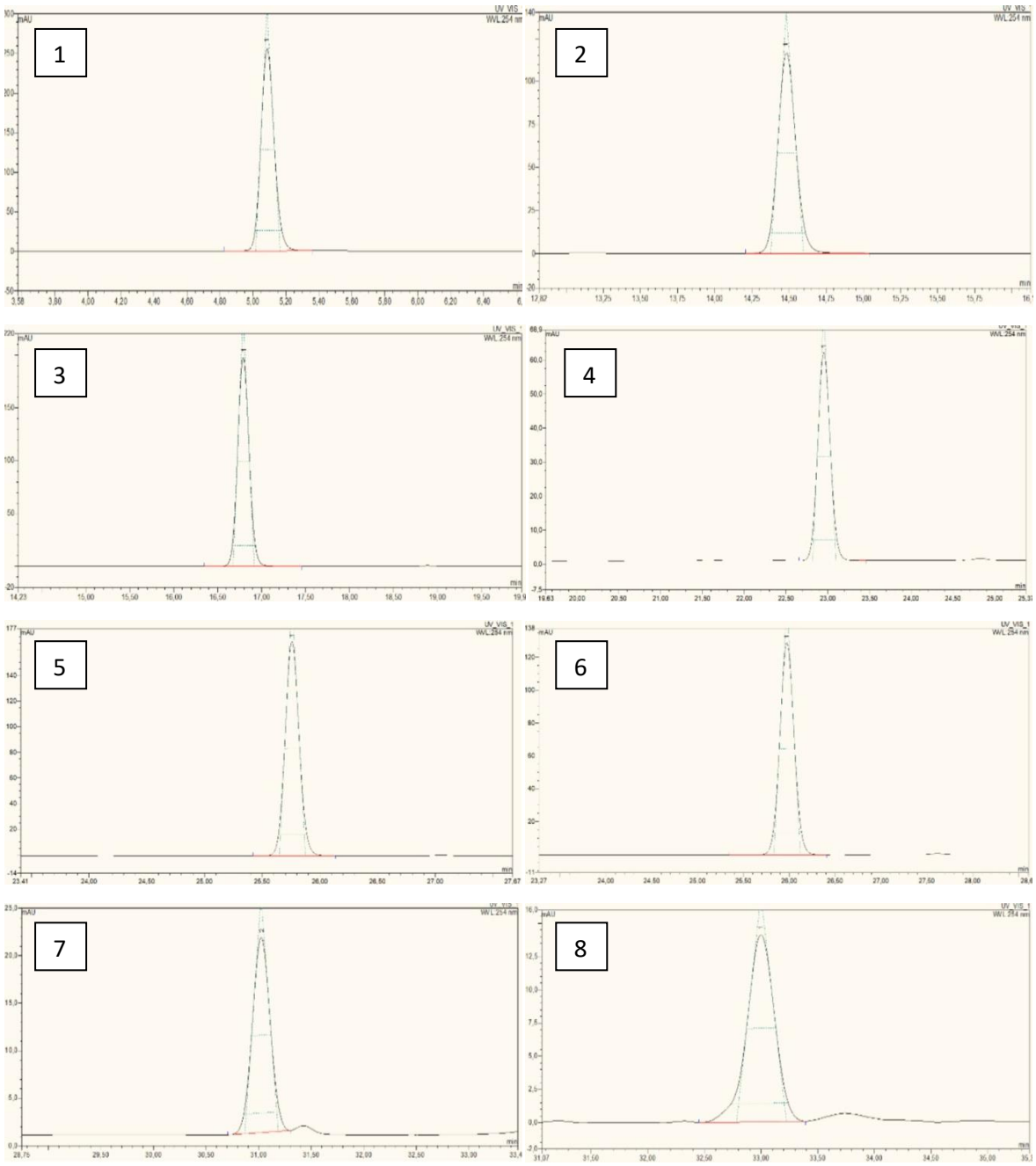


Рисунок 9 – Хроматограммы растворов стандартных образцов (1 – галловая кислота, 2 – хлорогеновая кислота, 3 – кофейная кислота, 4 – кумаровая кислота, 5 – рутин, 6 – феруловая кислота, 7 – нарингин, 8 – гесперидин)

Результаты изучения фенольных соединений в траве фацелии пижмолистной методом ВЭЖХ представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Результаты изучения фенольных соединений травы фацелии пижмолистной методом ВЭЖХ

№	Соединение	Время удерживания, мин	Содержание, мг%
1	Галловая кислота	5,03	2,02

Окончание таблицы 9 – Результаты изучения фенольных соединений травы фацелии пижмолистной методом ВЭЖХ

2	Катехин	9,10	5,06
3	Хлорогеновая кислота	13,91	6,48
4	Кофейная кислота	15,88	4,27
5	Кумаровая кислота	21,46	2,50
6	Рутин	25,71	5,50
7	Феруловая кислота	27,04	0,9
8	Нарингин	31,12	1,04
9	Гесперидин	33,42	0,83

Преобладающими фенолкарбоновыми кислотами были хлорогеновая, галловая и кофейная, а основной кислотой является хлорогеновая. Полученные данные послужили основанием для дальнейшей стандартизации сырья по содержанию фенолкарбоновых кислот.

3.2.2 Количественное определение фенольных соединений

3.2.2.1 Количественное определение фенолкарбоновых кислот

Учитывая, что для отечественного производителя приоритетным является простота методик анализа и экономическая составляющая процедуры контроля качества ЛРС, мы использовали УФ-спектрофотометрию в анализе фенольных соединений фацелии пижмолистной.

Разработка методики количественного определения суммы действующих веществ является одним из этапов стандартизации нового вида ЛРС [120]. Поскольку современные требования к качеству лекарственного растительного сырья предусматривают оценку содержания действующих веществ, была проведена оценка по фенолкарбоновым кислотам. Данная группа веществ выбрана нами, исходя из проведенного анализа ВЭЖХ, где данная группа преобладала по содержанию.

Рядом ученых (Копытько Я.Ф., Нестерова Н.В., Тыхеев Ж.А., Гуляев Д. К. и др.), изучающих содержание фенолкарбоновых кислот в растительном сырье,

предложены методики их количественного определения, включающие пробоподготовку (выбор экстрагента, степень измельчения, кратность и время экстракции) [55, 58, 121]. Изучив данные литературы, нами разработана методика определения данной группы БАВ методом прямой спектрофотометрии. Данная методика включена в ГФ РФ XV изд. для анализа лекарственного растительного сырья [86].

При разработке методики определения количественного содержания фенолкарбоновых кислот были подобраны оптимальные условия экстрагирования: размер частиц сырья – 2 мм, экстрагент – спирт этиловый 70%, количество экстракций – 3, время каждой экстракции – 30 минут (глава 5, раздел 5.3.2) [116].

Образцами для исследования были № 1-5 (глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования). Количественное определение проводили методом спектрофотометрии при длине волны 330 нм. Полученный спектр представлен на рисунке 10.

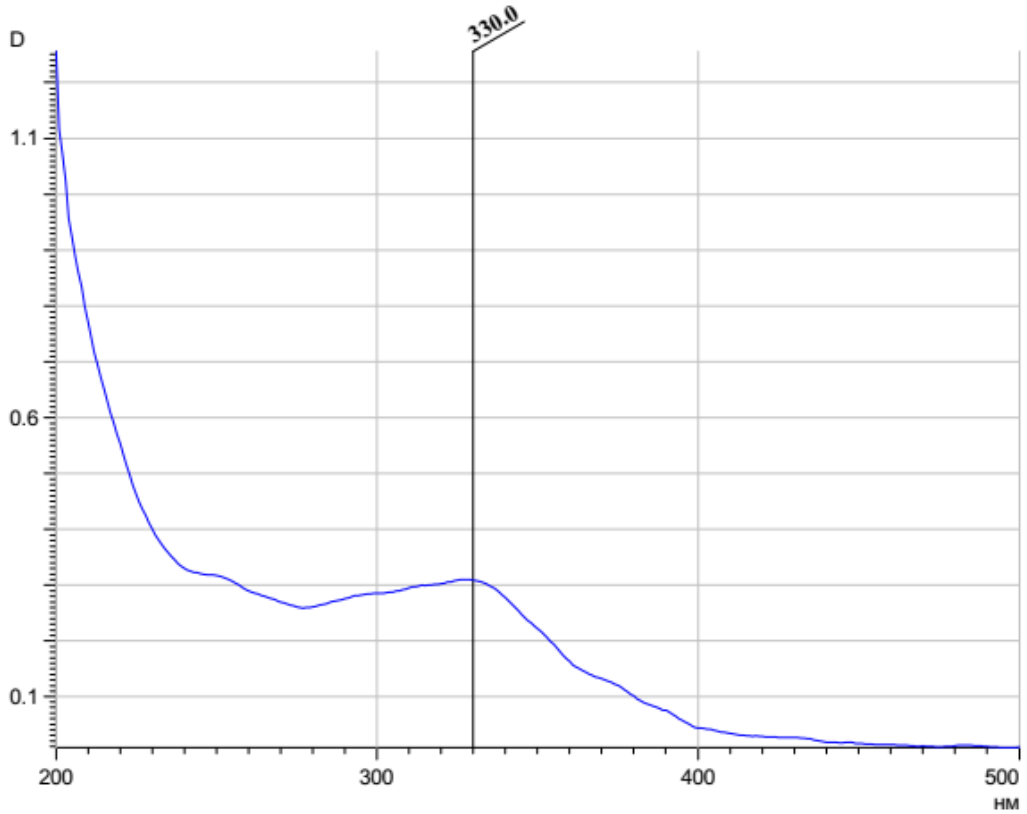


Рисунок 10 – УФ-спектр водно-спиртового извлечения из травы фацелии пижмолистной

Результаты количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Результаты количественного определения содержания суммы фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной

№	Образец сырья	Масса навески, г	Влажность сырья, %	Содержание фенолкарбоновых кислот, X, %	Xср, %
1	г. Михайловск (образец 1)	1,032	7,9	3,345	3,347
		1,026		3,355	
		1,023		3,342	
2	Нефтекумский район (образец 2)	1,035	8,4	3,354	3,364
		1,038		3,376	
		1,042		3,362	
3	Ботанический сад, г. Пятигорск (образец 3)	1,015	8,2	3,323	3,324
		1,018		3,330	
		1,025		3,319	
4	Окрестности г. Махачкала (образец 4)	1,045	7,8	3,295	3,293
		1,050		3,287	
		1,038		3,298	
5	Окрестности г. Каспийск (образец 5)	1,028	8,2	3,296	3,294
		1,033		3,302	
		1,035		3,284	

Анализ результатов эксперимента, представленных в таблице 10, показал, что в образце сырья № 2 наблюдается наибольшее содержание фенолкарбоновых кислот и находится в интервале от 3,35% до 3,37%.

Определены метрологические характеристики методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной (Таблица 11).

Таблица 11 - Метрологические характеристики методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной (n=6)

Исследуемый объект	Хср	S^2	S	P, %	T	±X	E, %
Трава фацелии пижмолистной	3,364	0,00025	0,016	95	4,3	0,05	1,48

Таким образом, данный фрагмент исследований отражает результаты по количественному содержанию суммы фенолкарбоновых кислот в пяти образцах сырья, собранных от интродуцируемых растений в различных районах Северного Кавказа.

3.2.2.2 Количественное определение флавоноидов

Сырьем для определения содержания суммы флавоноидов выступала трава фацелии пижмолистной, собранная в фазу цветения и высушенная воздушно-теневым способом (образцы № 2,3,5,6,7 глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования). Изучив данные научной литературы по количественному определению флавоноидов в различных видах ЛРС, в том числе включенных в ГФ РФ XV изд., нами разработаны условия пробоподготовки, включающие степень измельчения сырья, выбор экстрагента, условия экстракции, объем аликвоты, и концентрация алюминия хлорида (5% спиртовый раствор) [62,63]. Методика получения извлечений для проведения эксперимента изложена в главе 2, раздел 2.3.3 Физико-химические методы.

Полученный спектр извлечения представлен на рисунке 11.

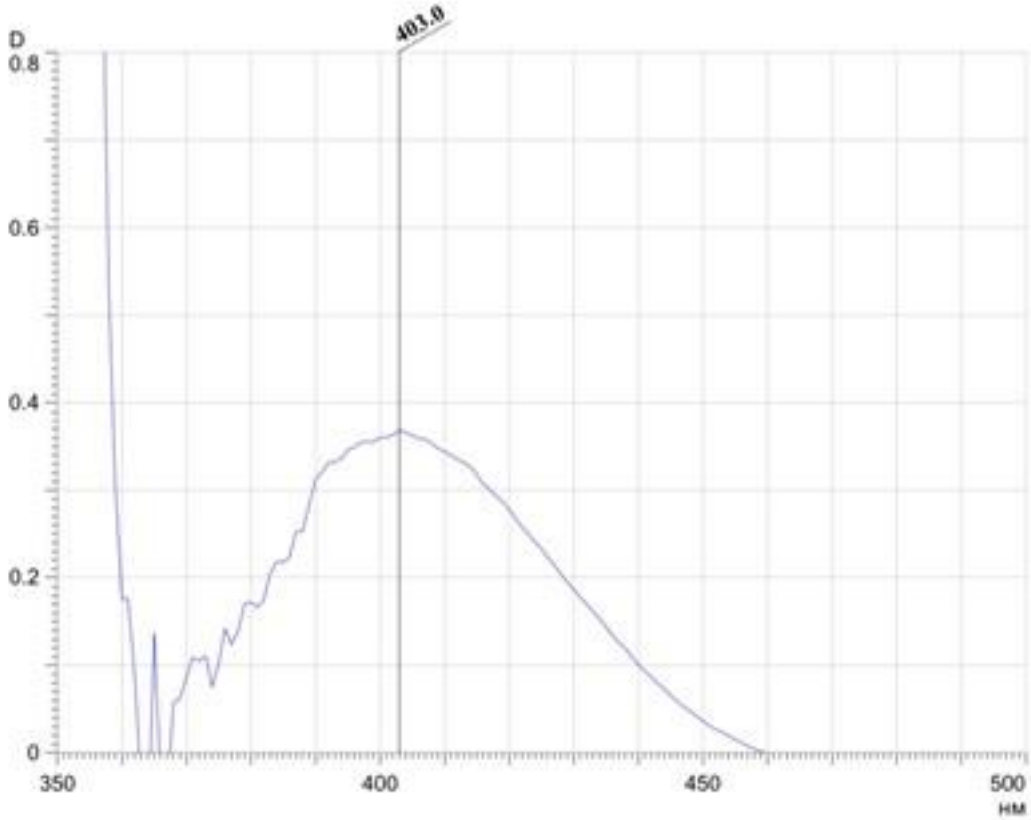


Рисунок 11 – Дифференциальный спектр спиртового извлечения из травы фацелии пижмолистной

Результаты количественного определения суммы флавоноидов в траве фацелии пижмолистной представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Результаты количественного определения содержания суммы флавоноидов в траве фацелии пижмолистной

№	Образец сырья	Спирт этиловый 70%			Спирт этиловый 40%		
		Масса навески, г	Оптическая плотность, А	Содержание X, %	Масса навески, г	Оптическая плотность, А	Содержание X, %
1	Нефтекумский район (образец 2)	1,0298 W=8,4	0,3683	0,787	1,0312 W=8,4	0,2250	0,480
			0,3532	0,755		0,2086	0,445
			0,3640	0,778		0,2150	0,459
2	Ботанический сад, г.Пятигорск (образец 3)	1,060 W=8,2	0,3628	0,752	1,0410 W=8,2	0,2128	0,449
			0,3584	0,742		0,2180	0,460
			0,3655	0,757		0,2096	0,442

Окончание таблицы 12 – Результаты количественного определения содержания суммы флавоноидов в траве фацелии пижмолистной

3	г.Каспийск (образец 5)	1,0512 W=8,2	0,3383	0,707	1,0315 W=8,2	0,1932	0,411
			0,3370	0,704		0,1950	0,415
			0,3356	0,701		0,1912	0,407
4	станица Северская (образец 6)	1,0384 W=7,9	0,3532	0,745	1,0364 W=7,9	0,2098	0,443
			0,3580	0,755		0,2110	0,446
			0,3682	0,776		0,2119	0,447
5	район Зольский (образец 7)	1,0346 W=8,0	0,3352	0,710	1,0310 W=8,0	0,2056	0,437
			0,3398	0,720		0,2042	0,434
			0,3290	0,697		0,2019	0,430

По результатам количественного определения флавоноидов в траве фацелии пижмолистной видно, что при равных условиях проведения исследования, наибольшее содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин наблюдается при использовании в качестве экстрагента спирта этилового 70%. Также установлено, что наименьшее содержание флавоноидов было в образце 5, а наибольшее в образце 2.

Была проведена статистическая обработка экспериментальных данных на примере образца 2 (Таблица 13).

Таблица 13 – Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в траве фацелии пижмолистной (n=6)

Показатель	Хср	S^2	S	P, %	T	±X	E, %
Спирт этиловый 40%	0,461	0,000339	0,018	95	4,3	0,018	0,039
Спирт этиловый 70%	0,773	0,00018	0,013	95	4,3	0,012	0,0155

Таким образом, данный фрагмент работы позволил установить содержание суммы флавоноидов в изучаемых образцах сырья фацелии пижмолистной, наибольшее содержание установлено в образце №2 и находится в интервале от 0,75% до 0,79%.

3.2.2.3 Количественное определение дубильных веществ

В качестве объектов исследования использовали образцы 1, 2, 3, 4, 5 (глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования).

Данный метод количественного определения суммы дубильных веществ основан на окислении фенольных ОН - групп перманганатом калия в присутствии индигосульфокислоты, которая является индикатором реакции. После полного окисления дубильных веществ, начинается процесс окисления индигосульфокислоты до изатина, в результате окраска из синей переходит в золотисто - желтую. Процесс перехода окраски представлен реакцией, приведенной на рисунке 12.

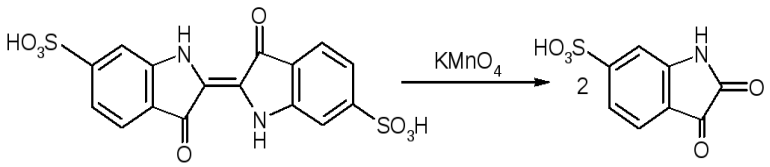


Рисунок 12 – Переход окраски индикатора индигосульфокислоты
(img-BZnOgn.png (1025×195))

По результатам титрования были получены данные, представленные в таблице 14.

Таблица 14 – Результаты количественного определения содержания суммы дубильных веществ в траве фацелии пижмолистной

№	Образец сырья	Масса навески, г	Влажность сырья, %	Содержание дубильных веществ, X, %	Xср, %
1	г. Михайловск (образец 1)	2,056	7,9	5879	5,519
		1,988		4,758	
		2,051		5,921	
2	Нефтекумский район (образец 2)	2,013	8,4	5,822	5,944
		2,091		6,234	
		2,008		5,776	

Окончание таблицы14 – Результаты количественного определения содержания суммы дубильных веществ в траве фацелии пижмолистной

3	Ботанический сад, г. Пятигорск (образец 3)	2,042	8,2	5,224	5,281
		1,915		4,965	
		2,009		5,654	
4	Окрестности г. Махачкала (образец 4)	2,021	7,8	5,173	4,978
		2,006		5,022	
		1,998		4,741	
5	Окрестности г. Каспийск (образец 5)	1,989	8,2	4,916	5,289
		2,024		5,523	
		2,016		5,428	

Вычислены метрологические характеристики по результатам количественного содержания дубильных веществ в образце сырья №2 (Нефтекумский район), где содержание суммы дубильных веществ наибольшее (Таблица 15).

Таблица 15 – Метрологические характеристики методики количественного определения суммы дубильных веществ в траве фацелии пижмолистной (n=6)

Исследуемый объект	Хср	S^2	S	P, %	T	±X	E, %
Трава фацелии пижмолистной	5,944	0,042	0,2	95	4,3	0,19	3,19

Таким образом, данный фрагмент работы отражает результаты количественного определения суммы дубильных веществ в траве фацелии пижмолистной, интродуцируемой в различных регионах Северного Кавказа. Наибольшее содержание установлено в образце №2, оно находится в интервале от 5,8% до 6,2%.

3.2.2.4 Количественное определение антоцианов

В качестве объекта исследования использовали образец 1 (глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования) сырья фацелии пижмолистной.

При проведении количественного определения суммы антоцианов мы опирались на методики, представленные в научной литературе и ГФ РФ XV изд. (глава 2, раздел 2.3.3 Физико-химические методы).

На рисунке 13 представлен спектр поглощения извлечения из травы фацелии пижмолистной.

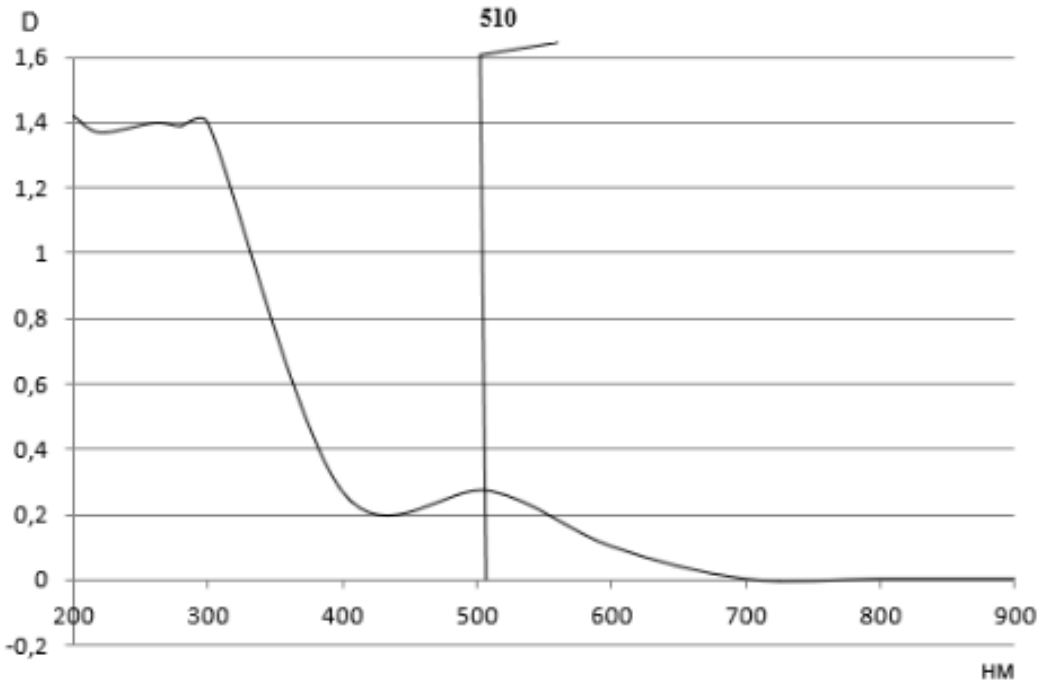


Рисунок 13 – Спектр поглощения извлечения из травы фацелии пижмолистной

Аналитической длиной волны, при которой наблюдается максимум поглощения, является длина 510 нм [122].

По результатам измерения оптической плотности были получены данные, представленные в таблице 16. Была проведена статистическая обработка данных, найдена абсолютная и относительная погрешность.

Таблица 16 – Результаты количественного определения содержания суммы антоцианов в цветках фацелии пижмолистной

Масса навески, г	$A_{1см}^{1\%}$	Влажность сырья, %	Оптическая плотность	Содержание антоцианов, %
0,3024	453	8,4	0,25	0,4981
0,3018			0,28	0,5589
0,2997			0,27	0,5428

Окончание таблицы16 – Результаты количественного определения содержания суммы антоцианов в цветках фацелии пижмолистной

0,3216				0,28	0,5245	
0,3156				0,27	0,5379	
0,3042				0,26	0,5149	
Метрологические характеристики анализа (n=6)						
X ср, %	S^2	S	P, %	T	±X	E, %
0,5295	0,00038932	0,01973124	95	4,3	0,017	0,032

Исходя из табличных данных, количественное содержание суммы антоцианов в пересчете на цианидин-3-5дигликозид в цветках фацелии пижмолистной составило 0,5295%.

Поскольку антоцианы являются растительными пигментами, можно предположить, что пурпурно-синяя окраска цветков фацелии пижмолистной связана с содержанием антоциана – пеонидина, предшественником которого является цианидин [97, 122].

3.2.3 Определение сапонинов и полисахаридов

Учитывая сведения литературы о наличии сапонинов и полисахаридов в изучаемом растительном объекте, нами проведены качественные реакции на сапонины и полисахариды.

Тритерпеновые сапонины

1. При взбалтывании водного извлечения травы фацелии пижмолистной появлялась обильная, неустойчивая пена, на основании чего сделан вывод о присутствии сапонинов.

2. К водному извлечению добавляли ацетат свинца основной, реакцию осаждения не наблюдали, на основании чего сделан вывод об отсутствии стероидных сапонинов.

3. При добавлении к водному извлечению 10 % раствор ацетата свинца, наблюдали образование осадка, что позволило сделать вывод о наличии тритерпеновых сапонинов.

4. Далее проводили реакцию Сальковского: к водному извлечению прибавляли небольшое количество хлороформа и концентрированной серной кислоты, наблюдали желтое окрашивание.

5. Реакция Лафона: к извлечению добавляли концентрированную серную кислоту, спирт этиловый и по каплям 10 % раствор сернокислого железа, при нагревании появлялось сине-зеленое окрашивание.

На основании результатов выполненных реакций сделан вывод о присутствии в траве фацелии пижмолистной тритерпеновых сапонинов.

Полисахариды

1. К водному извлечению травы фацелии пижмолистной прибавляли спирт этиловый 96% в соотношении 1:3, появлялся хлопьевидные сгустки, выпадающие в осадок при стоянии.

На основании проведенной реакции установлено присутсвие полисахаридов в изучаемом сырье фацелии пижмолистной.

3.2.4 Количественное определение аскорбиновой кислоты

Исследование проводили на образце сырья №1 (глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования). Полученное водное извлечение имело темно-зелёный цвет, при хранении переходящий в бурый, запах специфический, вкус горький.

Экспериментально подобрали объем аликвоты. С целью уменьшения систематической ошибки определение аскорбиновой кислоты проводили, используя объемы аликвоты 0,25 и 0,5 мл. В коническую колбу вместимостью 100 мл вносили 0,25 мл полученного фильтрата, 0,25 мл 2% хлористоводородной кислоты, 3,5 мл дистиллированной воды, перемешивали и тировали из микробюретки раствором 2.6-дихлорфенолиндофенолята натрия(0,001 моль/л) до появления розовой окраски, не исчезающей в течение 30 секунд. Затем в колбу вносили 0,5 мл фильтрата, 0,5 мл 2% хлористоводородной кислоты, 6,5 мл дистиллированной воды и титровали аналогичным образом. Поскольку аскорбиновая кислота обладает способностью окисляться при хранении, с

оставшимся количеством фильтрата провели повторное исследование через 16 и 24 часа для получения данных об изменении количественного содержания кислоты аскорбиновой в водном извлечении по истечению определенного промежутка времени [123]. Для статистической обработки данных дополнительно были получены два водных извлечения травы фацелии пижмолистной, с фильтратами которых проводили анализ. Результаты анализа приведены в таблице 17.

Таблица 17 – Результаты количественного определения содержания аскорбиновой кислоты в водном извлечении травы фацелии пижмолистной

№ анализа, время хранения		Содержание аскорбиновой кислоты, %	
		аликвота 0,25 мл	аликвота 0,5мл
Фильтрат 1	Свежий	0,246	0,250
	через 16 часов	0,285	0,284
	через 24 часа	0,303	0,307
Фильтрат 2	Свежий	0,246	0,253
	через 16 часов	0,284	0,296
	через 24 часа	0,303	0,316
Фильтрат 3	Свежий	0,245	0,256
	через 16 часов	0,275	0,275
	через 24 часа	0,304	0,307

По полученным результатам видно увеличение показателей по содержанию аскорбиновой кислоты в водном извлечении травы фацелии пижмолистной при хранении. Содержание кислоты аскорбиновой через 16 и 24 часа увеличивается на 0,13%±0,001. Следует также отметить, что используемый титрант - 2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия не проявляет высокую специфичность относительно анализируемого вещества. Количественное определение кислоты аскорбиновой, основанное на окислительно-восстановительных свойствах чувствительно к присутствию дополнительных компонентов матрицы и не может быть признано адекватным для количественной оценки аскорбиновой кислоты в многокомпонентных образцах [123, 124]. Раннее проведенные нами исследования показали наличие содержания флавоноидов и дубильных веществ в траве фацелии

пижмолистной, которые, по данным Е.В.Зыковой с соавторами, оказывают влияние на результаты анализа [124, 125, 126]. Опираясь на имеющиеся данные о влиянии химических веществ на результаты количественного определения аскорбиновой кислоты, стоит сказать, что углеводы, органические кислоты, флавоноиды и дубильные вещества снижают правильность результатов анализа кислоты аскорбиновой в лекарственном растительном сырье [126].

Продуктом окисления аскорбиновой кислоты является реакционноспособный дикетон - дегидроаскорбиновая кислота. В силу своей высокой лабильности, дегидроаскорбиновая кислота способна вступать в реакции с различными химическими соединениями, в том числе с аминокислотами, содержащимися во всех лекарственных растениях. Дегидроаскорбиновая кислота **(9)** реагирует с солями аминокислот с образованием оснований Шиффа (**70)**, которые, в результате последовательных превращений, превращаются в скорбаминовую кислоту (**71)** и соответствующий альдегид (**72)**. При взаимодействии молекулы **(71)** с другой молекулой (**9)**, образуется красный пигмент (**73)**. Образование подобных пигментов является основной причиной изменения цвета продуктов, содержащих аскорбиновую и дегидроаскорбиновую кислоту [127]. Стоит отметить, что полученные нами водные извлечения меняли свою окраску во времени при хранении, приобретая бурый оттенок [123]. Учитывая, что объем аликвоты составил 0,25 и 0,5 мл, который далее разводился дистиллированной водой в объеме 3,5 мл, переход окраски мы смогли визуализировать. Схема взаимодействия дегидроаскорбиновой кислоты с аминокислотами представлена на рисунке 14.

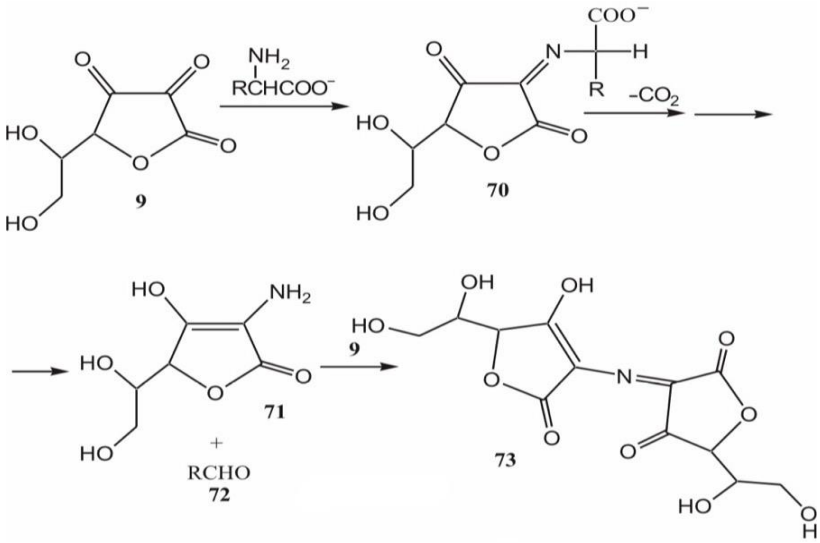


Рисунок 14 – Схема взаимодействия дегидроаскорбиновой кислоты с аминокислотами

Можно предположить, что образованные при взаимодействии с аминокислотами химические соединения, также могут оказывать влияние на результаты количественного определения аскорбиновой кислоты в водном извлечении травы фацелии пижмолистной.

3.3 Изучение макро- и микроэлементного состава

Известно, что макро- и микроэлементы играют важную биологическую роль в повышении функциональных резервов человека, оказывая влияние на многие процессы, протекающие в организме [128, 129]. Магний играет большую роль в нормализации сердечного ритма, препятствует образованию судорог в мышцах, необходим для передачи нервных импульсов. Кальций участвует в процессе формирования костей, зубов, является важным элементом в мышечных волокнах. Кальций, совместно с магнием, повышает минеральную плотность костной ткани [130]. Калий и натрий регулируют электролитный обмен, контролируют баланс жидкости в организме [131, 132].

Элементный анализ проводили на 4 образцах травы фацелии пижмолистной (образцы № 2,3,5,6 глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования), собранных из разных мест интродукции, из которых получали золу, и исследовали ее методом

испарения на спектрографе ДФС-8-1 (Россия) в лаборатории производственной компании ООО «Севкавгеология».

В результате изучения элементного состава установили наличие в образцах фацелии кальция, натрия, калия, магния, фосфора, железа, меди, кремния, алюминия и молибдена. Данные исследования представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Содержание макро- и микроэлементов в траве фацелии пижмолистной

Химический элемент	Содержание элементов в образцах фацелии пижмолистной, %			
Макроэлементы	Ботанический сад, г. Пятигорск (Ставропольский край)	Красно-дарский край	Республика Дагестан, г. Каспийск	Нефтекумский район (Ставропольский край)
Натрий (Na)	0,635	0,524	0,672	0,582
Кальций (Ca)	2,54	2,69	2,72	2,56
Магний (Mg)	0,30	0,28	0,34	0,29
Фосфор (P)	0,58	0,48	0,60	0,52
Калий (K)	0,222	0,234	0,182	0,215
Микроэлементы				
Медь (Cu)	0,00042	0,0003	0,0003	0,0003
Молибден (Mo)	0,00003	0,00003	0,00004	0,00003
Марганец (Mn)	0,0028	0,0028	0,0032	0,0029
Железо (Fe)	0,222	0,13	0,02	0,10
Алюминий (Al)	0,017	0,021	0,019	0,024
Кремний (Si)	0,0324	0,0292	0,0365	0,0321

Анализ данных таблицы 18 показал, что в сырье фацелии пижмолистной (образцы 2,3,5,6) отсутствуют токсические элементы. Наибольшее содержание среди макроэлементов составляют кальций, натрий и форсфор, среди микроэлементов можно выделить железо и кремний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ

1. В результате фитохимического исследования трех интродуцированных видов фацелий, обоснован выбор объекта исследования. Качественными реакциями в надземной части фацелии пижмолистной идентифицированы флавоноиды, дубильные вещества, антоцианы, тритерпеновые сапонины и полисахариды.

2. Методом тонкослойной хроматографии установили наличие в траве фацелии пижмолистной флавоноидов: рутин и кверцетин, и фенолкарбоновых кислот: галловая, хлорогеновая.

3. Методом ВЭЖХ установлен состав фенольных соединений надземной части фацелии пижмолистной. Идентифицированы фенолкарбоновые кислоты: галловая, хлорогеновая, кофейная, кумаровая и феруловая кислоты; флавоноиды: рутин, нарингин и гесперидин; определено их количественное содержание.

4. Проведено количественное определение суммы фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной методом УФ-спектрофотометрии. Содержание фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной в пересчете на хлорогеновую кислоту составило 3,368±0,05%.

5. Проведено количественное определение суммы флавоноидов в траве фацелии пижмолистной методом дифференциальной спектрофотометрии. Содержание суммы флавноидов в пересчете на рутин составило 0,773±0,015%

6. Проведено количественное определение суммы дубильных веществ в траве фацелии пижмолистной титриметрическим методом. Содержание суммы дубильных веществ пересчете на танин – 5,944±0,19%.

7. Методом спектрофотометрии провели количественное определение суммы антоцианов в траве фацелии пижмолистной. Содержание суммы антоцианов проводили в пересчете на цианидин-3-5-дигликозид – 0,5295±0,017%.

8. Проведено количественное определение аскорбиновой кислоты в водном извлечении травы фацелии пижмолистной. Увеличение содержания кислоты аскорбиновой в водном извлечении при хранении во времени, предположительно,

может быть связано с влиянием фенольных соединений, аминокислот сложной матрицы. Полученные данные о стабильности содержания аскорбиновой кислоты в водном извлечении при хранении будут использованы при определении содержания кислоты аскорбиновой и изучении её стабильности в настоях в зависимости от технологии их приготовления.

9. Проведено исследование по изучению макро- и микроэлементного состава, в результате которого был установлен элементный состав травы фацелии пижмолистной.

ГЛАВА 4. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ФАЦЕЛИИ ПИЖМОЛИСТНОЙ

4.1 Определение макроскопических признаков

Исследование проводили на образце №1, который является ваучерным, и достоверно отражает все морфологическими и анатомические характеристики.

В результате изучения морфологического строения травы фацелии пижмолистной установлены основные внешние диагностические признаки.

Сырье представляет собой цельные облиственные стебли с густыми односторонними соцветиями; кусочки стеблей; отдельные листья, отдельные цветки и бутоны (Рисунок 15А, Б).

Стебли ветвистые, цилиндрические, сильно опушенные. Листорасположение очередное. Листья непарноперисторассеченные, длиной 15–20 см, шириной до 5 см. Количество пар сегментов – 6-8[133].

Цветки с характерными сильно выступающими из венчика тычинками. Чашечка очень густо опушена мелкими волосками. Длина чашечки 4–5 мм, длина венчика 6–7 мм, длина тычинок (вне пределов венчика) – до 10 мм (Рисунок 15Б). Цвет сырья: листья – сверху темно-зеленые, снизу – серовато-зелёные; стебли – коричневато-зеленые, заметно светлее листьев; чашечка – серовато-зеленая; венчик и тычинки – сиреневые, встречаются цветки с белыми лепестками. Запах слабый, вкус водного извлечения – горьковатый [133].

Рисунок 15 – Внешние признаки травы фацелии пижмолистной: А – цельное сырье; Б –измельченное сырье, соцветия

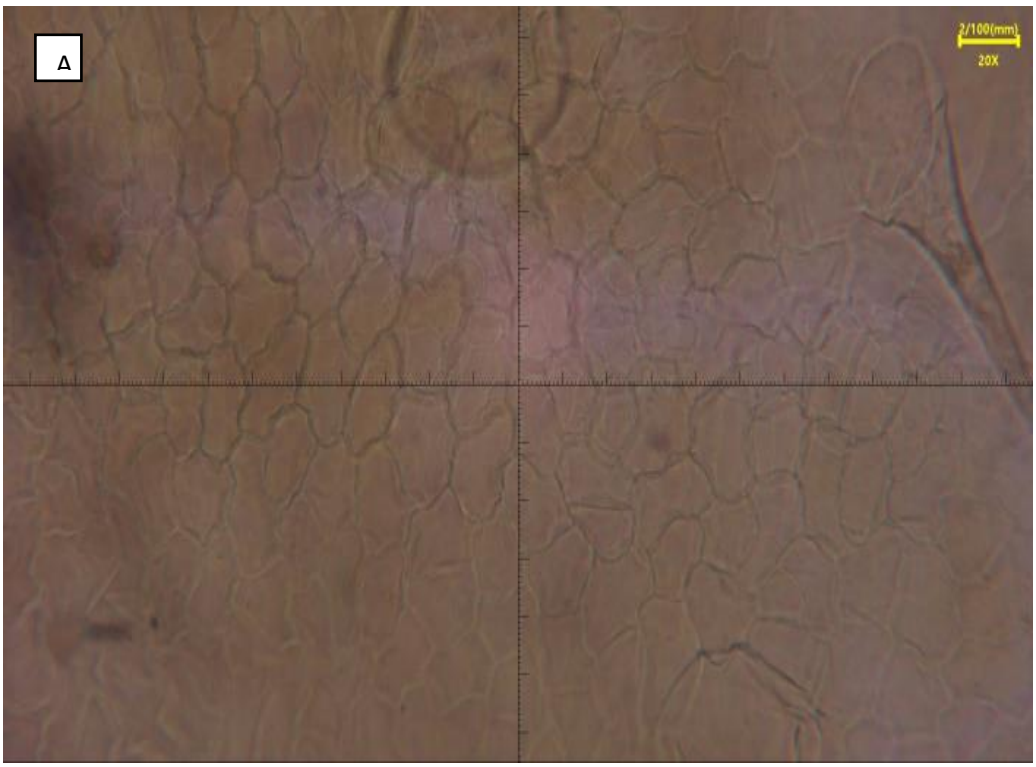
4.2 Определение микроскопических признаков

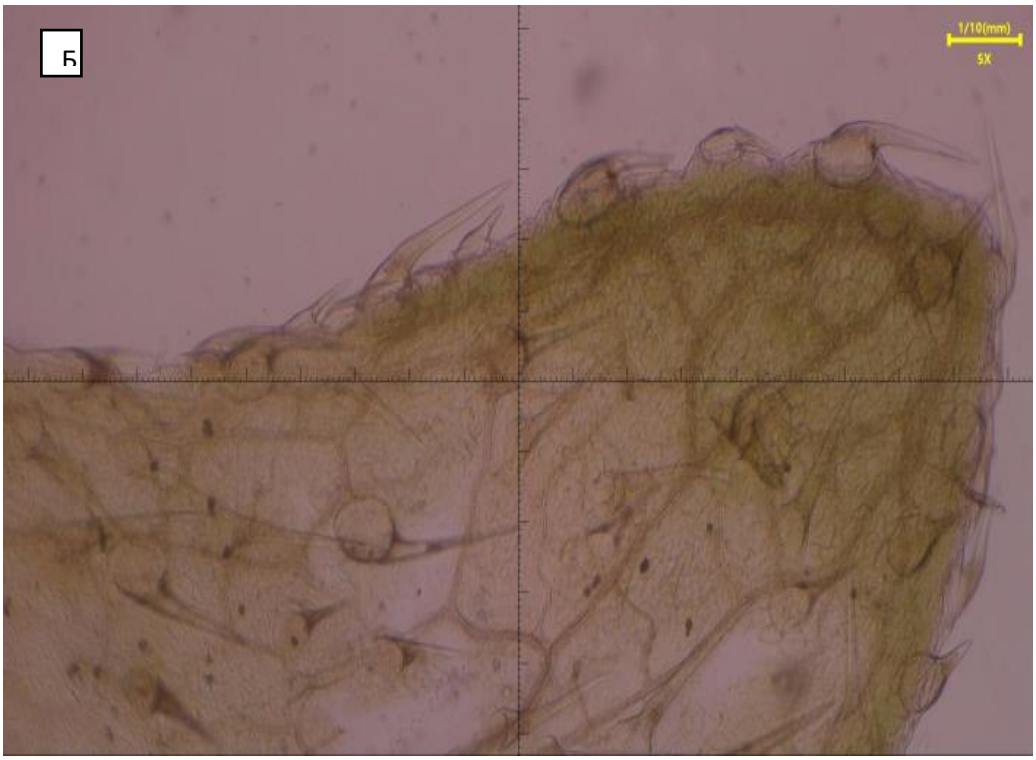
При рассмотрении микропрепарата листа с поверхности видны клетки верхней стороны эпидермиса – многоугольные с прямыми иногда слабоизвилистыми стенками (Рисунок 16А), неравномерно утолщенными; стенки клеток нижнего эпидермиса сильноизвилистые, также имеют неравномерное утолщение стенок (Рисунок 16Г) [133].

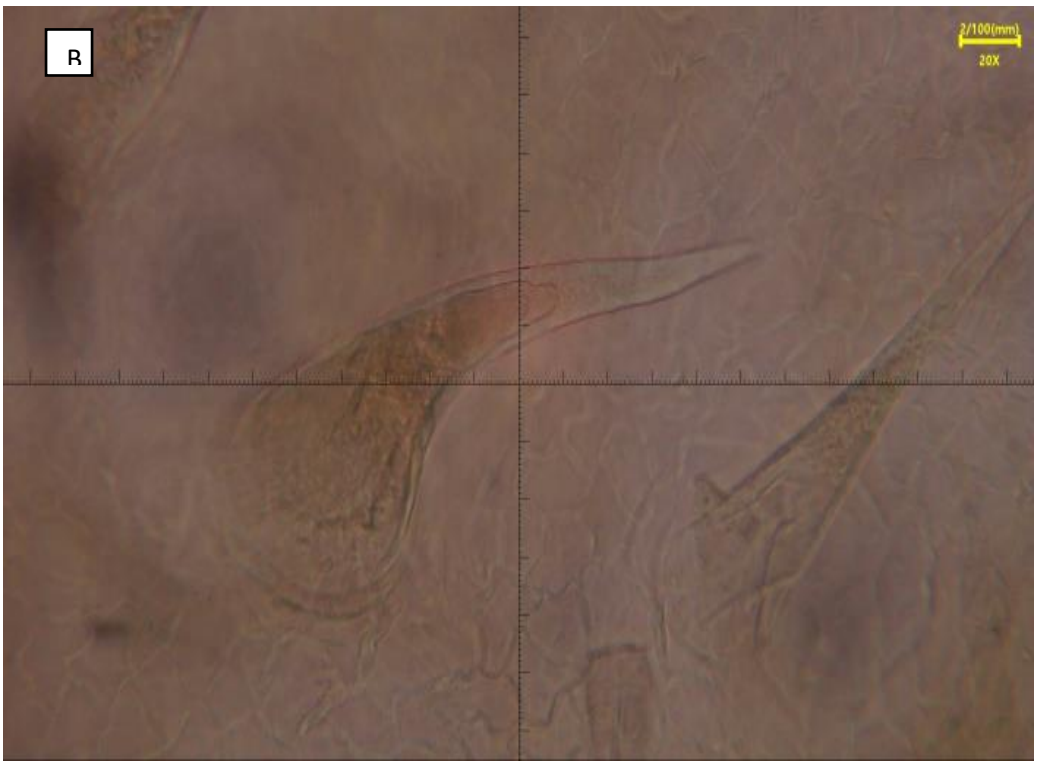
На верхней (вентральной) стороне листа и по краю встречаются в большом количестве простые одноклеточные с бородавчатой поверхностью волоски с расширенным основанием и заострённой верхушкой (Рисунок 16Б, В). Длина и размер волосков сильно варьируется. Средняя длина – 50–100 мкм. Редко встречаются волоски длиной до 1000 мкм. Диаметр основания волосков составляет 1/3–1/5 от длины: 35–200 мкм. Форма волосков изогнутая, особенно много таких волосков по краю листовой пластинки. Частота встречаемости 50–60 на 1 мм^2[133].

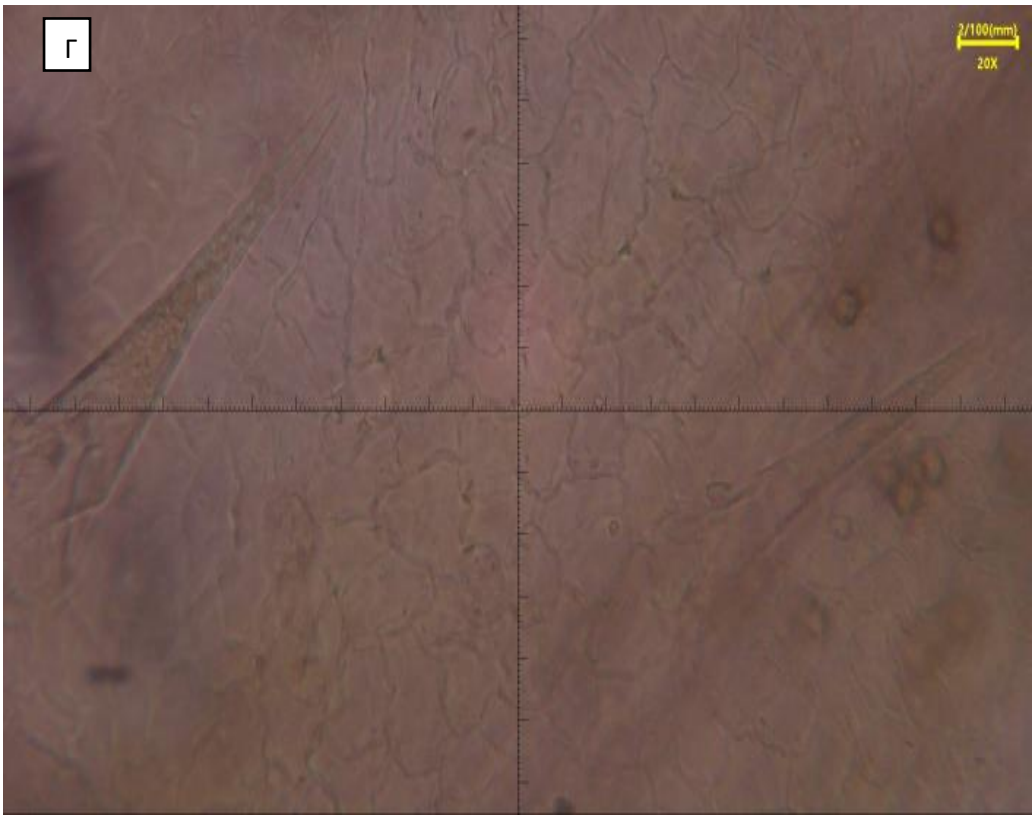
Для нижней (дорсальной) стороны листа характерны многочисленные устьица, почти округлой формы, диаметром 20 мкм, окруженные 5–8 клетками эпидермиса (аномоцитный тип) (Рисунок 16Е). Частота встречаемости устьиц – 260–280 на 1 мм^2. Встречаются одноклеточные толстостенные волоски с бородавчатой поверхностью, более тонкие, нежели волоски верхней стороны листа (Рисунок 16Д), длиной 50–1000 мкм. Диаметр основания – 1/5–1/8 от длины волоска: 25–100 мкм. Частота встречаемости 50–60 на 1 мм^2[133].

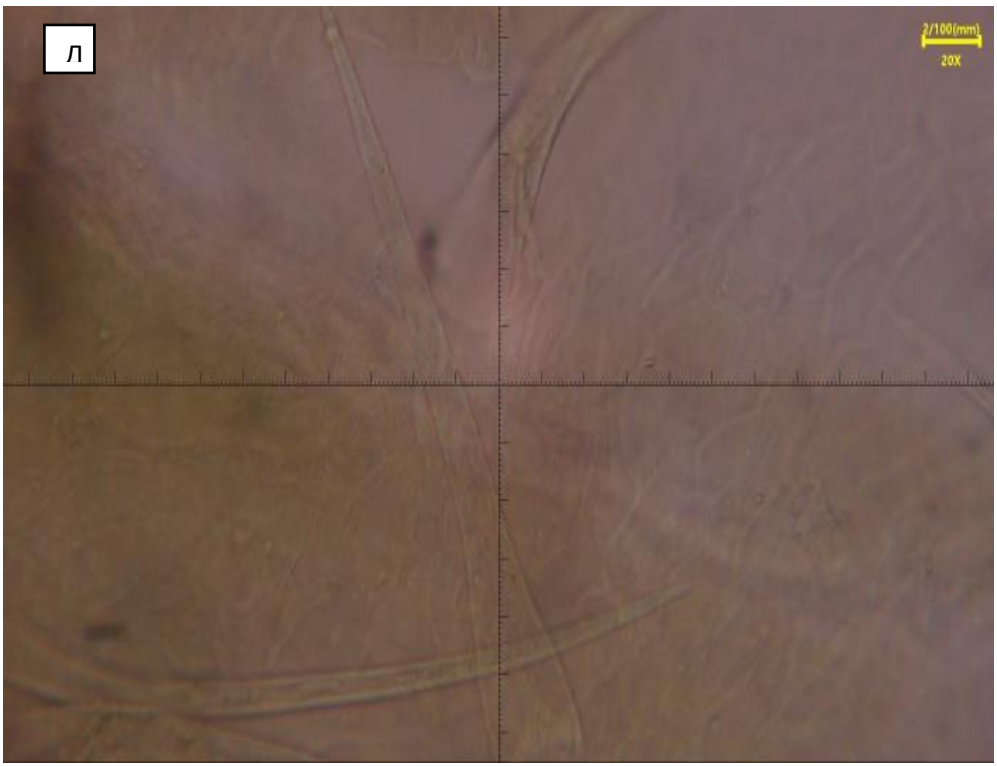
В мезофилле листа диагностированы редкие кристаллы оксалата кальция в виде друз (Рисунок 16Ж). Диаметр друзы – 4–5 мкм. Частота встречаемости – 20–50 на 1 мм^2 [133].

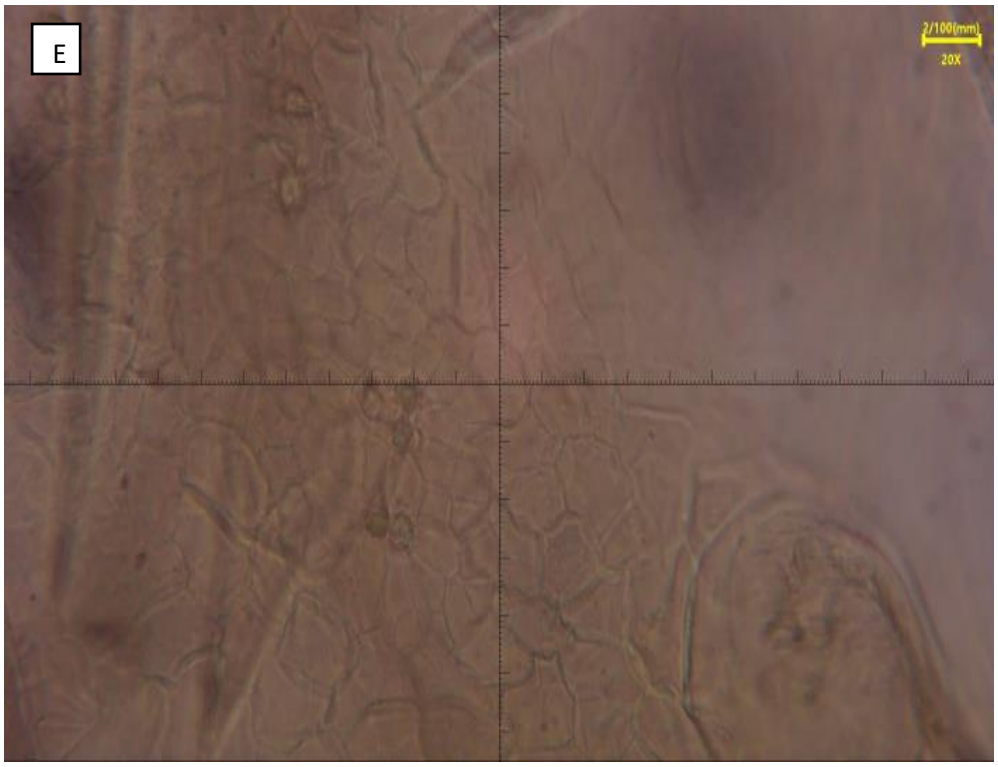

A
2/100(mm)
20X


Б
1/10(mm)
5X


В
2/100(mm)
20X


Г
2/100(mm)
20X


Л
2/100(mm)
20X


Е
2/100(mm)
20X

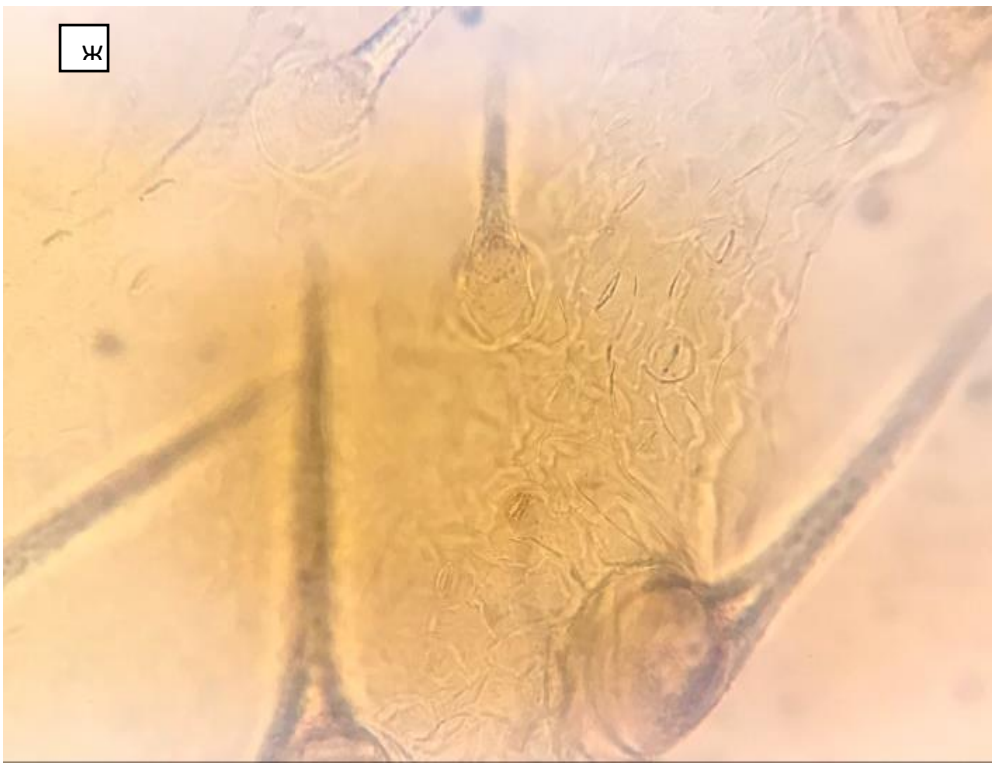
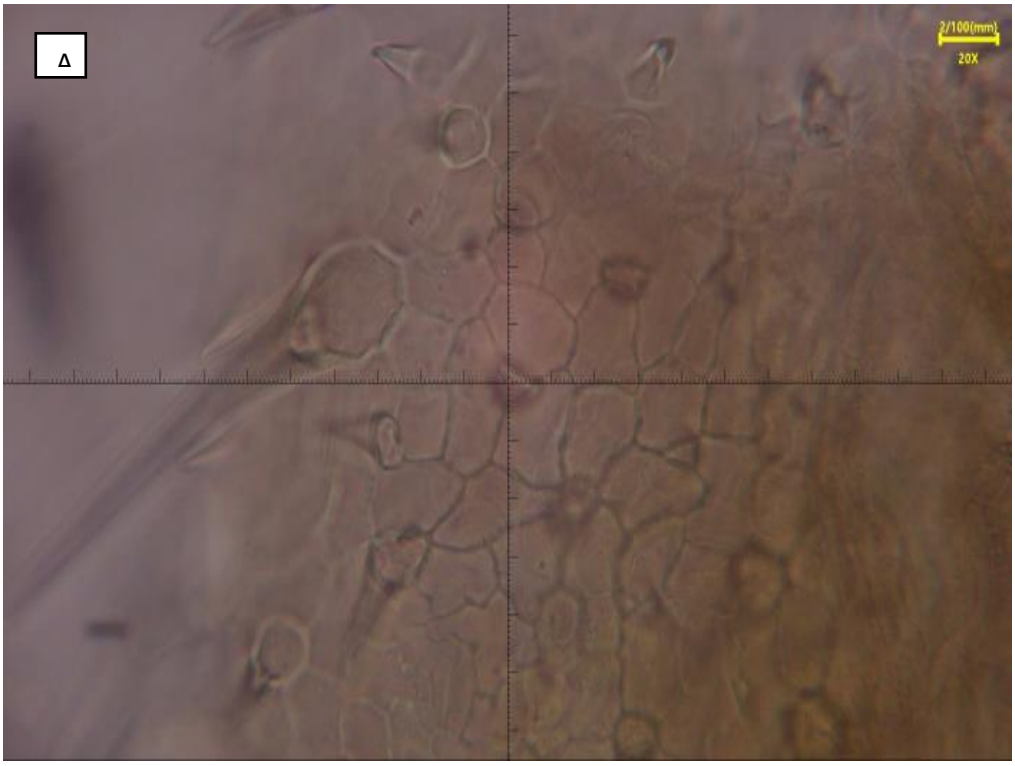
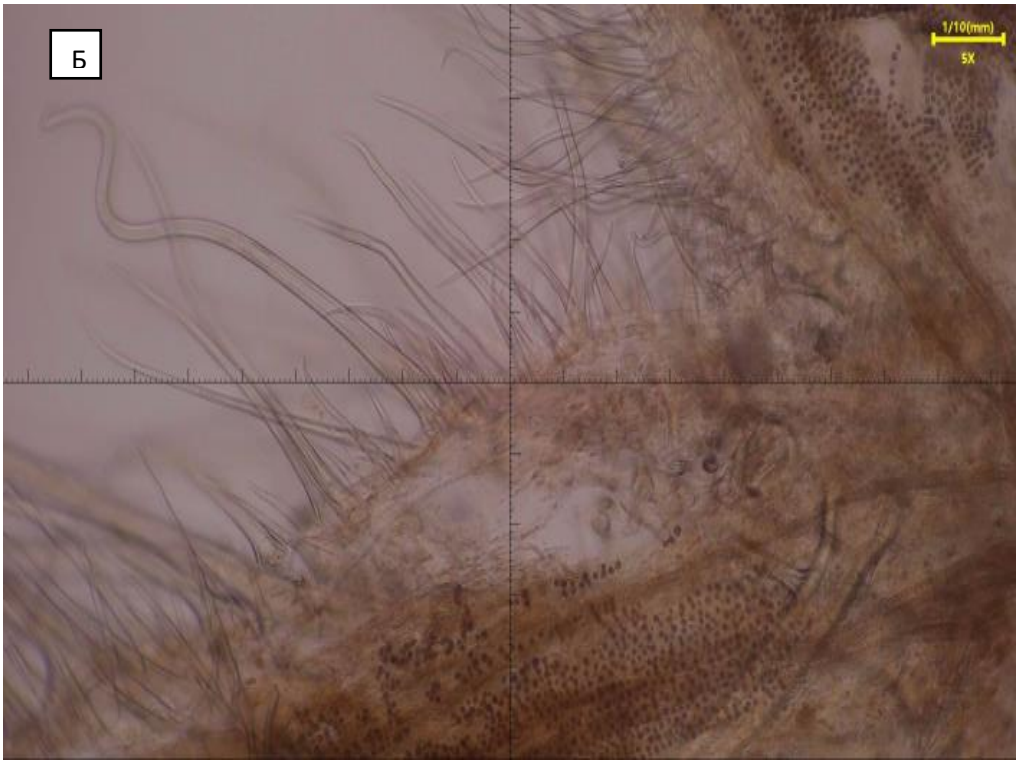


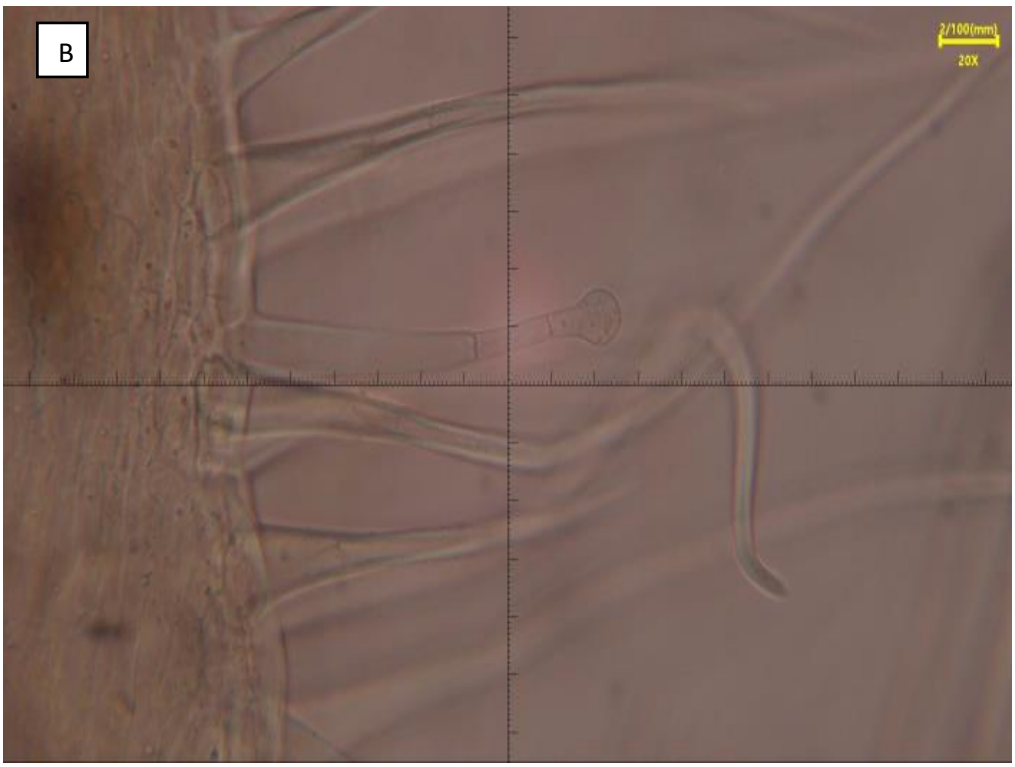
Рисунок 16 – Анатомо-диагностические признаки листа фацелии пижмолистной: А – фрагмент верхнего эпидермиса листа (×400); Б – простые одноклеточные волоски с расширенным основанием (×100); В – простые одноклеточные волоски с расширенным основанием (×400); Г – фрагмент нижнего эпидермиса листа (×400); Д – простые тонкостенные волоски (×400); Е – друзы оксалата кальция (×400); Ж – устьичный аппарат аномоцитного типа (×400)

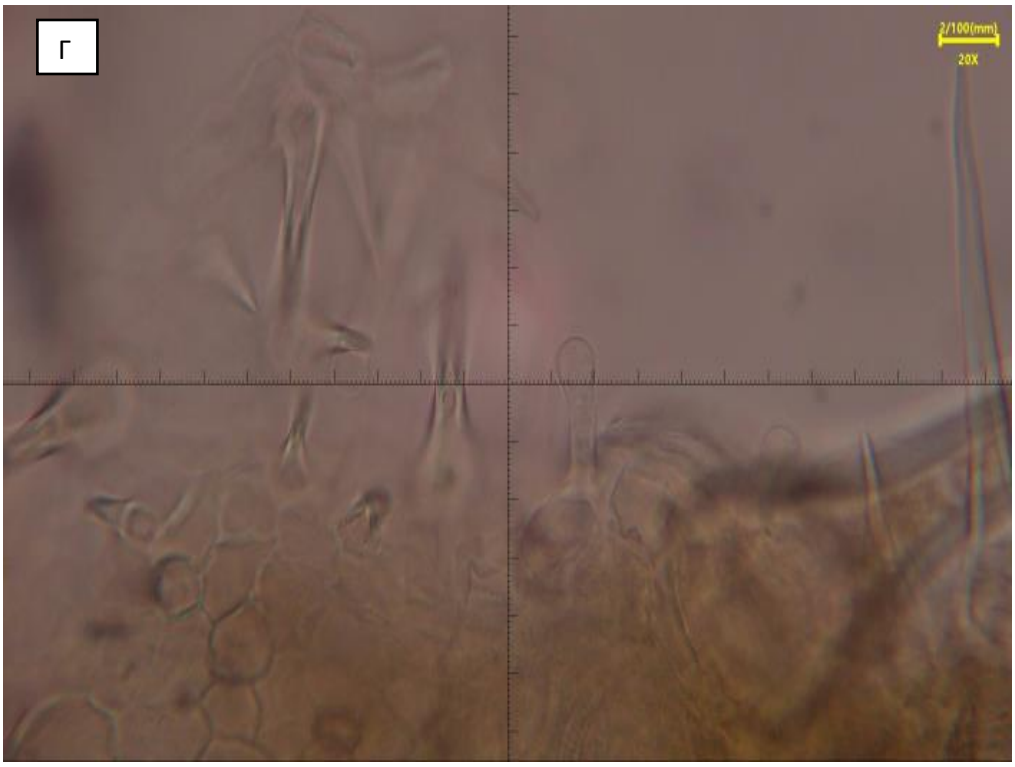
Эпидермис наружной поверхности чашечки представлен клетками с утолщенными стенками различной формы (Рисунок 17А). На поверхности и по краям чашечки встречаются многочисленные одноклеточные тонкостенные волоски, поверхность волосков бородавчатая, форма извилистая, реже прямая (Рисунок 17Б). Длина 500–1000 мкм, толщина 10–20 мкм. Частота встречаемости – до 100 на 1 мм^2. Также встречаются два типа тонкостенных со слабо бородавчатой поверхностью головчатых волосков: крупные и мелкие; в обоих случаях состоящие из 2-клеточной ножки и одноклеточной головки (Рисунок 17В, Г). Длина крупного волоска 500–800 мкм; мелкого – 50-60 мкм; толщина 10 мкм, диаметр головки 20–30 мкм. Частота встречаемости головчатых волосков, как крупных, так и мелких – 10–15 на 1 мм^2. В мезофилле клеток основной паренхимы чашелистиков обнаружено большое количество кристаллов оксалата

кальция в виде друз диаметром 5 мкм (Рисунок 17Д). Частота встречаемости – более 1000 на 1 мм^2[133].






В
2/100(mm)
20X


Г
2/100(mm)
20X

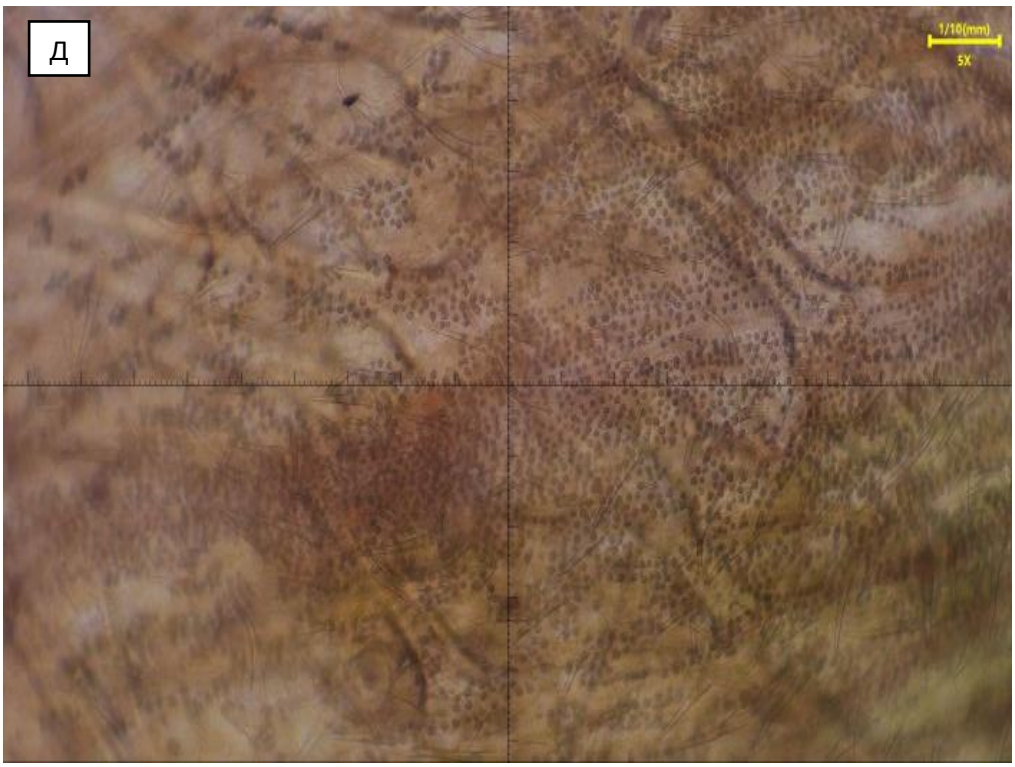


Рисунок 17 – Анатомо-диагностические признаки чашечки цветка фацелии пижмолистной: А – фрагмент эпидермиса чашечки (×400); Б – простые извилистостенные волоски (×100); В – крупный головчатый волосок (×400); Г – мелкий головчатый волосок (×400); Д – друзы оксалата кальция (×100)

При рассмотрении венчика цветка с поверхности обнаружены волоски двух типов (Рисунок 18А). Простые одноклеточные толстостенные со слегка бородавчатой поверхностью; длиной 500–800 мкм, толщиной 10 мкм. Частота встречаемости – до 50 на 1 мм^2. Головчатые, состоящие из 2-клеточной ножки и одноклеточной головки; длиной 100–200 мкм. Частота встречаемости 10–15 на 1 мм^2. Также диагностированы пыльцевые зерна сферической формы диаметром 20–25 мкм (Рисунок 18Б) [133]. Частота встречаемости 10–30 на 1 мм^2.

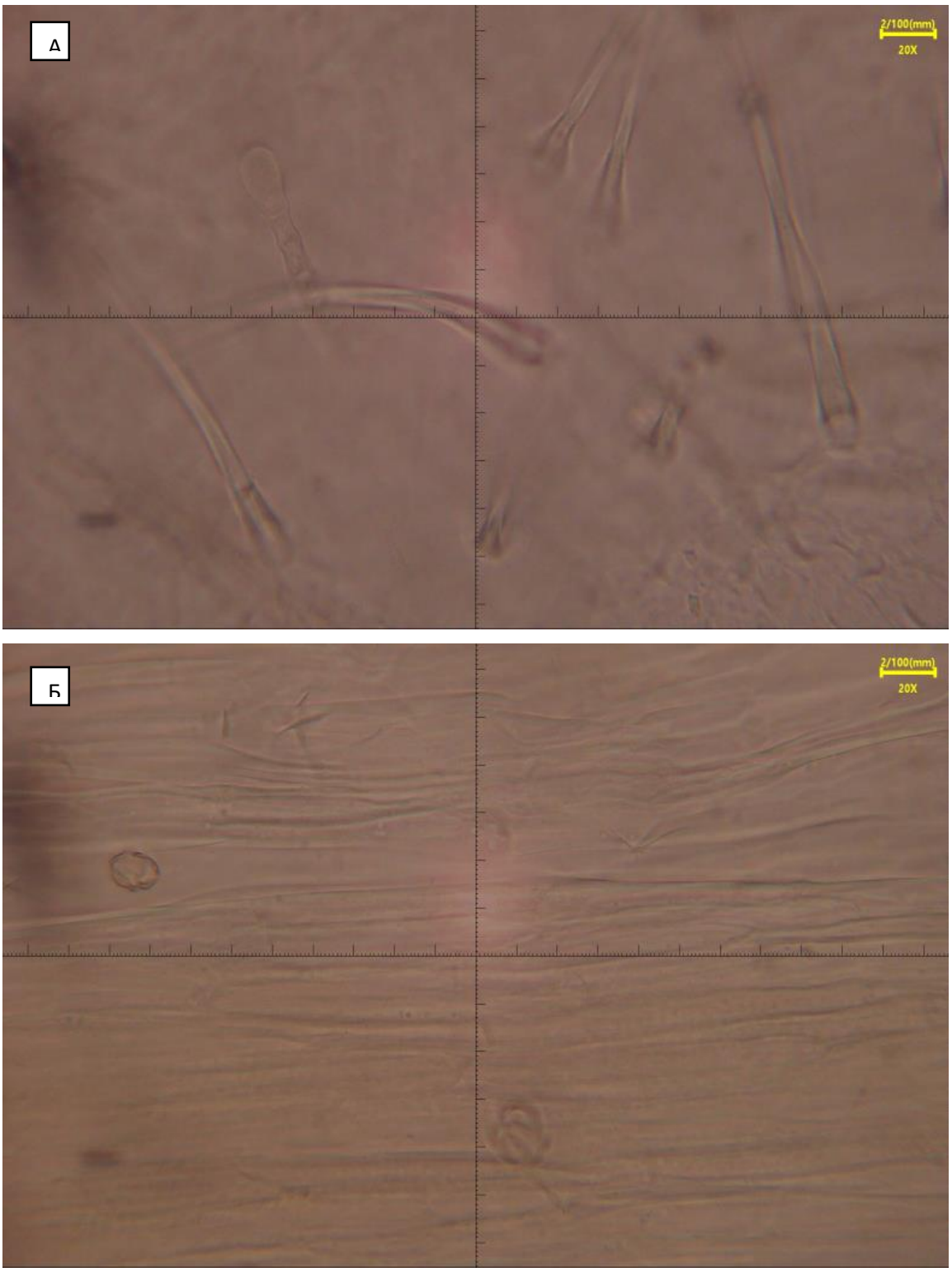


Рисунок 18 – Анатомо-диагностические признаки венчика цветка фацелии пижмолистной: А – простые одноклеточные волоски, головчатый волосок (×400); Б – пыльца (×400)

При проведении исследования микропрепарата порошка фацелии пижмолистной не всегда в поле зрения одновременно попадают все

диагностические признаки, поэтому для достоверной визуализации необходимо перемещать микропрепарат на предметном стекле.

В микропрепарате порошка травы фацелии пижмолистной встречаются фрагменты листа, венчика и стебля. На поверхности листа диагностированы простые волоски с бородавчатой поверхностью (Рисунок 19А), по краю листа видны простые волоски с расширенным основанием и заостренной верхушкой (Рисунок 19Б).

На поверхности венчика видны волоски с расширенным основанием (Рисунок 20Б) и простые толстостенные волоски (Рисунок 20А, В). Встречаются головчатые волоски с многоклеточной ножкой и одноклеточной головкой (Рисунок 20А). По всей поверхности венчика встречаются кристаллы оксалата кальция (Рисунок 20Б) [133].

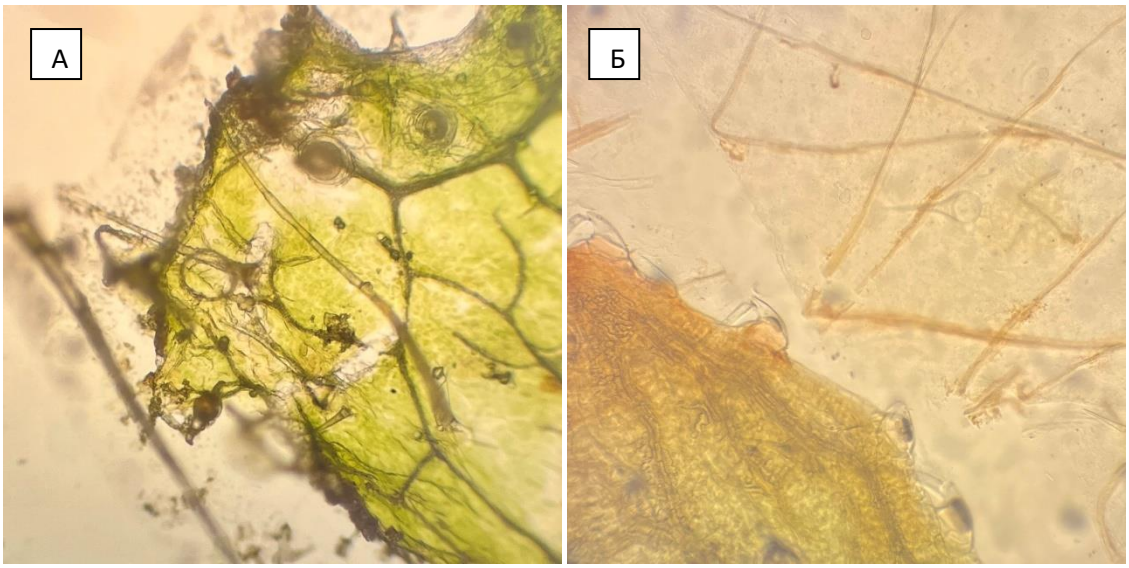


Рисунок 19 – Анатомо-диагностические признаки порошка травы фацелии пижмолистной: А-фрагмент листа с простыми волосками с бородавчатой поверхностью; Б – фрагмент листа: простые волоски с заостренной верхушкой, фрагмент венчика: простые волоски с расширенным основанием

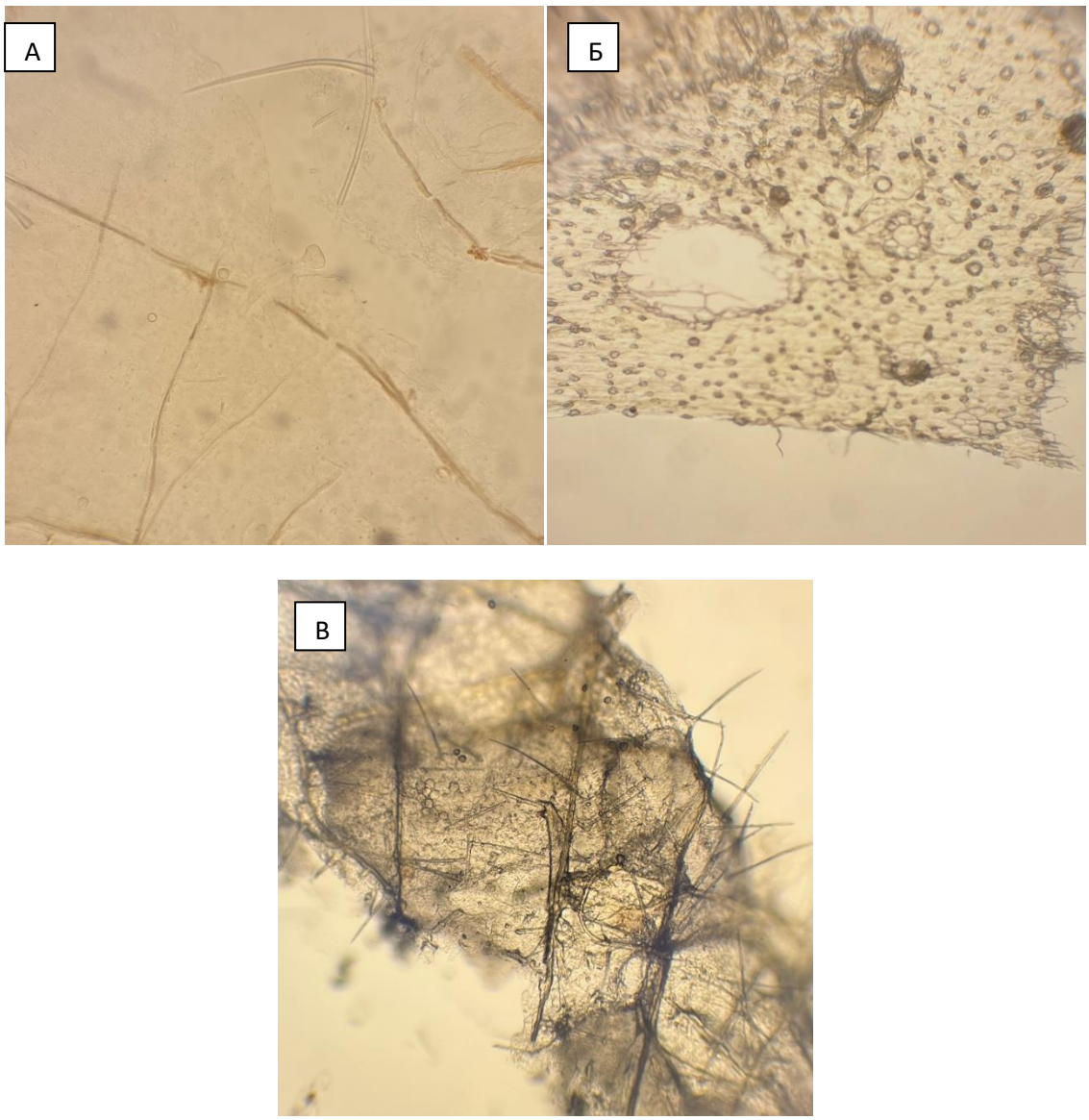


Рисунок 20 – Анатомо-диагностические признаки порошка травы фацелии пижмолистной (фрагмент венчика): А-головчатый волосок; Б-кристаллы оксалата кальция; В-простые толстостенные волоски

В микропрепарате видны фрагменты стебля с многочисленными простыми тонкостенными волосками (Рисунок 21А), клетки паренхимы стебля многоугольной формы (Рисунок 21Б).

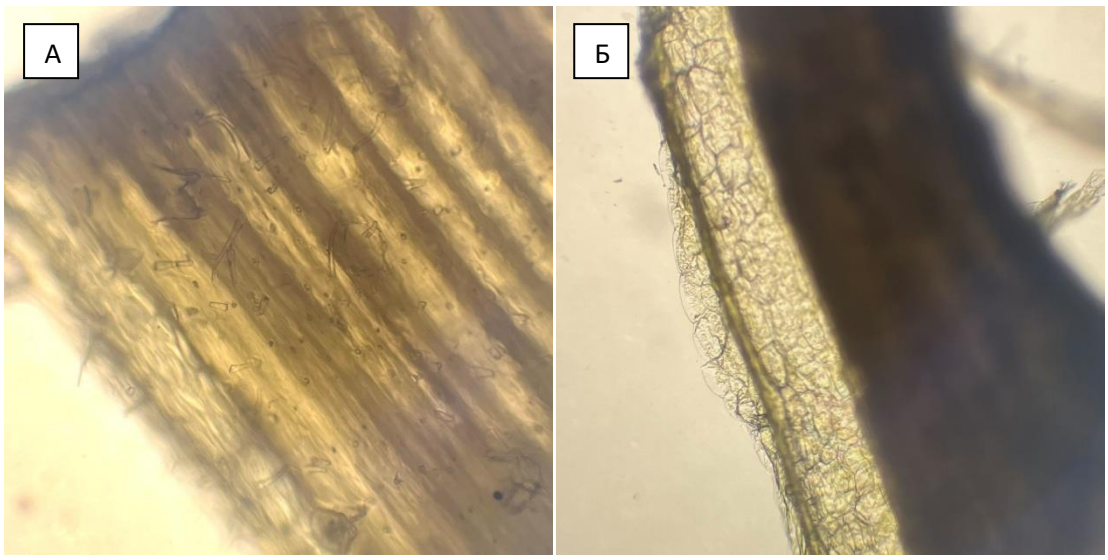


Рисунок 21 – Анатомо-диагностические признаки порошка травы фацелии пижмолистной (фрагмент стебля): А-простые тонкостенные волоски; Б-клетки многоугольной формы

В таблице 19 приведена количественная характеристика анатомо-диагностических признаков травы фацелии пижмолистной [133].

Таблица 19 – Количественная характеристика диагностически значимых признаков фацелии пижмолистной травы

Анатомо-диагностический признак	Длина, мкм	Ширина, мкм	Частота встречаемости, единиц в 1 мм^2
Верхний эпидермис листа			
Простые одноклеточные волоски	50–1000	35–100*	50–60
Нижний эпидермис листа			
Устьица	20	20	260–280
Простые одноклеточные волоски	50–1000	25–100*	50–60
Мезофилл листа			
Друзы оксалата кальция	4–5	4–5	20–50
Чашечка			
Простые одноклеточные волоски	500–1000	10–20	до 100
Крупные головчатые волоски	500–600	10	10–15
Мелкие головчатые волоски	50–60	10	10–15
Друзы оксалата кальция	5–6	5–6	более 1000
Венчик			
Простые одноклеточные волоски	500–800	10	до 50
Головчатые волоски	100–200	10	10–15
Пыльцевые зерна	20–25	20–25	10–30

* – ширина основания волоска

Все остальные образцы (№ 2-9, глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования) по внешним признакам и диагностически значимым соответствуют образцу № 1. Также, морфолого-анатомические признаки фацелии пижмолистной, представленные в таблице 19, позволяют отличить данный вид от фацелии Пурша и фацелии колокольчатой.

4.2.1 Люминесцентная микроскопия

Для подтверждения и дополнения данных об анатомическом строении фацелии пижмолистной травы проводили люминесцентную микроскопию (глава 2, раздел 2.3.1.1 Люминесцентная микроскопия).

При люминесцентной микроскопии наблюдается ярко-зеленое свечение простых одноклеточных волосков с расширенным основанием на верхней стороне эпидермиса листа (Рисунок 22).

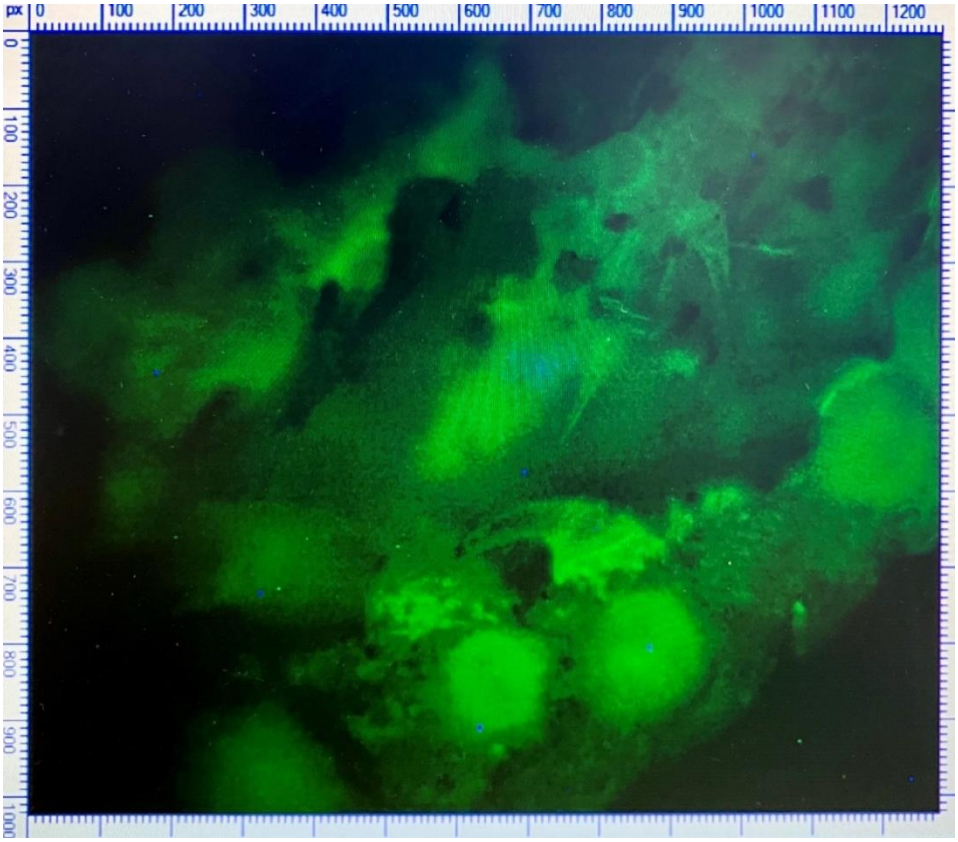


Рисунок 22 – Фрагмент верхнего эпидермиса листа

При проведении люминесцентной микроскопии порошка травы фацелии пижмолистной видны фрагменты листа с ярко-зеленым свечением волосков: простых с расширенным основанием и заостренной верхушкой (Рисунок 23А), простых толстостенных с бородавчатой поверхностью (Рисунок 23Б).

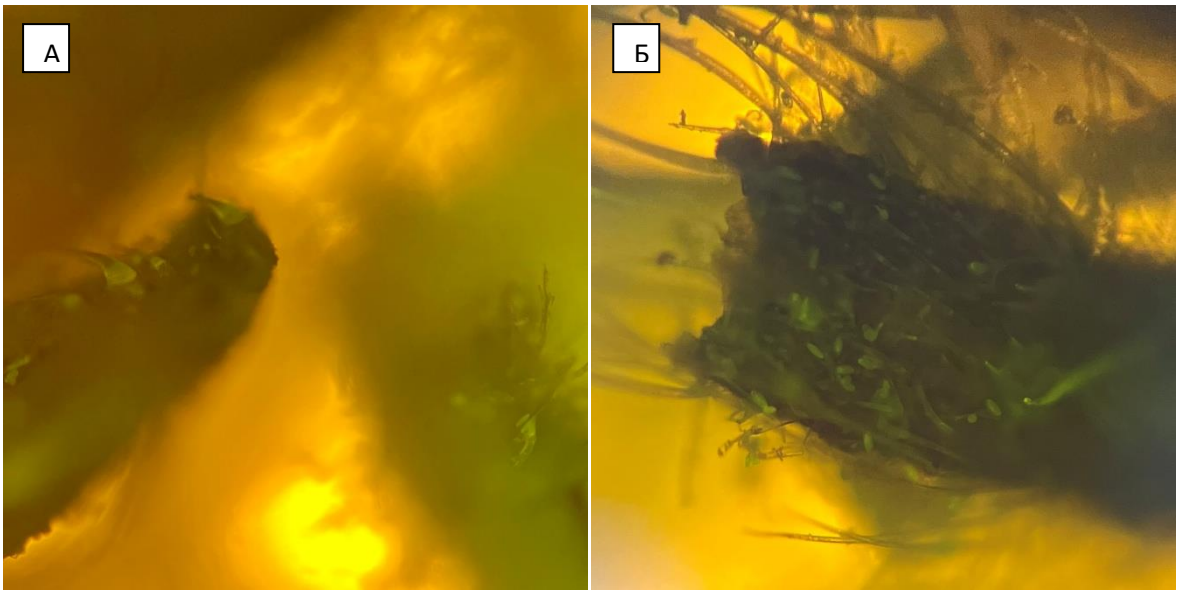


Рисунок 23 – Фрагменты листа фацелии пижмолистной: А-простые волоски с расширенным основанием; Б-простые толстостенные волоски с бородавчатой поверхностью

Люминесцентный микроскопический метод также позволил охарактеризовать и выделить основные диагностические признаки сырья фацелии пижмолистной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ

1. Диагностически значимыми макроскопическими признаками травы фацелии пижмолистной являются: сильное опушение всех частей растения, включая стебель, листья и чашечку цветка; непарноперисторассеченные листья, у которых количество пар сегментов от 6 до 8; выступающие из венчика тычинки в количестве 5.

2. Диагностически значимыми микроскопическими признаками являются: форма клеток верхнего и нижнего эпидермиса листа; устьица аномоцитного типа, с 5–8 побочными клетками; простые одноклеточные толстостенные волоски с бородавчатой поверхностью, встречающиеся на верхнем и нижнем эпидермисе листа, на поверхности чашечки и венчика цветка; многоклеточные головчатые волоски, встречающиеся на поверхности чашелистиков и лепестков; включения кристаллов оксалата кальция в форме друз: редкие в мезофилле листа и многочисленные в мезофилле чашечки цветка.

3. Методом люминесцентной микроскопии листа установлено ярко-зеленое свечение простых одноклеточных волосков с расширенным основанием, и простых толстостенных волосков с бородавчатой поверхностью.

4. Выявленные диагностические признаки морфологического и анатомического строения могут быть использованы при определении подлинности травы фацелии пижмолистной.

5. Результаты морфолого-анатомического изучения надземной части фацелии пижмолистной использованы при разработке проекта фармакопейной статьи на сырье «Фацелии пижмолистной трава» разделы «Внешние признаки» и «Микроскопия», а также инструкции по заготовке и сушке травы фацелии пижмолистной.

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ И НОРМ КАЧЕСТВА ФАЦЕЛИИ ПИЖМОЛИСТНОЙ ТРАВЫ

5.1 Подлинность

Разработка показателей норм качества фацелии пижмолистной травы проводилась на пяти образцах сырья, заготовленных в фазу массового цветения, в различных местах интродукции (образцы №1-5, глава 2, раздел 2.1 Объекты исследования).

Внешние признаки

Цельное сырье. Верхние части стеблей с листьями, цветками и бутонами. Стебли ветвистые, полые, цилиндрические, длиной до 80 см, сильно опушенные. Листья очередные, непарноперисторассеченные с 6-8 сегментами, края неравномерно пильчато-зубчатые, опушенные, длиной 15-20 см, шириной до 5 см. Цветки многочисленные, почти сидячие, без прицветников, собранные в густое одностороннее соцветие – колосовидный завиток. Чашечка длиной 5-6 мм, сильно опушена, венчик 7-8 мм, колокольчатой формы, с ушками, 5 сросшихся лепестков. Тычинок 5, длиной 10 мм, отчетливо видны из цветка. Плод – двустворчатая коробочка, шаровидной или яйцевидной формы.

Цвет стеблей – коричневато-зеленый, светлее листьев; листьев – темно-зеленый сверху и серовато-зеленый снизу; чашечка – серовато-зеленая; венчик и тычинки – сиреневые, редко встречаются белые лепестки. Запах слабый, вкус водного извлечения – горьковатый.

Измельченное сырье. Различной формы кусочки стеблей, листьев, цветков и их части, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.

При рассмотрении измельченного сырья под лупой (10×) видны кусочки листьев от серовато-зеленого до темно-зеленого цвета; кусочки стеблей, в продольном сечении, цвет на изломе беловатый; лепестки и их кусочки сиреневого цвета; чашелистики и их части серовато-зеленого цвета.

Цвет измельченного сырья от серовато-зеленого до темно-зеленого, с сиреневыми вкраплениями. Запах слабый, вкус водного извлечения – горьковатый.

Порошок. Кусочки стеблей, листьев, цветков, бутонов, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

При рассмотрении порошка под лупой (10ˣ) видны кусочки листьев от серовато-зеленого до темно-зеленого цвета; кусочки стеблей, в продольном сечении, цвет на изломе беловатый; лепестки и их кусочки сиреневого цвета; чашелистики и их части серовато-зеленого цвета.

Цвет порошка от серовато-зеленого до темно-зеленого, с сиреневыми вкраплениями. Запах слабый, вкус водного извлечения – горьковатый.

Микроскопические признаки

Цельное сырье, измельченное сырье. При рассмотрении микропрепаратов листа с поверхности должны быть видны многочисленные простые одноклеточные волоски с бородавчатой поверхностью с расширенным основанием и заостренной верхушкой; верхний эпидермис листа представлен многоугольными клетками с прямыми или слабоизвилистыми неравномерно утолщенными стенками; на нижней стороне листа должны быть видны многочисленные устьица, окруженные 5-8 клетками (аномоцитный тип); кристаллы оксалата кальция в виде друз встречаются в мезофилле листа; клетки эпидермиса чашечки различной формы с утолщенными стенками; на поверхности и по краям чашечки должны быть видны одноклеточные тонкостенные волоски, с бородавчатой поверхностью и извилистой формы; встречаются крупные и мелкие головчатые волоски, состоящие из 2-клеточной ножки и одноклеточной головки; множественные кристаллы оксалата кальция в виде друз видны в мезофилле паренхимы чашелистиков; на поверхности венчика встречаются простые одноклеточные толстостенные волоски и головчатые, на 2-клеточной ножке и одноклеточной головке; пыльцевые зерна сферической формы.

Порошок. При рассмотрении микропрепаратов должны быть видны фрагменты листовой пластинки с многоугольными клетками эпидермиса; встречаются простые волоски с расширенным основанием и заостренной верхушкой, простые тонкостенные волоски.

Встречаются фрагменты венчика с простыми толстостенными и головчатыми волосками, фрагменты чашелистиков с большим количеством включений кристаллов оксалата кальция в виде друз.

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография

Приготовление растворов.

Раствор стандартного образца (СО) хлорогеновой кислоты. Около 0,020 г СО хлорогеновой кислоты растворяют в 96 % в мерной колбе вместимостью 25 мл, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают. Срок годности раствора 3 мес. при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.

Раствор стандартного образца (СО) рутина. Около 0,05 г СО рутина растворяют при нагревании в спирте 70% в мерной колбе вместимостью 50 мл. После охлаждения до комнатной температуры доводят объем раствора спиртом 70% до метки и перемешивают. Срок годности раствора 30 суток при хранении в прохладном защищенном от света месте.

Раствор для детектирования: 2% спиртовой раствор алюминия хлорида. 3,6 г 6-водного хлорида алюминия растворяют в 100 мл спирта этилового 70%. Срок годности 3 мес. при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

Около 1,0 г измельченного сырья до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, помещают в колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл спирта этилового 70 % и нагревают с обратным холодильником на кипящей водяной бане 30 минут. После охлаждения извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытуемый раствор).

На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля на алюминиевой подложке размером 10*10 наносят 10 мкл испытуемого раствора и 5 мкл раствора СО хлорогеновой кислоты и 5 мкл раствора СО рутина.

Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе в течение 5-10 минут, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 30 минут смесью растворителей бутанол – уксусная кислота – вода – этилацетат (8:8:8:4), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителя пройдет около 80-90% длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, обрабатывают 2% спиртовым раствором алюминия хлорида, просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм.

На хроматограмме раствора СО хлорогеновой кислоты должна обнаруживаться зона адсорбции ярко-голубого цвета.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона адсорбции с зелено-голубой флуоресценцией на уровне зоны на хроматограмме раствора СО хлорогеновой кислоты, зона адсорбции с ярко синей флуоресценцией выше зоны адсорбции на хроматограмме СО хлорогеновой кислоты и зона адсорбции с сине-фиолетовой флуоресценцией ниже зоны адсорбции на хроматограмме СО хлорогеновой кислоты.

На хроматограмме испытуемого раствора должна обнаруживаться зона с ярко-желтой флуоресценцией на уровне зоны на хроматограмме раствора СО рутина, две зоны адсорбции желто-коричневого цвета ниже зоны адсорбции на хроматограмме раствора СО рутина (флавоноиды), допускается обнаружение других зон адсорбции.

5.2 Определение показателей качества

Влажность. Точную навеску измельченного сырья массой 3,0, взвешенную с точностью до 0,001 г помещали в бюксы, предварительно доведенные до постоянной массы и взвешенные с крышкой. Бюкс с навеской и крышкой ставили

в заранее нагретый сушильный шкаф до 100-105°С и высушивали в течение 2 часов до постоянной массы. Определение повторяли в количестве трех раз.

Влажность сырья в процентах вычисляли по формуле, представленной в указанной общей фармакопейной статье [86].

Результаты определения влажности сырья представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Результаты определения влажности травы фацелии пижмолистной

№ образца	Масса сырья до высушивания, г	Масса сырья после высушивания, г	Влажность, %	Среднее значение, %
г. Михайловск (образец 1)	3,012	2,7895	7,97	7,9 ΔX=0,12 S^2=0,022 S=0,148 $Ɛ_{отн}$=1,52%
	3,003	2,7765	8,15	
	3,009	2,7904	7,83	
	3,010	2,7952	7,68	
	3,006	2,7866	7,87	
	3,012	2,7887	8,0	
Нефтекумский район (образец 2)	3,013	2,7768	8,50	8,4 ΔX=0,2 S^2=0,058 S=0,241 $Ɛ_{отн}$=2,38%
	3,016	2,7752	8,67	
	3,011	2,7815	8,25	
	3,008	2,7721	8,50	
	3,012	2,7905	7,93	
	3,010	2,7796	8,28	
Ботанический сад, г. Пятигорск (образец 3)	3,015	2,7784	8,52	8,2 ΔX=0,22 S^2=0,065 S=0,25 $Ɛ_{отн}$=2,68%
	3,007	2,7812	8,12	
	3,010	2,7831	8,15	
	3,011	2,7793	8,34	
	3,007	2,7874	7,88	
	3,010	2,7715	8,60	
окрестности г. Махачкала (образец 4)	3,006	2,7993	7,38	7,8 ΔX=0,27 S^2=0,11 S=0,33 $Ɛ_{отн}$=3,46%
	3,012	2,7865	8,09	
	3,005	2,7720	8,40	
	3,012	2,7965	7,70	
	3,008	2,7915	7,75	
	3,010	2,7896	7,97	
Окрестности г. Каспийск (образец 5)	3,006	2,7726	8,41	8,2 ΔX=0,295 S^2=0,098 S=0,31 $Ɛ_{отн}$=3,6%
	3,012	2,7884	8,0	
	3,010	2,7715	8,6	
	3,008	2,7754	8,38	
	3,006	2,7898	7,75	
	3,008	2,7715	8,53	

В анализируемых образцах фацелии пижмолистной травы из пяти районов заготовки сырья содержание влаги составило от 7,8 до 8,4%, следовательно, норма этого показателя может быть регламентирована – не более 10%.

Зола общая. Определение золы общей устанавливали по методике ОФС 1.2.2.2.0013 «Зола общая» [86]. Около 3 г травы (точная навеска) помещали в предварительно прокаленный, охлажденный в эксикаторе, и точно взвешенный фарфоровый тигель, равномерно распределяя навеску по дну тигля. Затем нагревали тигель при 100-105°С в течение 1 часа, после этого сжигали и прокаливали остаток при температуре 550-650°С, избегая при этом сплавления золы и спекания её со стенками тигля. В ходе сжигания появление пламени обнаружено не было. По окончании прокаливания тигель с золой охлаждали в эксикаторе и взвешивали. Прокаливание проводили до достижения постоянной массы остатка золы.

Полученные данные анализа по показателю «Зола общая» отражены в таблице 21.

Таблица 21 – Результаты определения содержания общей золы в траве фацелии пижмолистной

№ образца	Масса навески, г	Масса золы, г	Общая зола, %	Среднее значение, %
г. Михайловск (образец 1)	2,984	0,171	5,73	5,5 ΔX=0,148 S^2=0,029 S=0,17 $\varepsilon_{отн}$=2,69%
	2,924	0,162	5,54	
	2,978	0,157	5,27	
	3,004	0,166	5,52	
	2,986	0,158	5,29	
	3,003	0,170	5,66	
Нефтекумский район (образец 2)	2,985	0,179	5,99	5,9 ΔX=0,14 S^2=0,025 S=0,158 $\varepsilon_{отн}$=2,37%
	2,964	0,182	6,14	
	3,002	0,176	5,86	
	2,998	0,180	6,0	
	3,005	0,173	5,76	
	2,995	0,170	5,67	

Окончание таблицы 21 – Результаты определения содержания общей золы в траве фацелии пижмолистной

Ботанический сад, г. Пятигорск (образец 3)	3,009	0,144	4,78	4,8 ΔX=0,136 S^2=0,029 S=0,17 $\varepsilon_{отн}$=2,83%
	2,985	0,138	4,62	
	3,023	0,152	5,02	
	3,005	0,146	4,86	
	2,997	0,135	4,5	
	2,983	0,142	4,76	
окрестности г. Махачкала (образец 4)	2,899	0,164	5,66	5,2 ΔX=0,345 S^2=0,22 S=0,47 $\varepsilon_{отн}$=6,6%
	2,955	0,158	5,35	
	3,003	0,152	5,06	
	3,005	0,146	4,86	
	2,987	0,156	5,22	
	2,993	0,152	5,07	
окрестности г. Каспийск (образец 5)	2,922	0,193	6,6	6,3 ΔX=0,26 S^2=0,082 S=0,29 $\varepsilon_{отн}$=4,1%
	3,021	0,188	6,22	
	3,016	0,196	6,5	
	2,992	0,182	6,1	
	2,984	0,198	6,64	
	3,006	0,176	5,85	

Содержание золы общей в образцах травы фацелии пижмолистной составило от 4,8 до 6,3 %, поэтому норма для данного показателя может быть регламентирована – не более 8%.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте. Определение проводили по методике ОФС 1.5.3.0005 «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте» [86]. В тигли с остатками после определения золы общей, прибавляли 25 мл хлористоводородной кислоты разведенной 10 %, тигель накрывали часовым стеклом и кипятили в течение 10 минут. После охлаждали тигель, прибавляли 5 мл горячей воды, обмывали часовое стекло. Жидкость фильтровали через беззольный фильтр, переносили на него остаток с помощью горячей воды. Фильтр с осадком промывали горячей водой до нейтральной реакции промывных вод по универсальной индикаторной бумаге, переносили его в тот же тигель, сушили и прокаливали при температуре 550-650°С, охлаждали в эксикаторе и взвешивали. Прокаливание проводили до постоянной массы остатка.

Полученные результаты определения показателя «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте» представлены в таблице 22.

Таблица 22 – Результаты определения содержания золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте в траве фацелии пижмолистной

№ образца	Масса навески, г	Масса золы, г	Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте, %	Среднее значение, %
г. Михайловск (образец 1)	2,984	0,1223	4,09	3,8 ΔX=0,18 S^2=0,043 S=0,2 $Ɛ_{отн}$=4,7%
	2,924	0,1022	3,49	
	2,978	0,1094	3,67	
	2,965	0,1135	3,83	
	2,988	0,1173	3,92	
	2,993	0,1204	4,02	
Нефтекумский район (образец 2)	2,979	0,1026	3,44	3,4 ΔX=0,05 S^2=0,0037 S=0,06 $Ɛ_{отн}$=1,47%
	2,997	0,0994	3,32	
	3,002	0,1008	3,36	
	2,996	0,1016	3,39	
	3,005	0,1052	3,50	
	2,988	0,1033	3,45	
Ботанический сад, г. Пятигорск (образец 3)	2,978	0,1225	4,11	4,1 ΔX=0,07 S^2=0,007 S=0,08 $Ɛ_{отн}$=1,75%
	2,975	0,1198	4,03	
	2,992	0,1264	4,22	
	2,986	0,1218	4,08	
	3,005	0,1204	4,01	
	3,002	0,1193	3,97	
окрестности г. Махачкала (образец 4)	3,005	0,1065	3,54	3,7 ΔX=0,07 S^2=0,007 S=0,084 $Ɛ_{отн}$=1,89%
	2,996	0,1088	3,63	
	2,982	0,1124	3,77	
	2,994	0,1089	3,64	
	3,003	0,1115	3,71	
	2,984	0,1121	3,76	
Окрестности г. Каспийск (образец 5)	2,986	0,1186	3,97	4,0 ΔX=0,06 S^2=0,006 S=0,077 $Ɛ_{отн}$=1,5%
	3,002	0,1204	4,01	
	2,993	0,1168	3,90	
	2,899	0,1185	4,09	
	3,005	0,1174	3,90	
	2,986	0,1201	4,02	

Содержание золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте в образцах травы фацелии пижмолистной составило от 3,4 % до 4,1%, поэтому

рекомендуемая норма для золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте – не более 5%.

Содержание экстрактивных веществ. Для определения экстрактивных веществ использовали метод 1 ОФС 1.5.3.0006 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [86].

Результаты содержания экстрактивных веществ представлены в таблице 23.

Таблица 23 – Результаты определения экстрактивных веществ в траве фацелии пижмолистной

Растворитель	Масса навески, г	Объем экстрагента, мл	Содержание экстрактивных веществ, %	Среднее содержание экстрактивных веществ, %
Спирт этиловый 40 %	1,108	50	19,23	18,96 ΔX=0,19 S^2=0,042 S=0,2 $\varepsilon_{отн}$=1,0%
	1,056	50	19,12	
	0,996	50	18,79	
	1,064	50	18,65	
	0,998	50	19,11	
	1,032	50	18,88	
Спирт этиловый 70 %	0,935	50	20,87	20,91 ΔX=0,15 S^2=0,028 S=0,17 $\varepsilon_{отн}$=0,72%
	0,964	50	21,15	
	1,012	50	20,71	
	0,975	50	20,69	
	1,008	50	21,04	
	0,988	50	20,97	
Спирт этиловый 90 %	0,984	50	15,28	15,74 ΔX=0,28 S^2=0,11 S=0,33 $\varepsilon_{отн}$=1,78%
	1,036	50	16,21	
	0,978	50	15,74	
	0,989	50	15,48	
	1,014	50	16,12	
	0,993	50	15,62	
Вода	1,107	50	24,67	24,03 ΔX=0,33 S^2=0,17 S=0,41 $\varepsilon_{отн}$=1,37%
	1,093	50	23,32	
	1,095	50	23,96	
	1,095	50	24,26	
	1,103	50	23,84	
	1,099	50	24,15	

Содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой, в исследуемых образцах находится в интервале от 22,8 до 24,9%; веществ, извлекаемых спиртом этиловым 70% в интервале 20,71 – 21,15%; спиртом этиловым 40% от 18,23 до 19,42%; спиртом этиловым 90% от 15,28 до 16,21%. Выполненное экспериментальное исследование позволило предложить в качестве критериев качества сырья – содержание экстрактивных веществ, извлекаемых водой - не менее 22%, и содержание экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом этиловым 70% - не менее 20%.

5.3 Разработка методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот травы фацелии пижмолистной

5.3.1 Обоснование выбора основного соединения

На основании фитохимического исследования по определению содержания фенольных соединений, выполненных ранее, и полученных данных тонкослойной хроматографии и ВЭЖХ анализа, изложенных выше, в качестве основного соединения для стандартизации нами выбрана хлорогеновая кислота. Данное соединение выбрано также из соображений доступности стандартного образца [89, 116].

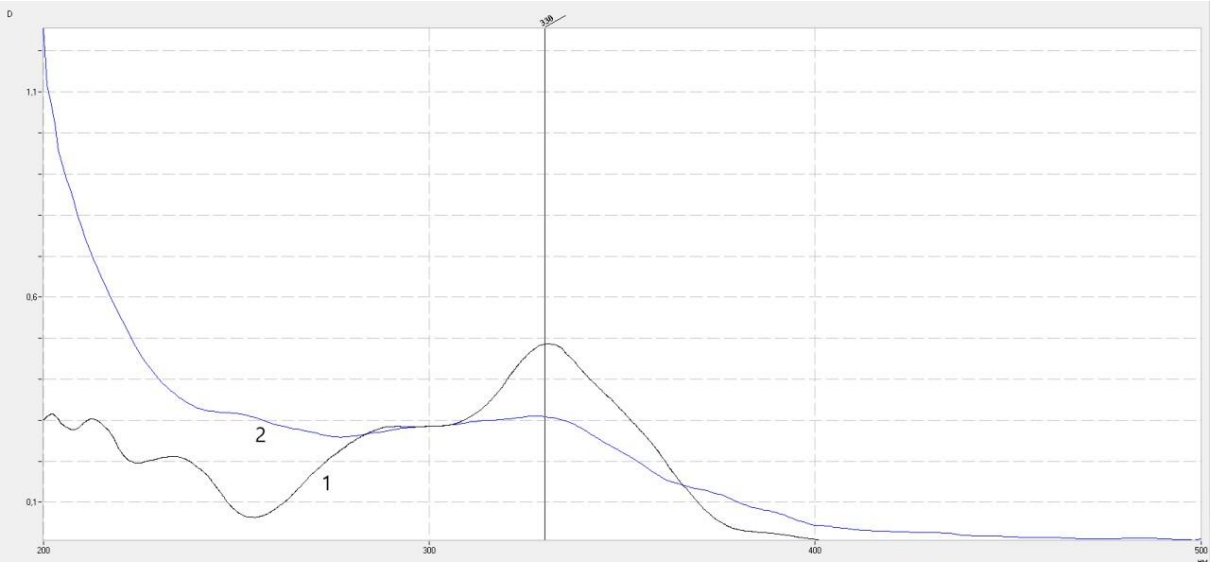


Рисунок 24 – УФ-спектр стандратного образца хлорогеновой кислоты (1) и водно-спиртового извлечения из травы фацелии пижмолистной (2)

На УФ-спектре водно-спиртового извлечения травы фацелии пижмолистной на рисунке 24 установлено, что максимум поглощения спиртового извлечения травы фацелии пижмолистной наблюдается при длине волны 330 нм, что соответствует максимуму поглощения СО хлорогеновой кислоты [116].

5.3.2 Выбор условий количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот травы фацелии пижмолистной

При разработке методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот подбор условий проводили в зависимости от типа экстрагента, времени и кратности экстракции, степени измельчения сырья [116, 134].

Максимальный выход суммы фенолкарбоновых кислот наблюдался при размере частиц сырья равном 2 миллиметрам (Таблица 24).

Далее нами проводилась работа по выбору оптимального экстрагента, были использованы водно-спиртовые извлечения различной концентрации (Таблица 25). Наибольшее извлечение суммы фенолкарбоновых кислот наблюдали при использовании спирта этилового 70% в качестве экстрагента, наименьшее содержание – при использовании воды очищенной [116].

Последним этапом при подборе условий являлось изучение влияния времени и кратности экстракции на выход суммы фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной (Таблица 26). Максимальное извлечение суммы фенолкарбоновых кислот наблюдалось при трёхкратном экстрагировании по 30 минут [116].

Таблица 24 – Содержание фенолкарбоновых кислот в зависимости от степени измельчения травы фацелии пижмолистной (n=6)

Размер сырья, мм	Содержание суммы фенолкарбоновых кислот, %
1	2,42±0,21
2	3,16±0,12
3	1,84±0,18

Таблица 25 – Содержание фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной в зависимости от экстрагента (n=6)

Экстрагент	Содержание суммы фенолкарбоновых кислот, %
Вода очищенная	1,13±0,16
Спирт этиловый 30%	2,91±0,11
Спирт этиловый 50%	3,18±0,22
Спирт этиловый 70%	3,37±0,14
Спирт этиловый 90%	3,05±0,09

Таблица 26 – Содержание фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной в зависимости от времени экстракции (n=6)

Количество экстракций	Время одной экстракции, мин	Содержание суммы фенолкарбоновых кислот, %
1	15	1,98±0,14
2	15	2,27±0,19
3	15	2,85±0,21
1	30	2,43±0,12
2	30	2,94±0,19
3	30	3,36±0,15

Исходя из полученных данных, были определены оптимальные условия и разработана методика количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной.

5.3.3 Валидационная оценка методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот травы фацелии пижмолистной

Валидацию разработанной методики проводили по показателям: специфичность, линейность, правильность и прецизионность (повторяемость) на образце №1 [135, 136].

Показатель специфичности методики подтверждали путем сравнения максимума поглощения спиртового извлечения травы фацелии пижмолистной, который наблюдали при длине волны 330 нм, что совпадает с максимумом поглощения стандартного образца хлорогеновой кислоты (Рисунок 24) [137].

Линейность определяли на 5 уровнях путем взятия навесок сырья в диапазоне от 80% до 120%. На каждом из уровней определено содержание суммы фенолкарбоновых кислот по разработанной методике. Результаты по показателю «Линейность» отражены в таблице 27. По полученным данным видно, что градуировочный график имеет линейную зависимость с уравнением y=0,336x-0,017, коэффициент корреляции составляет 0,996, что соответствует критерию приемлемости и говорит о линейности разработанной методики (Рисунок 25) [137].

Таблица 27 – Результаты определения линейности методики

Концентрация, % от нормированного значения	Масса навески, г	Оптическая плотность	Содержание суммы фенолкарбоновых кислот, %	Коэффициент корреляции
80	0,8038	0,252	3,38	0,996
90	0,9016	0,289	3,45	
100	1,0047	0,321	3,44	
110	1,1052	0,355	3,46	
120	1,2037	0,385	3,44	

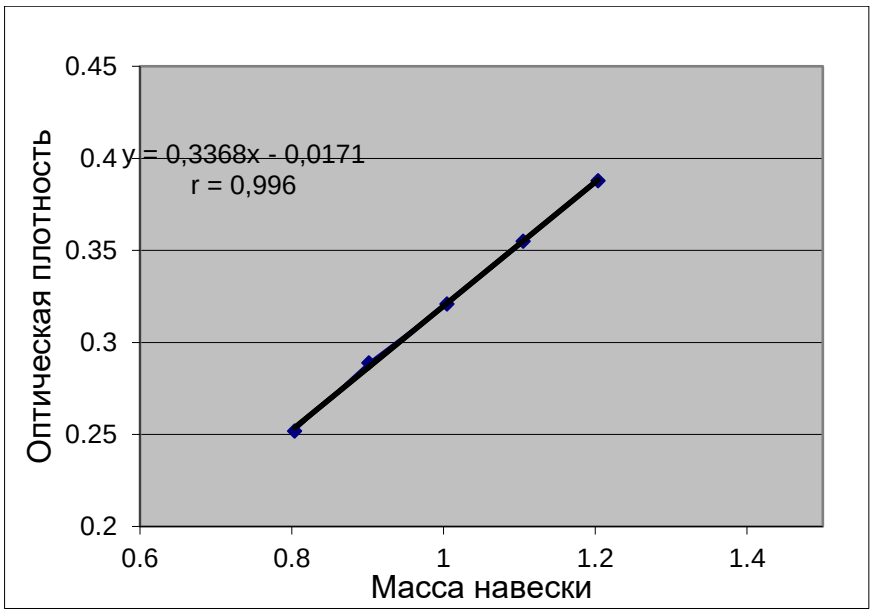


Рисунок 25 – График зависимости оптической плотности от навески сырья фацелии пижмолистной

Прецизионность методики определяли по критерию повторяемости. Повторяемость устанавливали путем проведения шести параллельных определений оптической плотности. Затем были вычислены: величина стандартного отклонения (SD) и относительного стандартного отклонения (RSD). Значение RSD (Таблица 28) составило 1,55%, что не превышает допустимого предела (не более 5%) и свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости [137].

Таблица 28 – Результаты определения прецизионности методики

№	Содержание фенолкарбоновых кислот, %	Статистические характеристики
1	3,34	$X_{ср}$=3,35 S^2=0,00272 S=0,052 Δx=0,03 RSD=1,55%
2	3,36	
3	3,27	
4	3,39	
5	3,41	
6	3,35	

Для определения правильности методики проводили определение количественного содержания суммы фенолкарбоновых кислот в 9 растворах,

используя 3 уровня разных навесок сырья в трех повторностях. Заданные значения содержания суммы фенолкарбоновых кислот (%) рассчитывали с помощью уравнения градуировочного графика. Для взятых навесок с помощью уравнения рассчитывали соответствующие значения оптических плотностей растворов, которые затем использовали в расчётах концентраций [137].

Критерием приемлемости методики является средний процент восстановления (выход), который в разработанной нами методике составляет 99,7%, а значения откликов входят в предел 97–103% [137]. Результаты анализа представлены в таблице 29.

Таблица 29 – Результаты определения правильности методики

Уровень содержания, % значения	Навеска сырья, г	Оптическая плотность	Определённое содержание суммы фенолкарбоновых кислот, %	Заданное значение содержания суммы фенолкарбоновых кислот, %,	Отклик, % (R)
80	0,8025	0,254	3,408	3,394	100,5
80	0,8038	0,252	3,375	3,389	99,6
80	0,7982	0,246	3,318	3,388	97,9
100	1,0047	0,321	3,440	3,435	99,9
100	1,0008	0,322	3,463	3,432	100,9
100	1,0054	0,318	3,405	3,435	99,1
120	1,2037	0,385	3,444	3,461	99,5
120	1,2064	0,382	3,409	3,466	98,4
120	1,1988	0,390	3,503	3,465	101,1
$R_{средн}$ = 99,6 SD = 1,05 RSD = 0,83% $t_{расчет}$ = 1,45					

По результатам определения открываемости рассчитывали величину критерия Стьюдента:

$$t = \frac{\left|100 - \overline{R}\right| \cdot \sqrt{m}}{RSD},$$

Табличное значение критерия Стьюдента $t_{табл}$ (0,95; 8) = 2,36, расчетное = 1,45 (оно должно быть меньше 2,36), что свидетельствует о том, что результаты определения не отягощены систематической ошибкой.

Валидируемая методика отвечает надлежащим критериям приемлемости, а значит, может быть использована для контроля качества изучаемого лекарственного растительного сырья.

5.4 Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов травы фацелии пижмолистной

5.4.1 Выбор условий количественного определения суммы флавоноидов травы фацелии пижмолистной

В качестве сырья для проведения исследования использовали образец №1 травы фацелии пижмолистной.

При разработке методики количественного определения суммы флавоноидов подбор условий проводили в зависимости от концентрации экстрагента – спирта этилового, кратности экстракции, степени измельчения сырья, концентрации алюминия (III) хлорида для реакции комплексообразования [138].

Результаты проведенного анализа отражены в таблице 30.

Таблица 30 – Выбор оптимальных условий экстракции флавоноидов из травы фацелии пижмолистной

Концентрация экстрагента				
Концентрация	40%	50%	70%	90%
Содержание флавоноидов, %	0,461	0,512	0,773	0,624
Кратность экстракции				
Кратность	Однократная экстракция		Двукратная экстракция	
Содержание флавоноидов, %	0,658		0,770	

Окончание таблицы 30 – Выбор оптимальных условий экстракции флавоноидов из травы фацелии пижмолистной

Степень измельченности			
Размер	1 мм	2 мм	3 мм
Содержание флавоноидов, %	0,671	0,773	0,772
Концентрации алюминия (III) хлорида			
Концентрация	2%	5%	10%
Содержание флавоноидов, %	0,564	0,780	0,775

Наиболее оптимальным экстрагентом, обеспечивающим исчерпывающую экстракцию, стал спирт этиловый 70%, при котором сумма флавоноидов составила 0,773%.

Изучение влияния кратности экстракции на выход суммы флавоноидов в траве фацелии пижмолистной показало, что лучшее извлечение флавоноидов наблюдалось при двукратной экстракции.

Из данных таблицы видно, что наименьший выход суммы флавоноидов был при степени измельченности сырья равном 3 мм, также не наблюдалось разницы по содержанию флавоноидов в сырье, размер частиц которого составлял 1 мм и 2 мм, поэтому оптимальным можно считать размер частиц не более 2 мм.

Максимальное содержание суммы флавоноидов в траве фацелии пижмолистной установлено, при использовании для реакции комплексообразования 5% раствора алюминия (III) хлорида.

Содержание суммы флавоноидов в траве фацелии пижмолистной проводили в пересчете на рутин. Выбор доминирующего соединения – рутина, проводили на основании результатов ВЭЖХ. Так, в результате исследования флавоноидов методом ВЭЖХ было установлено содержание рутина, нарингина и гесперидина. На рисунке 8 (глава 3, раздел 3.2.4) видно, что содержание рутина в траве фацелии пижмолистной наибольшее. Стоит отметить также и доступность стандартного образца рутина.

5.4.2 Валидационная оценка методики количественного определения суммы флавоноидов травы фацелии пижмолистной

Разработанную методику количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин валидировали по показателям специфичность, линейность, повторяемость и правильность [138, 139]. Валидационную оценку разработанной методики по указанным показателям производили на образце №1.

Специфичность методики определяли сравнением максимума поглощения дифференциального спектра из спиртового извлечения травы фацелии пижмолистной, наблюдаемого при длине волны 403 нм, со стандартным образцом рутина, имеющим идентичные спектральные характеристики дифференциального спектра (длина волны 408 нм) (Рисунок 26).

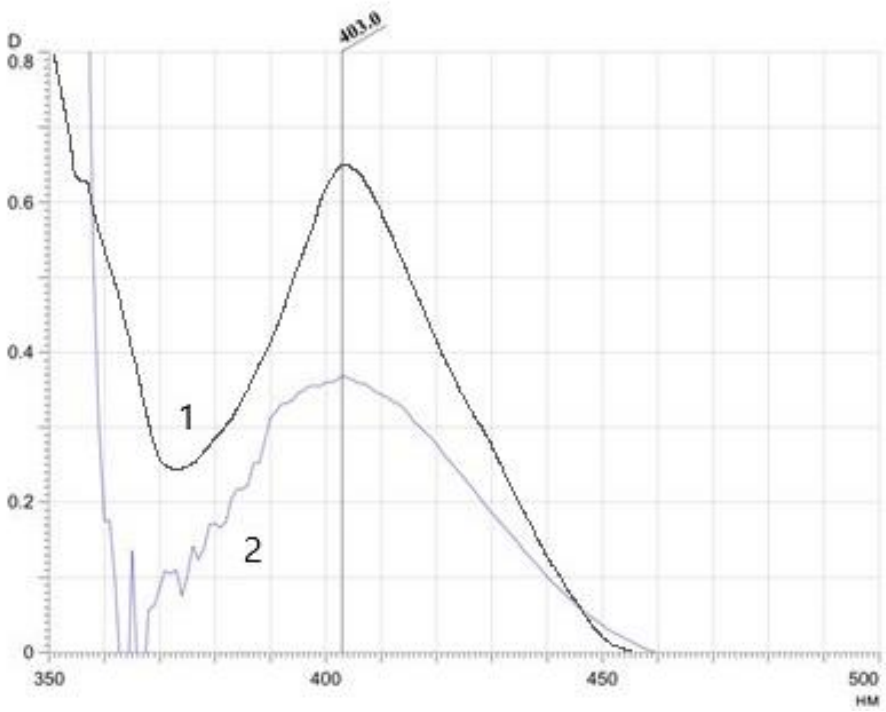


Рисунок 26 – Дифференциальный спектр стандартного образца рутина (1) и спиртового извлечения из травы фацелии пижмолистной (2)

Определение линейности проводили на 7 уровнях путем взятия навесок сырья в диапазоне от 80 до 120%, определяя содержание суммы флавоноидов по разработанной методике на каждом из уровней. Полученные результаты по показателю «Линейность» представлены в таблице. Из данных таблицы 31 видно,

что градуировочный график имеет линейную зависимость с уравнением y=-0,674x-1,335, коэффициент корреляции составляет 1,02, что соответствует критерию приемлемости и говорит о линейности разработанной методики (Рисунок 27).

Таблица 31 – Результаты определения линейности методики

Концентрация, % от нормированного значения	Масса навески, г	Оптическая плотность	Содержание суммы флавоноидов, %
80	0,8028	0,2512	0,688
90	0,9021	0,3029	0,739
100	1,0298	0,3683	0,787
110	1,1052	0,4129	0,822
120	1,2037	0,4612	0,843

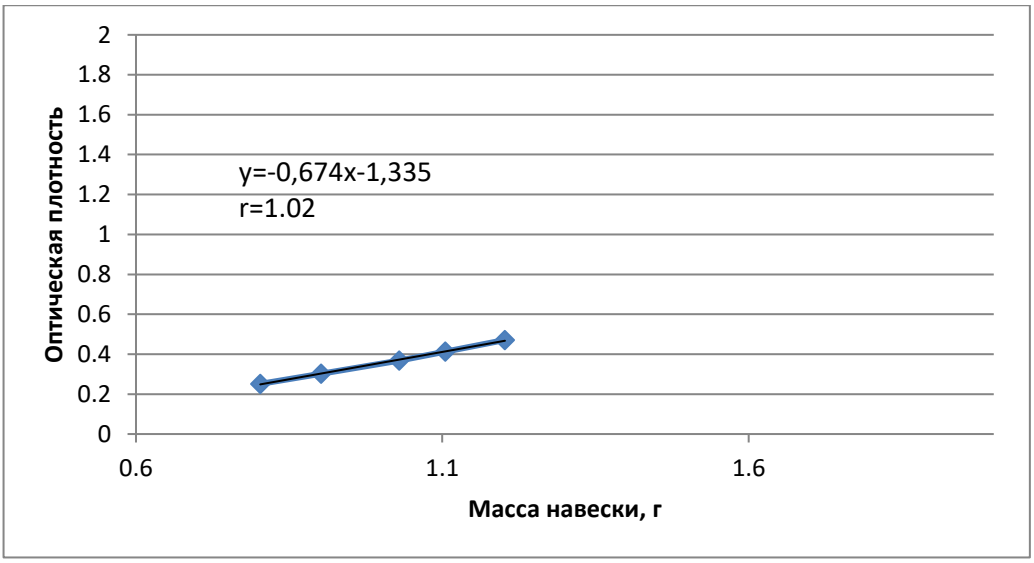


Рисунок 27 – График зависимости оптической плотности от навески сырья фацелии пижмолистной

Прецизионность методики определяли по критерию повторяемости. Повторяемость устанавливали путем проведения шести параллельных определений оптической плотности. Затем были вычислены: величина стандартного отклонения (SD) и относительного стандартного отклонения (RSD). Значение RSD (Таблица 32) составило 3,37%, что не превышает допустимого

предела (не более 5%) и свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости.

Таблица 32 – Результаты определения прецизионности методики

№	Содержание суммы флавоноидов, %	Статистические характеристики
1	0,75	$X_{ср}$=0,77 S^2=0,0007 S=0,026 Δx=0,018 RSD ($E_{отн}$)=3,37%
2	0,77	
3	0,79	
4	0,78	
5	0,72	
6	0,78	

Правильность методики проводили путем определения количественного содержания суммы флавоноидов в 9 растворах, используя 3 уровня разных навесок сырья в трех повторностях. Заданные значения содержания суммы флавоноидов (%) рассчитывали с помощью уравнения градуировочного графика. Для взятых навесок с помощью уравнения рассчитывали соответствующие значения оптических плотностей растворов, которые затем использовали в расчётах концентраций. Критерием приемлемости методики является средний процент восстановления (выход), который в разработанной нами методике составляет 100,07%, а значения откликов входят в предел 97–103% [137]. Результаты анализа представлены в таблице 33.

Таблица 33 – Результаты определения правильности методики

Уровень, % значения	Навеска сырья, Г	Оптическая плотность	Найденное содержание суммы флавоноидов, %	Заданное содержание суммы флавоноидов, %	Отклик, % (R)
80	0,8023	0,229	0,628	0,613	102,4
80	0,8033	0,225	0,617	0,613	100,6
80	0,7992	0,221	0,609	0,613	99,3
100	1,0298	0,368	0,787	0,766	102,7
100	1,0512	0,353	0,739	0,766	96,5
100	1,0384	0,365	0,773	0,766	100,9

Окончание таблицы 33 – Результаты определения правильности методики

120	1,2034	0,493	0,902	0,919	98,3
120	1,2027	0,506	0,926	0,919	100,7
120	1,2029	0,499	0,913	0,919	99,3
$R_{средн}$ = 100,1 SD = 2,67 RSD = 1,24% $t_{расчет}$ = 0,24					

Далее рассчитывали величину критерия Стьюдента по формуле:

$$t = \frac{\left|100 - \overline{R}\right| \cdot \sqrt{m}}{RSD},$$

Расчетное значение критерия Стьюдента = 0,24, что меньше 2,36, это означает, что результаты определения не отягощены систематической ошибкой.

Валидируемая методика отвечает надлежащим критериям приемлемости по параметрам специфичность, линейность, прецизионность и правильность, а значит, может быть использована для контроля качества сырья - фацелии пижмолистной травы.

5.5 Определение фазы, способа заготовки и режима сушки сырья

Определение фазы и способа заготовки сырья

Перспективность применения фацелии пижмолистной как источника ценных БАВ для использования в медицине и фармации, должна быть обоснована наличием стабильной сырьевой базы, стабильной урожайностью надземной части фацелии пижмолистной и семенной массы.

Опыт интродукции данного вида в условиях Ставропольского края (Нефтекумский район, Буденновский район, Ботанический сад Пятигорского медико-фармацевтического института), Кабардино-Балкарской Республики, Республики Дагестан (г. Каспийск), Краснодарского края показал, что фацелия пижмолистная успешно вегетирует и проходит основные стадии жизненного цикла [110]. В траве фацелии пижмолистной при условии интродукции в указанных районах накапливается 3,36±0,05% фенолкарбоновых кислот,

флавоноидов 0,58±0,06%, дубильных веществ 5,281±0,04%, антоцианов 0,53±0,017%.

Ставрополье, Краснодарский край, Кабардино-Балкарская Республика, Республика Дагестан являются важнейшими регионами России с гарантированным производством ряда сельскохозяйственных культур, в том числе выращивания многих видов лекарственных, пряновкусовых и эфирномасличных растений (Чумакова В.В., Попова О.И., 2011). Весна на указанных территориях наступает рано - в первой декаде марта, тепло нарастает довольно быстро. Лето как правило жаркое, сухое, средняя месячная температура июня – 25-27°С, в предгорьях 16-20°С. Дожди обычно носят ливневый характер. Осень наступает в конце сентября. Фацелия пижмолистная в конце июня обычно вступает в фазу активного плодоношения.

Заготовка сырья требует внимания, поскольку процессы сбора и сушки ЛРС оказывают прямое влияние на сохранность действующих веществ. В случае, когда сырьем выступает – трава, срезают надземную часть растений на определенной высоте от почвы, регламентируется также длина стебля [140].

В условиях проведенного эксперимента, изучаемый вид – фацелия пижмолистная проходит все этапы сезонного развития. При весеннем посеве прорастание семян начинается через 15-20 дней. Первый настоящий лист появляется еще через 10-15 дней. Для растений характерным является интенсивный рост. К середине мая растения имеют хорошо развитые разветвленные и облиственные побеги. Высота растений в фазу цветения составляет 90-100 см. Растения отличаются засухоустойчивостью. В зависимости от места интродукции растения отличаются продолжительностью межфазовых периодов, степенью облиственности, длиной и высотой соцветий.

Фенологические наблюдения показали, что фацелия пижмолистная в условиях юга России характеризуются ранним началом и ранним окончанием вегетации. Длина вегетационного периода 90-98 дней, период цветения около 30-35 дней. Урожайность надземной массы фацелии пижмолистной представлена в таблице 34.

Таблица 34 – Урожайность надземной массы фацелии пижмолистной, выращенной на юге России

Период посева и сбора сырья	Место произрастания				
	Ставропольс-кий край (Ботанический сад ПМФИ)	Ставропольс-кий край (Нефтекумский район)	Краснодарс-кий край	Кабардино-Балкарская Республика	Респуб-лика Дагеста н
2021-2022 гг.	1,8 кг/м^2	2,0 кг/м^2	2,0 кг/м^2	-	1,5 кг/м^2
2022-2023 гг.	1,9 кг/м^2	2,2 кг/м^2	-	1,6 кг/м^2	2,9 кг/м^2
2023-2024 гг.	2,3 кг/м^2	2,6 кг/м^2	2,3 кг/м^2	-	2,1 кг/м^2

Полученные данные по количественному определению суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту и флавоноидов в пересчете на рутин в разные фазы вегетации фацелии пижмолистной представлены в таблице 35.

Таблица 35 – Содержание основных действующих веществ в надземной части фацелии пижмолистной в зависимости от фазы заготовки (n=6)

Фаза сбора сырья	Содержание суммы фенолкарбоновых кислот, %	Содержание суммы флавоноидов, %
фаза бутонизации	3,12±0,05	0,786±0,04
фаза массового цветения	3,35±0,05	0,781±0,05
фаза плодоношения	2,96±0,04	0,759±0,04

Исходя из содержания основных групп биологически активных веществ, оптимальной фазой заготовки сырья можно считать фазу массового цветения.

В результате проведенного изучения влияния способа заготовки на содержание суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту и флавоноидов в пересчете на рутин в надземной части фацелии пижмолистной получены данные, представленные в таблице 36.

Таблица 36 – Содержание основных действующих веществ в надземной части фацелии пижмолистной в зависимости от способа заготовки (n=6)

№	Высота среза от поверхности почвы	Содержание фенолкарбоновых кислот, %	Содержание флавоноидов,%
1	10 см (3/4 стеблевой части)	3,18±0,07	0,641±0,06
2	20 см (2/4 стеблевой части)	3,35±0,05	0,786±0,04
3	30 см (1/4 стеблевой части)	3,36±0,05	0,784±0,04

Исходя из данных таблицы видно, что на содержание фенолкарбоновых кислот и флавоноидов оказывает влияние высота срезанной надземной части фацелии пижмолистной. Отмечается повышение содержания БАВ в тех образцах, где масса стеблевой части в собранном сырье была наименьшей. Оптимальным способом заготовки сырья можно считать срез надземной части фацелии пижмолистной на высоте не менее 20 см от поверхности почвы.

Определение режима сушки сырья

При воздушно-теневой сушке травы фацелии пижмолистной, которая длилась 120 часов, остаточная влажность составила 8,5%, при конвективной – 7,8%, остаточная влажность при сушке в СВЧ печи без подвяливания – 7,5%, в СВЧ-печи после подвяливания в течение 5 часов – 6,9%. Окончание сушки определяли по стеблям, они легко ломались, листья также легко ломались по жилке [115].

Результаты количественного определения суммы фенольных соединений (в пересчете на хлорогеновую кислоту) и флавоноидов (в пересчете на рутин) в траве фацелии пижмолистной в зависимости от способов сушки представлены в таблице 37.

Таблица 37 – Содержание биологически активных веществ в траве фацелии пижмолистной в зависимости от способов сушки (n=6)

Режим сушки	Температура сушки	Время сушки	Содержание фенольных соединений, %	Содержание флавоноидов, %
Воздушно-теневая	30°С	72 часа	3,42±0,02	0,749±0,02
Конвективная (искусственная)	40°С	8 часов	3,51±0,04	0,776±0,03
	45°С	7,5 часов	3,78±0,04	0,785±0,03
	50°С	7,5 часов	3,69±0,04	0,591±0,03
СВЧ без подвяливания	-	20 мин	3,53±0,02	0,731±0,03
СВЧ после подвяливания в течение 5 часов	-	10 мин	3,76±0,04	0,784±0,02

Следует отметить, что все используемые виды сушки позволили получить сырье, соответствующее по внешним признакам для воздушно-сухого состояния травы фацелии пижмолистной, которое может быть использовано при составлении проекта нормативного документа, а также инструкции по сбору и сушке.

Эксперимент показал, что время сушки сырья фацелии пижмолистной составило от 72 часов (воздушно-теневая) до 10 минут (СВЧ-печь после предварительного подвяливания) [115].

Самой оптимальной по времени является сушка в СВЧ-печи без подвяливания – время от свежесобранного сырья до воздушно-сухого составляет 20 минут. Однако содержание основных групп БАВ травы фацелии пижмолистной показало не самые высокие результаты.

При использовании конвективной сушки в сушильной камере и сушки в СВЧ-печи после подвяливания сырья содержание основных БАВ травы фацелии пижмолистной показало самые высокие результаты среди четырех, использованных нами, способов сушки. В первом случае время от свежесобранного сырья до воздушно-сухого составляет 7,5 часов, во втором 5 часов 10 минут (5 часов – подвяливание, 10 мин сушка) [115].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ

1. Разработана методика определения подлинности травы фацелии пижмолистной, в том числе с помощью тонкослойной хроматографии.

2. Определены показатели качества травы фацелии пижмолистной как «Влажность», «Зола общая», «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте», «Экстрактивные вещества».

3. По результатам определения подлинности сырья, разработан нормативный документ (раздел «Подлинность») для включения в фармакопейную статью на траву фацелии пижмолистной.

4. Разработана методика количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот травы фацелии пижмолистной: обоснован выбор основного соединения; подобраны условия методики: степень измельченности сырья, тип экстрагента, время экстракции.

5. Проведена валидационная оценка разработанной методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту. Валидируемая методика отвечает надлежащим критериям приемлемости, а значит, может быть использована для контроля качества изучаемого лекарственного растительного сырья.

6. Разработана и валидирована методика количественного определения суммы флавоноидов в траве фацелии пижмолистной, подобраны оптимальные условия экстракции сырья, обоснован выбор соединения, на которое проводился пересчет.

7. Собирать траву фацелии пижмолистной рационально в фазу массового цветения. Заготовку надземной части фацелии пижмолистной следует проводить срезая растение на высоте 20 см от поверхности почты.

8. Полученные результаты дают основание предположить, что сушка сырья фацелии пижмолистной с искусственным нагревом (до 45-50° С) и в СВЧ-печи останавливает цепь ферментативных процессов (происходит более быстрое испарение влаги и соответственно инактивация ферментных систем).

Оптимальным по затрачиваемому времени способом сушки травы фацелии пижмолистной, при котором содержание основных групп БАВ остается высоким, является сушка в СВЧ-печи после подвяливания сырья.

9. Данные результатов изучения влияния способов заготовки и сушки травы фацелии пижмолистной на содержание основных групп биологически активных веществ могут быть использованы при разработке проекта нормативного документа «Инструкция по заготовке и сушке фацелии пижомлистной травы».

ГЛАВА 6. ИНТРОДУКЦИОННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ *PHACELIA TANACETIFOLIA BENTH.* В РЕСПУБЛИКЕ ДАГЕСТАН И В УСЛОВИЯХ БОТАНИЧЕСКОГО САДА ПЯТИГОРСКОГО МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА

Интродуцированные в результате исследования растения, послужили сырьем для образцов №3 и №5.

Характеристика семян. Форма семян: продолговато-овальная, ладьевидно изогнутая, бугристая. Длина 2,3-3,0 мм, толщина 0,8-1,2 мм.

Дата посева семян в Ботаническом саду – 18.05.2022 г., в Республике Дагестан – 04.05.2023 года. Наблюдения за развитием растения проводились регулярно через равные промежутки времени.

Появление первых всходов наблюдали на 14-й день после посева. На 21-й день высота растений достигла 10-15 см., при этом наблюдали ветвистый стебель и перисто-рассеченные листья, цвет которых был ярко-зеленый, край листьев – пильчатый (Рисунок 28) [110].

Рисунок 28 – Фацелия пижмолистная, 21-й день после посева семян

Затем в течение 10-ти дней наблюдался стремительный рост растений в высоту, на 30-й день высота составила 40 см. При очередном наблюдении на 40-й день отметили развитие фацелии пижмолистной в фазе бутонизации, наблюдали

появление некрупных бутонов – 2,0-2,5 мм в диаметре, собранных в плотные завитки на концах стеблей. Бутоны имели очень короткие цветоножки (Рисунок 29) [110].

Рисунок 29 – Фацелия пижмолистная, фаза бутонизации, 40 день

Первое распускание бутонов у растений, введенных в культуру в Ботаническом саду, началось в третьей декаде июня, а в Республике Дагестан во второй декаде июня. При этом вначале распускались бутоны, расположенные в верхней части соцветия, что может свидетельствовать о цимоидном строении [110]. Согласно литературным данным для представителей семейства *Boraginaceae*, в том числе и для рода *Phacelia* характерно соцветие завиток (монохазий) [28, 141].

Фаза цветения у образцов №3 и №5 наблюдалась в конце июня – начале июля соответственно и продолжалась в течение трех недель. В эту фазу фацелия пижмолистная представляла собой растение высотой 80 см (образец №3) и 50 см (образец №5), шероховато-пушистое, покрытое густыми белыми волосками, с зеленым ветвистым стеблем, очередными перисто-рассеченными листьями с неравномерно пильчато-зубчатым краем [110]. Наблюдали многочисленные

сидячие цветки голубовато-фиолетового цвета, собранные в соцветия, чашечка мохнатая, покрытая длинными белыми волосками (Рисунок 30) [110].

Длина чашелистиков составила 3,7-4,5 мм; длина венчика – 6,5 мм. Из каждого цветка выступали 5 тычинок, их окраска полностью совпадала с окрасом венчика. Запах цветков сладковатый.

Существенных различий в фенотипе взрослых растений в фазу цветения у двух образцов не наблюдалось, однако следует отметить, что экземпляры образца №5 имели более густые соцветия в сравнении с экземплярами образца №3 [110].

Рисунок 30 – Фацелия пижмолистная, фаза цветения (слева – образец №3, справа – образец №5)

Важной характеристикой роста и развития является биопродуктивность. Изучили биометрические показатели надземной части растения, охарактеризовали такие показатели как: высота, число боковых побегов, облиственность, размер листьев [110]. Биометрические показатели приведены в таблице 38.

Таблица 38 – Биометрические показатели фацелии пижмолистной, интродуцируемой в Республике Дагестан и в Ботаничеком саду ПМФИ

Показатель	Образец №3 (Ботанический сад)	Образец №5 (Республика Дагестан)
Высота в фазу цветения, см	70–82	54–65
Высота в фазу созревания семян, см	90–94	71–78
Облиственность побега, %	50-64	45–52
Число листьев, шт.	15±2	13±2
Длина листовой пластинки, см	6,8–10,3	5,7–8,8
Ширина листовой пластинки, см	3,7–6,2	4,1–6,0
Размер соцветия, см^2	5,8–12,4	4,7–10,8

Из результатов таблицы видно, что продуктивность растений образца №3 выше, чем образца №5.

Согласно литературным данным фацелия пижмолистная обычно достигает в высоту до 120 см [28, 142]. Однако в 2023 году, когда проводилась интродукция фацелии в городе Каспийске начало июня выдалось очень жарким, температура днем достигала +38-40 ºС, кроме того, вблизи Каспийского моря регулярно наблюдается повышенная влажность. В связи с выдавшимися не совсем благоприятными погодными условиями, исследуемая нами культура фацелии оказалась низкорослой [110].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ

1. Проведено изучение особенностей интродукции фацелии пижмолистной в Ботаническом саду (Ставропольский край) и в Республике Дагестан (г. Каспийск) для обоснования возможности ее введения в культуру с целью поиска и получения биологически активных веществ для производства новых фитопрепаратов [110].

2. Охарактеризованы особенности выращивания данного растения в Ботаническом саду (Ставропольский край) и в Республике Дагестан (г. Каспийск), изучена динамика роста и развития фацелии, отмечено влияние погодных условий на рост и формирование надземной массы [110].

3. Осуществлена заготовка травы фацелии пижмолистной для проведения фитохимического и микроскопического исследований.

4. Знание биологических особенностей фацелии пижмолистной, условия жизни, позволит правильно применять агротехнику и способствовать успешному освоению культуры в условиях Республики Дагестан и Ставропольского края.

ГЛАВА 7. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

7.1 Изучение острой токсичности

Для определения острого токсического действия использовали метод Кербера. Методика проведения анализа, условия содержания животных описаны ранее (глава 2, раздел 2.3.5). Результаты исследования представлены в таблице 39.

Таблица 39 – Результаты определения острой токсичности

Дозы	1000 мг/кг	1500 мг/кг	2000 мг/кг	2500 мг/кг	3000 мг/кг
Выжило	6	6	5	3	0
Погибло	0	0	1	3	6

Исходя из полученных данных, представленных в таблице, величина LD_{50} для изучаемого водного извлечения из травы фацелии пижмолистной составляет 2500 мг/кг, так как вызывает гибель 50% животных.

7.2 Изучение гиполипидемической активности в условиях твиновой гиперлипидемии

Известно, что в печени протекают промежуточные метаболические процессы липидного обмена: окисление жирных кислот, гидролиз жира, синтез фосфолипидов, триглицеридов, холестерина. Немаловажными биологическими агентами выступают транспортные формы холестерина – липопротеиды высокой плотности (ЛПВП) и липопротеиды очень низкой плотности. Передача эндогенных триглицеридов происходит за счет ЛПОНП, а экзогенные триглицериды находятся в составе хиломикрон, синтезируемых в энтероцитах. Под воздействием липаз в крови из ЛПОНП происходит образование ЛПНП, которые транспортируют холестерин к тканям [143]. Анализ липидограмм является важным диагностическим признаком метаболической функции печени и

может применяться с целью тестирования перспективных гепатопротекторов [104].

Сырьем для получения СФПФП выступала измельченная трава фацелии пижмолистной, собранная в период цветения (образцы 1-5), высушенная воздушно-теневым способом (2.1 Объекты исследования). Изучение гиполипидемической активности проводили на 24 белых крысах - самках «Wistar» массой 270-290 г. (2.3.5.1 Изучение гиполипидемической активности в условиях твиновой гиперлипидемии) [104].

Как видно из данных, представленных в таблице 40, однократное внутрибрюшинное введение твина-80 сопровождалось развитием выраженной гиперлипидемии. Так у животных контрольной группы по отношению к значениям интактных животных отмечали достоверное увеличение содержания холестерина в крови на 76%, триглицеридов на 70%, увеличение атерогенных липопротеидов на 263% (ЛПНП) и 266% (ЛПОНП) и снижение антиатерогенных липопротеидов на 30% (ЛПВП) [104]. Данные изменения липидного спектра сыворотки крови соответствуют картине гиперлипопротеинемии IIa, по классификации Фредриксона.

Лечебно-профилактическое введение СФПФП в дозе 300 мг/кг привело к достоверному по сравнению с контролем снижению содержания холестерина в сыворотке крови на 39%, триглицеридов на 57%, атерогенных липопротеидов на 53% (ЛПНП) и 42% (ЛПОНП), повышению антиатерогенных липопротеидов на 18% (ЛПВП). В группе препарата сравнения фенофибрата-канон, содержание холестерина в сыворотке крови по отношению к контролю снизилось на 27%, триглицеридов на 38%, наблюдалось увеличение ЛПНП на 10% и снижение ЛПОНП на 29%, следует отметить, повышение антиатерогенных липопротеидов (ЛПВП) на 53% по сравнению с контролем и на 13% по сравнению с интактной группой [104].

Таблица 40 – Влияние субстанции для фармацевтического применения фацелии пижмолистной на показатели липидного обмена в крови на фоне твиновой гиперлипидемии

Группы животных	**Показатели липидного обмена**				
	Общий холестерин, ммоль/л	**Триглицериды, ммоль/л**	**ЛПВП, ммоль/л**	**ЛПНП, ммоль/л**	**ЛПОНП, ммоль/л**
	% по сравнению с контролем	% по сравнению с контролем	% по сравнению с контролем	% по сравнению с контролем	% по сравнению с контролем
Интактные (n=6)	1,45±0,10	1,15±0,12	0,23±0,02	0,11±0,01	0,21±0,04
Контроль (n=6)	2,56±0,26 $P_И$<0,01;	1,96±0,18 $P_И$<0,01;	0,17±0,02	0,40±0,05 $P_И$<0,01;	0,77±0,09 $P_И$<0,01;
	+76%	+70%	- 30%	+263%	+266%
Опыт (n=6)	1,57±0,09 $P_К$<0,02;	0,84±0,13 $P_К$<0,001; Pср<0,05;	0,20±0,08	0,19±0,06 $P_К$<0,02;	0,33±0,04 $P_К$<0,01; Pср<0,05;
	- 39%	- 57%	+18%	- 53%	- 42%
Сравнение (n=6)	1,87±0,14 $P_И$<0,05;	1,22±0,11 $P_И$<0,02;	0,26±0,05	0,44±0,04	0,55±0,09 $P_К$<0,05;
	-27%	- 38%	+ 53%	+10%	-29%

Примечание: $P_И$ – уровень достоверной разницы по отношению к интактным значениям; $P_К$ – уровень достоверной разницы по отношению к контрольным значениям; Pср – уровень достоверной разницы между опытной группой и препаратом сравнения; n (количество животных в группе) = 6

Таким образом, по показателям уровня триглицеридов и ЛПОНП исследуемая СФПФП достоверно превосходила значения препарата сравнения [104]. По остальным показателям различия не достоверны.

7.3 Изучение гиполипидемической активности на модели острого алкогольного поражения печени

Сырьем для получения СФПФП выступала измельченная трава фацелии пижмолистной, собранная в период цветения (образцы 1-5), высушенная воздушно-теневым способом (2.1 Объекты исследования). Изучение гиполипидемической активности проводили на 24 белых крысах - самках линии «Wistar» массой 270-290 г. (2.3.5.2 Изучение гиполипидемической активности на модели алкогольного поражения печени).

В результате проведённых исследований установлено, что однократное введение этанола крысам в дозе, эквивалентной 5 г/кг абсолютного этанола, увеличивало в сыворотке крови уровень ТРГ в 2,1 раза и холестерина – в 1,6 раза по сравнению с показателями интактных животных, что свидетельствует о развитии острой гиперлипидемии (Таблица 41). Увеличение уровня ТРГ и холестерина в сыворотке крови при введении этанола обусловлено активацией липолиза в жировой ткани под влиянием адреналина. Также наблюдалось повышение синтеза ТРГ и холестерина в гепатоцитах (Таблица 42) [108].

При введении СФПФП содержание триглицеридов в сыворотке крыс снизилось на 46%, что может быть обусловлено ингибированием их синтеза в печени, так как повышенный на 253% уровень ТРГ под влиянием этилового спирта, снизился на 63%. Такая же закономерность наблюдалась и под влиянием препарата сравнения в дозе 25 мг/кг: снижение в сыворотке крови на 54% и в печени на 68%. В отношении холестерина можно наблюдать снижение в сыворотке крови на 25% и печени на 27% при введении исследуемой СФПФП в дозе 300 мг/кг и на 33% и 20% при введении препарата сравнения [108].

Таблица 41 – Влияние субстанции для фармацевтического применеия фацелии пижмолистной при курсовом введении на показатели липидного обмена в сыворотке крыс при экспериментальной гиперлипидемии, индуцированной этанолом

Экспериментальные группы	**Триглицериды, ммоль/л**	**Общий холестерин, ммоль/л**
Интактные, n=6	0,79±0,013	1,81±0,011
Контроль (этанол), n=6	1,69±0,017 $P_и$<0,05 +114%	2,93±0,019 $P_и$<0,05 +40%
Экстракт, 300 мг/кг, n=6	0,91±0,012 Ри>0,1 $P_к$<0,05 -46%	2,2±0,015 Ри>0,1 $P_к$<0,05 -25%
Никотиновая кислота, 25 мг/кг, n=6	0,77±0,009 Ри>0,1 $P_к$<0,05 -54%	1,96±0,007 Ри>0,1 $P_к$<0,05 -33%
1 $P_и$ – уровень достоверной разницы по отношению к интактным значениям; 2 $P_к$ – уровень достоверной разницы по отношению к контрольным значениям;		

Таблица 42 – Влияние субстанции для фармацевтического применеия фацелии пижмолистной при курсовом введении на показатели липидного обмена в печени крыс при экспериментальной гиперлипидемии, индуцированной этанолом

Экспериментальные группы	**Триглицериды, мкмоль/г**	**Общий холестерин, мг/г**
Интактные, n=6	24,2±3,80	2,49±0,38
Контроль (этанол), n=6	85,4±4,76 $P_и$<0,001 +253%	3,68±0,56$^+$ $P_и$<0,01 +48%
Экстракт, 300 мг/кг, n=6	31,7±2,36 $P_к$<0,001 -63% $P_и$>0,1	2,67±0,22 Рк<0,01 -27%
Никотиновая кислота, 25 мг/кг, n=6	27,6±2,38 $P_к$<0,001 -68% $P_и$>0,1	2,96±0,31 $P_к$<0,05 -20%
1 $P_и$ – уровень достоверной разницы по отношению к интактным значениям; 2 $P_к$ – уровень достоверной разницы по отношению к контрольным значениям;		

Биотрансформация этанола в печени сопровождается образованием ацетальдегида, способного опосредованно активировать перекисное окисление липидов (ПОЛ), что связано с его свойством снижать в гепатоцитах содержание GSH, который абсолютно необходим для функционирования глутатионпероксидазы, участвующей в катаболизме H_2O_2 [144]. Накопление активных форм кислорода, в свою очередь, приводит к нарушению структуры липидного бислоя мембран клеток печени, что предопределяет возможность развития острого алкогольного поражения печени [108].

В печени крыс, получавших этанол, существенно повышалось содержание ДК на 124% по сравнению с контрольной группой животных. При этом отмечено значительное снижение уровня GSH на 48%, являющегося одним из механизмов обеспечения резистентности организма к действию токсикантов, следовательно, был снижен восстановленный потенциал системы [108].

7.4 Изучение антиоксидантной активности на модели острого алкогольного поражения печени

Сырьем для получения СФПФП выступала измельченная трава фацелии пижмолистной, собранная в фазу массового цветения (образцы 1-5), высушенная воздушно-теневым способом (2.1 Объекты исследования). Изучение гиполипидемической активности проводили на 24 белых крысах - самках линии «Wistar» массой 270-290 г. (2.3.5.2 Изучение гиполипидемической активности на модели острого алкогольного поражения печени).

В отношении показателей, характеризующих интенсивность ПОЛ, у крыс на фоне алкогольной гиперлипидемии наблюдалось увеличение содержания ТБК-активных продуктов не только в сыворотке крови на 114%, но и в печени на 70% [108].

В ходе развития окислительного стресса в печени, вызванного алкогольной интоксикацией, имеет место активация ПОЛ, о чем свидетельствует типичная картина развития окислительного стресса: обнаруживалось резкое повышение

содержания ТБК-активных продуктов в печени и сыворотке крови с одновременным снижением содержания GSH в печени, который возможно расходовался в реакциях детоксикации.

Под влиянием исследуемой СФПФП отмечалась полная нормализация ТБК-активных продуктов в крови и печени, снижаясь на 55% и 51% соответственно, а также ДК печени на 50%. При введении препарата сравнения наблюдалась аналогичная картина восстановления данных показателей, однако, содержание ТБК-активных продуктов в печени нормы не достигло, хотя и отмечено снижение на 48% [108]. При курсовом введении исследуемой СФПФП и препарата сравнения отмечено восстановление уровня GSH, что в свою очередь должно привести к увеличению редокс-потенциала, нарушенного при развитии гиперлипидемии, вызванной алкогольной интоксикацией и восстановлению работы компонентов системы антиоксидантной защиты (Таблица 43).

Таблица 43 – Влияние курсового введения субстанции для фармацевтического применеия фацелии пижмолистной на показатели интенсивности ПОЛ у крыс при экспериментальной гиперлипидемии, индуцированной этанолом

Группы животных				
Показатели	**Интактные n=6**	**Контроль n=6**	**Экстракт, 300 мг/кг, n=6**	**Никотиновая кислота, 25 мг/кг, n=6**
1	**2**	**3**	**3**	**4**
ТБК-активные продукты печени, нмоль/мг белка	0,059 ±0,0133	0,176 ±0,0341 $P_и$<0,05 70%	0,086 ±0,012 Рк<0,05 -51% $P_и$>0,1	0,092 ±0,022 $P_к$<0,001 -48% $P_и$<0,1
ТБК-активные продукты сыворотки крови, мкмоль/л	1,23 ±0,097	2,62 ±0,584 $P_и$<0,005 +114%	1,19 ±0,308 $P_к$<0,05 -55% $P_и$>0,1	1,15 ±0,191 $P_к$<0,05 -57% $P_и$>0,1
ДК печени, нмоль/мг белка	1,96 ±0,320	4,39 ±0,207 $P_и$<0,01 +124%	2,18 ±0,362 $P_и$>0,1 $P_к$<0,01 -50%	2,01 ±0,234 $P_и$>0,1 $P_к$<0,01 -54%

Окончание таблицы 43 – Влияние курсового введения субстанции для фармацевтического применеия фацелии пижмолистной на показатели интенсивности ПОЛ у крыс при экспериментальной гиперлипидемии, индуцированной этанолом

GSH, г/кг	2,5±0,22	1,3±0,05 $P_и$<0,05 -48%	2,0±0,01 Рк<0,05 +54% $P_и$>0,1	2,2±0,11 $P_к$<0,001 +69% $P_и$>0,1
Примечания 1 $P_и$ – уровень достоверной разницы по отношению к интактным значениям; 2 $P_к$ – уровень достоверной разницы по отношению к контрольным значениям; 3 n-количество животных в группе				

7.5 Изучение антимикробной активности

Для исследования антимикробной активности получали различные извлечения из травы фацелии пижмолистной. Определение антимикробной активности экстрактов, полученных из травы фацелии пижмолистной, проводили в соответствии с требованиями ГФ XIV *in vitro*, используя при этом метод диффузии в агар. Определение чувствительности микроорганизмов к исследуемым экстрактам проводили методом «колодцев» (глава 2, раздел 2.3.5 Фармакологические исследования).

Результаты определения антимикробной активности отражены в таблице 44.

Таблица 44 – Антибактериальная активность исследуемых экстрактов травы фацелии пижмолистной

Тест-культуры	Размеры зоны задержки роста, мм			
	Извлечение 1 (спирт этиловый 40%)*	Извлечение 2 (спирт этиловый 70%)*	Извлечение 3 (спирт этиловый 96%)*	Препарат сравнения – настойка календулы
Escherichia coli 19	5	5	5	7
Salmonella enterica 14	5	5	5	5
Proteus mirabilis II	5	5	5	5
Klebsiella pneumoniae 1.1	12	15	16	5
Shigella flexneri 16	5	5	5	5

Окончание таблицы 44 – Антибактериальная активность исследуемых экстрактов травы фацелии пижмолистной

Pseudomonas aeruginosa 22	5	5	5	12
Staphylococcus aureus 31	5	5	5	5
Streptococcus pyogenes 32	9	10	10	5
Примечание 1: между степенью чувствительности к антибактериальному компоненту и размером диаметра зоны угнетения роста имеются следующие соотношения: более 10 мм – высокая активность; 10 мм – умеренная активность; менее 10 мм – отсутствие активности. **Примечание 2: параллельно проводились контрольные опыты с растворами спирта этилового (40%, 70% и 96%), которые показали, что спиртовые извлечения из фацелии пижмолистной травы проявляют большую активность по сравнению с контролем.*				

Из данных, полученных в эксперименте видно, что наибольшая зона задержки роста наблюдается в отношении *Klebsiella pneumoniae 1.1*, что по степени чувствительности соответствует проявлению высокой активности к данному возбудителю, и *Streptococcus pyogenes 32*, что по степени чувствительности относится к умеренной активности. По отношению к другим видам возбудителей экстракт фацелии пижмолистной не проявляет антибактериальных свойств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ГЛАВЕ

1. На основании проведенных исследований установлено, что в условиях твиновой гиперлипидемии лечебно-профилактическое введение фармацевтической субстанции фацелии пижмолистной в дозе 300 мг/кг способствует нормализации показателей липидного обмена сыворотки крови, в связи с чем его можно рассматривать в качестве потенциального гепатопротектора и объекта дальнейших исследований.

2. Профилактическое применение исследуемой СФПФП на модели острой гиперлипидемии, вызванной этанолом, демонстрирует гиполипидемическое действие, обусловленное снижением ТРГ и общего холестерина в сыворотке крови и гомогенате печени.

3. Существенную роль в предотвращении гиперлипидемии играет антиоксидантная активность СФПФП, проявляющаяся в снижении содержания ТБК-активных продуктов в печени и сыворотке крови и ДК в печени, а также увеличении редокс-потенциала системы глутатиона.

4. Извлечение из травы фацелии пижмолистной проявляет высокую антибактериальную активность в отношении патогена - *Klebsiella pneumoniae 1.1*, и умеренную активность в отношении *Streptococcus pyogenes 32*.

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований по фармакогностическому исследованию фацелии пижмолистной травы можно сделать следующие выводы:

1. Анализ литературных данных подтверждает необходимость и перспективность фармакогностического изучения травы фацелии пижмолистной, разработки показателей качества и стандартизации ЛРС, что было нами выполнено в данной работе.

2. При фитохимическом анализе травы фацелии пижмолистной методом тонкослойной хроматографии идентифицированы фенолкарбоновые кислоты: хлорогеновая, кофейная и флавоноиды: рутин и кверцетин. Методом ВЭЖХ обнаружены галловая, кофейная, хлорогеновая, феруловая, кумаровая кислоты, из флавоноидов идентифицированы рутин, нарингин и геспередин. В качестве основного соединения для стандартизации сырья травы фацелии пижмолистной выбрана хлорогеновая кислота. Установлено количественное содержание фенолкарбоновых кислот, флавоноидов, антоцианов, дубильных веществ, проведен анализ микроэлементного состава.

3. Выявлены и охарактеризованы ключевые макро- и микроскопические диагностические признаки травы фацелии пижмолистной, которые могут быть использованы для установления подлинности ЛРС.

4. В результате изучения динамики накопления основных БАВ по фазам вегетации и органам растения фацелии пижмолистной – установлено, что максимальное содержание находится в фазу массового цветения. Рекомендованы сроки сбора сырья и условия сушки. Определены показатели качества фацелии пижмолистной травы, разработана методика количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту методом УФ-спектрофотометрии, и методика определения флавоноидов в пересчете на рутин. Разработанные методики валидированы и отвечают критериям приемлемости по основным параметрам. Содержание суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту не менее 3,0%, содержание суммы флавоноидов в

пересчете на рутин не менее 0,6%, сумма экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом этиловым 70% не менее 20,0%.

5. В условиях твиновой гиперлипидемии лечебно-профилактическое введение субстанции для фармацевтического применения фацелии пижмолистной в дозе 300 мг/кг способствует нормализации показателей липидного обмена сыворотки крови, по снижению показателей уровня общего холестерина, ТРГ и ЛПОНП, исследуемая СФПФП достоверно превосходила значения препарата сравнения. Применение исследуемой СФПФП на модели острой гиперлипидемии, вызванной этанолом, демонстрирует гиполипидемическое действие, обусловленное снижением ТРГ и общего холестерина в сыворотке крови и гомогенате печени. Извлечение фацелии пижмолистной (экстрагент – спирт этиловый 96%) проявляет высокую антибактериальную активность в отношении патогена – *Klebsiella pneumoniae 1.1*, и умеренную активность в отношении *Streptococcus pyogenes 32*.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЛРС – лекарственное растительное сырье

БАД – биологически активная добавка

ЛРП – лекарственный растительный препарат

БАВ – биологически активные вещества

ВЭЖХ – высоко эффективная жидкостная хроматография

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ССЗ – сердечно – сосудистые заболевания

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ФСРП – фармацевтическая субстанция растительного происхождения

ТРГ - триглицериды

ГФ РФ – государственная фармакопея Российской Федерации

ТСХ – тонкослойная хроматография

США – Соединенные Штаты Америки

ПФ – подвижная фаза

ОФС – общая фармакопейная статья

СФПФП – субстанция для фармацевтического применения фацелии пижмолистной

ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности

СО – стандартный образец

ПМФИ – Пятигорский медико-фармацевтический институт

УФ – спектр – ультрафиолетовый спектр

УФ – свет – ультрафиолетовый свет

SD – величина стандартного отклонения

RSD – величина относительного стандартного отклонения

СВЧ – печь – микроволновая печь

ПОЛ – перекисное окисление липидов

GSH – глутатион восстановленный

ДК – диеновые кислоты

ТБК – продукты тиобарбитуровой кислоты

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ким, О. Т. Эпидемия ожирения через призму эволюционных процессов / О. Т. Ким, О. М. Драпкина // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2022. – Т. 21. – № 1. – С. 72-79.

2. Баланова, Ю. А. Ожирение в российской популяции - распространенность и ассоциации с факторами риска хронических неинфекционных заболеваний / Ю. А. Баланова, С. А. Шальнова, А. Д. Деев [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2018. – №6. – С. 123-130.

3. Самбукова, Т. В. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии / Т. В. Самбукова, Б. В. Овчинников, В. П. Ганапольский [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15. – № 2. – С. 56-63. doi: 10.17816/RCF15256-63

4. Хотим, Е. Н. Некоторые аспекты современной фитотерапии / Е. Н. Хотим, А. М. Жигальцов, К. Аппаду // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2016. – № 3 (55). – С. 136-140.

5. Stones, S. Cheminformatic analysis of nature product-based drugs and chemical probes / S. Stones., D. J. Newman, S. L. Colletti, D. S. Tan // *Nat Prod Rep*. – 2022. – Vol. 39, №1. – P. 20–32.

6. Куликов, А. А. Методы определения качественного и количественного состава фенолкарбоновых кислот в растительном сырье / А. А. Куликов, В. С. Вдовенко // Аграрный вестник Юго-Востока. – 2020. – № 2(25). – С. 18-21.

7. Abrams, L. R. Illustrated Flora of the Pacific States / L. R. Abrams, R. S. Ferris – Stanford, 1951. –Vol. III. – P. 493.

8. Чумакова, В. В. Селекция и исследования лекарственных растений в Ставропольском крае: деятельность лаборатории Северо-Кавказского ФНАЦ / В. В. Чумакова // Аграрная наука. – 2018. – № 7-8. – С. 60-61.

9. Bajkacz, S. Determination of Flavonoids and Phenolic Acids in Plant Materials Using SLE-SPE-UHPLC-MS/MS Method / S. Bajkacz, I. Baranowska1, B. Buszewski [et al.] // *Food Analytical Methods*. – 2018. – Vol. 11. – P. 3563–3575.

10. Нестерова, Н. В. Количественное определение гидроксикоричных кислот и анализ динамики их накопления в листьях яблони лесной / Н. В. Нестерова, И. А. Самылина, Н. В. Бобкова [и др.] // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. – 2019. – Т. 60. – № 1. – С. 60-64.

11. Тыхеев, Ж. А. Количественное содержание суммы фенольных соединений в траве володушки двустебельной (*Bupleurum bicaule Helm*) / Ж. А. Тыхеев, В. В. Тараскин, Л. Д. Раднаева // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. – 2021. – № 1. – С. 40-51.

12. Мазо, В. К. Полифенольные растительные экстракты: влияние на нарушения углеводного и липидного обмена у лабораторных грызунов / В. К. Мазо, Ю. С. Сидорова, В. А. Шипелин [и др.] // Проблемы Эндокринологии. – 2016. – 62(4). – С. 38-44.

13. Almeida Rezende, B. Vascular effects of flavonoids / B. Almeida Rezende, A. C. Pereira, S. F. Cortes, V. S. Lemos // *Curr. Med. Chem.* – 2016. – Vol. 23, №1. – P. 87-102.

14. Аникина, В. А. Действие катехина на активность ангиотензинпревращающего фермента и образованпие активных форм кислорода в аорте крыс / В. А. Аникина, Ю. А. Ким, А. Ф. Корыстова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т.168. – № 11. – С. 565-568.

15. Зверев, Я. Ф. Антитромбоцитарная активность флавоноидов / Я. Ф.Зверев // Вопр. питания. – 2017. – Т. 86. – № 6. – С. 6–20.

16. Bodirsky, B. L. The ongoing nutrition transition thwarts long-term targets for food security, public health and environmental protection / B. L. Bodirsky, J. P. Dietrich, E. Martinelli [et al.] // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol. 10, №1. - Art. No.19778. doi.org/10.1038/s41598-020-75213-3.

17. Castle, D. High nutritional status promotes vitality of honey bees and mitigates negative effects of pesticides / D. Castle, A. T. Alkassab, G. Bischoff [et al.] // *Sci Total Environ*. – 2022. – Vol. 806, №4. – P. 151-280. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.151280

18. Kuś, P. M. Nitrogen compounds in *Phacelia tanacetifolia Benth*. honey: First time report on occurrence of (–)-5-epi-lithospermoside, uridine, adenine and xanthine in

honey / P. M. Kuś, M. Włodarczyk, C. I. G. Tuberoso // *Food Chemistry*. – 2018. – Vol. 255. – P. 332-339. doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.093.

19. Czipa, N. Macro-Element Ratios Provide Improved Identification of the Botanical Origin of Mono-Floral Honeys / N. Czipa, L. Alexa, C. J. Phillips, B. Kovács // *Eur. Food Res. Technol.* – 2018. – Vol. 244. – P. 1439–1445.

20. Stanek, N. Authentication of phacelia honeys (*Phacelia tanacetifolia*) based on a combination of HPLC and HPTLC analyses as well as spectrophotometric measurements / N. Stanek, D. Teper, P. Kafarski, I. Jasicka-Misiak // *LWT - Food Science and Technology*. – 2019. – Vol. 107. – P. 199-207.

21. Popovic, V. M. Phacelia Honey Productivity in Relation to Locality of Cultivation / V. M. Popovic, S. Vučković, Ž. Dolijanović [et al.] // GEA (Geo Eco-Eco Agro) International Conference, 28-29 May, 2020, Montenegro – Book of Proceedings. – P. 79-95.

22. Фацелия полезные свойства: Польза и вред (polzaverd.ru) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: polzaverd.ru/korni/facelija-poleznye-svojstva.html (дата обращения: 24.01.2025).

23. Жизнь растений: В 6-ти т. Т.5.Ч.2. Цветковые растения/ Гл. ред. А. А. Федоров/ Под ред. А. Л. Тахтаджяна. – М.: Просвещение, 1981. – 511 с.

24. POWO (2025). "Plants of the World Online. Facilitated by the Royal Botanic Gardens [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://powo.science.kew.org/ (дата обращения: 22.11.2024).

25. Chase, M. W. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV / M. W. Chase, M. J. M. Christenhusz, M. F. Fay [et al.] // The Linnean Society of London, Botanical Journal of the Linnean Society, – 2016. – Vol. 181. – P. 1–20.

26. Чибис, С. П. Сроки посева медоносной культуры фацелии пижмолистной (*Phacelia tanacetifolia Benth*.) в Омской области / С. П. Чибис, Н. А. Смалюга, В. В. Чибис // Разнообразное и устойчивое развитие агробиоценозов Омского Прииртышья: материалы Национальной научно-практической конференции, посвященной 90-летию ботанического сада Омского ГАУ. – 2017. – С. 169-174.

27. Сарлаева, М. Я. Развитие однолетних декоративных растений при весеннем посеве в условиях континентального климата / М. Я. Сарлаева, О. Ю. Васильева // Аграрный научный журнал. – 2021. – № 10. – С. 47–52.

28. Kilian, R. Lacy Phacelia, *Phacelia tanacetifolia Benth.* A native annual forb for conservation use in Montana and Wyoming / R. Kilian. *USDA NRCS Plant Materials Tech. Note*. – 2016. – MT 113.

29. Dumanoğlu, Z. General Characteristics and Importance of Phacelia (*Phacelia tanacetifolia Bentham*.) and Some Studies in Turkey / Z. Dumanoğlu // *Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology*. – 2019. – Vol. 7, №2. – P. 365-369.

30. Schappert, A. Weed control ability of single sown cover crops compared to species mixtures / A. Schappert, M. Schumacher, R. Gerhards // *Agronomy*. – 2019. – Vol. 9, №6. DOI:10.3390/agronomy9060294

31. Błazewicz-Wozniak, M. Effect of cover crops and ploughless tillage on weed infestation of field after winter before pre-sowing tillage / M. Błazewicz-Wozniak, E. Patkowska, M. Konopinski, D. Wach // *Romanian Agric Res*. – 2016. – Vol. 33. – P. 185–194.

32. Bacq-Labreuil, A. Phacelia (*Phacelia tanacetifolia Benth*.) affects soil structure differently depending on soil texture / A. Bacq-Labreuil, J. Crawford, S. Mooney [et al.] // *Plant and Soil*. – 2019. – Vol. 441. – P. 543–554.

33. Tursun, N. Use of Living, Mowed, and Soil-Incorporated Cover Crops for Weed Control in Apricot Orchards / N. Tursun, D. Işık, Z. Demir, K. Jabran // *Agronomy*. – 2018. – Vol. 8. – P.150. DOI:10.3390/agronomy8080150

34. Wesołowski, M. Wpływ przyorywanego rodzaju miedzyplonu scierniskowego na plonowanie i zachwaszczenie owsa w uprawie ekologicznej / M. Wesołowski, R. Cierpiała // *Fragm. Agron*. – 2013. – Vol. 30. – P.133–144. (In Polish)

35. Schappert, A. Weed suppressive ability of cover crops under water-limited conditions / A. Schappert, A. I. Linn, D. J. Sturm, R. Gerhards // *Plant Soil Environ*. – 2019. – Vol. 65, №11. – P. 541–548.

36. Handlírová, M. Yields of selected catch crops in dry conditions / M. Handlírová, B. Procházková, V. Smutný // *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel Brun*. – 2016. – Vol. 64, №4. – P. 1139-1148.

37. Hickman, J. M. Use of *Phacelia tanacetifolia* strips to enhance biological control of aphids by hoverfly larvae in cereal fields / J. M. Hickman, W. D. Wratten // *J. Econ. Entom*. – 1996. – Vol. 89, №4. – P. 832–840. doi.org/10.1093/jee/89.4.832

38. Lipinski, M. Pożytki pszczele. Zapylanie i miododajność roślin / M. Lipinski // PWRiL: Warszawa, Poland, 2010. ISBN 9788309990246. (In Polish)

39. Kälber, T. Milk fatty acid composition of dairy cows fed green whole-plant buckwheat, phacelia or chicory in their vegetative and reproductive stage / T. Kälber, M. Kreuzer, F. Leiber // *Anim. Feed Sci. Technol*. – 2014. – Vol. 193. – P. 71–83. doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.04.007

40. Akbay, F. Arı Otu (*Phacelia tanacetifolia Bentham*)'nun Vejatatif Dönemlerinin Ot Verimine, Besin Madde İçeriğine ve Metan Üretimine Etkisi / F. Akbay, A. Kamalak, A. Erol // *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Der*. – Vol. 23, №4. – P. 981-985. (In Turkish) [CrossRef] DOI:10.18016/ksutarimdoga.vi.686043.

41. Kruk, J. Flavonoids enantiomer distribution in different parts of goldenrod (*Solidago virgaurea L.*), lucerne (*Medicago sativa L.*) and phacelia (*Phacelia tanacetifolia Benth*.) / J. Kruk, I. Baranowska, B. Buszewski [et al.] // *Chirality*. – 2019. – Vol. 31. – P. 138–149.

42. Оленников, Д. Н. Флавоноиды, гидроксициннаматы и феноламиды травы *Phacelia tanacetifolia Benth.* (*Boraginaceae*) / Д. Н. Оленников, Л. В. Корнопольцева, В. А. Лосоногова, В. В. Величко // Химико-фармацевтический журнал. – 2025. – Т. 59. – №. 10. – С. 34-42.

43. Ahmed, S. Honey as a Potential Natural Antioxidant Medicine: An Insight into Its Molecular Mechanisms of Action / S. Ahmed, S. A. Sulaiman, A. A. Baig [et al.] // *Oxidative Med. Cell. Longev*. – 2018. – Режим доступа: DOI: 10.1155/2018/8367846

44. Gül, A. Antioxidant Activities of Some Monofloral Honey Types Produced Across Turkey / A. Gül, T. Pehlivan // *Saudi J. Biol. Sci.* – 2018. – Vol. 25. – P. 1056–1065.

45. Pauliuc, D. Antioxidant Activity, Total Phenolic Content, Individual Phenolics and Physicochemical Parameters Suitability for Romanian Honey Authentication / D. Pauliuc, F. Dranca, M. Oroian *// Foods.* – 2020. – Vol. 9. – P. 306.

46. Зверев, Я. Ф. Флавоноиды глазами фармаколога. Антиоксидантная и противовоспалительная активность / Я. Ф. Зверев // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15. – № 4. – С. 5–13. doi: 10.17816/RCF1545-13

47. Végh, R. Investigating the Antioxidant and Color Properties of Bee Pollens of Various Plant Sources / R. Végh, G. Sipiczki, M. Csóka // *Chem Biodivers*. – 2023. – Vol. 20, №7. e202300126. doi: 10.1002/cbdv.202300126

48. Margaoan, R. Monofloral Honeys as a Potential Source of Natural Antioxidants, Minerals and Medicine / R. Margaoan, E. Topal, R. Balkanska [et al.] // *Antioxidants* – 2021. – Vol. 10. – P.1023. DOI:10.3390/antiox10071023

49. Czipa, N. Determination of Essential and Toxic Elements in Hungarian Honeys / N. Czipa, D. Andrási, B. Kovács // *Food Chem.* – 2015. – Vol. 175. – P. 536–542. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.12.018

50. Alvarez-Suarez, J. M. Phenolics from Monofloral Honeys Protect Human Erythrocyte Membranes Against Oxidative Damage / J. M. Alvarez-Suarez, F. Giampieri, A. M. González-Paramás [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* – 2012. – Vol. 50. – P. 1508–1516.

51. Nemoseck, T. M. Honey Promotes Lower Weight Gain, Adiposity, and Triglycerides Than Sucrose in Rats / T. M. Nemoseck, E. G. Carmody, A. Furchner-Evanson [et al.] // *Nutr. Res*. – 2011. – Vol. 31. – P. 55–60.

52. Khalil, M. Cardioprotective Effects of Tualang Honey: Amelioration of Cholesterol and Cardiac Enzymes Levels / M. Khalil, E. M. Tanvir, R. Afroz [et al.] // *BioMed Res. Int.* – 2015. – № 4. DOI: 10.1155/2015/286051

53. Зубова, М. Ю. О содержании пигментов, фенольных соединений и антирадикальной активности молодых побегов чая (*Camellia sinensis L.*) / М. Ю. Зубова, Т. Н. Николаева, Т. Л. Нечаева [и др.] // Химия растительного сырья. – 2019. – № 4. – С. 249-257.

54. Копытько, Я. Ф. Разработка методик количественного определения фенолальдегидов и фенолкарбоновых кислот в жидких лекарственных формах для наружного применения, содержащих растительные экстракты / Я. Ф. Копытько, П. Г. Мизина, П. М. Масесе, Н. И. Сидельников // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2016. – Т. 19. – № 8. – С. 3-9.

55. Гуляев, Д. К. Разработка методики определения содержания гидроксикоричных кислот в корнях ели обыкновенной / Д. К. Гуляев, В. Д. Белоногова, П. С. Мащенко // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2019. – № 2. – С. 80-86.

56. Чувиров, Н. Е. Количественное определение фенолкарбоновых (гидроксикоричных) кислот в листьях черемухи обыкновенной (*Prunus Padus L.*) и черемухи маака (*Prunus maackii Rupr.*) / Н. Е. Чувиров, Н. В. Нестерова, О. В. Нестерова [и др.] // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2023. – № 3 (41) – С. 11-16.

57. Корнопольцева, Т. В. Стандартизация сухого экстракта из листьев крапивы двудомной и его эффективность в профилактике гипоксических состояний / Т. В. Корнопольцева, Г. В. Чехирова, Л. Р. Абидуева, С. А. Чукаев // Бутлеровские сообщения. – 2008. – Т. 13. – № 3. – С. 62-64.

58. Чистова, Ю. И. Количественное определение суммы гидроксикоричных кислот в экстракте сбора одуванчика лекарственного травы и лопуха большого листа сухом / Ю. И. Чистова // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2019. – Т. 18. – № 1. – С. 170-176.

59. Heitman, E. Cognitive and neuroprotective effects of chlorogenic acid / E. Heitman, D. K. Ingram // *Nutritional Neuroscience*. – 2017. – Vol. 20, №1. – P. 32-39.

60. Kumar, G. Neuroprotective effect of chlorogenic acid in global cerebral ischemia-reperfusion rat model / G. Kumar, S. Mukherjee, P. Paliwal [et al.] // *Naunyn-Schmiedeberg`s Archives of Pharmacology*. – 2019. – Vol. 392, №10. – P. 1293-1309.

61. Lu, H. Chlorogenic acid: A comprehensive review of the dietary sourses, processing effects, bioavailability, beneficial properties, mechanisms of action, and future directions / H. Lu, Z. Tian, Y. Cui [et al.] // *Comprehensive reviews in food science and food safety*. – 2020. – Vol. 19, №6. – P. 3130-3158.

62. Калашникова, О. А. Методика количественного определения суммы флавоноидов в цветках цефалярии гигантской / О. А. Калашникова, В. М. Рыжов, В. А. Куркин // Химия растительного сырья. – 2024. – № 2. – С. 207-215.

63. Рябов, Н. А. Методика количественного определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого *Quercus robur L*. / Н. А. Рябов, В. М. Рыжов, В. А. Куркин // Фармация и фармакология. – 2021. – Т. 9, № 5. – С. 356-366.

64. Солёнова, Е. А. Флавоноиды. Перспективы применения в антимикробной терапии / Е. А. Солёнова, Л. Н. Николаевна Величковска // Acta medica Eurasica. – 2017. – №3. – С.50-57.

65. Ширшова, Т. И. Антиоксидантные свойства экстрактов листьев и соцветий спиреи средней (*Spiraea media Franz Schmidt*) из флоры Республики Коми / Т. И. Ширшова, К. В. Безматерных, И. В. Бешлей [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2020. – Т. 54, № 6. – С. 45-48.

66. Краснов, Е. А. Ритмомодулирующая активность фракций водного экстракта *Agrimonia pilosa* / Е. А. Краснов, В. И. Отмахов, Т. А. Замощина [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2020. – Т. 54, № 11. – С. 40-44.

67. Тухтаева, Ф. Ш. Антирадикальная активность кверцетина и дигидрокверцетина / Ф. Ш. Тухтаева, З. А. Маматова, У. Г. Гайибов // Universum: химия и биология: электрон. научн. журн. – 2019. – № 11 (65). [Электронный ресурс] – Режим доступа: https://7universum.com/ru/nature/archive/item/8081 (дата обращения: 25.10.2024).

68. Rendeiro, C. The mechanisms of action of flavonoids in the brain: direct versus indirect effects / C. Rendeiro, J. P. E. Rhodes // *Neurochemistry International*. – 2015. – Vol. 89. – P. 126-139.

69. Попов, И. В. Биологически активные соединения листьев и плодов сумаха пушистого (*Rhus typhina L.*) и их роль в проявлении антимикробной активности / И. В. Попов, О. И. Папаяни, Е. А. Юртаева, О. И. Попова // Человек и его здоровье. – 2024. – Т. 27, № 4. – С. 57-64.

70. Кочукова, А. А. Способ получения, стандартизация и скрининг антимикробной активности густого экстракта *Hypericum perforatum L* / А. А. Кочукова, А. А. Шмыгарева, О. О. Жеребятьева [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2025. – № 3. – С. 74-81.

71. Буданова, Е. В. Вторичные метаболиты растений: механизмы антибактериального действия и перспективы применения в фармакологии / Е. В. Буданова, К. Л. Горленко, Г. Ю. Киселев // Антибиотики и химиотерапия. – 2019. – Т. 64, № 5-6. – С. 69–76.

72. Медвецкая, Ю. Г. Виды рода Teucrium L. как источники активных фармацевтических субстанций противомикробного, противовоспалительного и радиопротекторного действия (обзор) / Ю. Г. Медвецкая, И. В. Попов, А. И. Медвецкий, О. И. Попова // Химико-фармацевтический журнал. – 2021. – Т. 55. – № 5. – С. 19–24.

73. Haraguchi, H. Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflate* / H. Haraguchi, K. Tanimoto, Y. Tamura [et al.] // *Phytochemistry*. – 1998. – Vol. 48. – P. 125–129.

74. Hemaiswarya, S. Synergism between natural products and antibio tics against infectious diseases / S. Hemaiswarya, A.K. Kruthiventi, M. Doble // *Phytomedicine*. – 2008. – Vol. 15. – P. 639–652.

75. Плеханов, А. А. Оценка эффективности применения растительных лекарственных средств в комплексном лечении инфекций мочевыводящих путей / А. А. Плеханов, А. Б. Дамбаев // Бюллетень Восточно-Сибирского научного

центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2015. – № 6(106). – С. 48-52.

76. Найговзина, Н. Б. Оптимизация системы мер борьбы и профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в Российской Федерации / Н. Б. Найговзина, А. Ю. Попова, Е. Е. Бирюкова // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2018. – № 1. – С. 6-14.

77. Куркин, В. А. Новые подходы к стандартизации плодов черники обыкновенной / В. А. Куркин, Т. К. Рязанова // Химия растительного сырья. – 2012. – №46. – С.167-173.

78. Леонова, В. Н. Количественное определение суммы фенольных соединений в плодах *Rhus typhina (L.)* / В. Н. Леонова, И. В. Попов, О. И. Попова, В. П. Зайцев // Химия растительного сырья. – 2019. – №1. –С. 225-232.

79. World Health Organization [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds) (дата обращения 02.03.2025г).

80. Вахненко, Ю. В. Кардиоваскулярная составляющая постковидного синдрома / Ю. В. Вахненко, И. Е. Доровских, А. П. Домка // Тихоокеанский медицинский журнал. –2022. – №1. – С. 56-64.

81. Чистякова, М. В «Постковидный» синдром: морфофункциональные изменения и нарушения ритма сердца / М. В. Чистякова, Д. Н. Зайцев, А. В. Говорин [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2021. – Т. 26, №7. – С. 32-39.

82. Adu-Amankwaah, J. The cardiovascular aspect of COVID-19 / J. Adu-Amankwaah, R. Mprah, A. O. Adekunle et al. // *Ann Med*. – 2021. – Vol. 53, №1. – P. 227-36.

83. Бунова, С. С. COVID-19 и сердечно-сосудистная коморбидность: поиск новых подходов к снижению смертности / С. С. Бунова, П. И. Охотникова, Ю. П. Скирденко [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2021. – 20(4). – С. 122-128.

84. Bailey, R. L. Best Practices for Dietary Supplement Assessment and Estimation of Total Usual Nutrient Intakes in Population-Level Research and Monitoring / R. L. Bailey, K. W. Dodd, J. J. Gahche [et al.] // *J Nutrition*. – 2019. – Vol. 149, №2. – P. 181-197.

85. Орлова, А. А. Использование подходов метаболомики в анализе лекарственных растений и фитопрепаратов (обзор) / А. А. Орлова, Й. Стругар, О. Ю. Штарк [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10, № 1. – С. 97–105.

86. Государственная Фармакопея Российской Федерации XV изд. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/ (дата обращения – 18. 02. 2025).

87. Гудкова, А. А. Сравнительное изучение анатомических признаков наземных частей растений *Persicaria amphbia (L.) Delarbrae* и *Persicaria maculosa (Gray.)* / А. А. Гудкова, А. С. Чистякова, В. В. Негробов [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2017. – № 4. – С. 99-105.

88. Головкин, Б. Н. Биологически активные вещества растительного происхождения / Б. Н. Головкин, Р. Н. Руденская, И. А. Трофимова, А. И. Шретер. – Т.1. – М.: Наука, 2001. – Т.3, 2002.

89. Шейхмагомедова, П. А. Идентификация фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной (*Phacelia tanacetifolia Benth*.) методом тонкослойной хроматографии / П. А. Шейхмагомедова // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: Материалы IX Международной научно-практической конференции, Владикавказ, 12–14 декабря 2019 года. – Владикавказ: Веста, 2019. – С. 171-174.

90. Тринеева, О. В. Определение гидроксикоричных кислот, каротиноидов и хлорофилла в листьях крапивы двудомной (*Urtica dioica L.*) / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, Е. Ф. Сафонова // Химия растительного сырья. – 2015. – № 3. – С. 105-110.

91. Шейхмагомедова, П. А. Идентификация фенольных соединений и разработка методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной (*Phacelia tanacetifolia Benth*.) / П. А. Шейхмагомедова, О. И. Попова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2022. – Т. 25, № 12. – С. 44-50.

92. Рябов, Н. А. Методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях дуба черешчатого / Н. А. Рябов, В. М. Рыжов // Фармация. – 2021. – 70(02). – С.24-28.

93. Буракба, С. Разработка методики количественного определения флавоноидов в укропа пахучего траве (*Anethum graveolentis herba*) / С. Буракба, А. И. Марахова, В. Ю. Жилкина, Д. О. Боков // Фармация. – 2023. – Т. 72, № 8. – С. 45-49.

94. Тринеева, О. В. Разработка методики количественного определения антоцианов в плодах облепихи крушиновидной / О. В. Тринеева, А. И. Сливкин, И. А. Самылина, М. А. Казьмина // Фармация. – 2015. – № 7. – С. 9-13.

95. Курдюков, Е. Е. Методика количественного определения суммы антоцианов в плодах *Malpighia Emarginata* / Е. Е. Курдюков, И. Я. Моисеева, Е. Ф. Семенова [и др.] // Химия растительного сырья. – 2024. – № 3. – С. 207-212.

96. Ковалева, Н. А. Разработка и валидация спектрофотометрической методики количественного определения антоцианов в листьях облепихи крушиновидной / Н. А. Ковалева, О. В. Тринеева, И. В. Чувикова // Химия растительного сырья. – 2025. – № 2. – С. 130-138.

97. Шейхмагомедова, П. А. Определение антоцианов в цветках фацелии пижмолистной (*Phacelia tanacetifolia Benth*.) / П. А. Шейхмагомедова // Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы: сборник материалов, Томск, 13–16 сентября 2021 года / Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 2021. – С. 159-161.

98. Бархатова, Е. И. Определение уровня аскорбиновой кислоты в лекарственных растениях и возможность их практического применение при гиповитаминозе С / Е. И. Бархатова, Р. Г. Сафин, Н. А. Бархатова // Юный ученый. – 2017. – № 5(14). – С. 60-67.

99. Ковалева, Н. А. Определение некоторых биологически активных веществ в листьях облепихи крушиновидной титриметрическими методами / Н. А. Ковалева, О. В. Тринеева, И. В. Чувикова [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2023. – № 2. – С. 97-102.

100. Игзакова, З. И. Количественное определение аскорбиновой кислоты и каротиноидов в сырье *Crambe Abyssinic* / З. И. Игзакова, А. И. Ситдикова // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. – 2022. – № 1. – С. 74-77.

101. Шейхмагомедова, П. А. Некоторые показатели качества фацелии пижмолистной травы (*Phacelia tanacetifolia Benth*.) / П. А. Шейхмагомедова, О. И. Попова // Вестник Южно-Казахстанской медицинской академии. – 2022. – № 4-7(98). – С. 29-34.

102. Лупанова, И. А. Оценка фармакологической активности флавоноидной фракции травы серпухи венценосной / И. А. Лупанова, Е. В. Ферубко, Д. В. Шишканов [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2024. – Т. 27, № 6. – С. 49-56.

103. Галишевская, Е. Е. Изучение биологической активности экстракта марьянника лесного (*Melampyrum sylvaticum L*.) / Е. Е. Галишевская, Е. Н. Полякова, Т. В. Бомбела [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2023. – Т. 12, № S4. – С. 119-127.

104. Шейхмагомедова, П. А. Гиполипидемическая активность фитокомплекса травы фацелии пижмолистной (*Phacelia tanacetifolia Benth*.) / П. А. Шейхмагомедова, Е. О. Сергеева, И. Л. Абисалова [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2024. – Т. 27, № 1. – С. 69-74.

105. Айрапетова, К. С. Изучение гиполипидемического действия экстракта лука медвежьего (черемши) (*Allium ursinum L.*) / К. С. Айрапетова, Е. О. Сергеева, Е. В. Компанцева [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т. 13, №1. – С.758 – 760.

106. Каркищенко, Н. Н. Альтернативы биомедицины. Т. 1. Основы биомедицины и фармакомоделирования / Н. Н. Каркищенко. – М.: Изд-во ВПК., 2007. – 320 с.

107. Каркищенко, Н. Н. Альтернативы биомедицины. Т. 2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии / Н. Н. Каркищенко. – М.: Изд-во ВПК, 2007. – 448 с.

108. Шейхмагомедова, П. А. Гиполипидемическая активность экстракта фацелии пижмолистной (*Phacelia tanacetifolia Benth.*) на экспериментальной модели алкогольного поражения печени / П. А. Шейхмагомедова, И. В. Попов, Е. О. Сергеева [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2025. – Т. 28, № 7. – С. 83-89.

109. Роднова, Е. А. Механизмы гиполипидемичексого действия сесквитерпенового лактона леукомизина: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Е. А. Роднова. – М., 1997. – 98 с.

110. Шейхмагомедова, П. А. Опыт выращивания *Phacelia tanacetifolia Benth*. В Республике Дагестан / П. А. Шейхмагомедова // Беликовские чтения: Материалы IX Международной научно-практической конференции, Пятигорск, 03–04 декабря 2020 года. – Пятигорск: Рекламно-информационное агентство на Кавминводах, 2021. – С. 120-128.

111. Савин, А. П. Семенная продуктивность фацелии пижмолистной в зависимости от сроков посева / А. П. Савин, Ю. В. Докукин, Л. Ш. Сабитова // Пчеловодство. – 2019. – № 2. – С. 20–21.

112. Horváth, E. Weed surveying of phacelia (*Phacelia tanacetifolia L.*) and evaluating the efficiency of the weed control / E. Horváth, R. Szabó // *Commun Agric Appl Biol Sci*. – 2014. – Vol. 79, №2. – P. 99-103. PMID: 26084087.

113. Olofsson, F. Frost killed cover crops induced high emissions of nitrous oxide / F. Olofsson, M. Ernfors // *Sci Total Environ*. – 2022. – Vol. 837, №155634. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.155634.

114. Крылова, И. Л. Методические указания по изучению запасов дикорастущих лекарственных растений / И. Л. Крылова, А. И. Шретер. – М.: ВИЛАР, 1971. – 31с.

115. Шейхмагомедова, П. А. Влияние способов сушки травы фацелии пижмолистной (*Phacelia tanacetifolia Benth*.) на содержание биологически активных веществ // П. А. Шейхмагомедова, О. И. Попова // Беликовские чтения: материалы XIII Международной научно – практической конференции. – Ставрополь: Бюро новостей, 2025. – С. 102 – 110.

116. Шейхмагомедова, П. А. Идентификация фенольных соединений и разработка методики количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной (*Phacelia tanacetifolia Benth*.) / П. А. Шейхмагомедова, О. И. Попова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2022. – Т. 25, № 12. – С. 44-50.

117. Ширяева, Н. А. Применение медоносных культур в декоративном растениеводстве / Н. А. Ширяева, В. П. Наумкин // Вестник аграрной науки. – 2020. – № 1 (82). – С. 60–67.

118. Moore, E. Improving semi-arid agroecosystem services with cover crop mixes / E. Moore, U. Norton // *PLoS One*. – 2024. – Vol. 19, №8. e0306567. doi: 10.1371/journal.pone.0306567

119. Ефимова, К. Н. Качественный анализ фенольных соединений корневищ змеевика методом тонкослойной хроматографии / К. Н. Ефимова, Е. В. Жохова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2017. – Т. 20, № 1. – С. 15-19.

120. Куркин, В. А. Разработка методики количественного определения суммы флавоноидов в плодах софоры японской / В. А. Куркин, М. К. Чередник // Химия растительного сырья. – 2025. – № 3. – С. 157-166.

121. Нестерова, Н. В. Количественное определение гидроксикоричных кислот и анализ динамики их накопления в листьях яблони лесной / Н. В. Нестерова, И. А. Самылина, Н. В. Бобкова [и др.] // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. – 2019. – Т. 60. – № 1. – С. 60-64.

122. Шейхмагомедова, П. А. Антоцианы травы фацелии пижмолистной / П. А. Шейхмагомедова, О. И. Попова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов, Пятигорск, 18–19 марта 2022 года. Том Выпуск 77. – Пятигорск: ООО «Рекламно-информационное агентство на КМВ», 2022. – С. 94-96.

123. Шейхмагомедова, П. А. Исследование водного извлечения фацелии пижмолистной (*Phacelia tanacetifolia Benth.*) / П. А. Шейхмагомедова, О. И. Попова // Беликовские чтения: Материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции, Пятигорск, 05–06 декабря 2019 года / Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. – Пятигорск: Рекламно-информационное агентство на Кавминводах, 2020. – С. 307-314.

124. Зыкова, Е. В. Оценка влияния сопутствующих веществ пробы на результаты количественного определения аскорбиновой кислоты различными методами / Е. В. Зыкова // Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии. Материалы 19 зимней молодёжной научной школы. – Москва, 2007. – С.52.

125. Шейхмагомедова, П. А. Фитохимическое исследование фацелии пижмолистной / П. А. Шейхмагомедова, О. И. Попова // Материалы 67-й Всероссийской научной конференции молодых ученых и студентов с международным участием. – Махачкала: ИПЦ ДГМУ, 2019. – С.575-578.

126. Зыкова, Е. В. Влияние химических веществ, содержащихся в биологических пробах и лекарственных препаратах, на результаты количественного определения аскорбиновой кислоты / Е. В. Зыкова, Г. П. Дудченко, В. Г. Зайцев, О.В.Островский//Вестник ВолГМУ. – 2009. – №4. – С103-106.

127. Лавренов, С. Н. L-аскорбиновая кислота. Свойства и методы химической модификации / С. Н. Лавренов, М. Н. Преображенская // Химико-фармацевтический журнал. – 2005. – Т.39, №5. – С.26-39.

128. Некрасов, В. И. Роль микроэлементов в повышении функциональных резервов организма человека / В. И. Некрасов, А. В. Скальный, Р. М. Дубовой // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2006. – № 1(15). – С. 111-113.

129. Дьякова, Н. А. Изучение минерального комплекса корней одуванчика лекарственного / Н. А. Дьякова // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2022. – Т. 21, № 2. – С. 171-176.

130. Дьякова, Н. А. Макроэлементный состав дикорастущих лекарственных растений естественных экотопов Воронежской области / Н. А. Дьякова // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2025. – Т. 24, № 1. – С. 157-163.

131. Королева, А. А. Проблема дефицита магния / А. А. Королева, Е. А. Каразей, Ю. Л. Журавков // Лечебное дело: научно-практический терапевтический журнал. – 2023. – № 4(87). – С. 42-45.

132. Запруднова, Р. А. Ионная регуляция у животных и человека при стрессе: сравнительные аспекты / Р. А. Запруднова, Д. В. Гарина // Научное обозрение. Биологические науки. – 2022. – № 4. – С. 32-43.

133. Шейхмагомедова, П. А. Морфолого-анатомическое изучение травы фацелии пижмолистной (*Phacelia tanacetifolia Benth.)* / П. А. Шейхмагомедова, И. В. Попов, О. И. Попова // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2021. – № 2. – С. 120-127.

134. Самылина, И. А. Научные основы разработки и стандартизации лекарственных растительных средств / И. А. Самылина, В. А. Куркин, Г. П. Яковлев // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2016. – № 1. – С. 41-44.

135. Сулейманова, Ф. Ш. Разработка и валидация методики количественного определения фенолкарбоновых (гидроксикоричных) кислот в траве золотарника

канадского (*Solidago canadensis L.*) / Ф. Ш. Сулейманова, О. В. Нестерова, И. Н. Аверцева, В. Ю. Решетняк // Химическая технология. – 2019. – Т. 20, № 6. – С. 252-256.

136. Бубенчикова, В. Н. Разработка и валидация методики количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в траве хондриллы ситниковидной / В. Н. Бубенчикова, В. Н. Левченко // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2015. – № 16(213). – С. 168-173.

137. Шейхмагомедова, П. А. Валидационная оценка методики количественного определения фенолкарбоновых кислот в траве фацелии пижмолистной (*Phacelia tanacetifolia Benth.*) / П. А. Шейхмагомедова, Т. Т. Лихота, О. И. Попова // Фармация. – 2023. – Т. 72, № 8. – С. 19-24. DOI 10.29296/25419218-2023-08-03.

138. Касьянов, З. В. Разработка и валидация спектрофотометрической методики определения содержания флавоноидов в пупавки красильной траве / З. В. Касьянов, Е. А. Непогодина, П. С. Мащенко // Медико-фармацевтический журнал Пульс. – 2022. – Т. 24, № 12. – С. 78-83.

139. Пугачева, О. В. Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в листьях аронии Мичурина / О. В. Пугачева, Т. А. Брежнева, А. И. Сливкин // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2023. – № 3. – С. 92-99.

140. Шереметьева, А. С. К изучению ресурсного потенциала тимьяна Маршалла на территории Саратовской области / А. С. Шереметьева, Д. В. Белоусова, Д. В. Гнилицкий, Н. А. Дурнова // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2024. – № 2. – С. 129-135.

141. Uematsu, K. Role and regulation of cAMP in seed germination of *Phacelia tanacetifolia* / K. Uematsu, Y. Fukui // *Plant Physiol Biochem*. – 2008. – Vol. 46, №8-9. – P. 768-74. doi: 10.1016/j.plaphy.2007.10.015.

142. Музыка, А. А. Популярный медонос фацелия пижмолистная / А. А. Музыка, И. В. Попов // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. Сборник научных трудов. – Пятигорск, 2021. – С. 187-192.

143. Айрапетова, К. С. Изучение гиполипидемического действия экстракта лука медвежьего (черемши) (*Allium ursinum L.*) / К. С. Айрапетова, Е. О. Сергеева, Е. В. Компанцева [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т. 13. – №1. – С.758 – 760.

144. Губич, О. И. Сравнительная оценка гепатопротекторных свойств растительных адаптогенов на экспериментальной модели хронического алкогольного поражения печени in vivo / О. И. Губич, Я. Ю. Дашкова, И. Н. Кривленя // Журнал Белорусского государственного университета. Биология. – 2019. – № 1. – С. 54-62.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР)

«УТВЕРЖДАЮ»
Заместитель директора,
Ученый секретарь,
зав. научно- организационным отделом, кандидат фармацевтических наук
_____ Семкина О. А.
«20» июня 2025г.

ИНСТРУКЦИЯ
ПО ЗАГОТОВКЕ И СУШКЕ ТРАВЫ ФАЦЕЛИИ ПИЖМОЛИСТНОЙ
(*PHACELIA TANACETIFOLIA BENTH.*)

Ведущий научный сотрудник
Испытательного центра
ФГБНУ ВИЛАР,
кандидат фармацевтических наук
_____ Дул В.Н.

Пятигорск 2025

Фацелия пижмолистная (Phacelia tanacetifolia Benth.) – однолетнее травянистое растение из сем. Водолистниковые (Hydrophyllaceae). Высота растения может варьироваться от 60 до 120 см. Растение полностью покрыто густыми короткими и редкими длинными белыми волосками. Стебель прямостоячий, ветвящийся в верхней части. Листья очередные, перисто-рассеченные, неравномерно пильчато-зубчатые по краю. Соцветие фацелии пижмолистной представляет собой тирс из крупных колосовидных завитков. Цветки многочисленные сидячие, голубовато-фиолетового цвета, собраны в густое одностороннее соцветие – колосовидный завиток. Чашечка сростнолистная из пяти чашелистиков, покрыта белыми густыми волосками. Венчик сростнолепестный, колокольчатой формы, с ушками, лепестков пять. Тычинок пять отчетливо видных длинных. Плод – двустворчатая коробочка, шаровидной или яйцевидной формы. Цветет в мае – июне.

Родиной фацелии пижмолистной является юго-запад США, растение произрастает в штате Калифорния на территории Калифорнийской долины и пустыни Калифорнии. Встречается в Мексике и южной части Канады. В России фацелия пижмолистная культивируется на Северном Кавказе (Ставропольский край, Республика Дагестан, Республика Кабардино-Балкария), в Краснодарском крае и в Западной Сибири.

Рисунок 1 – Фацелия пижмолистная (фаза массового цветения)

Результаты проведенных интродукционных исследований и фенологических наблюдений за фацелией пижмолистной в условиях Ботанического сада Пятигорского медико-фармацевтического института позволили обосновать фазу заготовки травы фацелии пижмолистной. При обосновании способа заготовки сырья проводилось изучение динамики накопления основных биологически активных веществ (БАВ): фенолкарбоновых кислот и флавоноидов.

В результате интродукционного исследования фацелии пижмолистной установлены следующие фенологические фазы:

- начало вегетации: прорастание семян и появление первых всходов – мелкая трава высотой 10см с ветвистым стеблем и перисто-рассеченными листьями;

- фаза роста: стремительный рост растений в высоту до 40см;

- фаза бутонизации: появление некрупных бутонов – 2,0-2,5 мм в диаметре, собранных в плотные пучки на концах стеблей, вначале распускались бутоны, расположенные в верхней части пучка;

- фаза цветения: начало цветения – раскрывание 25% цветков у растений; массовое цветение – раскрывание 50-75% цветков у растений; окончание цветения – раскрывание цветков у последних единичных особей;

- фаза плодоношения: появление плодов.

Сырьем является трава фацелии пижмолистной. Траву заготавливают в фазу массового цветения в начале - середине июня путем срезания надземной части на высоте не менее 20 см от поверхности почвы, без грубых оснований стебля. Собранное сырье укладывают рыхлым слоем в открытую тару и тканевые мешки. Сырье сушат искусственным путем в сушилках при температуре 45°С. После сушки из сырья удаляют почерневшие листья и посторонние примеси.

Согласно проекту фармакопейной статьи «Фацелии пижмолистной трава» внешние признаки сырья представляют собой:

Цельное сырье. Верхние части стеблей с листьями, цветками и бутонами. Стебли ветвистые, полые, цилиндрические, длиной до 80 см, сильно опушенные. Листья очередные, непарноперисторассеченные с 6-8 сегментами, края неравномерно пильчато-зубчатые, опушенные, длиной 15-20 см, шириной до 5 см. Цветки многочисленные, почти сидячие, без прицветников, собранные в густое одностороннее соцветие – колосовидный завиток. Чашечка длиной 5-6 мм, сильно опушена, венчик 7-8 мм, колокольчатой формы, с ушками, 5 сросшихся лепестков. Тычинок 5, длиной 10 мм, отчетливо видны из цветка. Плод – двустворчатая коробочка, шаровидной или яйцевидной формы.

Цвет стеблей – коричневато-зеленый, светлее листьев; листьев – темно-зеленый сверху и серовато-зеленый снизу; чашечка – серовато-зеленая; венчик и тычинки – сиреневые, редко встречаются белые лепестки. Запах слабый, вкус водного извлечения – горьковатый.

Измельченное сырье. Различной формы кусочки стеблей, листьев, цветков и их части, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.

Цвет измельченного сырья от серовато-зеленого до темно-зеленого цвета, с сиреневыми вкраплениями. Запах слабый, вкус водного извлечения – горьковатый.

Порошок. Кусочки стеблей, листьев, цветков, бутонов, проходящие сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

Рисунок 2 – Трава фацелии пижмолистной (цельное и измельченное сырье)

Рисунок 3 – Трава фацелии пижмолистной (измельченное сырье)

Показатели качества сырья, согласно требованиям фармакопейной статьи следующие:

Содержание суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту – не менее 3,0 %; содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин – не менее 0,6 %; влажность – не более 10,0 %; зола общая – не более 8,0 %; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте – не более 5 %; суммы экстрактивных веществ, извлекаемых водой – не менее 22 %; суммы экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом этиловым 70 % – не менее 20 %.

Измельченность сырья. *Цельное сырье*: частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 3 мм, – не более 5 %. *Измельченное сырье*: частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, – не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, – не более 5 %. *Порошок*: частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, – не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, – не более 5 %.

Посторонние примеси. Сырье, изменившее окраску (пожелтевшее и почерневшее) – не более 3 %; стебли (в том числе отделенные при анализе) – не более 40 %; органическая примесь – не более 1 %; минеральная примесь – не более 1 %.

Упаковка, маркировка и транспортирование

Упаковку, маркировку и транспортирование травы фацелии пижмолистной проводят согласно ОФС.1.1.0019 «Упаковка, маркировка и перевозка лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Сырье фацелии пижмолистной упаковывают в мешки тканевые, массой не более 40 кг. Упаковка должна быть чистой, сухой, без посторонних запахов и однородной для всей партии сырья.

На каждую транспортную единицу должна быть прикреплена этикетка с указанием места, времени сбора и наименования сырья. Маркировка транспортной упаковки должна соответствовать ГОСТ 14192-96.

Транспортируют траву фацелии пижмолистной в сухих, чистых, не имеющих постороннего запаха, крытых транспортных средствах.

Хранение

Хранить сырье необходимо согласно ОФС.1.1.0011 «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» в сухих, чистых, хорошо вентилируемых складских помещениях, на стеллажах, защищенных от прямых солнечных лучей.

Срок годности

Срок годности сырья – 3 года.

Разработчики:

Заведующий кафедрой фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, доктор фармацевтических наук, профессор Д.А. Коновалов

Профессор кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, доктор фармацевтических наук, профессор О.И. Попова

Аспирант кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

П.А. Шейхмагомедова

Подпись(и) Коновалова Д.А. Попова О.И.

Заверяю:

Заместитель начальника отдела правового и кадрового обеспечения Пятигорского медико-фармацевтического института - филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

Приложение Б

«УТВЕРЖДАЮ»
Заместитель директора,
Ученый секретарь,
зав. научно-организационным
отделом ФГБНУ ВИЛАР
кандидат фармацевтических
наук
_____Семкина О.А.
«23» июня 2025г.

АКТ АПРОБАЦИИ

Предмет апробации: инструкция по заготовке и сушке «Фацелии пижмолистной трава».
Кем предложен: профессором кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ О.И. Поповой и аспирантом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ П.А. Шейхмагомедовой.
Источник информации: материалы диссертации заочного аспиранта кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ П.А. Шейхмагомедовой.
Место апробации: кафедра фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ (Ставропольский край, г. Пятигорск, проспект Калинина 11, 357532).
Цель апробации: воспроизведение предлагаемых условий сбора и сушки травы фацелии пижмолистной и оценка качества сырья по морфолого-анатомическим признакам и показателям качества в условиях Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР).
Ответственный за апробацию: к. фарм.н., вед. науч. сотрудник испытательного центра Дул В.Н.
Результаты апробации: инструкция по сбору и сушке травы фацелии пижмолистной, культивируемой в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР).

Ответственный за апробацию

Ведущий научный сотрудник
Испытательного центра
ФГБНУ ВИЛАР, к.фарм.н. (подпись) Дул В.Н.

Приложение В

ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
– ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
357532, Россия, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11
ОКПО 01962942 ИНН/КПП 3444048472/263243001 тел. (8793) 32-44-74, 32-92-66, факс 32-92-67

«05» 06 2025 г. № 961
на № _____ от _____

И.о. генерального директора
ФГБУ «НЦЭСМП»
Минздрава России,
кандидату фармацевтических наук,
Косенко Валентине Владимировне

Уважаемая Валентина Владимировна!

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации направляет для рассмотрения проект фармакопейной статьи (ФС) «Фацелии пижмолистной трава» и пояснительную записку к ФС, разработанный сотрудниками кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов в результате выполнения диссертационной работы.

Дирекция Пятигорского медико - фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России выражает Вам глубокую благодарность за плодотворное сотрудничество.

Приложение: 1. Проект ФС «Фацелии пижмолистной трава» - 2 экз.
2. Пояснительная записка к ФС - 2 экз.

Директор института О.А. Ахвердова

КАНЦЕЛЯРИЯ
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России
18. 06. 2025
Вх. № 13827

Приложение Г

«УТВЕРЖДАЮ»
Декан фармацевтического
факультета ФГБОУ ВО СОГМА
МинздраваРоссии
Ф.Н. Бидарова
«24» июня 2025г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Предмет внедрения: методика количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту в траве фацелии пижмолистной.

Кем предложен: профессором кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ О.И. Поповой и аспирантом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ П.А. Шейхмагомедовой.

Источник информации: проект фармакопейной статьи на сырье «Фацелии пижмолистной трава».

Место внедрения: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо – Осетинская государственная медицинская академия» Министерства Российской Федерации (362019, РСО – Алания, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40).

Цель внедрения: использование предлагаемой методики в учебном процессе на кафедре фармации в условиях ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России (362019, РСО – Алания, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40).

Ответственный за внедрение: заведующая кафедрой фармации, кандидат фармацевтических наук, Бидарова Фатима Николаевна.

Результаты внедрения: предложенная в проекте фармакопейной статьи методика количественного определения суммы фенолкарбоновых кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту используется в учебном процессе на кафедре фармации в ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России (362019, РСО – Алания, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40).

Ответственный за внедрение:

Декан фармацевтического факультета

кандидат фармацевтических наук, доцент Ф.Н. Бидарова

(подпись)

Приложение Д

«УТВЕРЖДАЮ»
Декан фармацевтического
факультета ФГБОУ ВО СОГМА
Минздрава России
_____ Ф.Н. Бидарова
«04» марта 2025г.

АКТ АПРОБАЦИИ

Предмет апробации: инструкция по заготовке и сушке «Фацелии пижмолистной трава».
Кем предложен: профессором кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ О.И. Поповой и аспирантом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ П.А. Шейхмагомедовой.
Источник информации: материалы диссертации заочного аспиранта кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ П.А. Шейхмагомедовой.
Место апробации: кафедра фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ (Ставропольский край, г.Пятигорск, проспект Калинина 11, 357532).
Цель апробации: воспроизведение предлагаемых условий сбора и сушки травы фацелии пижмолистной и оценка качества сырья по морфолого-анатомическим признакам и показателям качества в условиях ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России (362019, РСО – Алания, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40), кафедра фармации.
Ответственный за апробацию: заведующая кафедрой фармации, кандидат фармацевтических наук, Бидарова Фатима Николаевна.
Результаты апробации: инструкция по сбору и сушке травы фацелии пижмолистной, культивируемой в условиях Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо – Осетинская государственная медицинская академия» Министерства Российской Федерации.

Ответственный за апробацию
Декан фармацевтического факультета
кандидат фармацевтических наук, доцент Ф.Н. Бидарова
(подпись)

Приложение Е

«УТВЕРЖДАЮ»
Декан фармацевтического
факультета ФГБОУ ВО СОГМА
Минздрава России
_____ Ф.Н. Бидарова
«04» июня 2025г.

АКТ АПРОБАЦИИ

Предмет апробации: методики анализа проекта ФС на растительное сырье «Фацелии пижмолистной трава».

Кем предложен: профессором кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ О.И. Поповой и аспирантом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ П.А. Шейхмагомедовой.

Источник информации: проект фармакопейной статьи на растительное сырье «Фацелии пижмолистной трава».

Где и кем апробировано: ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России (362019, РСО – Алания, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40), кафедрой фармации.

Цель апробации: подтверждение пригодности методик идентификации сырья и определения его показателей качества, включенных в проект фармакопейной статьи.

Ответственный за апробацию: заведующая кафедрой фармации, кандидат фармацевтических наук, Бидарова Фатима Николаевна.

Результаты апробации: предложенные в проекте ФС методики идентификации сырья и определения его числовых показателей апробированы в июне 2025 г. на практических занятиях кафедры фармации. Подтверждена воспроизводимость и правильность методик идентификации и количественного определения фенолкарбоновых кислот и флавоноидов.

Предложения: разработанный проект фармакопейной статьи на растительное сырье «Фацелии пижмолистной трава» может быть направлен в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» (ФГБУ НЦЭМПС) для начала процедуры регистрации.

Ответственный за апробацию
Декан фармацевтического факультета
кандидат фармацевтических наук, доцент Ф.Н. Бидарова

(подпись)

Приложение Ж

«УТВЕРЖДАЮ»
Декан фармацевтического
факультета ФГБОУ ВО ДГМУ
Минздрава России
_____ Г. С. Баркаев
«15» июня 2025г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Предмет внедрения: методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве фацелии пижмолистной.

Кем предложен: профессором кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ О.И. Поповой и аспирантом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ П.А. Шейхмагомедовой.

Источник информации: проект фармакопейной статьи на сырье «Фацелии пижмолистной трава».

Место внедрения: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дагестанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (367000, Российская Федерация, Республика Дагестан, г. Махачкала, пл. Ленина, 1).

Цель внедрения: использование предлагаемой методики в учебном процессе на кафедре фармации в условиях ФГБОУ ВО ДГМУ Минздрава России (367000, Российская Федерация, Республика Дагестан, г. Махачкала, пл. Ленина, 1).

Ответственный за внедрение: заведующий кафедрой фармации, кандидат фармацевтических наук, Баркаев Гасбулла Сулейманович.

Результаты внедрения: предложенная в проекте фармакопейной статьи методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин используется в учебном процессе на кафедре фармации в ФГБОУ ВО ДГМУ Минздрава России (367000, Российская Федерация, Республика Дагестан, г. Махачкала, пл. Ленина, 1).

Ответственный за внедрение:

Заведующий кафедрой фармации,

кандидат фармацевтических наук, доцент _____ Г. С. Баркаев

(подпись)

Приложение И

«УТВЕРЖДАЮ»
Декан фармацевтического
факультета ФГБОУ ВО ДГМУ
Минздрава России
_____ Г.С. Баркаев
«02» июля 2025г.

АКТ АПРОБАЦИИ

Предмет апробации: методики анализа проекта ФС на растительное сырье «Фацелии пижмолистной трава».

Кем предложен: профессором кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ О.И. Поповой и аспирантом кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ П.А. Шейхмагомедовой.

Источник информации: проект фармакопейной статьи на растительное сырье «Фацелии пижмолистной трава».

Где и кем апробировано: ФГБОУ ВО ДГМУ Минздрава России (367000, Российская Федерация, Республика Дагестан, г. Махачкала, пл. Ленина, 1), кафедрой фармации.

Цель апробации: подтверждение пригодности методик идентификации сырья и определения его показателей качества, включенных в проект фармакопейной статьи.

Ответственный за апробацию: заведующий кафедрой фармации, кандидат фармацевтических наук, Баркаев Гасбулла Сулейманович.

Результаты апробации: предложенные в проекте ФС методики идентификации сырья и определения его числовых показателей апробированы на практических занятиях кафедры фармации. Подтверждена воспроизводимость и правильность методик количественного определения фенолкарбоновых кислот и флавоноидов.

Предложения: разработанный проект фармакопейной статьи на растительное сырье «Фацелии пижмолистной трава» может быть направлен в ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» (ФГБУ НЦЭМПС) для начала процедуры регистрации.

Ответственный за апробацию:
Заведующий кафедрой фармации,
кандидат фармацевтических наук, доцент _____ Г. С. Баркаев
(подпись)