

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

На правах рукописи

КОРОЛЕВА ЕКАТЕРИНА ФАРИДОВНА

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЯРУТКИ ПОЛЕВОЙ
(*THLASPI ARVENSE L.*)

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор

Пупыкина Кира Александровна

УФА 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

Оглавление.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1.СОВРЕМЕННЫЕ СВЕДЕНИЯ О СТЕПЕНИ ИЗУЧЕННОСТИ ЯРУТКИ ПОЛЕВОЙ (<i>THLASPI ARVENSE</i> L.) КАК ПЕРСПЕКТИВНОМ ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТЕНИИ (обзор литературы).....	13
1.1 Систематическое положение и ботаническое описание ярутки полевой.....	13
1.2 Географическое распространение и особенности произрастания ярутки полевой	17
1.3 Химический состав ярутки полевой.....	23
1.4 Фармакологические свойства ярутки полевой и применение в народной медицине.....	32
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1.....	39
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	40
2.1 Объекты исследования.....	40
2.2 Методы исследования.....	42
2.2.1 Методы макро- и микроскопического анализа, определение показателей качества.....	42
2.2.2 Методы фитохимического анализа.....	43
2.2.3 Методы фармакологических исследований.....	49
2.2.4 Методы статистической обработки результатов.....	53
ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО - АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАВЫ ЯРУТКИ ПОЛЕВОЙ (<i>THLASPI ARVENSE</i> L.).....	54
3.1 Изучение морфологических признаков травы ярутки полевой... 3.2 Изучение анатомо-диагностических признаков травы ярутки полевой.....	54
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3.....	60
ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ТРАВЫ ЯРУТКИ	

ПОЛЕВОЙ (<i>THLASPI ARVENSE L.</i>).....	61
4.1 Анализ первичных метаболитов.....	61
4.1.1 Качественный и количественный анализ витаминов.....	61
4.1.2 Качественный и количественный анализ органических кислот.....	66
4.1.3 Получение и анализ липофильной фракции.....	67
4.1.4 Получение и анализ полисахаридного комплекса.....	69
4.2 Анализ вторичных метаболитов.....	70
4.2.1 Качественный и количественный анализ фенольных соединений.....	70
4.2.2 Качественный и количественный анализ тритерпеновых соединений.....	80
4.3 Анализ элементного состава	83
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4	86
ГЛАВА 5. ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ К СТАНДАРТИЗАЦИИ ТРАВЫ ЯРУТКИ ПОЛЕВОЙ (<i>THLASPI ARVENSE L.</i>).....	87
5.1 Определение показателей подлинности и качества травы ярутки полевой.....	87
5.2 Разработка методики количественного определения основной группы биологически активных веществ.....	89
5.3 Валидация методики количественного определения основной группы биологически активных веществ.....	94
5.4 Разработка проекта фармакопейной статьи «Ярутки полевой трава».....	98
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5	104
ГЛАВА 6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТРАВЫ ЯРУТКИ ПОЛЕВОЙ (<i>THLASPI ARVENSE L.</i>).....	105
6.1 Острая токсичность.....	105
6.2 Противовоспалительная активность.....	106

6.3 Антиоксидантная активность.....	107
6.4 Антиагрегантная и антикоагуляционная активности.....	108
6.5 Оценка влияния на характеристики репродуктивной системы самцов крыс.....	110
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6.....	116
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	118
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	122
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	123
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	
<i>Приложение 1.</i> Проект фармакопейной статьи «Ярутки полевой трава»	143
<i>Приложение 2.</i> Инструкция по сбору и сушке травы ярутки полевой	153
<i>Приложение 3.</i> Акт внедрения ГБУЗ ЦЛО ДЗ г.Москвы	157
<i>Приложение 4.</i> Акт внедрения в работу ООО «Алтын Солок»	158
<i>Приложение 5.</i> Акт внедрения в учебный процесс кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России	159
<i>Приложение 6.</i> Акт внедрения в учебный процесс кафедры фармацевтической, аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России	160

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Особое внимание в последнее время уделяется изучению дикорастущих растений, произрастающих в естественных условиях на территории Российской Федерации и являющихся перспективными для получения новых лекарственных препаратов [29, 30, 33, 39, 40, 55]. Важной составляющей в решении данного вопроса является изучение близкородственных к фармакопейным видам растений, которые находят широкое применение в народной медицине, исследование их химического состава, биологической активности и обоснования возможности использования для лечения различных заболеваний [15, 18, 21, 25, 32, 34, 36, 114, 118].

Многие растения семейства *Brassicaceae* обладают полезными свойствами за счет содержания в них ценных биологически активных веществ и могут использоваться не только в качестве лекарственных, но и для обогащения традиционных продуктов питания [26, 37, 79, 86, 131, 133]. Ярутка полевая (*Thlaspi arvense* L.), семейства *Brassicaceae* - вид-космополит средиземноморского происхождения, распространенный на всей территории Российской Федерации, является одним из распространенных сорняков, засоряя различные зерновые, овощные, эфиромасличные, кормовые культуры, как рудерал встречается на мусорных местах, близ жилья, дорог, на залежах [38, 59, 65, 103, 124]. Это растение представляет интерес за счет широкого использования в народной медицине в качестве гемостатического, противовоспалительного, вяжущего, антибактериального, мочегонного, ранозаживляющего, общеукрепляющего, спазмолитического, гипотензивного средства, повышающего либидо, потенцию, регулирующего менструальный цикл у женщин, также, экспериментально установлен положительный эффект влияния ярутки полевой при гиперплазии предстательной железы, все части растения используют в пищу [3, 6, 32, 111, 117, 155]. Однако, следует отметить, что ярутка полевая не является разрешенной для применения в

научной медицине на территории Российской Федерации, что связано с недостаточными сведениями о химическом составе, фармакологической активности и отсутствием нормативной документации на лекарственное растительное сырье, поэтому фармакогностическое исследование ярутки полевой является актуальной задачей.

Степень разработанности темы исследования. Трава ярутки полевой не входит в Государственную фармакопею Российской Федерации, включена в фармакопею Китайской Народной Республики (2020). Имеются сведения об изучении морфологических и микробиодиагностических признаков ярутки полевой и ярутки пронзеннолистной [7, 27, 31, 40, 58, 82, 103, 127, 147], о содержании биологически активных соединений различных химических групп, а именно, флавоноидов, гидроксикоричных кислот, органических кислот, аскорбиновой кислоты, углеводов, сапонинов, высших жирных кислот, гликозида (синигрина) [37, 70, 84, 89, 107, 110, 116, 119, 122]. В работах отечественных и зарубежных ученых описаны различные виды фармакологической активности ярутки полевой, такие как противовоспалительная, антиоксидантная, противоопухолевая, антибактериальная, гемостатическая, выявлена способность восстанавливать чувствительность клеток предстательной железы к андрогенам, нивелировать процессы мембранодеструкции, нормализовать про- и антиоксидантный баланс у крыс [4, 6, 19, 32, 105, 121]. Вышеизложенные данные свидетельствуют об актуальности дальнейшего изучения травы ярутки полевой, разработки подходов к стандартизации и документации, регламентирующей качество лекарственного растительного сырья.

Цель и задачи исследования. Целью исследования является фармакогностическое исследование ярутки полевой для обоснования возможности ее использования в практической медицине и решения вопросов стандартизации лекарственного растительного сырья.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Провести обзор литературных данных и обобщить сведения о степени изученности ярутки полевой;
2. Изучить морфологические и анатомические особенности травы ярутки полевой и выявить диагностически значимые признаки;
3. Изучить химический состав травы ярутки полевой с использованием современных физико-химических методов;
4. Разработать методику количественного определения основной группы биологически активных веществ и провести валидационную оценку методики;
5. Определить критерии подлинности и показатели качества травы ярутки полевой, установить сроки годности сырья;
6. Изучить некоторые виды фармакологической активности травы ярутки полевой;
7. Разработать проект нормативного документа на сырье ярутки полевой.

Научная новизна. Впервые в сравнительном аспекте изучены макро- и микродиагностические признаки травы ярутки полевой из различных мест естественного произрастания и установлены сопоставимые диагностически значимые признаки, изучены показатели подлинности и качества сырья, необходимые для стандартизации.

С использованием современных физико-химических методов, таких как газовая хроматография с масс-селективным детектором, УФ-спектроскопия, хроматография в тонком слое сорбента, хроматоденситометрия, спектрофотометрия, атомно-адсорбционная спектрометрия изучен химический состав травы ярутки полевой анализа. Из группы первичных метаболитов в ярутке полевой установлено присутствие аскорбиновой кислоты, витамина К, органических кислот, полисахаридного комплекса, высших жирных кислот (пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, бегеновая, эруковая), из группы вторичных метаболитов содержатся

флавоноиды (апигенин, лютеолин, лютеолин-7-глюкозид, рутин); гидроксикоричные кислоты: хлорогеновая, кофейная, феруловая; кумарины (кумарин, скополетин); дубильные вещества, тритерпеновые соединения (β -эсцин, урсоловая кислота); аллилглюкозинолат (синигрин); фитол, γ -ситостерол, изучен элементный состав. Впервые проведено количественное определение различных групп биологически активных веществ в траве ярутки полевой различных мест естественного произрастания: аскорбиновой кислоты, суммы органических кислот в пересчете на яблочную кислоту, витамина К, полисахаридного комплекса, суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид, суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту, суммы кумаринов в пересчете на кумарин, суммы дубильных веществ в пересчете на танин, суммы сапонинов в пересчете на β -эсцин, эссенциальных микроэлементов.

Проведены исследования по разработке методики количественного определения основной группы биологически активных веществ - флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид с использованием метода дифференциальной спектрофотометрии, предложены нормы их содержания и валидационная оценка методики.

Фармакологический скрининг извлечений из травы ярутки полевой позволил установить противовоспалительную, антиоксидантную, антиагрегантную, антикоагулянтную активности, влияние на характеристики репродуктивной системы самцов крыс, определена острая токсичность и установлено, что извлечения из травы ярутки полевой относятся к классу малотоксичных соединений.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты изучения морфологических особенностей и анатомо-диагностических признаков травы ярутки полевой, исследования ее химического состава, количественного содержания основных групп биологически активных соединений, определения некоторых видов фармакологической активности, критериев подлинности и показателей качества сырья, необходимых для

стандартизации, разработке нормативной документации на траву ярутки полевой позволяет рекомендовать ее для применения в научной медицине и использовать для дальнейших исследований в плане разработки новых лекарственных растительных средств.

Методология и методы исследований. Методология исследования ярутки полевой базируется на современных данных исследований, описанных отечественными и зарубежными учеными, степени разработанности и актуальности темы. Объекты и методы исследования выбраны в соответствии с поставленной целью и задачами. При выполнении диссертационной работы использованы различные методы исследования: макроскопический, микроскопический анализы, УФ-спектроскопия, хроматография в тонком слое сорбента, хроматоденситометрия, газовая хроматография с масс-селективным детектором, атомно-адсорбционная спектрометрия, спектрофотометрия, титриметрия, методы фармакологических исследований и статистической обработки результатов эксперимента.

Положения, выносимые на защиту:

- результаты изучения морфологических и анатомических особенностей травы ярутки полевой и выявления диагностически значимых признаков;
- результаты изучения химического состава травы ярутки полевой с использованием современных физико-химических методов;
- результаты разработки методики количественного определения основной группы биологически активных веществ и валидационной оценки методики;
- результаты определения показателей подлинности, качества сырья ярутки полевой и установления сроков годности;
- результаты оценки фармакологической активности извлечений из травы ярутки полевой;

– результаты разработки нормативной документации на сырье ярутки полевой.

Степень достоверности. Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается достаточными по своему объему данными и использованием современных методов исследования, которые получены на сертифицированном оборудовании и выполнены в многократной повторности со статистической обработкой полученных результатов и валидационной оценкой разработанной методики. Научные положения и выводы по диссертационной работе сформулированы, аргументированы и логически вытекают из полученных результатов.

Апробация результатов. Основные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на: VIII международной научной конференции «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Казахстан, 2021); The International conference on advances in emerging trends and technologies «Intelligent biotechnologies of natural and synthetic biologically active substances» (Китай, 2022); «International Pharmacy Acta. Proceedings of Pharmacy Updates 2022» (Иран, 2022); «International Pharmacy Acta. Proceedings of Pharmacy Updates 2023» (Иран, 2023); конференции с международным участием «Фармация-движение вперед!» (Казахстан, 2023); 9-ой Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2023» (г.Воронеж, 2023); Всероссийской научно-практической конференции МГУ «Образование и наука – стратегическая платформа для будущего Фармации» (Москва, 2023); III международной научно-практической конференции «Современная фармация: новые подходы в образовании и актуальные исследования» (Казахстан, 2023); X международной научной конференции «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» и I международном форуме (Казахстан, 2023).

Личный вклад автора. Автор данной работы лично участвовал в постановке цели и задач исследования, проведении всех разделов экспериментальной работы: заготовке и сушке лекарственного растительного

сырья; проведении макроскопического и микроскопических анализов; получении извлечений из сырья с применением различных экстрагентов (водные, спиртовые, гексановые, хлороформные и другие); подготовке реактивов, титрованных растворов для количественного определения биологически активных веществ травы ярутки полевой, растворов стандартных образцов; исследовании химического состава травы ярутки полевой с использованием современных физико-химических методов анализа (УФ-спектроскопия, хроматография в тонком слое сорбента, хроматоденситометрия, газовая хроматография с масс-селективным детектором, атомно-адсорбционная спектрометрия, спектрофотометрия, титриметрия и другие); выполнении фармакологических исследований; интерпретации, анализе и обобщении полученных результатов, а также в подготовке и публикации материалов исследования в научных рецензируемых изданиях.

Внедрение результатов исследования. Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры фармакогнозии и ботаники, кафедры фармацевтической, аналитической и токсикологической химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России; в работу ООО Урал «Алтын солок»; методики качественного и количественного анализа суммы флавоноидов в траве ярутки полевой апробированы в испытательной лаборатории ГБУЗ «ЦЛО ДЗМ»; на основе комплексного исследования травы ярутки полевой разработан проект фармакопейной статьи «Ярутки полевой трава».

Связь задач исследования с проблемами фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России по проблеме «Изыскание и изучение новых лекарственных средств». Номер госрегистрации 01200507996.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту

специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, пунктам 2, 3, 6 паспорта специальности.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 14 работ, в том числе 2 статьи из международной базы данных (Scopus), 2 статьи в изданиях, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией при Минобрнауки России.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 160 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, трех экспериментальных глав, общих выводов, списка литературы. В работе содержатся 34 таблицы, 38 рисунков. Список цитируемой литературы включает 155 библиографических источников, из которых 51 на иностранных языках.

**ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ СВЕДЕНИЯ О СТЕПЕНИ
ИЗУЧЕННОСТИ ЯРУТКИ ПОЛЕВОЙ (*THLASPI ARVENSE* L.) КАК
ПЕРСПЕКТИВНОМ ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТЕНИИ
(обзор литературы)**

**1.1 Систематическое положение и ботаническое описание ярутки
полевой**

Семейство *Brassicaceae* является одним из распространенных семейств, встречается на всех континентах и во всех климатических зонах, во всем мире насчитывается до 380 родов и около 3200 видов [9, 33, 37, 53, 113]. Крестоцветные средней полосы европейской части России представлены 76 родами и 250 видами, из которых в состав естественной флоры входит 60(79%) родов и 183 (73%) видов, а сорно-рудеральной, или заносной, – 16 (21%) родов и 67 (27%) видов. На состав крестоцветных заметное влияние оказывает антропогенный фактор в тех местах, где он достаточно хорошо выражен [1, 33, 56, 66, 77].

Многие растения семейства *Brassicaceae* обладают уникальными свойствами за счет содержания в них ценных биологически активных веществ и могут использоваться не только как лечебные средства, но и для обогащения традиционных продуктов питания [13, 78, 79, 97, 113].

Особый интерес из семейства Крестоцветные представляет род ярутка (*Thlaspi* L.). Список растений The Plant List включает 322 научных названия растений видового рода *Thlaspi*, из них 79 являются общепринятыми названиями видов. Также этот список включает еще 61 научное название растений внутривидового ранга рода ярутка (*Thlaspi* L.). Некоторые названия видового ранга являются синонимами принятых внутривидовых названий [27, 33, 66, 77, 81, 113, 149].

Отдел: Magnoliophyta (покрытосеменные)

Класс: Magnoliopsida (двудольные)

Семейство: Brassicaceae (Cruciferae) крестоцветные

Триба: Thlaspideae

Род: *Thlaspi* L. - ярутка

Вид: *Thlaspi arvense* L. – ярутка полевая (рисунок 1).



Рисунок 1 - Ярутка полевая (*Thlaspi arvense* L.)

Ярутка полевая (*Thlaspi arvense* L.) - вид-космополит средиземноморского происхождения, распространенный на всей территории Российской Федерации. Это однолетнее травянистое растение относится к сорно-рудеральным, является одним из распространенных сорняков, засоряя различные зерновые, овощные, эфиромасличные, кормовые культуры, как рудерал встречается на мусорных местах, близ жилья, дорог, на залежах [28, 103, 112, 120]. Ярутка полевая – синантропное растение, местообитания которого связаны с человеком [27, 38, 65, 144, 148].

Ярутка полевая является одногодичным растением. Стебли в среднем 30 см, но могут достигать 50 (85) см, стержневидные, имеются ребра, с расходящимися веточками. Опушение растения практически отсутствует, корни стержневого типа строения. Листья у основания растения образуют розетку, простые, поочередные, прилегают к стеблю без черешков. Листья чаще всего имеют вытянутую форму с узким основанием (стреловидно), край

слаборебристый. Листоподобная околоцветная часть двойная, представлена 4 чашелистиками размером 2,0-2,5 мм, нижняя часть правильной формы, отделена, визуализируются 4 белых лепестка размером 3,0 - 5,0 мм. В виде двух колец располагаются 6 тычинок - снаружи 2 укороченные, внутри - 4 удлиненные. Один одиночно столбчатый пестик, завязь верхушечная, два плодолистика. Соцветие в виде кистей без листьев, верхушечное. Плод сплюснутый – стручочек, округло-овальной формы, длиной 12-18 мм, шириной – 11-16 мм, гнезда – 5-8 семянные, отчетливо визуализируется боковая грань. Раскрытие плода при созревании происходит путем опадания 2 сторон, визуализируется внутри псевдо перегородка с семенами, закрывающие лепестки выгнуты, напоминают форму ладьи (рисунок 2). Семена темно-коричневые, маслянистые, овальные, слабо блестящие, немного сжатые, 1,2-2,5 мм длиной, 1,5 мм шириной, с дуго-образными, морщинистыми ребрами, без эндосперма [31, 58, 66, 73, 77, 96].



Рисунок 2 – Цветок, соцветие, плод ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.)

Известно, что цветки *Thlaspi arvense* L. производят значительно меньше нектара, по сравнению с другими представителями растений семейства *Brassicaceae*. В исследовании Thomas J. В. с соавторами (2017) были изучены особенности строения нектарника и молекулярные механизмы, составляющие основу образования нектара в цветках *Thlaspi arvense* L. [149].

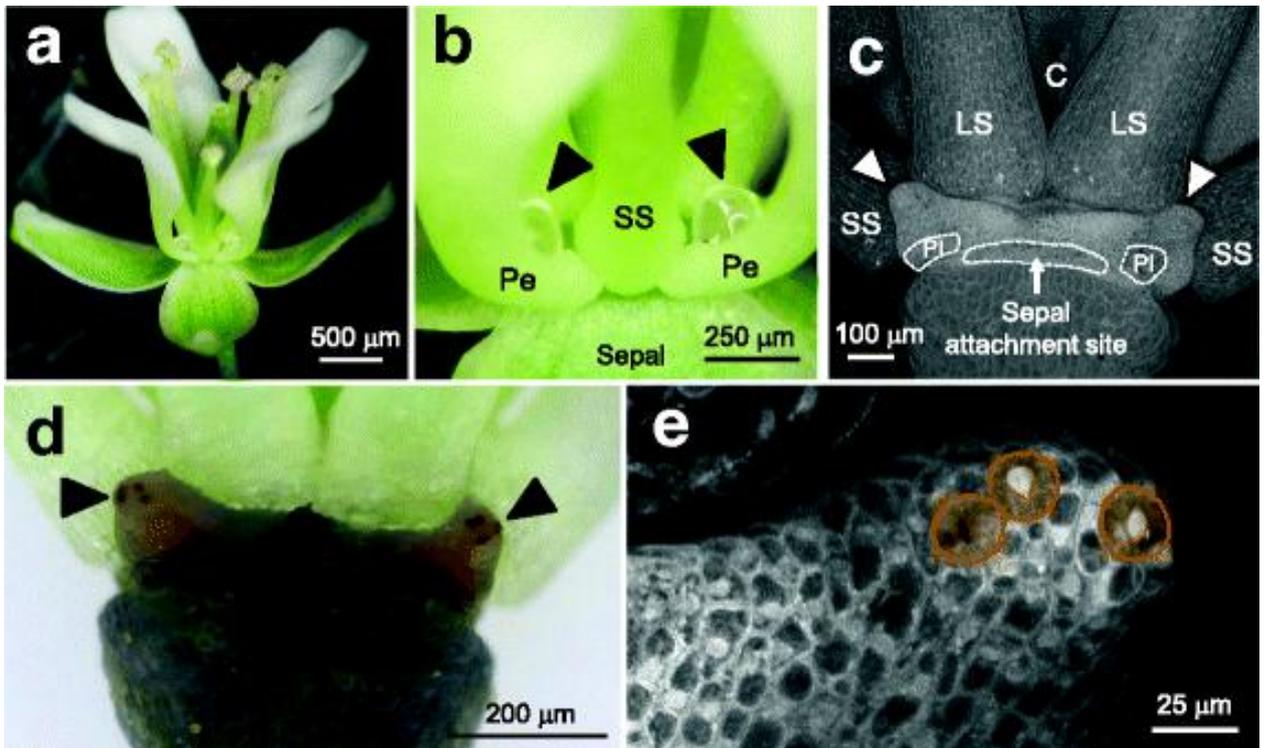


Рисунок 3 - Структура нектарника *Thlaspi arvense* L. и процесс выработки нектара [149]

В результате проведенных исследований установлено, что цветки *Thlaspi arvense* L. содержат четыре эквивалентных нектарника, расположенных вне тычинки у основания мест прикрепления коротких и длинных тычинок. Как и у других представителей семейства *Brassicaceae*, нектарники имеют на поверхности открытые устья - места выделения нектара, капли нектара накапливаются в вогнутых структурах у основания каждого из четырех лепестков (рисунок 3). С целью изучения молекулярных механизмов, составляющих основу образования нектара в цветках *Thlaspi arvense* L., из тканей «незрелых» (пресекреторных) и «зрелых» (секреторных) нектарников была выделена РНК, которая в дальнейшем была подвергнута секвенированию. Было обнаружено, что около 3700 генов дифференциально экспрессируются между незрелыми и зрелыми нектарниками; идентифицированные гены были подвергнуты анализу онтологии генов и оценке кодируемых ими метаболических путей. В ходе исследований установлено, что нектарники *Thlaspi arvense* L. являются в некоторой

степени уникальными, по сравнению с нектарниками других растений семейства *Brassicaceae*. Полученные результаты служат отправной точкой для использования подходов прямой и обратной генетики *Thlaspi arvense* L. [17, 149].

В качестве лекарственного сырья, обладающего целебными свойствами, используется трава ярутки полевой, включая плоды с семенами. Траву заготавливают во время цветения, начиная с мая по август, а плоды рекомендуется заготавливать ближе к осени, после их вызревания [9, 55, 77, 81, 91, 96, 102, 103].

1.2 Географическое распространение и особенности произрастания ярутки полевой

Ярутка полевая (*Thlaspi arvense* L.) имеет широкое распространение по всему миру, растет во всех частях земного шара и практически во всех климатических зонах, так как является достаточно неприхотливым растением и хорошо адаптируется к различным климатическим условиям. Ареал ее распространения достаточно широкий, она произрастает на Ближнем Востоке, в Южной Америке, на всей территории Европы и Центральной Азии (Китай, Иран, Пакистан, Узбекистан, Казахстан, Турция и другие страны евразийского континента) [1, 73, 103, 113, 152]. На территорию других континентов (Австралии, Африки, Южной Америки) ярутка занесена посредством импорта, как распространенное сорное растение к агропродукции [102, 105, 110, 152].

В России встречается повсеместно от Западной и Восточной Сибири до Дальнего Востока, на Кавказе. Общее распространение по России: Архангельская, Астраханская области, Башкортостан, Белгородская, Брянская, Владимирская, Волгоградская, Вологодская, Воронежская, Ивановская, Калининградская области, Калмыкия, Карелия, Коми, Кировская, Калужская, Костромская, Курская, Ленинградская, Липецкая,

Московская, Мурманская, Нижегородская, Новгородская, Оренбургская, Орловская, Пензенская, Псковская, Ростовская, Рязанская, Самарская, Саратовская, Смоленская, Тамбовская области, Татарстан, Тверская, Тульская области, Удмуртия, Ульяновская, Ярославская области) [77, 82, 91, 96, 102, 152] (рисунок 4).

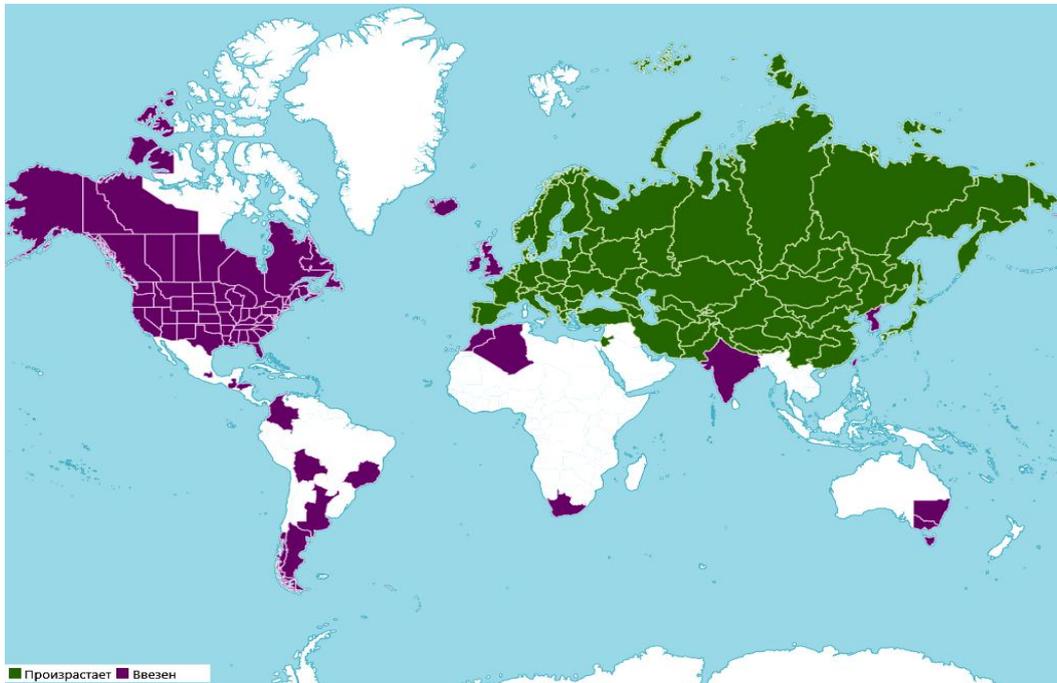


Рисунок 4 – Географическое распространение ярутки полевой на карте мира (сиреневым цветом отмечены места естественного произрастания; зеленым – места, где вид занесен) [152]

Ярутка полевая – является растением сорным и рудеральным, одногодичным, способен адаптироваться к зиме, относится к двудольным растениям [28, 33, 65]. Повсеместно произрастает как сорняк, особенно часто наблюдается засорение яруткой зимующих и покровных культур в условиях равнин. Активно засоряются семенами ярутки овощные насаждения, злаковые и зерновые посевы, эфирно-масличные культурные растения, а также поля с зерно-бобовыми и кормовыми культурными насаждениями. В связи с рудерально-синатропным образом произрастания, ярутка часто встречается в местах скопления мусора, у городского и сельского жилья, а также по жд и автодорожной линии [66, 102]. Путь распространения семян

ярутки полевой спороносный – транспортировка в качестве примеси к культурным растениям с последующим попаданием семян в почву при посеве. Наибольшее засорение семенами ярутки полевой происходит для растений, имеющих схожие семена по размеру и типу. Если семена травы попадают на сельскохозяйственные поля они удаляются, как сорняк [102, 103, 117].

В настоящее время, огромное количество современных исследователей занимаются изучением особенностей произрастания ярутки полевой. Geng Y. с соавторами [127, 130] отмечают, что практически все растения имеют свойство адаптироваться и функционировать в тех условиях, в которых они обитают, например, на высокогорных участках, где наблюдается высокий уровень ультрафиолетовой нагрузки, почва бедна полезными компонентами, присутствует низкая концентрация кислорода и снижена температура. В эволюционной экологии данная способность растений имеет достаточно важное значение. Изучая ярутку полевую или, как часто ее называют в зарубежных источниках, полевой кресс-салат (*Thlaspi arvense* L.), они наблюдали, что она хорошо адаптируется к достаточно сложным условиям произрастания, это демонстрирует, что у растения присутствует улучшенная сборка генома. В своей работе данные специалисты собрали геном растения на уровне хромосом, было закодировано более 31500 генов и проведен тщательный анализ феллогеномного характера. После проведенного исследования стало понятно, что описываемое растение тесно связано с таким растением, как морской кресс-салат или сибирский стеклярус (*Eutrema salsugineum*) – многолетнее травянистое растение семейства Крестоцветные, имеющее уникальную способность адаптироваться к экстремальным условиям суровых сибирских степей (в условиях высокой солончаковости и низких температур), а также способен накапливать соль в клетках и индуцировать антиоксидантные системы в ответ на стрессовые факторы (солончаки). Оба этих вида являются родственными к шренкиелле (*Schrenkiella parvula*), которая часто используется как модельный организм

для изучения реакций на стрессы из-за небольшого размера генома (имеет диплоидный геном 140 Мб), и относится к семейству *Brassicaceae*. Проведенные исследования дали понять, что у растений присутствуют особые свойства и они могут адаптироваться к самым разным условиям окружающей среды [127, 130].

С целью изучения последовательности генома *Thlaspi arvense* L. Dorn К.М. с соавторами (2013) была осуществлена сборка транскриптома *Thlaspi arvense* L. [105, 120]. РНК была выделена из репрезентативных растительных тканей *Thlaspi arvense* L., после чего было произведено 203 млн. уникальных считываний (Illumina RNA-seq). Сравнение гомологии транскриптомов ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.) и резуховидки (резушки) (*Arabidopsis thaliana* L.), а также четырех растений других видов данного семейства, продемонстрировало большую степень устойчивости общей очередности генотипа в рассматриваемой группе. Представилось возможным последовательно и детально описать сборку транскриптома и установить гены, отвечающие за контроль ключевых аграрных характеристик, например процессы появления цветков и метаболизм глюкозинолатов [120].

В продолжение исследований Dorn К.М. и соавторы (2015) использовали подход гибридного секвенирования [105, 148]. Комплексный анализ генов кресс-салата, участвующих в биосинтезе, метаболизме и транспортировке глюкозинолата, выявил высокую консервативность последовательностей, по сравнению с растениями других видов семейства *Brassicaceae*. Дополнительный сравнительный геномный анализ показал, что знания, полученные в результате многолетних фундаментальных исследований растений семейства *Brassicaceae*, послужат мощным инструментом для определения генов-мишеней, манипуляции с которыми предположительно приведут к улучшению агрономических характеристик *Thlaspi arvense* L. [105, 120, 148].

Thlaspi arvense L. широко распространен в умеренных регионах северного полушария. Guan Y. с соавторами (2020) с помощью

амплификации (копировании участков ДНК с необходимыми генами) и маркеров полиморфизма, чувствительных к метилированию (AFLP – анализ), была изучена генетическая и эпигенетическая структура восьми популяций *Thlaspi arvense* L. (131 особей), произрастающих на территории Китая. Полученные данные свидетельствуют о том, что система размножения *Thlaspi arvense* L., изменчивость ввиду естественного отбора и генетическая предрасположенность, совместно образуют закономерности генетических и эпигенетических вариаций, позволяющих видам *Thlaspi arvense* L. адаптироваться к разнообразным средам обитания [147].

Geng Y. и соавторы (2020) исследовали влияние воздействия стрессового фактора – полива *Thlaspi arvense* L. раствором натрия хлорида на эпигенетические вариации метилирования ДНК и эпигенетическую стрессовую память у растений с использованием амплификации маркеров полиморфизма (AFLP – анализ), чувствительных к метилированию. Было установлено, что эпигенетическое разнообразие на популяционном уровне значительно возрастало в ответ на воздействие стрессогенного фактора, и такой «стимулирующий эффект» мог быть частично передан от материнского растения как минимум двум поколениям потомства, произрастающим в условиях отсутствия действия стрессогена [127, 130].

В исследованиях Monteiro M.S. и соавторов (2021) было изучено влияние стрессогенного фактора - воздействия кадмия – на физиологические и биохимические процессы в *Thlaspi arvense* L. Четырехнедельные растения подвергались воздействию возрастающих концентраций кадмия (0, 10, 50 и 100 мкМ $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$) в течение 14 дней. Сбор растений осуществляли на 0, 3, 7 и 14 дни от начала воздействия кадмия. С целью оценки влияния кадмия на растения регистрировали следующие параметры: длину побегов и корней, массу сырья, осмолярность и проводящая система, содержание хлорофилла *a* и *b*, эффективность фотосинтеза в листьях (молодых и разросшихся), содержание воды, накопление кадмия и дисбаланс питательных веществ в листьях (молодых и разросшихся) и корнях. Воздействие высоких

концентраций кадмия на *Thlaspi arvense* L. сопровождалось снижением некоторых физиологических и биохимических параметров, в сочетании с дисбалансом питательных веществ, что приводило к замедлению роста растений и могло иметь дальнейшие последствия в виде негативного влияния на продуктивность растений на уровне популяции [138].

Ретротранспозоны - группа мобильных элементов (перемещаются в геноме путем преобразования РНК в ДНК), являющаяся универсальным источником генетических вариаций растений. Ну У. и соавторами (2022) были проведены исследования, направленные на изучение влияния ретротранспозонов на эволюцию и адаптацию генома *Thlaspi arvense* L., были идентифицированы 351 ретроген и 303 гена, фланкированных длинными концевыми повторами. Полученные результаты показывают, что дупликация генов на основе РНК (ретродупликация) ускоряет последующую тандемную дупликацию гомологичных генов, что приводит к расширению семейства генов, принимающих участие в росте, развитии и реакциях на стрессовые условия при адаптации растения (рисунок 5).

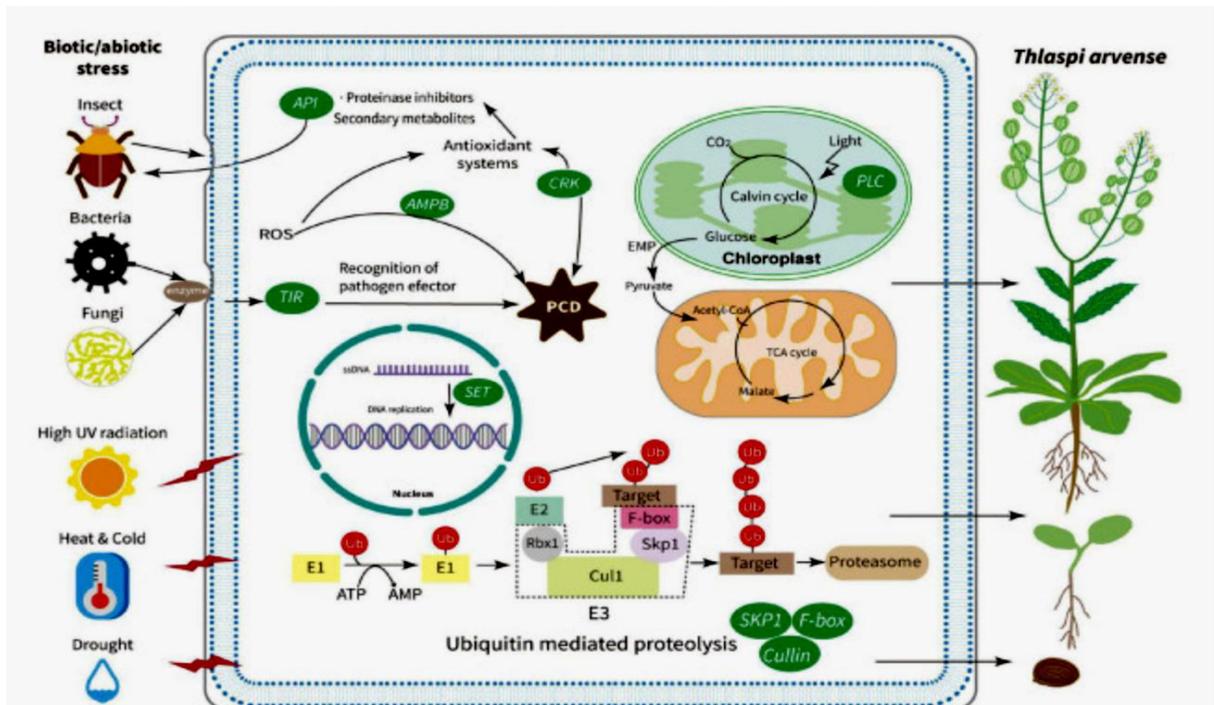


Рисунок 5 - Схематическое изображение адаптивных стратегий *Thlaspi arvense* L. [144]

Таким образом, высококачественная сборка генома *Thlaspi arvense* L. дает представление об опосредованном ретродупликацией механизме адаптации растений к экстремальным условиям внешней среды [144].

1.3 Химический состав ярутки полевой

При поиске источников лекарственного сырья современные исследователи уделяют особое внимание растениям схожим по морфологии, ареалу и видовой принадлежности к тем, которые уже широко применяются в медицине, что позволяет расширить ассортимент фитопрепаратов и обогатить сырьевую базу лекарственных растений. Интересным растением в этом плане является ярутка полевая, сходная по фенотипу с пастушьей сумкой [40, 83]. Однако, химический состав ярутки полевой изучен недостаточно. Среди основных известных веществ можно выделить, сапонины, тиогликозиды, изотиоцианаты, аскорбиновая кислота, в семенах - жирное масло, в составе которого содержатся высшие жирные кислоты [70, 129, 135, 146]. Сводные известные сведения о химическом составе ярутки полевой приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Биологически активные соединения ярутки полевой

Наименование сырья	Трава	Плоды и семена	Жмых
Основные группы БАВ	флавоноиды (гликозиды кверцетина, кемпферола); тиоэфиры: аллилсульфид; глюкозинолаты: синигрин, глюкокаппарин; кумарины; сапонины; аминокислоты; витамины: аскорбиновая кислота, витамин К ₁ ;	изотиоцианаты: аллилизотиоцианат, 1-бутен-4-изотиоцианат; жирное масло: высшие жирные кислоты: линоленовая, линолевая,	жирные кислоты; белок

Основные группы БАВ	органические кислоты; сахара: ксилоза, галактоза, глюкоза, арабиноза, рамноза, галактуроновая кислота, глюкуроновая кислота; селенсодержащие полисахариды; нонакозан, гексагидрофарнезилацетон, пальмитиновая, линолевая, линоленовая, миристиновая кислоты	эруковая, арахидовая, олеиновая, тетракозеновая, эйкозеновая, пальмитиновая, пальмитолеиновая, эйкозодиеновая, стеариновая; горчичное масло	
Источники литературы	27, 41-49, 70, 71, 72, 73, 75, 76, 84, 88, 89, 90, 91, 102, 103, 105, 107, 116, 119, 120, 122, 126, 129, 135, 142, 145, 150, 153	90, 105, 107, 116, 119, 120, 122, 126, 129, 135, 142, 145, 153	73, 136

Исследованием травы ярутки полевой, произрастающей на территории Южного Федерального округа занимались ученые Астраханского государственного медицинского университета. В частности Полухина Т.С. с соавторами проводили качественный анализ травы ярутки полевой и установили присутствие в извлечениях соединений кумариновой, фенольной, тритерпеновой структуры, а также аминокислот. Исследователями было показано отсутствие тиннидов и полисахаридов. Они также произвели идентификацию некоторых биоактивных веществ и рассчитали их количество в траве ярутки, таких как витамин С, органические соединения, произвели расчет флавоноидов на лютеолин-7-глюкозид и отметили многообещающие возможности этого растения как ресурс для получения уникального комплекса биоактивных соединений [70, 71, 72, 73].

Над изучением химического состава ярутки полевой работали ученые Харьковского национального исследовательского университета. Тартынской Г.С. с соавторами была проведена оценка качественного и количественного состава органических кислот и сахаров методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и присутствие органических кислот (щавелевой, лимонной, янтарной, а также сахаров - глюкозы, смеси сахарозы и мальтозы, фруктозы). В дальнейших исследованиях они провели количественное определение фенольных соединений в различных органах ярутки полевой методом спектрофотометрии. Методом хромато-масс-спектрометрии изучен компонентный состав летучих веществ ярутки полевой, в результате обнаружено 42 соединения, 31 из которых идентифицировано. Среди исследуемых соединений преобладали пальмитиновая, линолевая, линоленовая, миристиновая кислоты, нонакозан, гексагидрофарнезиллацетон и фитол [88, 89, 90, 92].

Слепцовым И.В. с коллегами (2015) было изучено изменение жирно-кислотного состава *Thlaspi arvense* L., растущей в условиях центральной Якутии, в период вегетации и адаптации к изменениям температуры окружающей среды. Проведенные исследования выявили количественный и качественный состав насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в листьях *Thlaspi arvense* L. Показано, что максимальное количество жирных кислот содержалось в образцах растительного сырья в конце июня, минимальное – в начале августа. Основной ненасыщенной жирной кислотой являлась линоленовая кислота (C18:3Δ6,9,12), насыщенной – пальмитиновая кислота (C16:0). Кроме того, было выявлено, что наблюдалась обратная зависимость степени ненасыщенности жирных кислот листьев от температуры окружающей среды. Полученные результаты показывают ведущую роль ненасыщенных жирных кислот в адаптации к снижению температуры *Thlaspi arvense* L. [83]. Также Слепцовым И.В. (2016) изучалась способность и степень накопления флавоноидов в листьях *Thlaspi arvense* L., произрастающих в центрально-якутской низменности, в различные

фенологические фазы. В результате проведенных исследований установлено, что в листьях *Thlaspi arvense* L. содержится лютеолин-7-О- глюкозид. Показано, что содержание лютеолин-7-О-глюкозида в листьях *Thlaspi arvense* было наибольшим во время бутонизации и цветения. Исходя из его данных, для получения растительного материала *Thlaspi arvense* с эффективным накоплением флавоноидов нужно заготавливать растительное сырье в период цветения [84, 85].

Сравнительное фармакогностическое изучение близкородственных видов ярутки полевой и пастушьей сумки было проведено учеными Пермской государственной фармацевтической академии, Корепаной Н.С. и Козицкой М.Н., которые выявили для ярутки полевой значимые для идентификации морфологоанатомические и фитохимические признаки [40].

Интересные исследования были проведены Кондратьевым М.Н. с соавторами, целью которых являлось изучение потенциального биогербицидного действия компонентов сока лекарственных растений – ромашки лекарственной (*Matricaria chamomilla* L.) и полыни горькой (*Artemisia absinthium* L.) на рост и содержание фотосинтетических пигментов в ярутке полевой (*Thlaspi arvense* L.) [38].

В исследовании Hojilla-Evangelista M. P. с соавторами. (2015) была проведена сравнительная оценка двух методов экстракции белка из жмыха *Thlaspi arvense* L. с определением состава и функциональных свойств полученных белковых продуктов [122].

Зарубежный исследователь Xiang A. с соавторами занимались получением и анализом селенсодержащих полисахаридов ярутки полевой, при этом было отмечено, что подобные компоненты характеризуются противоопухолевой и антиоксидантной активностью. После тщательной очистки получали два вида фракций - Se-PPS1 и Se-PPS3, которые подвергали идентификации методом инфракрасной спектроскопии. На основании этого были сделаны выводы, что исследуемые фракции характеризуются особым спектром поглощения, который характерен для

сложных эфиров, в которых содержится селен и полисахариды. Связи гликозидного характера изучали методом газовой хромато-масс-спектрометрии и ядерного магнитного резонанса. Исследователями было установлено, что селеносодержащие полисахариды достаточно активно поглощают свободные радикалы и могут рекомендоваться в качестве добавок с антиоксидантной активностью в лекарственные препараты и продукты питания [1, 142].

Наполненные селеном полисахариды стали главным объектом исследования, которое проводил зарубежный исследователь Ma L. с коллегами, которые также отмечали высокую антиоксидантную активность. С помощью экстракции горячей водой было получено 2 вида полисахаридов. Средняя молекулярная масса данных компонентов была равна $0,95 \times 10^4 \text{Da}$ и $0,94 \times 10^4 \text{Da}$. Первый и второй компонент включал в себя все элементы глюкозамина, единственным их отличием являлось молярное соотношение. У первого компонента была обнаружена идеальная способность снижать окислительный стресс и апоптоз в клетках скелетных мышц (опыты проводились на мышцах). На основании этого стало ясно, что присутствующий в первом компоненте селен имеет высокий уровень биологической и антиоксидантной активности. Это позволило сделать вывод, что растение может быть использовано в качестве функционального продукта питания и максимально полезной пищевой добавки [115, 137, 138, 154].

Marks M. D. с соавторами в своем исследовании отмечал, что в экосистеме отсутствует необходимое количество растений для здоровья и безопасности. Все это стало причиной для многих ученых заниматься разработкой совершенно новых культур. В результате своих исследований, которые также касались ярутки полевой, автор выделил несколько новых технологий. Среди них особое внимание заслуживает секвенирование с одновременной поддержкой таких процессов, как редактирование генома и

биоинформатика. Время от времени данные процессы сочетались с обычной мутацией и селекцией [134, 145].

Знаменитый зарубежный исследователь Sedbrook J. в своей работе высказывается о том, что масличные культуры можно использовать как в виде семенной муки, так и как растительное масло, обогащая ими продукты питания. В частности, речь идет о ярутке полевой, которая достаточно широко растет в регионах с умеренным климатом [134, 145].

Jarvis B. A. в исследованиях делает акцент на то, что кресс-салат (ярутка полевая) отличается большим количеством применений, в составе семян присутствует масло, которое можно переработать и использовать не только в пищевой промышленности, но и для топлива, химических препаратов, корма для животных и в качестве продуктов питания для человека. Был проведен анализ пространственной визуализации категории MALDI-MS. Он проводился по отношению к молекулярным формулам фосфатидилхолина и триацилглицерина. Для анализа использовались эмбрионы срезов дикого пенникресса (ярутка полевая). В результате были получены выводы, что в семенных долях присутствует большое количество эруковой кислоты. Так продемонстрировано, что за счет нее растение может достаточно длительное время храниться и обеспечивать энергией прорастающие новые поколения растений. В тех семенах, в которых было обнаружено большое количество полезных жирных кислот, происходит также и эмбриогенез. С помощью влияния на него можно значительно расширить время появления всходов, прорастания семян и повлиять на формирование клеточной мембраны. Исследователи отмечают, что рассматриваемая комбинация механизмов вполне может быть жизнеспособным, эффективным способом, направленным на то, чтобы с коммерческой целью увеличить в растении, в частности, в семенах объем жирных кислот (олеиновой кислоты) [119].

Dorn K. M. также заключил, что кресс-салат расценивается, как совершенно новая устойчивая масличная культура. Естественная популяция

растения может относиться к весеннему или зимнему однолетнему типу. Оно является диплоидным родственником резуховидки (резушки) (*Arabidopsis thaliana*), относится к модельному генетическому типу. Именно по этой причине он использовался для изучения большого количества генотипов адаптивного характера. Эти результаты важны для понимания того, как регулируется цветение у этого вида. Генотип ярутки позволяет максимально точно настроить цветение всех сортов, которые относятся к категории сельскохозяйственных коммерческих растений [105, 120, 148].

Определенные исследования также провел McGinn M., который отмечал, что рассматриваемое растение, как правило, изучается с целью получения масличной культуры. Здесь демонстрируется тот факт, что *Thlaspi arvense* L. может являться максимально удобной модельной системой, которая идеально подходит для полевых и лабораторных исследований [136]. *Thlaspi arvense* L. способна улучшить экосистемы и повышение продуктивности сельского хозяйства без увеличения землепользования. Это самоопыляемый, короткий жизненный цикл и генетически контролируемый диплоид, что делает его доступным типом полевой модели для проведения исследований в области генетики и эпигенетики [136].

Nunn A. и соавторы (2022) представили процесс сборки генома для *Thlaspi arvense* var. *MN106-Ref* и описали его использование для исследования различий в структуре генов между двумя вариантами *Thlaspi arvense* - MN108 и Spring32-10, которые хорошо поддаются генетической трансформации. Исследователи описали некодирующие РНК, псевдогены и мобильные элементы, а также выделили тканеспецифические закономерности экспрессии и метилирования. Повторное секвенирование 40 образцов диких видов *Thlaspi arvense* L. позволило получить представление о полногеномных генетических вариациях, а также были идентифицированы области QTL для фенотипа цвета проростков [117].

В рамках исследований, выполненных Claver A. с соавторами (2017), был изучен процесс накопления эруковой кислоты в растительном сырье

Thlaspi arvense L. для производства биотоплива [124, 129]. Различия в сродстве элонгазы жирных кислот к субстратам ацил-КоА (группа коферментов, метаболизирующих жирные кислоты), а также баланс между различными путями, участвующими в их включении в триацилглицерин, могут быть определяющими в различном составе масла семян *Thlaspi arvense* L. [124, 129].

Известно, что оценка взаимосвязи между генотипом и метаболическим профилем семян является достаточно длительным процессом. Chopra R. с соавторами (2020) разработали подход, который позволяет проводить параллельную оценку генотипов и состава жирных кислот с использованием только одного семени *Thlaspi arvense* L. Исследователям также удалось показать, что из отдельных обезжиренных семян можно выделить ДНК и использовать ее для генотипирования. Таким образом, Chopra R. с соавторами предложили алгоритм быстрой оценки метаболитов и генотипов, что помогает составить характеристику генов жирных кислот *Thlaspi arvense* L. [116, 134].

Zhao R. с соавторами (2021) разработали одностадийную методику двухфазной экстракции масла и синигрина из семян *Thlaspi arvense* L. с использованием микроволнового излучения [110, 140].

С целью изучения возможных механизмов, лежащих в основе способности *Thlaspi arvense* L. накапливать в семенах большое количество масла, Tsogtbaatar E. и соавторы (2015, 2020) разработали условия культивирования максимально приближенные к условиям развития зародышей *Thlaspi arvense* L. в растении. На основании значений соотношения углерода и углекислого газа в полученном масле исследователи пришли к заключению, что основу наблюдаемой высокой эффективности преобразования углерода в семенах *Thlaspi arvense* L. составляют нетрадиционные пути биосинтеза. С целью идентификации этих реакций были проведены параллельные эксперименты с использованием субстратов, меченых углеродом [^{13}C], в результате которых установлено, что в процессе

биосинтеза компонентов масла в семенах *Thlaspi arvense* L. происходят: окислительные реакции пентозофосфатного пути в цитозоле; восстановление активности изоцитратдегидрогеназы; участие НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы; повторная фиксация CO₂. Описанные реакции являются ключевыми в обеспечении синтеза и элонгации жирных кислот [135, 153].

С целью изучения метаболических процессов в зародышах *Thlaspi arvense* в естественной среде обитания (*in situ*), Romsdahl T.B. и соавторы (2021) предложили метод сочетанного применения масс-спектрометрии и изотопной маркировки меченым углеродом [¹³C]. Полученные в ходе исследования результаты показали наличие высоких уровней радиоактивности в семядолях развивающихся эмбрионов (по сравнению к общему количеству семян), что свидетельствует о присутствии в них в больших количествах фосфатидилхолина и различных схем потоков веществ, связанных с путями десатурации и элонгации жирных кислот [107].

С целью оценки возможности получения из *Thlaspi arvense* L. триацилглицеринов и их ацетилированных производных, богатых жирными кислотами со средней длиной цепи (C6–C14), Esfahanian M. с соавторами (2021) создали трансгенные линии *Thlaspi arvense* L. со специфичной для семян экспрессией генов с помощью уникальной ацилтрансферазы и тиоэстеразы. В совокупности полученные данные показывают, что существуют возможности управления биохимическими процессами в клетках *Thlaspi arvense* L. для получения семян, накапливающих умеренное количество среднецепочечных жирных кислот с различной длиной углеродной цепи (в составе триацилглицеринов и их ацетилированных производных) [126].

Изучение изменений содержания жирных кислот в растительных клетках в процессе роста и адаптации представляет большой интерес из-за их большого влияния на жизнедеятельность мембран клеток и процессах энергетического метаболизма. Рассмотрение содержания и состава жирных кислот в растениях особенно важно для сельского хозяйства и пищевой

промышленности. Определение максимального содержания и разнообразия незаменимых жирных кислот в растительных источниках может содействовать разработке более питательных и полезных продуктов питания. Это также открывает возможности для селекции новых сортов культур с улучшенными адаптивными способностями и повышенной устойчивостью к неблагоприятным условиям окружающей среды, таких как холодостойкие культуры. Воздействие низких температур вызывает изменение физических свойств мембран растений, что может негативно сказаться на их клеточных функциях. В ответ на это снижение текучести мембран растения активируют метаболические пути, связанные с выработкой десатуразы, что в свою очередь приводит к усилению синтеза ПНЖК, помогающих преодолеть суровые климатические перепады [105].

Имеются данные о воздействии магнитного поля на живые системы, на их формирование и эволюцию. Продемонстрировано, что ответ растения на влияние магнитных потоков, главным образом обусловлен их напряженностью, длительностью воздействия, физическим и качественным состоянием растения и других факторов. Несколько учёных доказали, что магнитное воздействие способно проявлять и стимулирующее, и подавляющее влияние на морфологию, химический состав, биологические свойства и физическое состояние травы ярутки полевой [85, 154].

Таким образом, вопросы изучения химического состава травы ярутки полевой остаются актуальными для выявления доминирующей группы биологически активных соединений растения и разработки методов стандартизации лекарственного сырья ярутки.

1.4 Фармакологические свойства ярутки полевой и применение в народной медицине

Исследование малоизученных растений в ключе ресурса биоактивных веществ и получения новых растительных препаратов на их основе является

перспективным направлением современной фармации. Важным моментом является сырьевая база флористического ресурса в обязательном полном обеспечении. К числу растений данного типа относится ярутка полевая, другое название этого растения пенникресс или кресс-салат, данное растение классифицируется как рудеализированное и характеризуется обширной распространенностью в регионах всей Российской Федерации.

Первые упоминания о ярутке полевой встречаются в трудах Комарова В.Л. «Введение в изучение растительности Якутии», 1926 г., однако достоверно не известно о времени проникновения данного вида на территорию России [80, 103, 113, 152]. Трава ярутки полевой издавна широко применяется в народной медицине.

В отечественных и зарубежных исследованиях имеются сведения, подтверждающие, что ярутка полевая обладает широким спектром действий в ключе фармакологии (таблица 2). Однако, пока далеко не все полезные свойства ярутки известны.

Таблица 2 – Фармакологические свойства ярутки полевой

Виды активности	Механизм фармакологического действия	Источник литературы
Гемостатическая	за счет содержания в траве витамина К ₁ .	11, 41, 50, 51, 52, 53, 88, 91, 96
Бактерицидная и антибактериальная	флавоноиды ярутки обуславливают выраженное бактерицидное и антибактериальное действие	1, 2, 7, 38, 39, 44, 50, 51, 52, 98, 109
Антиоксидантная	извлечения из травы ярутки предотвращают образование свободных радикалов и перекисное окисление липидов; селенсодержащие полисахариды ярутки способны	8, 28, 36, 47, 46, 54, 67, 83, 85, 92, 93, 61, 127, 104, 106, 108, 128

	снижать окислительный стресс и апоптоз в клетках скелетных мышц	
Ингибирование воспаления	антифлогистический эффект посредством подавляющего действия на специфические ферменты, приводящее к блокаде синтеза иммуноглобулинов и перекиси водорода	3, 7, 11, 38, 39, 43, 44, 94, 100, 102, 121
Предотвращение патологических изменений в предстательной железе	биоактивные соединения ярутки способствуют оптимизации трофики в ткани предстательной железы и обеспечивают ее адекватную физиологическую деятельность	2, 3, 6, 11, 14, 65, 68, 102, 108, 122, 125, 144
Повышение либидо, регуляция менструального цикла у женщин	механизм действия изучается отечественными и зарубежными учеными, в народной медицине применяется в качестве средства, повышающего сексуальное влечение и регулирующего менструальный цикл у женщин	41, 45, 53, 60
Противомалярийное	эруковая кислота и ее метиловый эфир, содержащиеся в траве ярутки полевой, оказывают ингибирующее влияние на рост и развитие чувствительных и устойчивых к хлорохину штаммов <i>Plasmodium falciparum</i>	121
Мочегонное	фенольные соединения, сапонины ярутки полевой усиливают выделение	38, 39, 46, 47, 48, 132

	излишков солей и воды почками, оказывают дезинфицирующее действие, усиливают кровоток в почках	
Потогонное	фенологликозиды, полисахариды ярутки полевой оказывают потогонное, детоксикационное, жаропонижающее действие	1, 7, 18, 43, 46, 47
Регулирующее давление	за счет мочегонного действия БАВ ярутки снижается артериальное давление	33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 43, 44, 46, 47, 48

Исследователь Андрияненко А.В. с коллегами проводили изучение влияния густых экстрактов из ярутки полевой и других растений с целью получения средства для лечения гиперплазии предстательной железы. В результате чего было экспериментально показано проявление высокой биологической активности экстракта травы ярутки и его влияние на обменные процессы в ткани предстательной железы [2, 3]. Также Андрияненко С.В. с соавторами изучали влияние густого экстракта ярутки полевой на общие гематологические и специфические иммунологические маркеры воспаления животных в условиях экспериментального простатита. Было установлено, что у животных при применении ярутки полевой в лечебном режиме отмечалось снижение как общих гематологических, так и специфических иммунологических маркеров воспалительного процесса [2, 3, 11].

В литературе приведены исследования, которые они показывают положительное влияние ярутки полевой на фертильность у мужчин, повышение активности гипоталамо-гипофизарно-половых желез на разных стадиях, влияние на секрецию лютеинизирующего гормона и тестостерона,

защиту сперматозоидов от повреждений, которые могут происходить под действием свободных радикалов и окислительного стресса [104, 115, 118, 123, 129, 133, 139]

Экстракт надземной части ярутки полевой обладает гемостатическими характеристиками, проявляется высокий уровень антибактериальной активности. Одновременно с этим имеются данные, что ярутка характеризуется противовоспалительным, ранозаживляющим, спазмолитическим, восстанавливающим, тонизирующим, укрепляющим и общеукрепляющим характером [41, 50, 51, 52, 53, 56].

В зарубежных источниках (Manseau A. с соавт., 2013; Monteiro M. S. с соавт., 2021) изучается способность накопления в траве ярутки полевой металлов (Cd, Cu), что в дальнейшем является доказательством проявления антиоксидантной и противоопухолевой активности сырья ярутки. Более того, исследователями доказана возможность повышения данных видов фармакологической активности сырья ярутки в результате селекционного регулирования отдельных генов [138, 151].

В исследованиях *in vitro* и *in vivo* Walter и соавт. (2021) изучили воздействие этанольного экстракта травы и корней *Thlaspi arvense* L., выделенной из травы и корней эруковой кислоты и ее производного - метилового эфира, на жизнедеятельность возбудителя малярии - *Plasmodium falciparum* [121]. В результате экспериментов *in vitro* было установлено, что эруковая кислота и ее метиловый эфир влияют подавляющим образом на формирование и размножение штаммов *Plasmodium falciparum*, чувствительных и устойчивых к хлорохину: значение фактора связывающей активности при ингибирующих или биологических взаимодействиях (IC₅₀) составили 5,80 мкг/мл (эруковая кислота/чувствительные к хлорохину штаммы), 6,25 мкг/мл (метиловый эфир эруковой кислоты/чувствительные к хлорохину штаммы), 6,07 мкг/мл (эруковая кислота/устойчивые к хлорохину штаммы), 8,58 мкг/мл (метиловый эфир эруковой кислоты/устойчивые к хлорохину штаммы). Оба соединения – эруковая кислота и ее метиловый

эфир – не оказывали цитотоксического действия на клетки линии *HeLa* (культура клеток рака шейки матки у женщин) и нормальные фибробласты дермы. В экспериментах *in vivo* Walter и соавт. показали, что введение инфицированным *Plasmodium berghei* мышам этанольного экстракта травы и корней *Thlaspi arvense* L. в дозах ED₅₀ <50 мг/кг способствовало увеличению показателей выживаемости грызунов, по сравнению с инфицированными животными контрольной группы. Введение этанольного экстракта травы и корней *Thlaspi arvense* L. мышам в дозе 500 мг/кг оказывало профилактическое действие в отношении развития инфекции у животных. На основании полученных результатов исследователи пришли к заключению, что способность тестируемого экстракта подавлять жизнедеятельность *Plasmodium berghei* обусловлена присутствием в экстракте, в том числе, и эруковой кислоты. Следует отметить, что в рамках исследований Walter и соавт. была проведена первичная оценка безопасности этанольного экстракта травы и корней *Thlaspi arvense* L. [121].

В исследовании Manseau и соавт. (2013) с помощью методов синхротронной рентгеновской флуоресценции и поглощения (XANES и EXAFS) на нано-, микро- и макро- уровнях был изучен процесс связывания меди с клеточными стенками неповрежденных корней *Thlaspi arvense* L. [151]. В итоге выявлено, что приблизительно 90% обнаруженной в клетках корней *Thlaspi arvense* L. меди связывается с клеточными стенками в виде уникального пятикоординированного комплекса гистидината меди (Cu(II)-бис-гистидинат), где один L-гистидин ведет себя как тридентатный лиганд (гистаминоподобный хелат), а другой как бидентатный лиганд (глициноподобный хелат). Тридентатное связывание Cu(II) обеспечивает термодинамическую стабильность комплекса, что предупреждает токсическое воздействие меди на клетки растения, а бидентатное связывание Cu(II) способствует кинетической лабильности комплекса [151]. В медицине гистидинат меди применяется при лечении болезни Менкеса (синдром Менкеса).

Ярутку полевую широко используют в народной медицине. Настой травы применяют при воспалении яичников, при нерегулярных и скудных менструациях, рекомендуют как средство, снижающее кислотность желудочного сока, для выведения токсичных веществ из организма. Семена рекомендуют употреблять при гипертонии, атеросклерозе, миокардите, сахарном диабете. Ярутка полевая ускоряет регенеративные процессы, останавливает кровотечения, устраняет симптомы многих бактериальных и вирусных инфекций. Наружно настой травы или свежие измельченные листья используют для лечения ран и язв, соком травы выводят бородавки. Имеются сведения о высокой эффективности ярутки при половом бессилии у мужчин, независимо от возраста, конституции или органического заболевания. Действие ее не отличается постоянством, но проявляется очень скоро, иногда через 1-2 дня. Проявленное действие держится 3-4 месяца, а затем постепенно угасает. Как общеукрепляющее средство и для лечения импотенции ярутку обычно принимают в виде порошка из листьев и плодов с семенами. Молодые листья ярутки употребляют в пищу для приготовления салатов. Несмотря на всю ценность этой однолетней культуры, превышение дозировки ярутки полевой может приводить к серьезным проблемам. В категорию риска входят беременные женщины, гипотоники, аллергики и дети, не достигшие двухлетнего возраста. Симптомы избыточного употребления растения выражаются в виде пищевого отравления, головокружения, сильного слюнотечения, гиперемии, желудочных болей и гематурии, высыпаний на кожных покровах и слизистой, слабости [27, 28, 32, 39, 43, 45, 54, 62].

Таким образом, вышеприведенные сведения свидетельствуют о перспективности изучения ярутки полевой как ценного лекарственного растительного сырья.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 1:

1. На основании обобщения литературных данных, следует отметить, что ярутка полевая широко распространена на территории всей Российской Федерации и имеет достаточную сырьевую базу.

2. Анализируя научные труды, представленные в доступных библиографических источниках, наблюдается недостаток данных о степени изученности химического состава ярутки полевой, не проводилось исследований по разработке подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и разработке нормативной документации, что является необходимым условием при введении лекарственных растений в научную медицину.

3. Имеющиеся ограниченные сведения о фармакологической активности ярутки полевой подтверждают целесообразность ее дальнейшего изучения как потенциального источника ценных биологически активных веществ.

4. Результаты вышеизложенного демонстрируют обоснованную необходимость внимательного и детального анализа ярутки полевой, нацеленного на обоснование потенциала её введения в медицинскую практику и увеличения номенклатуры фитотерапевтических препаратов.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты исследования

Объекты исследования - образцы травы ярутки полевой, собранные от дикорастущих растений в разных местах произрастания, и один образец № 4 от поставщика (таблица 3).

Таблица 3 – Образцы травы ярутки полевой

№ п/п	Регионы заготовки сырья	Вид сбора	Год и время сбора
1	Республика Башкортостан	Индивидуальный сбор	2019 – 2023 гг., фаза цветения (июнь)
2	Самарская область	Индивидуальный сбор	2023 г., фаза цветения (июнь)
3	Оренбургская область	Индивидуальный сбор	2023 г., фаза цветения (июнь)
4	Алтайский край	ООО «Азбука трав»	2023 г. фаза цветения (июнь)
5	Краснодарский край	Индивидуальный сбор	2023 г., фаза цветения (июнь)

Надземную часть ярутки полевой (побеги с листьями и цветками) заготавливали в период цветения растения, срезая верхнюю часть растения или вырывая всё растение с корнями и затем обрезая надземную часть. Сушку сырья проводили воздушно-теневым способом, раскладывая сырье тонким слоем без уплотнения. Сырье упаковывали и хранили в соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи ОФС.1.1.0011 [23]. Помещение для хранения было хорошо проветриваемое, без попадания солнечных лучей, комнатной температуры и относительной влажности воздуха не более 65%, зараженность амбарными вредителями отсутствовала. Для выделения средней пробы высушенное сырье измельчали, просеивали и методом квартования

выделяли пробу, из которой также методом квартования выделяли аналитические пробы для определения подлинности и показателей качества.

Для проведения качественного и количественного анализа биологически активных веществ в траве ярутки полевой были использованы растворители и реактивы, соответствующие требованиям нормативной документации. Титрованные и буферные растворы готовили по методикам и в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV и XV изданий [22-24].

Для выполнения хроматографического анализа биологически активных веществ использовали стандартные образцы веществ свидетелей: аскорбиновая кислота (CAS № 50-81-7, Китай), винная кислота (CAS 133-37-9, Германия), щавелевая кислота (CAS № 144-62-7, Германия), яблочная кислота (CAS № 6915-15-7, Германия), лимонная кислота (CAS № 5949-29-1, Китай), апигенин (кат. № 10748, Германия), лютеолин (CAS № 658042-95-6, Бельгия), лютеолин-7-гликозид (CAS № 679045-86-5, Бельгия), рутин (CAS № 250249-75-3, Италия), хлорогеновая кислота (кат. №3878, США), феруловая кислота (CAS 1135-24-6, Германия), кумарин (кат. №11053, Бельгия), скополетин (кат. №2500, США), урсоловая кислота (CAS № 77-52-1, Китай), беттаэсцин (CAS № 11072-93-8, США).

Для фармакологических исследований готовили водные и спиртовые извлечения из травы ярутки полевой [46, 47]:

- водное извлечение готовили следующим образом: точную навеску измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито диаметром 2,0 мм, растительного сырья заливали водой очищенной в соотношении сырье – экстрагент 1:10, настаивали 10 мин и затем нагревали на водяной бане с обратным холодильником 15 минут, извлечение фильтровали и доводили объем полученного извлечения до требуемого объема;

- спиртовое извлечение готовили следующим образом: точную навеску измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито диаметром 2,0 мм, растительного сырья заливали спиртом этиловым 70% в соотношении сырье – экстрагент 1:10, настаивали 10 мин, затем кипятили на водяной бане с

обратным холодильником 30 минут, извлечение фильтровали, концентрировали под вакуумом до густой массы и высушивали в сушильном шкафу при температуре 50-60⁰С до получения сухого экстракта, который перед введением животным растворяли в воде очищенной в соотношении 1:10.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Методы макро- и микроскопического анализа, определение показателей качества

Морфологические особенности травы ярутки полевой определяли в соответствии с требованиями ОФС.1.5.1.0002 «Травы», раскладывая на ровном столе и изучая при естественном освещении без и/или с помощью лупы (10х) [16, 75].

Изучение анатомо-диагностических признаков травы ярутки полевой проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0003.

Изучение анатомо-диагностических признаков травы ярутки полевой проводили в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0003 [16, 74, 75].

Показатели доброкачественности определяли так же в соответствии с требованиями общих фармакопейных статей [16, 43, 76, 141].

2.2.2 Методы фитохимического анализа

Первичные метаболиты

Качественный и количественный анализ аскорбиновой кислоты

Для подтверждения присутствия аскорбиновой кислоты использовали метод тонкослойной хроматографии на пластинках «*Sorbfil ПТСХ-II-A-УФ*» при следующих условиях: извлечение – водное; система растворителей «этилацетат - уксусная кислота (80:20)»; детектор - 0,04% раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия; в качестве свидетеля использовали 0,05% раствор стандартного образца аскорбиновой кислоты [24]. Содержание аскорбиновой кислоты определяли титриметрическим методом, используя в качестве титранта 0,001 моль/л раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята

натрия, титрование вели в кислой среде до розового окрашивания [15, 24].

Качественный и количественный анализ витамина К

Для подтверждения присутствия витамина К использовали метод тонкослойной хроматографии на пластинках «*Sorbfil ПТСХ-II-A-УФ*» при следующих условиях: извлечение – гексановое; система растворителей «гексан - хлороформ (8:3)»; хроматограмму высушивали и просматривали в УФ-свете при длине волны 365 нм в течение 2 минут [16, 27, 100]. Проводили спектральный анализ гексановых извлечений из травы ярутки полевой в сравнении с основными источниками витамина К – листьями крапивы и травой пастушьей сумки. Исследования осуществляли на приборе «*Shimadzu UV-1800*» в интервале длин волн 250 – 400 нм. Содержание витамина К определяли хроматоспектрофотометрическим методом при длине волны 249 нм, в качестве раствора сравнения использовали гексан [8, 35, 100].

Качественный и количественный анализ органических кислот

Органические кислоты определяли методом тонкослойной хроматографии на пластинках «*Sorbfil ПТСХ-II-A-УФ*»: извлечение – водное; система растворителей «этилацетат-уксусная кислота-муравьиная кислота-вода (100:11:11:25)»; детектор - 0,4% спиртовой раствор бромкрезолового зеленого с последующим нагреванием в сушильном шкафу ($T=105^{\circ}\text{C}$) в течение 5 минут; применяли стандартные образцы веществ-свидетелей органических кислот [13; 100]. Содержание суммы органических кислот в пересчете на яблочную кислоту определяли титриметрическим методом, основанным на титровании органических кислот 0,1 М раствором натрия гидроксида, в присутствии индикатора – фенолфталеина до лиловой окраски [101].

Получение и анализ липофильной фракции

Из травы ярутки полевой получали липофильную фракцию: точную навеску измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито диаметром 2,0 мм, растительного сырья помещали в колбу, заливали гексаном в соотношении сырье – экстрагент 1:10, закрывали плотно пробкой и настаивали

методом мацерации при комнатной температуре в течение 7 суток в темном месте, при периодическом помешивании. Затем извлечение фильтровали и определяли процентное содержание липофильной фракции в сырье [51]. Компонентный состав липофильной фракции изучали методом газовой хроматографии с масс-селективным детектором. Условия: аппарат Agilent 6820N с масс селективным детектором 5973; начальная температура 50 градусов, выдержка 2 минуты; конечная температура 290 градусов, выдержка 20 минут; скорость нагрева 20 градусов в минуту; колонка капиллярная HP 5MS 0,25x30; температура испарителя 250 градусов; газ носитель гелий, поток газа 43,8 мл в минуту; объем пробы 1 мкл. Масс-селективный детектор работал в режиме электронного удара, регистрация проводилась по полному ионному току в режиме сканирования.

Получение и анализ полисахаридного комплекса

Для подтверждения присутствия полисахаридов в траве ярутки полевой проводили качественную реакцию с водным извлечением из сырья (1:10), основанную на осаждении их из раствора спиртом этиловым 95% [27]. Полисахариды из растительного сырья выделяли путем последовательного фракционного разделения [50]. Предварительно для удаления фенольных соединений сырье обрабатывали спиртом этиловым 70%, затем выделяли четыре фракции полисахаридов: водорастворимые полисахариды (путем осаждения их спиртом этиловым из водного раствора), пектиновые вещества (осаждением спиртом этиловым после выделения смесью щавелевой кислоты и оксалата аммония), гемицеллюлоза А и гемицеллюлоза Б (после обработки оставшегося шрота последовательно натрия гидроксидом и кислотой уксусной). Определение количественного содержания фракций проводили гравиметрическим методом после высушивания осадков [16, 21, 55].

Качественный и количественный анализ фенольных соединений

Качественные реакции проводили на [15, 16, 27, 28, 43]:

- флавоноиды – реакции со спиртовым раствором извлечения из травы ярутки полевой (1:10) (цианидиновая проба: конц.кислота

- для обнаружения флавоноидов и гидроксикоричных кислот проводили тонкослойную хроматографию на пластинках с алюминиевой и полимерной основой марки «*Sorbfil ПТСХ-II-A-УФ*» в стандартных условиях, используя стандартные образцы веществ-свидетелей (СО) в следующих системах: «муравьиная кислота - ледяная уксусная кислота – вода – метанол – ацетон – хлороформ» (6:6:7,5:12,5:30:60), «н-бутанол – ледяная уксусная кислота - вода» (5:1:3), «этилацетат - кислота муравьиная – вода» (5:1:1), «этилацетат – кислота уксусная – вода» (5:1:1); детектирование флавоноидов проводили с 5% спиртовым раствором алюминия хлорида, гидроксикоричных кислот- 3% спиртовым раствором треххлористого железа;

- для обнаружения кумаринов проводили тонкослойную хроматографию в системе растворителей «этилацетат-бензол (1:2), детектирование с использованием 10% спиртовой раствор натрия гидроксида.

Хроматоденситометрия проводилась на специализированном денситометрическом оборудовании, включающем сканер «*Sorbfil*», который состоит из осветительной камеры марки «*Sorbfil*» КС 4.00.000, видеокамеры марки «*Sony DCR-CX190E*» и электронного программного обеспечения. С помощью программы денситометра проводится автоматический поиск пятен на хроматограмме, формирование пиков из проявленных на хроматограмм пятен, затем расчет площади и высоты пиков, значений R_f сопоставлении их с веществами стандартами. Данный метод позволяет проводить качественную и количественную оценку исследуемых веществ [49].

Спектральные исследования проводили на спектрофотометре *Shimadzu UV-1800*.

Количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид проводили методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 395 ± 2 нм по разработанной нами методике [27, 46, 141].

Количественное определение суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту осуществляли методом прямой

спектрофотометрии при длине волны 330 ± 2 нм с учетом подобранных условий экстракции [12, 41].

Количественное определение суммы кумаринов в пересчете на кумарин проводили спектрофотометрическим методом, основанным на очистке от липофильных веществ гексаном, извлечении кумаринов хлороформом и последующем количественном определении спектрофотометрическим методом при длине волны 310 ± 2 нм [27].

Количественное определение дубильных веществ проводили методом окислительно-восстановительного титрования в пересчете на танин по фармакопейной методике [15, 16, 41, 46].

Качественный и количественный анализ тритерпеновых соединений

Для подтверждения присутствия сапонинов проводили качественные реакции с водным извлечением из сырья (1:10): реакция по определению природы сапонинов с 0,1N раствором натрия гидроксида и хлористоводородной кислоты; с раствором среднего ацетата свинца; с 1 мл концентрированной кислоты серной, 1 мл спирта этилового и 1 каплей 10% раствора сернокислого железа; с 1 мл 0,5% спиртовым раствором ванилина, 3 каплями концентрированной кислоты серной и нагреванием на водяной бане [27, 28, 69].

Хроматографический анализ сапонинов проводили в системе «н-бутанол – этанол – раствор аммиака 25% (7:2:5)», детектирование 20% раствором кислоты серной, нагревание хроматограммы при температуре 105°C 5 минут [27].

Количественное определение суммы сапонинов в пересчете на β -эсцин проводили спектрофотометрическим методом с учетом подобранных условий, в основе которого лежит реакция взаимодействия с кислотой серной концентрированной при длине волны 322 ± 2 нм [27, 28, 59, 68, 100].

Анализ элементного состава

Определение содержания эссенциальных (Cu, Zn, Fe, Mn, Ni, Co, Cr) и токсичных микроэлементов (Cd, Pb) проводили методом атомно-абсорбцион-

ной спектрометрии (на приборе «Квант-2А», ООО «КОРТЭК», Россия) [45, 62].

2.2.3 Методы фармакологических исследований

Вся экспериментальная работа выполнена на кафедре фармакологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России в соответствии с рекомендациями «Руководства по доклиническому изучению новых фармакологических веществ» [25]. Фармакологические исследования проводили согласно Межгосударственного стандарта РФ ГОСТ 33647-2015 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)», «Правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (Страсбург, 1986). Дизайн исследований одобрен биоэтической комиссией университета.

Определение острой токсичности сырья

Определение острой токсичности извлечений ярутки полевой проводили на лабораторных мышках массой 20,0 – 22,0 г при однократном внутрижелудочном введении в дозе: 1000, 3000, 5000 мг/кг. Оценку токсичности извлечений проводили по изменению состояния мышей, наблюдая за их внешним видом, активностью, поведенческой реакцией, частотой дыхания в течение 14 дней. Исследования проводили с учетом требований по испытаниям на безопасность новых медицинских продуктов, действующих в пределах Европейского экономического сообщества (1981), требований системы оценки общетоксического действия фармакологических средств и методическим указаниям по изучению общетоксического действия фармакологических средств (2012).

Определение противовоспалительной активности

Противовоспалительную активность определяли на 24 белых беспородных мышках-самцах (18,0 – 24,0 г) средней двигательной активности. Исследование проводили на модели формалинового отека лапки у мышей [87, 99]. Исследуемые извлечения вводили мышам внутрижелудочно в объеме 0,2 мл

Острое воспаление вызывали субплантарным введением 0,05 мл 1% раствора формалина под подошвенный апоневроз правой лапки мыши. Отек лапки животных определяли по разнице диаметра лапки (миллиметры) через 4 и 24 часа после индукции воспаления относительно диаметра лапки до индукции воспаления. Препарат сравнения - диклофенак натрия (ООО «Гротекс», Россия) - вводили за 1 час до моделирования отека в дозировке 10 мг/кг внутривнутрибрюшинно. Противовоспалительный эффект оценивали по уменьшению отека лапки у животных исследуемых групп относительно показателя контрольной группы.

Определение антиоксидантной активности

Изучение влияния исследуемых образцов на процессы свободнорадикального окисления проводили методом хемоллюминесценции *in vitro* на приборе «Хемоллюминомер-003» (Россия) в двух модельных системах [63,72, 95]: *I система* - образования активных форм кислорода (АФК): использовали 20 мл фосфатного буфера (2,72 г KH_2PO_4 , 7,82 г KCl , 1,5 г цитрата натрия $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7\text{Na}_3 \cdot 5,5\text{H}_2\text{O}$ на 1 л дистиллированной H_2O , $\text{pH}=7,45$), 0,2мл раствора люминола (10^{-5} М), иницирование АФК введением 1 мл 50мМ раствора сернокислого железа. *II система* - перекисного окисления липидов (ПОЛ): липопротеиновые комплексы из куриного желтка (желток смешивали с фосфатным буфером в соотношении 1:5, гомогенизировали), иницирование ПОЛ добавлением 1 мл 50мМ раствора сернокислого железа. Исследуемые извлечения вносили в объеме 1 мл на 20 мл реакционной смеси. В качестве контроля использовали модельные системы без добавления исследуемого раствора. В качестве препарата сравнения использовали аскорбиновую кислоту (Хэбэй Вэлком Фармасьютикал Ко. Лтд, Китай) 1×10^{-3} моль/л, как антиоксидантное средство [78]. Антиоксидантная активность определялась по степени угнетения хемоллюминесценции в процентах от контроля.

Определение антиагрегантной и антикоагуляционной активности

Исследования проводились *in vitro* на крови здоровых доноров-мужчин в возрасте 18-24 лет. В качестве стабилизатора венозной крови использовался

3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1. Образцы богатой тромбоцитами плазмы получали центрифугированием цитратной крови при 1000 об/мин в течение 10 минут, бестромбоцитарной плазмы - при 3000 об/мин в течение 20 минут (центрифуга ОПН-3.02 (ОАО ТНК «Дастан», Киргизия)). Определение *антикоагуляционной активности* проводили общепризнанными клоттинговыми тестами на оптическом двухканальном автоматизированном анализаторе свертывания крови АСКa 2-01-«Астра» (НПЦ «Астра», Россия), используя реактивы производства «Технология-Стандарт» (г. Барнаул, Россия). Исследование влияния на *агрегацию тромбоцитов* проводили по методу Вопп [112] на агрегометре «АТ-02» (НПФ «Медтех», Россия). Для оценки фармакологической активности исследуемые извлечения вносили в плазму из расчета 5% от объема реакционной смеси, в качестве препаратов сравнения использовались: пентоксифиллин (3,7-диметил-1-(5-оксогексил)ксантин, ОАО «Дальхимфарм», Россия) в концентрации 2×10^{-3} М/л, ацетилсалициловая кислота (2-ацетилоксибензойная кислота, Фармацевтическая фабрика Шандонг Ксинхуа Фармасьютикал Ко., ЛТД, Китай) в концентрации 2×10^{-3} М/л, гепарин натрия (ОАО «Синтез», Россия) в концентрации 5×10^{-4} г/мл.

*Оценка влияния на характеристики репродуктивной системы
самцов крыс*

Эксперименты проводили на крысах самцах линии *Wistar* в возрасте 1,5 года (средний вес 300,0 – 400,0 г), содержащихся в стандартных условиях вивария кафедры физиологии и общей биологии ФГБОУ ВО «Уфимского университета науки и технологий» МО РФ [94]. Крысы контрольных (n=6) и опытных (n=6) групп содержались при 12-часовом световом дне на стандартном рационе с брикетированным кормом, при свободном доступе к воде и пище. В проведении поведенческих тестов были использованы эстрирующие самки крысы линии *Wistar* в возрасте 6 месяцев. В течение 21 дня опытной группе животных вводили внутривенно через зонд настой травы ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.) в объеме 1 мл/крысу (в пересчете на

массу воздушно-сухого сырья 300 мг/кг веса), животные контрольной группы получали воду. *Исследование полового поведения самцов крыс* контрольной и опытной групп (в паре с интактными эстрирующими самками) проводилось в установке «открытое поле», модифицированной под «площадку зоосоциальных предпочтений» (ПЗП). Половое поведение изучали с помощью тестов, позволяющих количественно оценить выраженность половой мотивации и сексуальной активности самцов: латентный период первого «эмоционального» подхода самца к самке, обнюхивания, груминг, количество «эмоциональных» подходов к самке, длительность полового контакта [19, 87, 143]. *Оценку жизнеспособности сперматозоидов* проводили в эякулятах крыс, которые получали следующим образом. Животное фиксировали на плоской поверхности и наркотизировали 5%-ным раствором тиопенталана натрия (внутримышечно). Из придатка семенника получали зрелые сперматозоиды, изготавливая из него гомогенат на 5% растворе глюкозы (в объеме 1 мл), предварительно подогретом до температуры 37⁰С. Затем производился подсчет общего количество сперматозоидов (ОКС, млн), дегенеративных и неподвижных форм (%) [78]. *Гистологическое исследование*: семенники крыс фиксировали в нейтральном 10 % формалине, обезвоживали, заливали в парафин и готовили серию фронтальных срезов толщиной 10-12 мкм. Просмотр препаратов проводился при помощи микроскопа Микмед-5 (ЛОМО, Россия), увеличение в 100 (окуляр 10, объектив 10) и 400 раз (окуляр 10, объектив 40), фотографирование при помощи камеры Levenchuk C510 (5M pixels). О генеративной функции извитых семенных канальцев судили на основании оценки диаметра поперечного сечения извитых семенных канальцев (мкм), а также индекса сперматогенеза (в 100 канальцах по 4-балльной системе фиксировали наличие в каждом канальце сперматогоний, сперматоцитов I и II порядков, сперматид и сперматозоидов) [19, 64]. *Для иммуноферментного определения концентрации тестостерона* в сыворотке крови самцов крыс использовали набор реагентов «Тестостерон – ИФА - Бест» (Вектор-Бест, Россия).

2.2.4 Методы статистической обработки результатов

Статистическую обработку экспериментальных данных ($P = 95\%$) фитохимических исследований проводили в соответствии с требованиями ГФ-XIV издания «Статистическая обработка результатов химического эксперимента и биологических испытаний», с использованием критерия Стьюдента. Статистическую обработку результатов фармакологических исследований проводили с применением статистического пакета Statistica 10,0 (StatSoft Inc, США). Проверку на нормальность распределения фактических данных выполняли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Дисперсионный анализ проводили с помощью критерия Краскела-Уоллиса. Критический уровень значимости (p) для статистических критериев принимали равным 0,05 [12, 15, 16].

ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАВЫ ЯРУТКИ ПОЛЕВОЙ (*THLASPI ARVENSE L.*)

Для определения подлинности и выявления внешних признаков травы ярутки полевой, позволяющих стандартизировать сырье и регламентировать параметры, идентифицированы особенности морфологии и анатомического строения ярутки полевой в образцах из разных ареалов естественного распространения.

3.1 Изучение морфологических признаков травы ярутки полевой

Исследование морфологических признаков надземной части ярутки полевой осуществляли, работая со свежими образцами сырья и гербарными экземплярами, обратив внимание на текстуру стеблей, листьев, цветов, плодов, их цвет, запах и вкус водного извлечения. Проведенное визуальное исследование крупных гистологических структур растения продемонстрировало комплекс морфологических особенностей для дальнейшей стандартизации (рис.6): совокупность неопушенных осевых частей побегов до 30 см, боковых вегетативных органов различной степени целостности, а также присутствуют цветки, плоды, семена. Листья в составе сырья простые, продолговато-ланцетные, по краям зубчатые, у основания острые, стреловидные, без прилистников. Стеблевые листья расположены очередно, стеблевые листья сидячие, прикорневые в розетке. Цветки обоеполые, белые, расположены в щитковидных метельчатых соцветиях на верхушке стебля. Если присмотреться, венчик цветка состоит из 4 лепестков, венчик правильный, раздельнолепестный, состоит из 4 лепестков, расположенных крестообразно. Плоды, встречающиеся в составе сырья – стручочки, сплюснутые, округло-овальные или округлые, длиной 12-18 мм, шириной 11-16 мм, с хорошо заметным по краю крылом, раскрывающийся двумя опадающими створками выпуклыми, ладьевидными, внутри которых

имеется перегородка на которой прикреплены семена. Семена овальные, маслянистые (около 1,2-2,5 мм длиной и 1,5 мм шириной) с дугообразными морщинистыми ребрами, сходящимися к рубчику, без эндосперма. Цвет стеблей, листьев, плодов – зеленый, цветки, содержащиеся в составе сырья имеют белый цвет, семена – темно-коричневые. Запах сырья своеобразный, слабый, при определении вкуса водного извлечения он определяется как горьковатый.



Рисунок 6 – Исследуемый образец травы ярутки полевой

Таким образом, макроскопический анализ позволил выявить диагностические признаки, необходимые для определения подлинности сырья «Ярутки полевой трава» – это морфологические особенности стеблей, листьев, цветков, плодов и семян, их запах и цвет, которые проявлялись во всех анализируемых объектах различных мест естественного произрастания и несколько отличались по форме и размерам плодов и семян.

3.2 Изучение анатомо-диагностических признаков ярутки полевой

При определении микродиагностических признаков полевой ярутки травы строго соблюдались требования статьи ГФ РФ «Микроскопический и микрохимический анализ лекарственного растительного сырья и лекарственных средств растительного происхождения» [24]. В аналитических пробах сырья изучали микродиагностические признаки, для

чего изготавливали временные микропрепараты отдельных частей морфологической группы «трава» (стебли, листья, цветки, плоды) и рассматривали их под микроскопом «Микромед» и в микровизоре со встроенной камерой. Результат выявил следующий комплекс микродиагностических особенностей:

1) **Стебель:** покрывающий слой клеток наблюдается по всей длине побегов, отчетливо видны многочисленные устьица и с верхней, и с нижней сторон (рис.7-8). При рассечении стебля визуализируется поверхностный корковый слой и центральная цилиндрическая структура. Кора состоит из угловатой колленхимы, хлоренхимы и энтодермы. Колленхима расположена под эпидермой, хлоренхима образует 3-4 ряда клеток, энтодерма выражена. Перицикл представлен склеренхимой, расположенной между и над проводящими лучами. Система передачи в нижней части стебля переходного типа, в средней части - пучкового типа, открытые коллатеральные пучки. Ядро состоит из крупных клеток паренхимы.

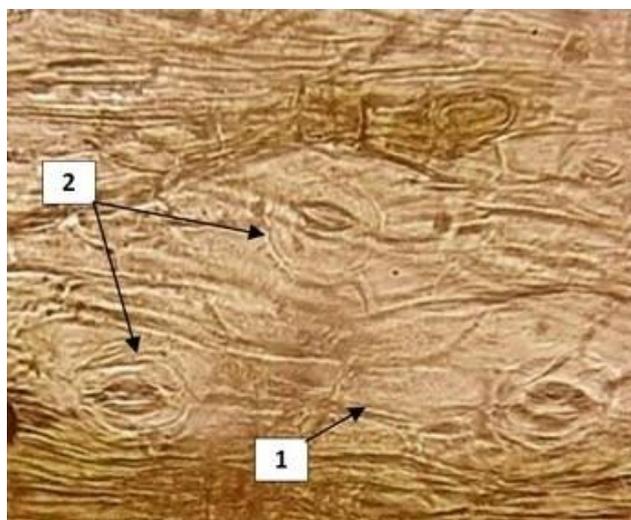


Рисунок 7. Обозначения: 1 – вытянутые клетки эпидермиса; 2- устьица.

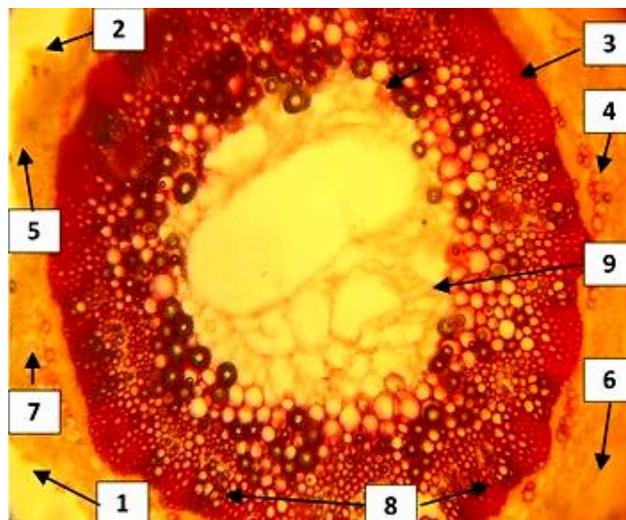


Рисунок 8. Стебель (x100). Обозначения: 1 – эпидерма с кутикулой; 2 - ребро стебля; 3 – склеренхима стебля; 4 – лубяные волокна; 5 – хлоренхима; 6 – угловатая колленхима; 7 – клетки энтодермы; 8 – открытые коллатеральные пучки; 9 – паренхима сердцевины

2) Листья: дорзовентральная листовая пластина амфистоматического типа. Верхняя сторона листа изогнута, представлена изодиаметрическими клетками с антиклинальными стенками, анизоцитный тип строения устьиц, волоски отсутствуют, в разрезе коркового слоя визуализируются бокобочные проводящие пучки, кристаллические кальциевые отложения (рис. 9-12).

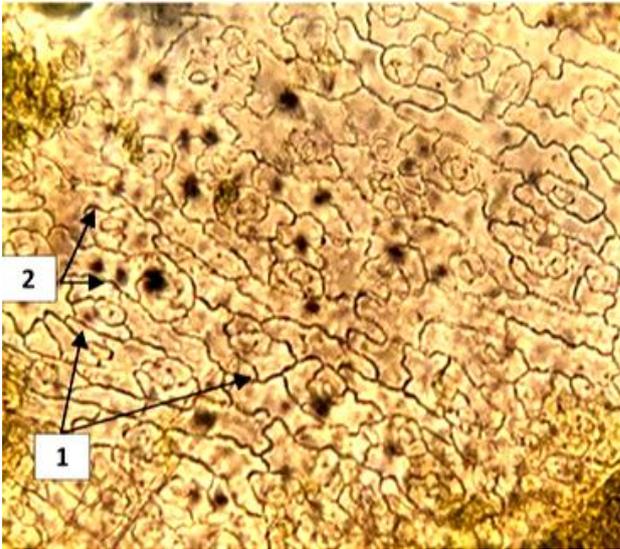


Рисунок 9. Наружная сторона листа (x100).
Обозначения: 1 – извитые изодиаметрические клетки с антиклинальными стенками; 2- анизоцитный устьичный аппарат

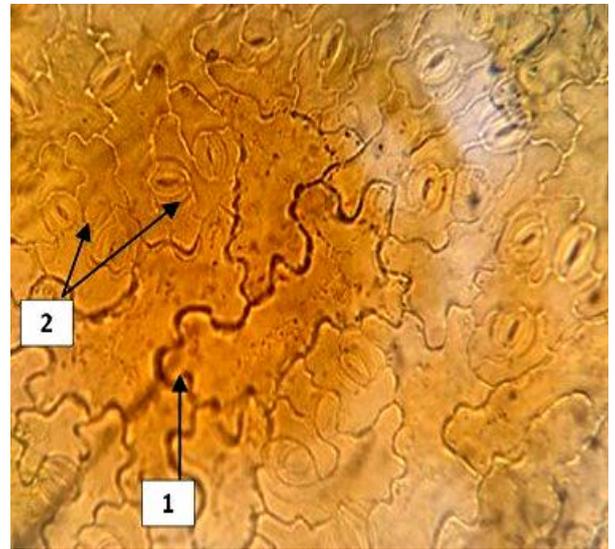


Рисунок 10. Верхняя сторона листа (x200).
Обозначения: 1 – извилистый эпидермис; 2 – анизоцитный устьичный аппарат

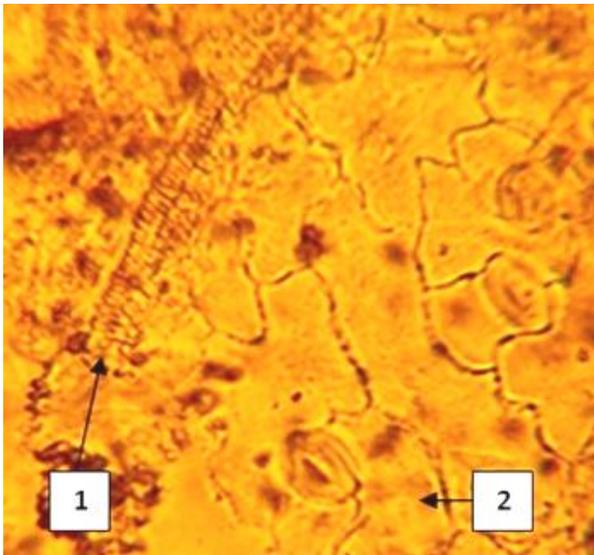


Рисунок 11. Верхняя сторона листа (x100).
Обозначения: 1 – сосуды; 2- устьичный аппарат анизоцитного типа

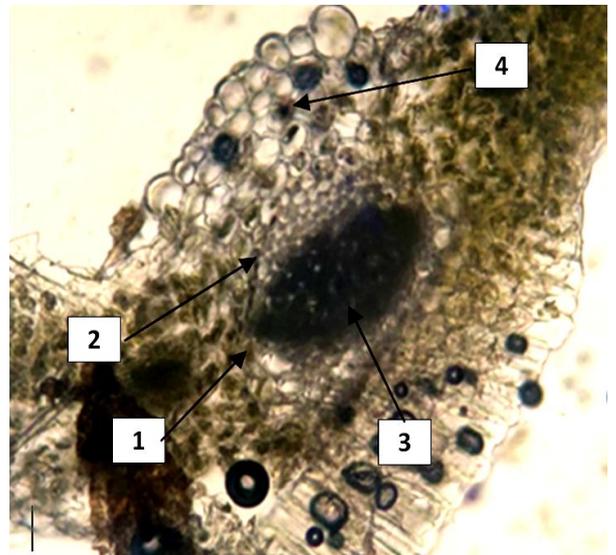


Рисунок 12. Листовая жилка (x100)
Обозначается: 1 – пучок; 2 – флоэма; 3- ксилема
4 -оксалат кальция

Нижняя листовая поверхность представлена вытянутыми извилистыми клетками, устьица анизоцитного типа в большом количестве, меньшего диаметра, чем на наружной стороне листа (рисунки 13-14).

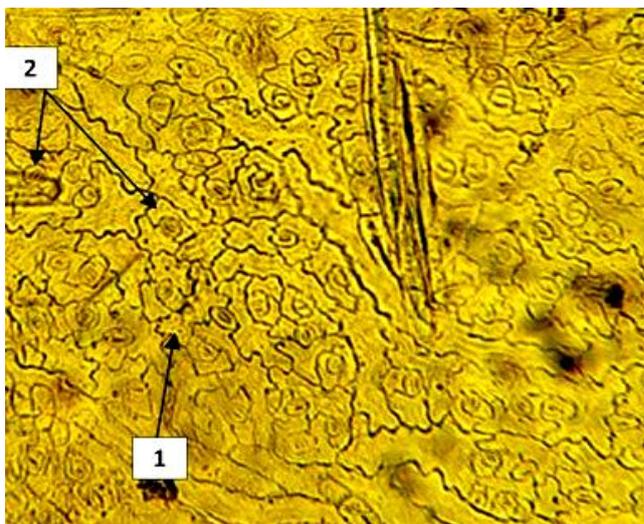


Рисунок 13. Нижняя листовая поверхность (x100). Обозначается: 1 – извилистый эпидермис; 2- анизокитный устьичный аппарат

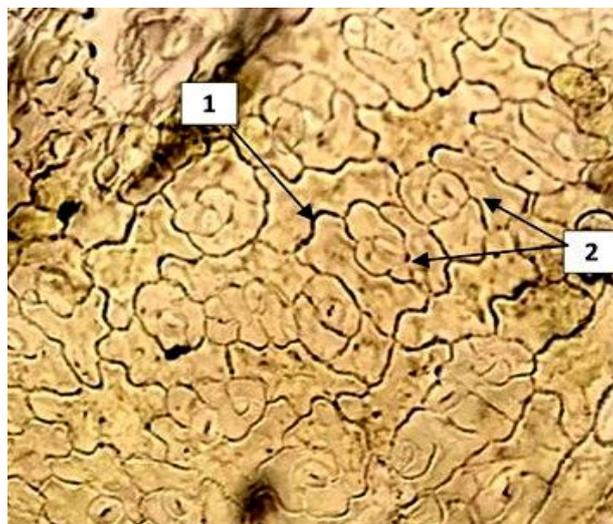


Рисунок 14. Нижняя листовая поверхность (x100). Обозначено: 1 – извилистый эпидермис; 2- анизокитный устьичный аппарат

3) Цветки: эпидермис лепестков цветка состоит из извилистых вытянутых клеток, устьиц анизокитного типа, округлых пыльцевых зерен (рисунки 15-16).

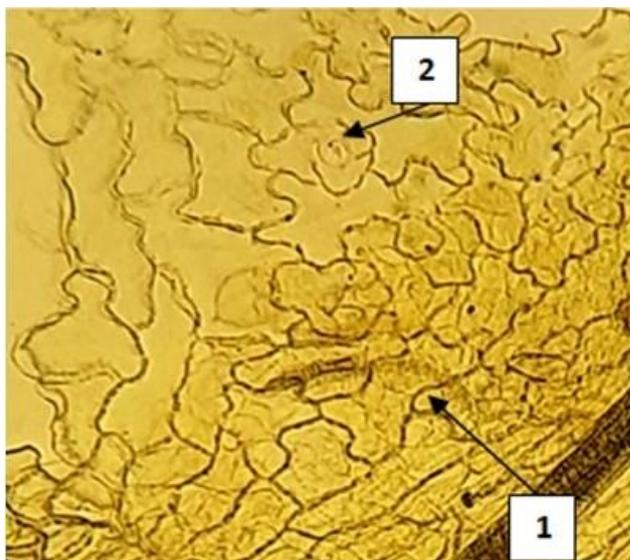


Рисунок 15. Эпидермис цветка (x100). Обозначения: 1 – извилистые вытянутые клетки эпидермиса; 2- устьице

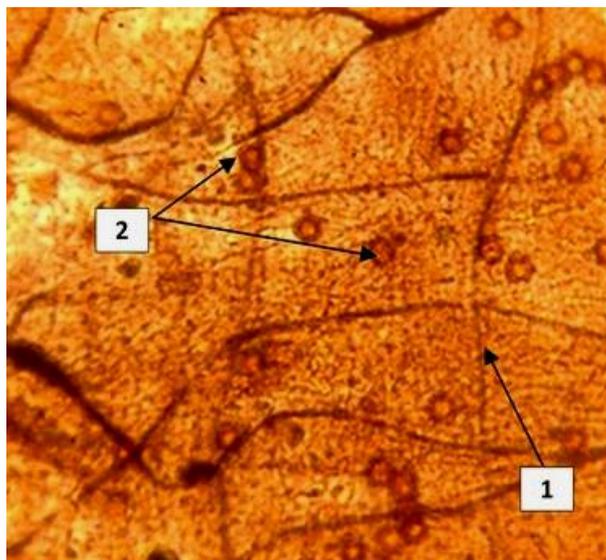


Рисунок 16. Эпидермис цветка(x100). Обозначения: 1 – многоугольные клетки эпидермиса; 2-пыльцевые зерна

4) Плоды и семена: плоды - стручочки округлой или округло-овальной формы, вскрываются 2 створками, с остающейся перегородкой. Эпидермис плодов представлен удлиненными тонкостенными клетками, отмечается складчатость кутикулы (17-18). Семена коричневые, бороздчатые,

маслянистые. Эпидермис семян представлен из многоугольных утолщенных стенками клеток, капли жирного масла, каменистые клетки (рисунок 19-20).

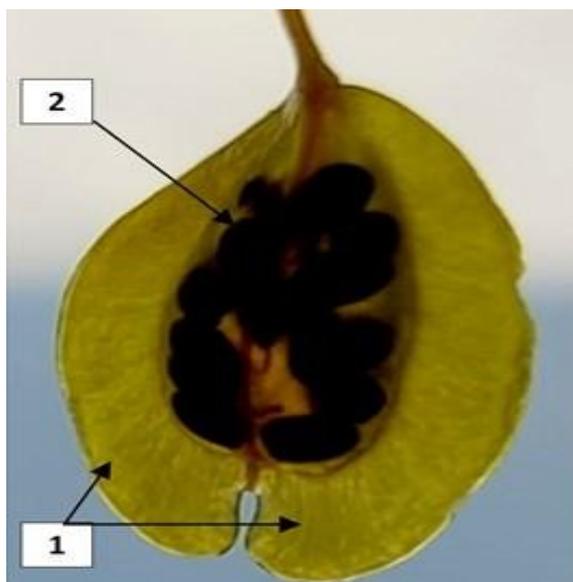


Рисунок 17. Плод (x100). Обозначения: 1 – створки стручочка; 2- семена

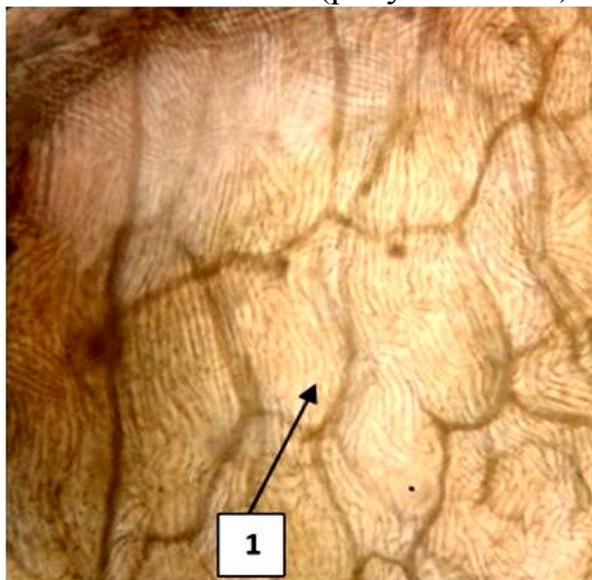


Рисунок 18. Эпидермис плода (x100). Обозначено: 1 – складчатая кутикула

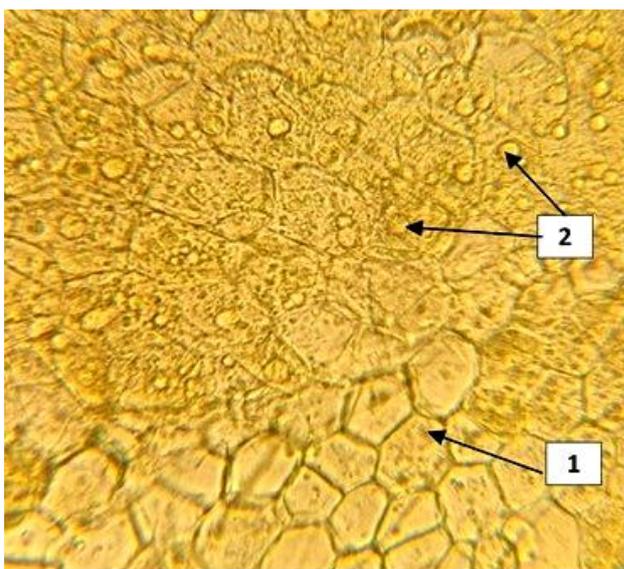


Рисунок 19. Эпидермис семян (x100). Обозначено: 1 – многоугольно-клеточный эпидермис; 2 - жирное масло в капле

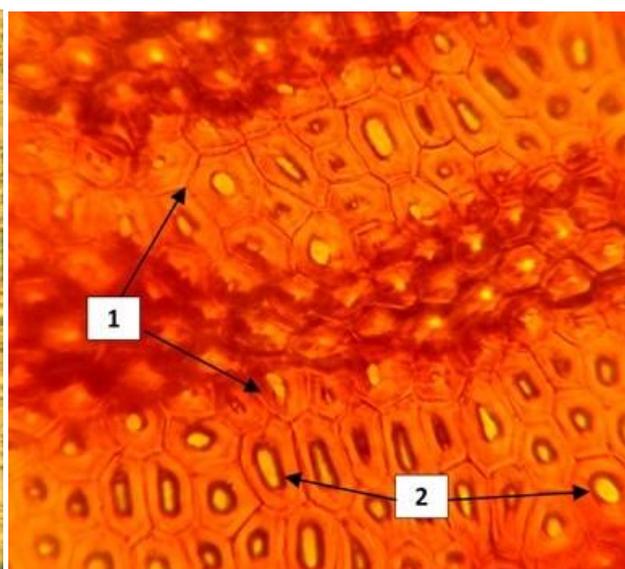


Рисунок 20. Покровный слой клеток семян (x100). Обозначено: 1 – уплотненная фитооболочка; 2- склереиды

Обобщив полученные результатов, прослеживаются следующие диагностические признаки ярутки полевой травы, которые проявлялись во всех исследуемых образцах из различных мест естественного произрастания: при рассмотрении верхней листовой стороны видны извилисто-стенные изодиаметричные клетки, устьичный аппарат анизоцитного типа, с нижней поверхности – эллиптические дугообразные клеточные элементы, также

визуализируются множество анизокитных устьичных систем меньшего размера, волоски отсутствуют. На срезе жилки поперек видны мелкие пучки коллатерального типа, оксалат кальция (в виде игольчатых друзов). Ряд покровных клеточных элементов побегов расположен по всей площади, наблюдаются одиночные устьица, при разрезе прослеживается защитный слой клеточных элементов, склеренхимная ткань, проводящие элементы механической ткани, хлорофиллоносная паренхима, эластичная механическая ткань, первичная корковая ткань, открытая проводящая система, паренхима центральной мягкой части. Структурные элементы лепестков цветка дугообразно эллиптические, имеются устьица, пыльцевые зерна. При рассмотрении плодов отмечается складчатость кутикулы, в семенах видны многоугольные клетки с каплями жирного масла, каменистые клетки.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 3:

1. Проведенный макроскопический анализ позволил выявить диагностические признаки, необходимые для определения подлинности сырья «Ярутки полевой трава» – это морфологические особенности стеблей, листьев, цветков, плодов и семян, их запах и цвет, которые проявлялись во всех анализируемых объектах различных мест естественного произрастания и несколько отличались по форме и размерам плодов и семян.

2. В результате микроскопического анализа установлены диагностически значимые признаки травы ярутки полевой, которые проявлялись во всех исследуемых образцах различных мест естественного произрастания: при рассмотрении листа с верхней стороны видны изодиамитричные клетки с извилистыми стенками, устьичный аппарат анизоцитного типа, с нижней стороны - вытянутые извилистые клетки, многочисленные устьица анизоцитного типа меньшего размера, волоски отсутствуют. На поперечном срезе жилки видны мелкие коллатеральные пучки, друзы оксалата кальция. Эпидермис стебля представлен вытянутыми по длине стебля клетками, встречаются устьица, на поперечном срезе визуализируются эпидерма с кутикулой, склеренхима, лубяные волокна, хлоренхима, уголковая колленхима, клетки эндодермы, открытые коллатеральные пучки, паренхима сердцевины. Клетки лепестков цветка извилистые вытянутые, имеются устьица, пыльцевые зерна. При рассмотрении плодов отмечается складчатость кутикулы, в семенах видны многоугольные клетки с каплями жирного масла, каменные клетки.

3. Выявленные характерные макро- и микродиагностические признаки травы ярутки полевой рекомендуются для включения в проект нормативной документации в разделе «Внешние признаки» и «Микроскопические признаки».

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ТРАВЫ ЯРУТКИ ПОЛЕВОЙ (*THLASPI ARVENSE* L.)

Первоначально проводился предварительный анализ на присутствие разнообразных групп биологически активных соединений в сырье ярутки полевой трава(глава 2, раздел 2.2.2).

4.1 Анализ первичных метаболитов

4.1.1 Качественный и количественный анализ витаминов

Аскорбиновая кислота. Для идентификации присутствия витамина С в траве ярутки полевой был приготовлен водный раствор из сырья и проведено хроматографическое исследование в тонком слое сорбента пластин марки «*Sorbfil ПТСХ-II-A-УФ*», применяя систему растворителей «этилацетат – ледяная уксусная кислота (80:20)» (глава 2, раздел 2.2.2). Данный хроматографический обзор позволил обнаружить аскорбиновую кислоту в водных растворах из сырья ярутки полевой трава по проявлению белого пятна на розовом фоне, образовавшемся после обработки хроматографической пластины реактивом, которое по $R_f \sim 0,89 \pm 0,01$ совпало с библиотечным стандартизированным образцом аскорбиновой кислоты.

Определение количества аскорбиновой кислоты в сырье ярутки полевой проводили титриметрическим методом по фармакопейной методике, предложенной для плодов шиповника [24]. Условия: навеска – 5,0 г, время настаивания 10 мин при температуре 18-20°C, при постоянном помешивании. Тировали до розоватой окраски, фиксированной в течение 30-60 секунд. Итоговые рассчитанные концентрации количества витамина С, присутствующего в траве ярутки полевой из различных ареалов естественного распространения, указаны в таблице 4.

Таблица 4 – Содержание аскорбиновой кислоты в траве ярутки полевой

№	Образец травы ярутки	f	X_{cp}	$S_{\bar{x}}$	P,%	t(P,f)	$\Delta \bar{x}$	$\varepsilon, \%$
1.	Республика Башкортостан	5	1,29	0,0179	95	2,78	0,05	3,87
2.	Самарская область	5	1,21	0,0144	95	2,78	0,04	3,31
3.	Алтайский край	5	1,46	0,0216	95	2,78	0,06	4,11
4.	Оренбургская область	5	1,16	0,0107	95	2,78	0,03	2,59
5.	Краснодарский край	5	1,38	0,0179	95	2,78	0,05	3,62

Основываясь на итоговых данных о содержании витамина С, можно утверждать, что его количество в траве ярутки полевой колеблется от $1,16 \pm 0,03\%$ до $1,46 \pm 0,06\%$.

Витамин К. Для обнаружения витамина К в траве ярутки полевой готовили гексановое извлечение и проводили хроматографический анализ на пластинках для хроматограмм «*Sorbfil ПТСХ-П-А-УФ*» в системе «гексан - хлороформ (8:3)» (глава 2, раздел 2.2.2). Для сравнения использовали гексановое извлечение из листьев крапивы двудомной, содержащей витамин К. Хроматограмму извлекали из камеры, сушили при температуре 20-25⁰С (10 мин) и просматривали в УФ-свете при $\lambda=365$ нм (2 мин). В результате на хроматограмме обнаружили зоны абсорбции, имеющие желто-зеленую флуоресценцию, как у ярутки полевой, так и у крапивы двудомной, совпадающие по значениям R_f (рисунок 21).

Также для обнаружения наличия витамина К в сырье ярутки полевой осуществили спектральный анализ гексановых извлечений исследуемого сырья и растений семейства *Brassicaceae*, достоверно имеющих витамин К – травы пастушьей сумки, которая является близкородственным видом с яруткой полевой, и крапивы двудомной. При этом было обнаружено,

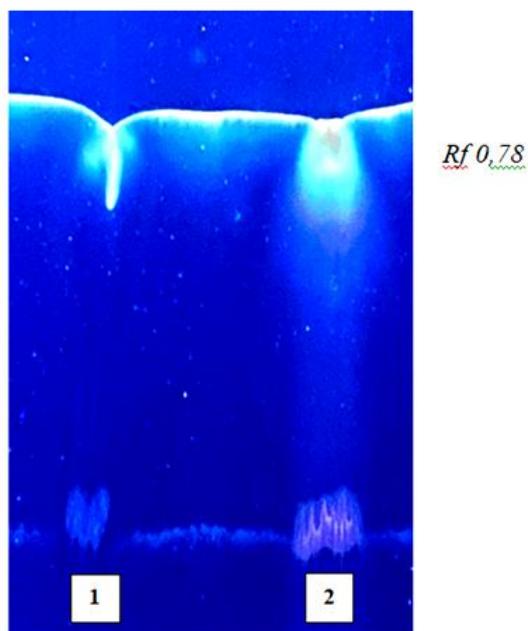


Рисунок 21 – Тонкослойная хроматография витамина К в гексановых извлечениях травы ярутки (1) и листьев крапивы (2)

что спектры поглощения этих растений имели сопоставимые профили с одинаковыми максимумами и минимумами поглощения, что также подтверждало присутствие витамина К в траве ярутки полевой (рисунок 22).

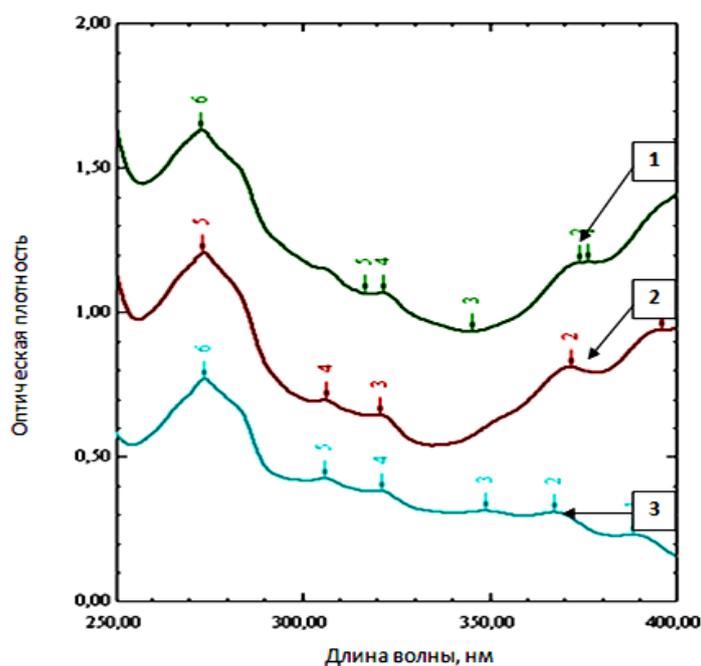


Рисунок 22 – Спектры поглощения гексановых извлечений из листьев крапивы (1), травы ярутки (2) и травы пастушьей сумки (3)

Определение количественного содержания витамина К проводили по методике, предложенной Кавтарадзе Н. Ш. хроматоспектрофотометрическим методом [35], на основании которого получали гексановое извлечение из травы ярутки, проводили разделение смеси веществ методом тонкослойной хроматографии в системе «бензол-петролейный эфир (1:1)», пятно элюировали с хроматограммы. Оптическую плотность полученного раствора определяли при длине волны 249 нм (раствор сравнения – гексан) (рисунок 23).

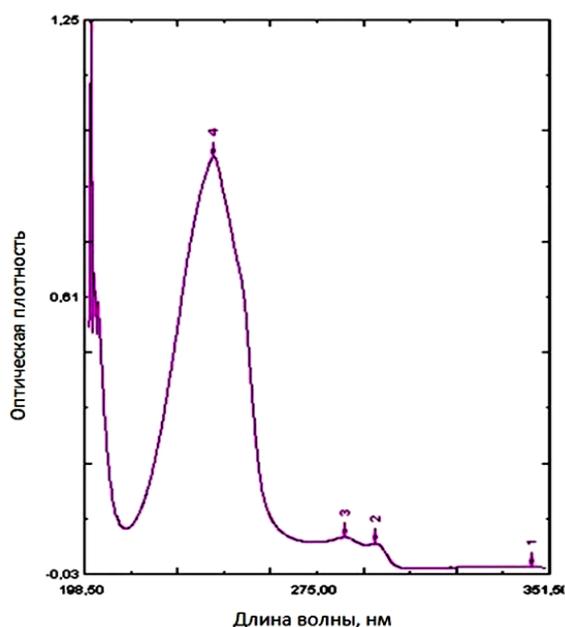


Рисунок 23 – Спектр поглощения гексанового извлечения травы ярутки полевой ($\lambda_{\max}=249$ нм)

Затем с учетом оптической плотности проводили расчет количественного содержания витамина К в процентах. Результаты исследования на содержание витамина К в траве ярутки полевой из разных мест естественного произрастания представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Содержание витамина К в траве ярутки полевой

№	Образец травы ярутки	f	$X_{\text{ср}}$	$S_{\bar{x}}$	P, %	t(P,f)	$\Delta \bar{x}$	$\varepsilon, \%$
1.	Республика Башкортостан	5	0,270	0,0039	95	2,78	0,011	4,07
2.	Самарская	5	0,240	0,0036	95	2,78	0,010	4,17

	область							
3.	Алтайский край	5	0,360	0,0061	95	2,78	0,017	4,72
4.	Оренбургская область	5	0,210	0,0029	95	2,78	0,008	3,81
5.	Краснодарский край	5	0,320	0,0036	95	2,78	0,010	3,13

В результате установлено, что содержание витамина К в траве ярутки полевой колеблется от $0,21 \pm 0,008\%$ до $0,36 \pm 0,017\%$.

4.1.2 Качественный и количественный анализ органических кислот

Наличие органических кислот подтверждали в водном растворе методом ТСХ на пластинках «*Sorbfil ПТСХ-II-A-УФ*» (система - «этилацетат - кислота уксусная - кислота муравьиная - вода (100:11: 11:25)» (глава 2, раздел 2.2.2). Детекцию хроматограммы проводили с использованием проявляющего реактива, нагревали и отмечали появление зон адсорбции в виде желтых пятен на синем фоне, которые по значениям R_f совпадали с веществами-свидетелями органических кислот. Установили наличие в траве ярутки полевой следующих органических кислот: щавелевая ($R_f \sim 0,14 \pm 0,01$); винная ($R_f \sim 0,36 \pm 0,01$); лимонная ($R_f \sim 0,39 \pm 0,01$); аскорбиновая ($R_f \sim 0,62 \pm 0,01$) и яблочная ($R_f \sim 0,80 \pm 0,01$) [76]. Результаты количественного определения суммы органических кислот в пересчете на яблочную кислоту, в траве ярутки полевой из разных мест естественного произрастания представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Содержание органических кислот в траве ярутки полевой

№	Образец травы ярутки	f	X_{cp}	$S_{\bar{x}}$	P, %	t(P,f)	$\Delta \bar{x}$	$\varepsilon, \%$
1.	Республика Башкортостан	5	2,45	0,0431	95	2,78	0,12	4,89
2.	Самарская	5	2,39	0,0324	95	2,78	0,09	3,76

	область							
3.	Алтайский край	5	2,67	0,0503	95	2,78	0,12	4,49
4.	Оренбургская область	5	2,28	0,0288	95	2,78	0,08	3,51
5.	Краснодарский край	5	2,59	0,0396	95	2,78	0,11	4,25

На основании полученных результатов наблюдается содержание органических кислот в сумме и пересчете на кислоту яблочную в сырье травы ярутки полевой варьирует от $2,28 \pm 0,08\%$ до $2,67 \pm 0,12\%$.

4.1.3 Получение и анализ липофильной фракции

Липофильную фракцию получали по методике, приведенной в главе 2 (раздел 2.2.2). Выход липофильной фракции рассчитывали по уменьшению навески сырья после экстракции в процентах, который составил $5,16 \pm 0,19\%$.

Компонентный состав липофильной фракции дифференцировали газовой-хроматографическим методом с масс-селективным детектором (ГХ/МС) (глава 2, раздел 2.2.2). Дифференцировку полученных компонентов исследовали методом сравнения со стандартизированными известными масс-спектрами, учитывая вероятность схожести более 80%. Полученные данные исследования представлены на рисунке 24 и в таблице 7.

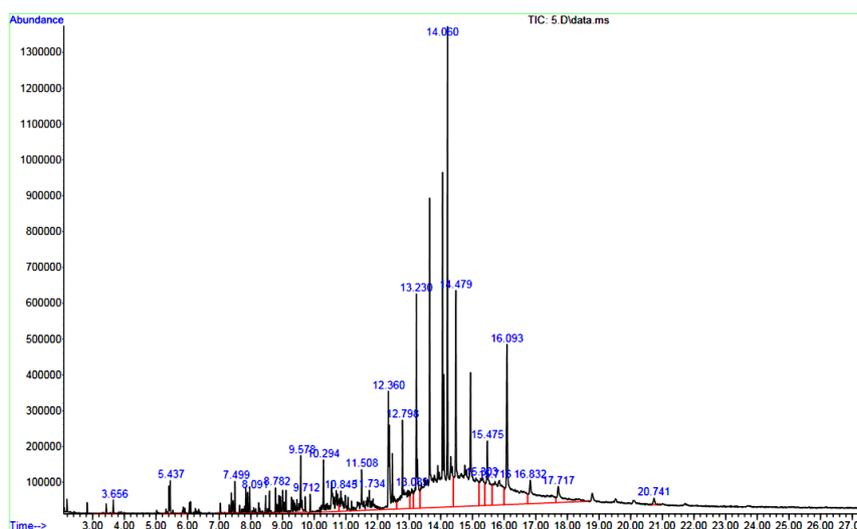


Рисунок 24. Хроматограмма фракции травы ярутки полевой, полученной с использованием гексана

Таблица 7 - Компонентный состав фракции травы ярутки полевой, полученной с использованием гексана

№	Время удерживания	Название соединения	% вещества в смеси
1	3.656	2,4-Dimethyl-1-heptene	0.31
2	5.437	Tetradecane	0.94
3	7.495	Dodecan	1.46
4	8.782	Cyclopentanecarboxylic acid	0.31
5	9.578	d-Limonene	2.76
6	9.712	Eicosane	0.40
7	10.294	Heptadecane	3.21
8	11.508	Heptacosane	1.28
9	12.360	Hexadecanoic acid (пальмитиновая к-та)	4.33
10	12.798	9-Octadecenoic acid (олеиновая кислота)	3.90
11	13.085	Tricosane	1.04
12	13.230	Hexacosane	4.26
13	14.060	Docosanoic acid (бегеновая кислота)	28.28
14	14.479	Heptadecane	17.51
15	15.305	Octadecane	2.69
16	15.475	Pentacosane	3.62
17	16.093	Cis-13 docosenic acid (эруковая кислота)	8.66
18	16.832	Eicosane	4.38
19	17.717	Octadecane	1.99
20	20.741	gamma-Sitosterol	0.54

Рассматривая и идентифицируя полученные результаты отмечалось, что на основании ГХ/МС анализа фракции травы ярутки полевой, полученной с использованием гексана, идентифицировано 20 соединений (таблица 7). Главными компонентами являются алканы (октадекан, тетрадекан, эйкозан, гептадекан, гептакозан и др.), терпены (d-limonene), высшие жирные кислоты (пальмитиновая, олеиновая, бегеновая, эруковая), карбоновые кислоты, фитостерин (γ -ситостерол).

4.1.4 Получение и анализ полисахаридного комплекса

Полисахаридный комплекс из травы ярутки полевой получали путем фракционного разделения на водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества, гемицеллюлозу А и гемицеллюлозу Б (глава 2, раздел 2.2.2). Результаты исследования представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Содержание полисахаридных фракций в траве ярутки полевой

№	Наименование фракции	f	X_{cp}	$S_{\bar{x}}$	P, %	t(P,f)	$\Delta \bar{x}$	$\epsilon, \%$
1.	Водорастворимые полисахариды	5	8,75	0,1367	95	2,78	0,38	4,34
2.	Пектиновые вещества	5	7,36	0,1043	95	2,78	0,29	3,94
3.	Гемицеллюлоза А	5	15,42	0,2446	95	2,78	0,68	4,41
4.	Гемицеллюлоза Б	5	6,83	0,0863	95	2,78	0,24	3,51

В результате исследования установлено, что выход водорастворимых полисахаридов составил $8,75 \pm 0,38\%$ и представлял собой аморфный порошок молочного цвета, хорошо растворимый в воде, кислотах, щелочах и нерастворимый в органических растворителях. Выход пектиновых веществ составил $7,36 \pm 0,29\%$ и представлял собой кремовый аморфный порошок, растворимый в воде с образованием коллоидного раствора. Содержание гемицеллюлозы А составило $15,42 \pm 0,68\%$ и гемицеллюлозы Б – $6,83 \pm 0,24\%$, которые представляли аморфные порошки светло-коричневого цвета.

4.2 Анализ вторичных метаболитов

4.2.1 Качественный и количественный анализ фенольных соединений

Качественные реакции

Для обнаружение различных групп фенольных соединений проводили общепринятые качественные реакции:

- *флавоноиды*: проведение реакций с раствором хлористого алюминия спиртового визуализируется желтовато-зеленоватое окрашивание; цианидиновая проба - розовое окрашивание; с раствором среднего ацетата свинца – образование осадка; борно-лимонная реакция – желтое окрашивание, что свидетельствовало о присутствии флавоноидов производных флавона и флавонола;
- *дубильные вещества*: при проведении реакций с раствором желатина наблюдали помутнение, исчезающее в избытке желатина; с раствором железо-аммонийных квасцов – черно-зеленое окрашивание, переходящее в черное; с бромной водой – образование осадка, что свидетельствовало о наличии дубильных веществ конденсированной группы;
- *кумарины*: при проведении лактонной пробы наблюдали желтое окрашивание; реакции азосочетания – вишнево-красное окрашивание, что свидетельствовало о присутствии кумаринов;
- *производные антрацена*: взаимодействие с раствором NaOH спиртовым и ацетатным магнием имели отрицательный результат, что подтверждает отсутствие данной группы фенольных соединений.

На основании полученных результатов можно отметить, что в извлечениях из травы ярутки полевой присутствуют биологически активные вещества, относящиеся к группе первичных метаболитов (полисахариды, аминокислоты) и вторичных метаболитов (флавоноиды - флавоны, флавонолы), кумарины, дубильные вещества (гидролизуемой группы) и сапонины.

Хроматографический анализ

Анализ наличия фенольных соединений ярутки полевой травы осуществляли также методом ТСХ [11, 17, 27, 28, 58].

Для исследования фенольных соединений использовали спиртовые извлечения из травы ярутки полевой: экстрагент 70% спирт этиловый, соотношение сырье - экстрагент 1:10 в сравнении со стандартными образцами веществ-свидетелей в стандартных условиях. Были использованы следующие системы растворителей: «муравьиная кислота - ледяная уксусная кислота - вода - метанол - ацетон - хлороформ» (6:6:7,5:12,5:30:60), «н-бутанол - ледяная уксусная кислота - вода» (5:1:3), «этилацетат - кислота муравьиная - вода» (5:1:1), «этилацетат - кислота уксусная - вода» (5:1:1). Наилучшее разделение флавоноидов наблюдалось в системе «н-бутанол - ледяная уксусная кислота - вода» (5:1:3). Хроматографическое исследование проводили в сравнении со стандартными образцами флавоноидов. В результате анализа в траве ярутки полевой были обнаружены зоны адсорбции, которые в видимом свете имели бледно-желтую окраску, в УФ-свете (254 нм) - коричневую окраску, а при длине волны 365 нм имели желтую, ярко-желтую и желто-зеленую флюоресценцию, которая усиливалась после проявления 5% спиртовым раствором алюминия хлорида. Зоны адсорбции по значениям R_f совпадали с веществами-свидетелями: рутин ($R_f=0,47$), лютеолин-7-глюкозид ($R_f=0,74$); лютеолин ($R_f=0,83$). апигенин ($R_f=0,88$) (рисунок 25).

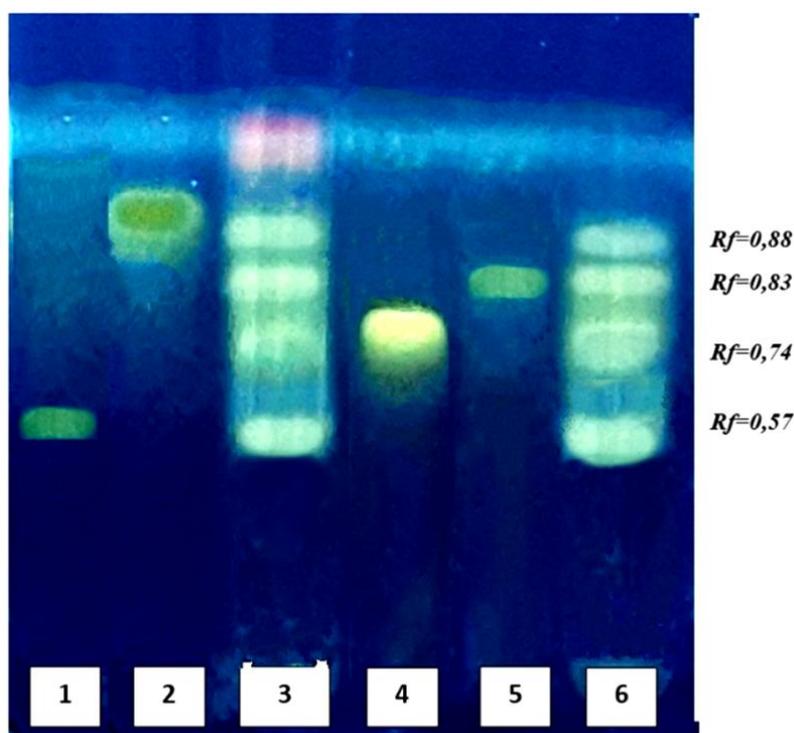


Рисунок 25 – ТСХ-анализ флавоноидов травы ярутки полевой в системе «н-бутанол – ледяная уксусная кислота - вода» (5:1:3): 1 – СО рутин; 2 – СО лютеолин; 3 - спиртовое извлечение из травы ярутки полевой; 4 – СО лютеолин-7-глюкозид; 5 – СО апигенин; 6 - спиртовое извлечение из травы ярутки полевой после обработки хлороформом

Изображения по разделению флавоноидов, полученные на хроматограмме, далее обрабатывали с помощью метода денситометрии (раздел 2, раздел 2.2.2), который позволяет идентифицировать и оценить количество соединений путем перевода пятен на пластинках в графические пики, сравнения их значений, определения площади и высоты вершин полученных пиков (рисунок 26).

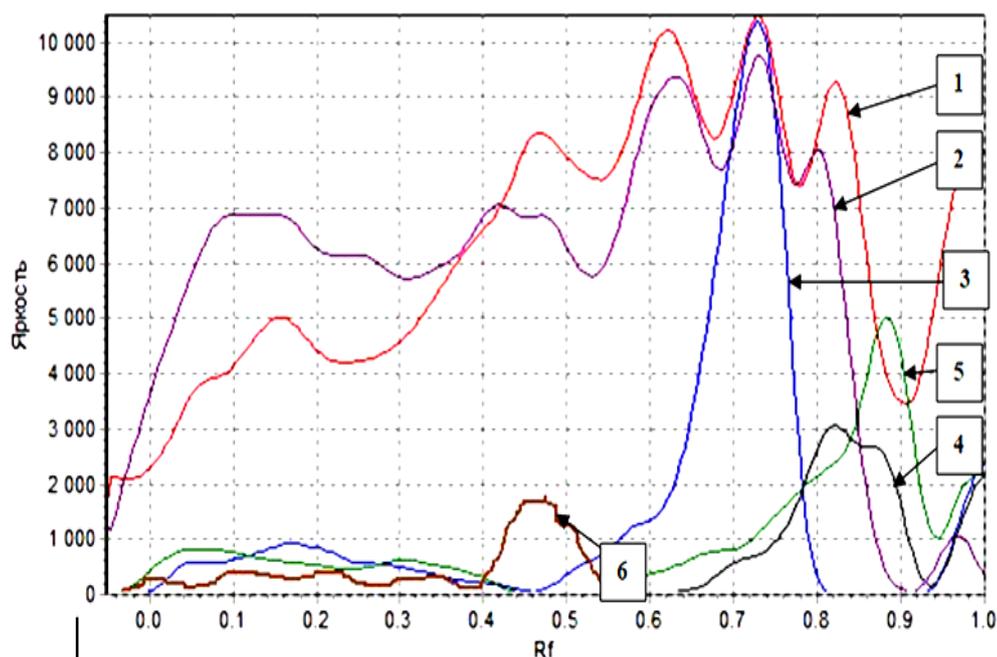


Рисунок 26 – Денситограммы: 1 – спиртовое извлечение из травы ярутки полевой; 2 - спиртовое извлечение из травы ярутки полевой после обработки хлороформом; 3 – СО лютеолин-7-глюкозид, 4 – СО апигенин; 5 – СО лютеолин; 6 – СО рутин

Результаты визуализации денситограмм свидетельствуют, что в двух растворах из сырья травы ярутки полевой доминирует флавоноид -

лютеолин-7-глюкозид, что также совпадало с пятнами на пластинках, высотой и площадью пиков (рисунок 25).

Наиболее лучшее разделение гидроксикоричных кислот наблюдалась в системе «этилацетат - кислота муравьиная – вода» (5:1:1). Зоны адсорбции гидроксикоричных кислот обнаруживали по собственной флюоресценции в УФ-свете до и после обработки проявляющими реактивами (3% спиртовый раствор треххлористого железа), при этом наблюдалась голубая, флюоресценция, которая становилась ярче после обработки проявляющим реактивом (рисунок 27).

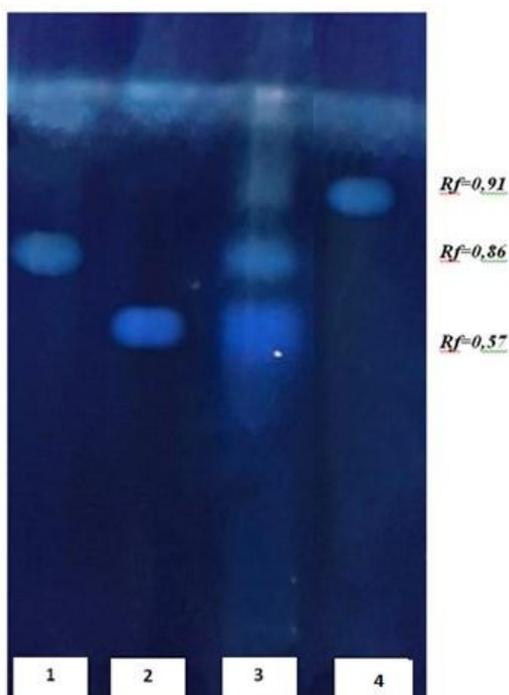


Рисунок 27 – ТСХ-анализ гидроксикоричных кислот травы ярутки полевой в системе «этилацетат - кислота муравьиная – вода» (5:1:1): 1 – СО кофейная кислота; 2 - СО хлорогеновая кислота; 3 - спиртовое извлечение из травы ярутки полевой; 4 - СО феруловая кислота

Для исследования кумаринов готовили хлороформное извлечение из травы ярутки полевой, разделение осуществляли на пластинках «*Sorbfil ПТСХ-П-А-УФ*» в системе растворителей «этилацетат-бензол» (1:2), для детекции пятен хроматограммы использовали 10% спиртовый раствор NaOH (глава 2, раздел 2.2.2). На хроматограмме визуализировалось две

адсорбционные зоны, которые флюоресцировали в ультрафиолетовом свете до взаимодействия с хромогенным реактивом светло-голубым цветом, а после - свечение пятен усиливалось. Вещества отнесены к соединениям кумариновой природы, которые по значениям R_f совпадали со стандартными образцами кумарина и скополетина (рисунок 28).

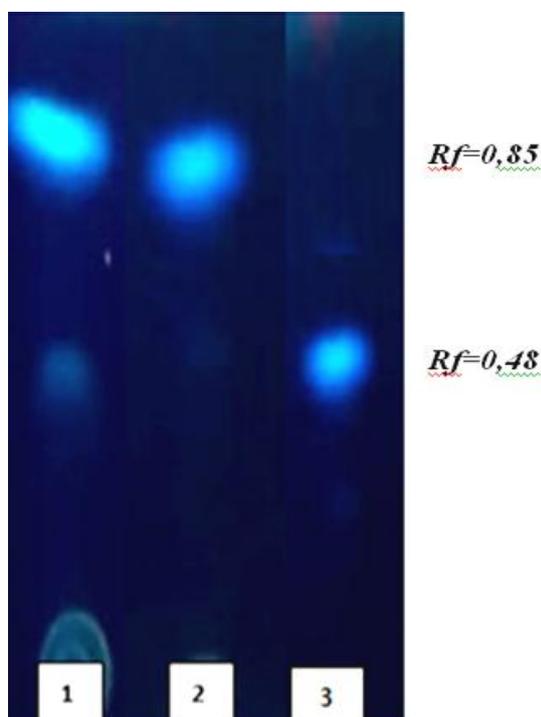


Рисунок 28 – ТСХ-анализ кумаринов травы ярутки полевой в системе система «этилацетат-бензол (1:2)»: 1 – хлороформное извлечение из травы ярутки полевой; 2 – СО кумарина; 3 - СО скополетина

Спектральные исследования

Спектральные исследования также проводились для качественной характеристики фенольных соединений. Спектральные характеристики спиртовых растворов травы ярутки полевой и компонентов ее морфологической группы (листья, стебли, цветки, плоды) изучали в сравнении со стандартными образцами флавоноидов и при добавлении спиртового раствора алюминия хлорида, с которым флавоноиды образуют комплексы, позволяющие дифференцировать их от сопутствующих веществ,

наблюдали максимум поглощения в области 395 нм во всех частях ярутки полевой, который совпадал с максимумом поглощения раствора лютеолин-7-глюкозида с алюминия хлоридом (рисунок 29). Поэтому данный флавоноид был выбран в качестве доминирующего в сумме, на который в дальнейшем вели пересчет.

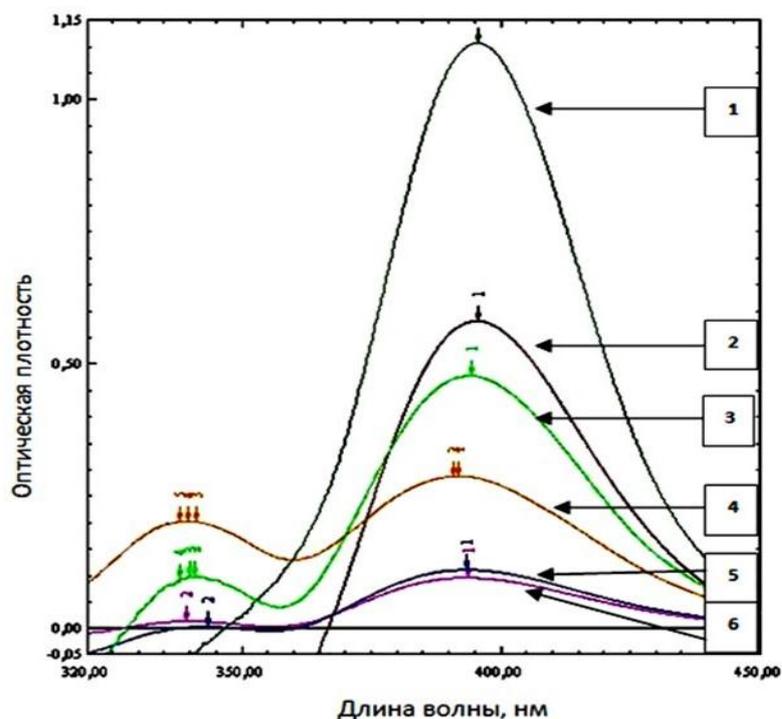


Рисунок 29 - Спектры поглощений спиртовых извлечений отдельных органов ярутки полевой в сравнении со стандартным образцом (СО) лютеолин-7-глюкозидом: 1 – СО лютеолин-7-глюкозида (395 ± 2 нм), 2 – листья, 3 – трава, 4 – цветки, 5 – стебли, 6 – плоды

Сравнение спектральных характеристик спиртовых растворов из отдельных органов полевой ярутки со стандартными образцами гидрокоричных кислот показало наличие сопоставимых профилей с хлорогеновой кислотой и максимум поглощения отмечался при длине волны 330 ± 2 нм (рисунок 30).

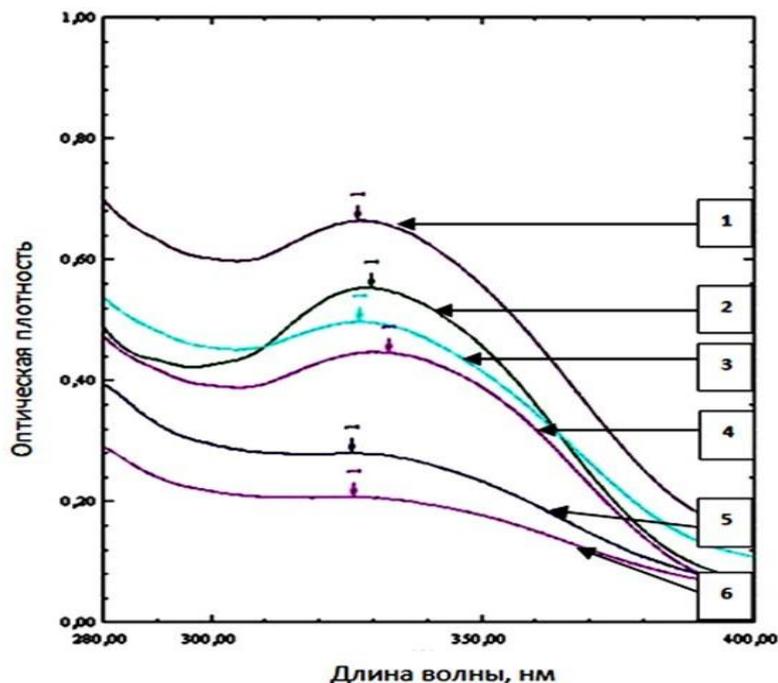


Рисунок 30 – Спектры поглощений спиртовых извлечений отдельных органов ярутки полевой в сравнении со стандартным образцом (СО) хлорогеновой кислоты: 1 – СО хлорогеновой кислоты (330 ± 2 нм), 2 – листья, 3 – трава, 4 – цветки, 5 – стебли, 6 - плоды

Количественный анализ

Количественное определение флавоноидов проводили методом дифференциальной спектрофотометрии по разработанной нами методике, представленной в главе 5, раздел 5.2. Определение содержания суммы флавоноидов проводили в пересчете на лютеолин-7-глюкозид – флавоноид доминирующий в сумме и в качестве аналитической длины волны выбрана 395 ± 2 нм [47, 48]. Результаты количественного содержания флавоноидов в траве ярутки полевой из разных мест естественного произрастания представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид в траве ярутки полевой

№	Образец травы ярутки	f	X_{cp}	$S_{\bar{x}}$	P,%	t(P,f)	$\Delta\bar{x}$	$\varepsilon, \%$
1.	Республика Башкортостан	5	1,46	0,0215	95	2,78	0,06	4,11
2.	Самарская область	5	1,32	0,0143	95	2,78	0,04	3,03
3.	Алтайский край	5	1,58	0,0251	95	2,78	0,07	4,43
4.	Оренбургская область	5	1,26	0,0179	95	2,78	0,05	3,96
5.	Краснодарский край	5	1,50	0,0143	95	2,78	0,04	2,67

В результате содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид варьирует от $1,26 \pm 0,05\%$ до $1,58 \pm 0,07\%$.

Количественное определение суммы гидроксикоричных кислот в траве ярутки полевой проводили методом прямой спектрофотометрии с учетом подобранных условий экстракции в пересчете на хлорогеновую кислоту, с которой совпадали максимумы поглощения анализируемых извлечений из ярутки полевой и в качестве аналитической длины волны выбрана 330 ± 2 нм (таблица 10) (глава 2, раздел 2.2.2) [12, 42]. Результаты количественного содержания гидроксикоричных кислот в траве ярутки полевой из разных мест естественного произрастания представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Содержание суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту в траве ярутки полевой

№	Образец травы ярутки	f	X_{cp}	$S_{\bar{x}}$	P,%	t(P,f)	$\Delta\bar{x}$	$\varepsilon, \%$
1.	Республика Башкортостан	5	4,46	0,0039	95	2,78	0,15	3,36
2.	Самарская область	5	4,25	0,0468	95	2,78	0,13	3,06
3.	Алтайский край	5	4,86	0,0755	95	2,78	0,21	4,32

4.	Оренбургская область	5	3,98	0,0503	95	2,78	0,14	3,52
5.	Краснодарский край	5	4,57	0,0612	95	2,78	0,17	3,72

На основе полученных результатов содержание гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту колеблется от $3,98 \pm 0,14\%$ до $4,86 \pm 0,21\%$.

Количественное определение *кумаринов* в сырье ярутки полевой проводили спектрофотометрическим методом, основанным на очистке от липофильных веществ гексаном, извлечении кумаринов хлороформом и последующем количественном определении спектрофотометрическим методом при длине волны 310 нм [47]. Результаты количественного определения кумаринов при пересчете на кумарин в траве ярутки полевой из разных мест естественного произрастания представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Содержание суммы кумаринов в пересчете на кумарин в траве ярутки полевой

№	Образец травы ярутки	f	X_{cp}	$S_{\bar{x}}$	P, %	t(P,f)	$\Delta \bar{x}$	$\varepsilon, \%$
1.	Республика Башкортостан	5	0,62	0,0108	95	2,78	0,03	4,84
2.	Самарская область	5	0,55	0,0072	95	2,78	0,02	3,63
3.	Алтайский край	5	0,87	0,0144	95	2,78	0,04	4,59
4.	Оренбургская область	5	0,46	0,0072	95	2,78	0,02	4,35
5.	Краснодарский край	5	0,74	0,0108	95	2,78	0,03	4,05

В результате содержание суммы кумаринов в пересчете на кумарин в траве ярутки полевой варьирует от $0,46 \pm 0,02\%$ до $0,87 \pm 0,04\%$.

Определение дубильных веществ в траве ярутки полевой проводили по фармакопейной методике методом окислительно-восстановительного титрования [15, 16, 27, 48]. Итоговые данные определения количества суммы

дубильных веществ при пересчете на танин в траве ярутки полевой из разных мест естественного произрастания продемонстрированы в таблице 12.

Таблица 12 – Содержание дубильных веществ в траве ярутки полевой

№	Образец травы ярутки	f	X_{cp}	$S_{\bar{x}}$	P,%	t(P,f)	$\Delta \bar{x}$	$\varepsilon, \%$
1.	Республика Башкортостан	5	4,17	0,0576	95	2,78	0,16	3,83
2.	Самарская область	5	4,06	0,0504	95	2,78	0,14	3,45
3.	Алтайский край	5	4,56	0,0647	95	2,78	0,18	3,95
4.	Оренбургская область	5	3,87	0,0468	95	2,78	0,13	3,36
5.	Краснодарский край	5	4,38	0,0539	95	2,78	0,15	3,42

В результате содержание суммы таннидов в пересчете на танин в траве ярутки полевой варьирует от $3,87 \pm 0,13\%$ до $4,56 \pm 0,18\%$.

Проводили также изучение компонентного состава *фракции*, полученной с использованием спирта этилового 70%, методом мацерации, при экстракции травы ярутки полевой в соотношении сырье-экстрагент 1:10 в течение 7 суток при комнатной температуре при периодическом помешивании. Извлечение фильтровали и подвергали его исследованию методом газовой хроматографии с масс-селективным детектором (ГХ/МС) (глава 2, раздел 2.2.2). Идентификацию компонентов проводили по сопоставлению с библиотечными масс-спектрами. Результаты исследования представлены на рисунке 31 и в таблице 13.

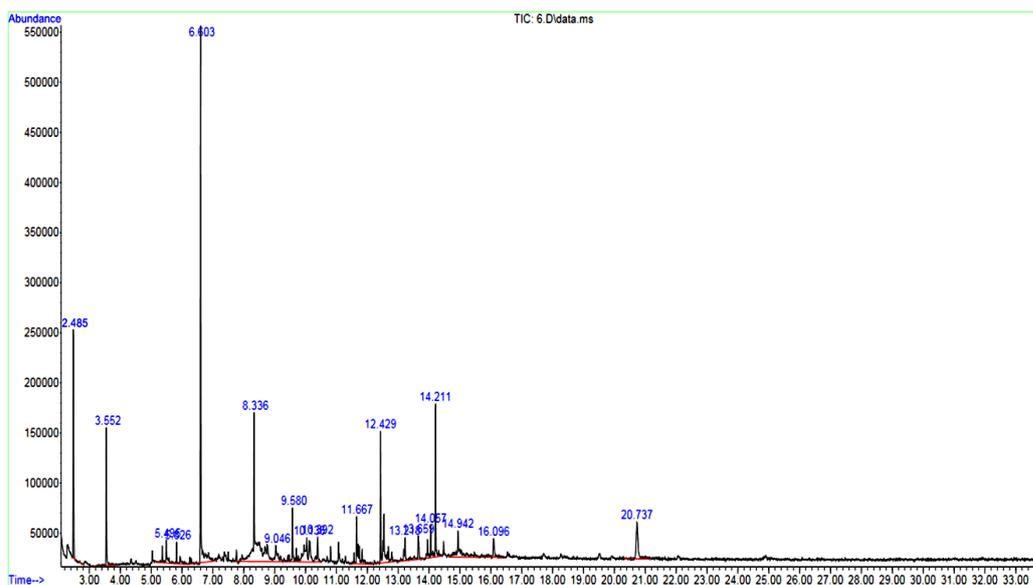


Рисунок 31 - Хроматограмма фракции травы ярутки полевой,
полученной с использованием спирта этилового

Таблица 13 - Компонентный состав фракции травы ярутки полевой,
полученной с использованием спирта этилового

№	Время удерживания	Название соединения	% вещества в смеси
1	2.484	Pyrrrolidine	7.52
2	3.553	Propane	4.22
3	5.499	dl-Cystathionine	2.08
4	5.822	1-Pentanol	1.40
5	6.600	Аллилглюкозинолат (синигрин)	18.87
6	8.340	Benzyl nitrile	17.92
7	9.044	beta.-D-Glucopyranose	2.38
8	9.582	(E)-Stilbene	3.39
9	10.137	1-Heptanol	5.45
10	10.393	Pyroquilon	1.70
11	11.669	n-Hexadecanoic acid (пальмитиновая к-та)	4.43
12	12.431	Phytol	8.24
13	13.217	Octadecanoic acid (стеариновая кислота)	1.58
14	13.656	Pentadecane	1.85
15	14.054	Hexacosane	2.42
16	14.211	Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethyl	5.22

		ethyl)-4-ethyl-	
17	14.940	Carbonic acid	4.95
18	16.100	Fumaric acid (фумаровая кислота)	2.06
19	20.737	gamma-Sitosterol	4.29

Анализируя полученные данные можно отметить, что во фракции травы ярутки полевой, полученной с использованием спирта этилового 70% идентифицировано 19 соединений, среди которых в большем количестве содержатся алканы, алкены, глюкозинолат (аллилглюкозинолат (синигрин)), производные фитостерина (γ -ситостерол), спирт фитол, высокомолекулярные жирные кислоты и их производные (пальмитиновая, стериновая), фумаровая кислота, стильбен, соединения гликозидного характера.

4.2.2 Качественный и количественный анализ тритерпеновых соединений

При проведении качественных реакций для обнаружения сапонинов наблюдали образование устойчивой и равной по объему пены при добавлении раствора гидроксида свинца и при добавлении раствора гидроксида натрия, реакции также проводились со средним раствором ацетата свинца с образованием осадка; реакция Лафона – сине – зеленый краситель и красный краситель Санье, что указывает на присутствие тритерпеновых сапонинов.

Хроматографический анализ спиртового извлечения травы ярутки полевой позволил выявить, что наилучшее разделение сапонинов наблюдалось в системе «н-бутанол – этанол – раствор аммиака 25% (7:2:5)». После проявления хроматограммы наблюдали появление 3 зон адсорбции, при сопоставлении окраски и значений R_f со стандартными образцами сапонинов было установлено, что одна зона адсорбции ($R_f = 0,42$) совпадала с β -эсцином, вторая ($R_f = 0,90$) - с урсоловой кислотой. Результаты исследования представлены на рисунке 32.

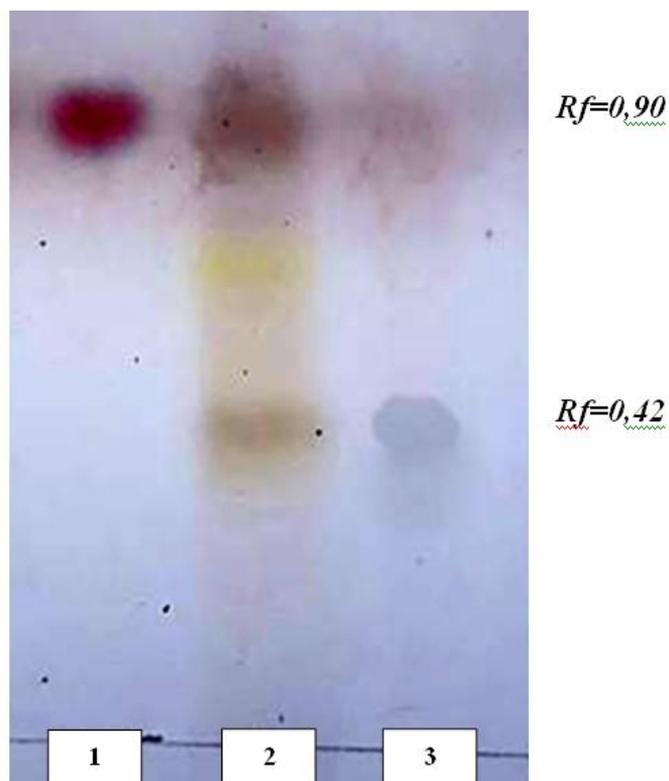


Рисунок 32 – ТСХ-анализ сапонинов травы ярутки полевой в системе система «бутанол-этанол 95%- аммиак 25% (7:2:5)»: 1 – урсоловая кислота; 2 – спиртовое извлечение из травы ярутки полевой; 3 – β -эсцин

Для качественной характеристики сапонинов проводили также спектральные исследования. Для выявления максимума поглощения, преобладающего в сумме сапонинов были изучены спектральные характеристики спиртовых извлечений травы ярутки полевой и составных частей морфологической группы «трава» - листьев, стеблей, цветков, плодов в сравнении со стандартными образцами сапонинов. Анализ полученных результатов показал, что максимумы поглощения в траве, листьях, стеблях, цветках и плодах имели близкие значения с СО β -эсцина и отмечались в области 322 нм (рисунок 33). Учитывая это, β -эсцин был выбран в качестве доминирующего в сумме и на него вели пересчет при определении количественного содержания сапонинов.

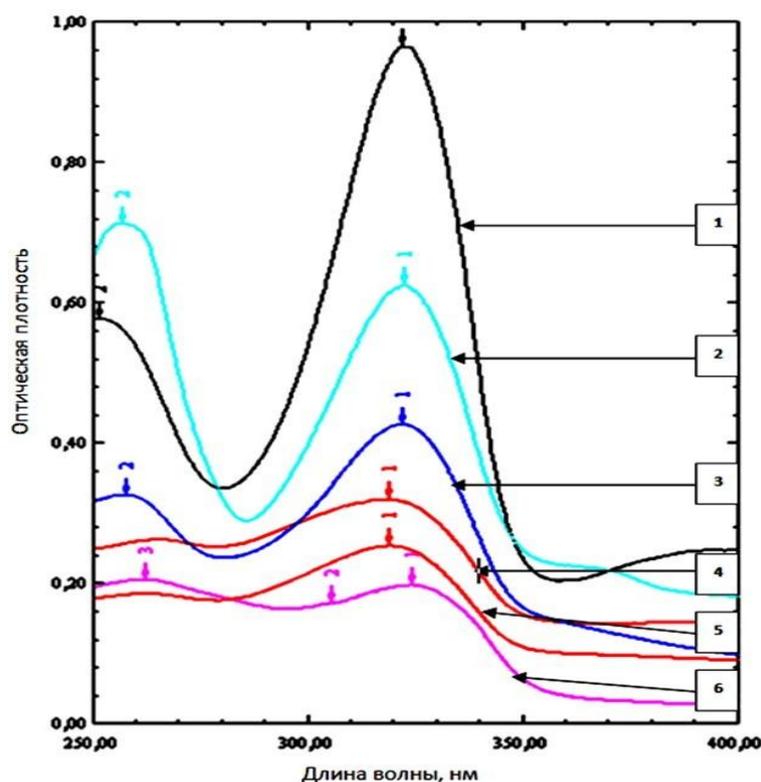


Рисунок 33 - Спектры поглощений спиртовых извлечений отдельных органов ярутки полевой в сравнении со стандартным образцом (СО) β -эсцином: 1 – СО β -эсцина (322 ± 2 нм), 2 – трава, 3 – листья, 4 – плоды, 5 – цветки, 6 - стебли

Количественное определение суммы сапонинов проводили спектрофотометрическим методом. Для полноты извлечения сапонинов из травы ярутки полевой были изучены условия экстракции и установлены оптимальные параметры: степень измельченности сырья - 2 мм; экстрагент – спирт этиловый 70%; соотношение навески сырья и объема экстрагента 1:100; время экстракции – 60 минут; температура экстракции – $90-100^{\circ}\text{C}$; время образования окрашенного продукта взаимодействия сапонинов с кислотой серной концентрированной – 30 минут. Оптическую плотность полученного извлечения измеряли в области 250-450 нм, раствором сравнения служила кислота серная концентрированная. В результате исследования установлено наличие двух максимумов поглощения: $\lambda_{\text{max}} = 251 \pm 2$ нм и $\lambda_{\text{max}} = 322 \pm 2$ нм, которые совпадали с таковыми значениями стандартного образца β -эсцина, измеренными в аналогичных условиях (рисунок 34) [27, 28, 60, 69, 104].

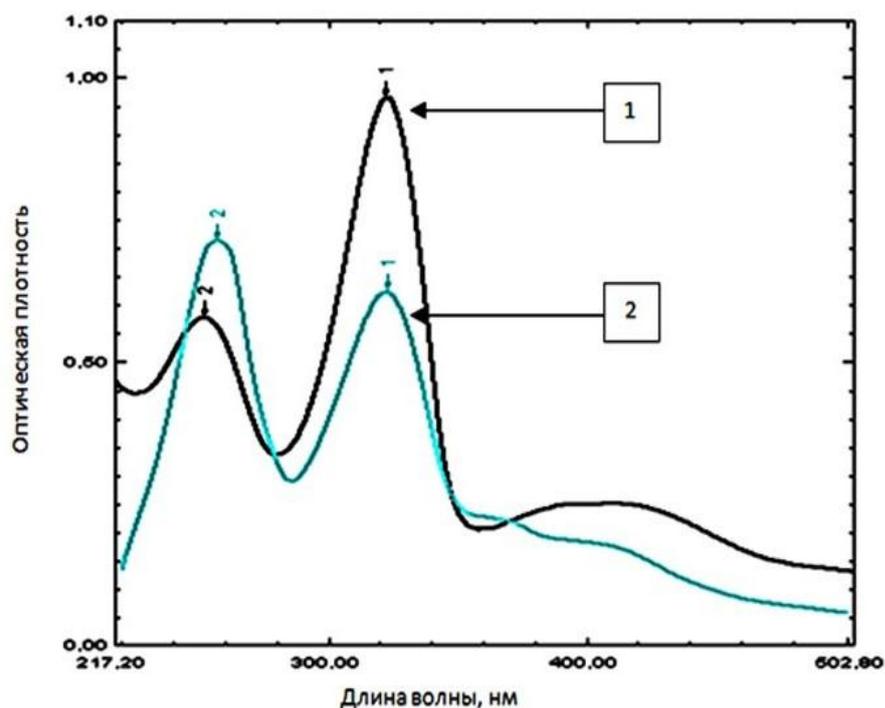


Рисунок 34 - Спектры поглощения продуктов реакции сапонинов с кислотой серной концентрированной: 1 – СО β -эсцина, 2 – извлечение из травы ярутки полевой

Итоговые данные проведенного исследования количества содержания сапонинов в траве ярутки полевой из разных мест естественного произрастания представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Содержание суммы сапонинов в пересчете на β -эсцин в траве ярутки полевой

№	Образец травы ярутки	f	$X_{\text{ср}}$	$S_{\bar{x}}$	P, %	t(P,f)	$\Delta \bar{x}$	$\varepsilon, \%$
1.	Республика Башкортостан	5	1,55	0,0215	95	2,78	0,06	3,87
2.	Самарская область	5	1,48	0,0539	95	2,78	0,05	3,38
3.	Алтайский край	5	1,74	0,0287	95	2,78	0,08	4,59
4.	Оренбургская область	5	1,27	0,0143	95	2,78	0,04	3,15
5.	Краснодарский край	5	1,64	0,0539	95	2,78	0,05	3,05

В итоговом сравнении содержание суммы сапонинов при пересчете на β -эсцин в траве ярутки полевой варьирует от $1,27 \pm 0,04\%$ до $1,74 \pm 0,08\%$.

4.3. Анализ элементного состава

Методом атомно-абсорбционной спектрометрии (на приборе «Квант-2А», ООО «КОРТЭК», Россия) изучен элементный состав травы ярутки полевой. Определено содержание эссенциальных микроэлементов (Cu, Zn, Fe, Mn, Ni, Co, Cr), необходимых живым организмам для обеспечения нормальной жизнедеятельности, имеющих высокие биологически активные действия, участвующие в процессах синтеза биологически активных веществ и токсичных элементов (Cd, Pb). Такие показатели безопасности, как содержание тяжелых металлов, нормируются для всех видов лекарственного растительного сырья в соответствии с требованиями нормативных документов [16]. Результаты исследований содержания важных микроэлементов в полевой ярутке различных мест произрастания представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Содержание микроэлементов в траве ярутки полевой различных мест произрастания

№	Образец травы ярутки	Содержание микроэлементов, мг/кг								
		Cu	Zn	Fe	Mn	Ni	Co	Cr	Cd	Pb
1.	Республика Башкортостан	$5,91 \pm 0,27$	$24,31 \pm 1,21$	$275,2 \pm 13,65$	$30,03 \pm 1,27$	$0,82 \pm 0,04$	$0,141 \pm 0,007$	$0,67 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,01$	$0,21 \pm 0,01$
2.	Самарская область	$6,01 \pm 0,29$	$16,53 \pm 0,82$	$214,33 \pm 9,67$	$27,54 \pm 1,46$	$0,81 \pm 0,03$	$0,102 \pm 0,004$	$0,62 \pm 0,03$	$0,23 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,01$
3.	Алтайский край	$5,12 \pm 0,25$	$23,02 \pm 1,14$	$304,81 \pm 13,87$	$23,72 \pm 1,12$	$1,02 \pm 0,05$	$0,132 \pm 0,005$	$0,69 \pm 0,03$	$0,18 \pm 0,01$	$0,24 \pm 0,01$
4.	Оренбургская область	$4,34 \pm 0,17$	$23,54 \pm 1,12$	$196,0 \pm 9,68$	$27,71 \pm 1,28$	$0,53 \pm 0,02$	$0,123 \pm 0,006$	$0,41 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,01$	$0,20 \pm 0,01$
5.	Краснодарс- кий край	$3,81 \pm 0,15$	$24,82 \pm 1,18$	$103,62 \pm 5,16$	$18,42 \pm 0,85$	$0,21 \pm 0,01$	$0,101 \pm 0,005$	$0,18 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,01$	$0,15 \pm 0,01$

Обобщая полученные данные, следует отметить, что во всех образцах травы ярутки полевой содержание токсичных микроэлементов, таких как кадмий, свинец, находилось в пределах ПДК. По содержанию микроэлементов можно представить следующие ряды по убыванию:

- по содержанию меди: Самарская область > Республика Башкортостан > Алтайский край > Оренбургская область > Краснодарский край;

- по содержанию цинка: Краснодарский край > Оренбургская область > Республика Башкортостан > Алтайский край > Самарская область;

- по содержанию железа: Алтайский край > Республика Башкортостан > Самарская область > Оренбургская область > Краснодарский край;

- по содержанию марганца: Республика Башкортостан > Алтайский край > Оренбургская область > Самарская область > Краснодарский край;

- по содержанию никеля: Алтайский край > Республика Башкортостан > Самарская область > Оренбургская область > Краснодарский край;

- по содержанию кобальта: Республика Башкортостан > Алтайский край > Оренбургская область > Самарская область > Краснодарский край;

- по содержанию хрома: Алтайский край > Республика Башкортостан > Самарская область > Оренбургская область > Краснодарский край.

Сходные профили в накоплении микроэлементов наблюдаются по накоплению марганца и кобальта: Республика Башкортостан > Алтайский край > Оренбургская область > Самарская область > Краснодарский край, а также по содержанию железа, никеля и хрома: Алтайский край > Республика Башкортостан > Самарская область > Оренбургская область > Краснодарский край.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 4:

1. С применением современных физико-химических методов было проведено исследование химического состава полевой ярутки травы. Идентифицированы первичные метаболиты (аскорбиновые кислоты, витамин К, органические кислоты, полисахаридный комплекс, высшие жирные кислоты (пальмитиновая, олеиновая, стеариновая, бегеновая, эруковая) и вторичные метаболиты (флавоноиды: (апигенин, лютеолин, лютеолин-7-глюкозид, рутин); гидроксикоричные кислоты: хлорогеновая, кофейная, феруловая кислоты; кумарины (кумарин, скополетин); дубильные вещества, тритерпеновые соединения (бетта-эсцин, урсоловая кислота); аллилглюкозинолаты (синигрин); фитол, гамма-ситостерин, изучен элементный состав.

2. Изучено количество отдельных групп биологически активных соединений в траве ярутки различных мест произрастания, содержание которых варьируется в следующих пределах: аскорбиновая кислота ($1,16 \pm 0,03\% \sim 1,46 \pm 0,06\%$), витамин К ($0,210 \pm 0,008\% \sim 0,360 \pm 0,017\%$), суммы органических кислот в пересчете на яблочную кислоту ($2,28 \pm 0,08\% \sim 2,67 \pm 0,12\%$), полисахаридного комплекса (водорастворимые полисахариды - $8,75 \pm 0,38\%$, пектиновые вещества - $7,36 \pm 0,29\%$, гемицеллюлоза А - $15,42 \pm 0,68\%$ и гемицеллюлоза Б - $6,83 \pm 0,24\%$), суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид ($1,32 \pm 0,05\% \sim 1,54 \pm 0,07\%$), суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту ($3,98 \pm 0,14\% \sim 4,86 \pm 0,21\%$), суммы кумаринов в пересчете на кумарин ($0,46 \pm 0,02\% \sim 0,87 \pm 0,04\%$), суммы дубильных веществ в пересчете на танин ($3,87 \pm 0,13\% \sim 4,56 \pm 0,18\%$), суммы сапонинов в пересчете на β -эсцин ($1,27 \pm 0,04\% \sim 1,74 \pm 0,08\%$).

3. Определено содержание эссенциальных микроэлементов.

ГЛАВА 5. ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ К СТАНДАРТИЗАЦИИ ТРАВЫ ЯРУТКИ ПОЛЕВОЙ (*THLASPI ARVENSE* L.)

5.1 Определение показателей подлинности и качества травы ярутки полевой

Анализ литературных источников отечественных и зарубежных исследователей, а также проделанный нами анализ морфолого-анатомических характеристик и состава химических компонентов полевой ярутки травы показывает перспективы применения этого вида сырья в официальной медицине, поскольку полевая ярутка является ценным источником биологически активных соединений, обладающих разносторонним спектром биологического действия. Все это подтверждает необходимость разработки характеристик подлинности и недоброкачества сырья, разработки метода стандартизации полевой ярутки как лекарственного сырья по основной группе биологически активных соединений для включения в нормативную документацию – фармакопейную статью «Ярутки полевой трава».

Чтобы включить показатели достоверности в раздел фармакопейной статьи, мы определили характерные морфолого-анатомические признаки в главе 3, разделах 3.1 и 3.2 и выделили диагностически важные признаки, необходимые для включения в разделы «Подлинность» и «Микроскопические признаки».

Определение влажности сырья (глава 2, раздел 2.2.1): в результате проведенных исследований было установлено, что содержание влажности в траве ярутки полевой, собранной в различных местах естественного произрастания находится в диапазоне $7,56 \pm 0,32\%$ - $11,68 \pm 0,43\%$. Исходя из этого, предложен показатель «Влажность» - не более 12%.

Определение золы общей и золы, нерастворимой в 10% кислоте хлористоводородной (глава 2, раздел 2.2.1): итоги проведенного исследования

позволили установить, что показатели золы в траве ярутки полевой, различных мест естественного произрастания находились в следующих пределах: «зола общая» - $8,35 \pm 0,36\%$ - $9,48 \pm 0,38\%$, «зола, нерастворимая в 10% кислоте хлористоводородной» - $0,56 \pm 0,02\%$ - $1,76 \pm 0,06\%$. В результате предложены показатели: «зола общая» - не более 10% и «зола, нерастворимая в 10% кислоте хлористоводородной» - не более 2%.

При определении *органических примесей* установлен диапазон – $0,62 \pm 0,03\%$ - $1,89 \pm 0,07\%$, следовательно, предлагается норма содержания органических примесей не более 2%.

При определении *примеси корней* показатели находились в диапазоне $1,25 \pm 0,04\%$ - $2,88 \pm 0,11\%$, следовательно, предлагается норма содержания примесей корней не более 3%

При определении *минеральных примесей* установлен диапазон – $0,28 \pm 0,01\%$ - $0,91 \pm 0,04\%$, следовательно, предлагается норма содержания минеральных примесей не более 1%.

При определении *степени измельченности* сырья установлено, что количество *частиц сырья, не проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 7 мм* находилось в пределах $3,89 \pm 0,14\%$ - $4,78 \pm 0,18\%$, а *частиц сырья, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 0,5 мм* – в пределах $2,98 \pm 0,13\%$ - $4,67 \pm 0,18\%$, следовательно, предлагается норма их содержания, не более 5% в том и другом случае.

5.2 Разработка методики количественного определения основной группы биологически активных веществ

Для разработки методики количественного определения основной группы биологически активных веществ, необходимо было выделить ее. Мы считаем, что такой группой являются флавоноиды, которые обладают разносторонней фармакологической активностью. Из литературного обзора следует, что ярутка полевая обладает свойствами, повышающими

фертильность у мужчин, антиоксидантной активностью, предотвращая образование свободных радикалов и перекисное окисление липидов, предупреждает повреждение сперматозоидов, усиливая активность гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси на разных уровнях, влияя на секрецию лютеинизирующего гормона и тестостерона. Именно флавоноиды ярутки (апигенин, лютеолин, лютеолин-7-глюкозид и др.) являются мощными антиоксидантами, обуславливают противовоспалительные свойства, за счет ингибирующего влияния на циклооксигеназу и липоксигеназу, подавляют выработку перекиси водорода и IgE, отвечающих за воспаление и аллергические реакции [94].

Следующим этапом нашей работы было изучить условия методики количественного определения флавоноидов в траве ярутки полевой и выбрать оптимальные параметры. В основе методики лежит дифференциальная спектрофотометрия. Были изучены следующие параметры: концентрация экстрагента, измельченность сырья, соотношение сырья и экстрагента, время и кратность экстракции, концентрация комплексообразователя и его количество, время реакции комплексообразования.

Спектральные характеристики спиртовых извлечений из травы ярутки полевой (глава 4, раздел 4.2.1) имели сопоставимые максимумы поглощения с СО лютеолин-7-глюкозида, поэтому именно на этот флавоноид предлагалось вести пересчет.

Дифференциальные спектры исследуемых извлечений представлены на рисунке 35, а результаты выбора оптимальных параметров методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид представлены в таблице 16.

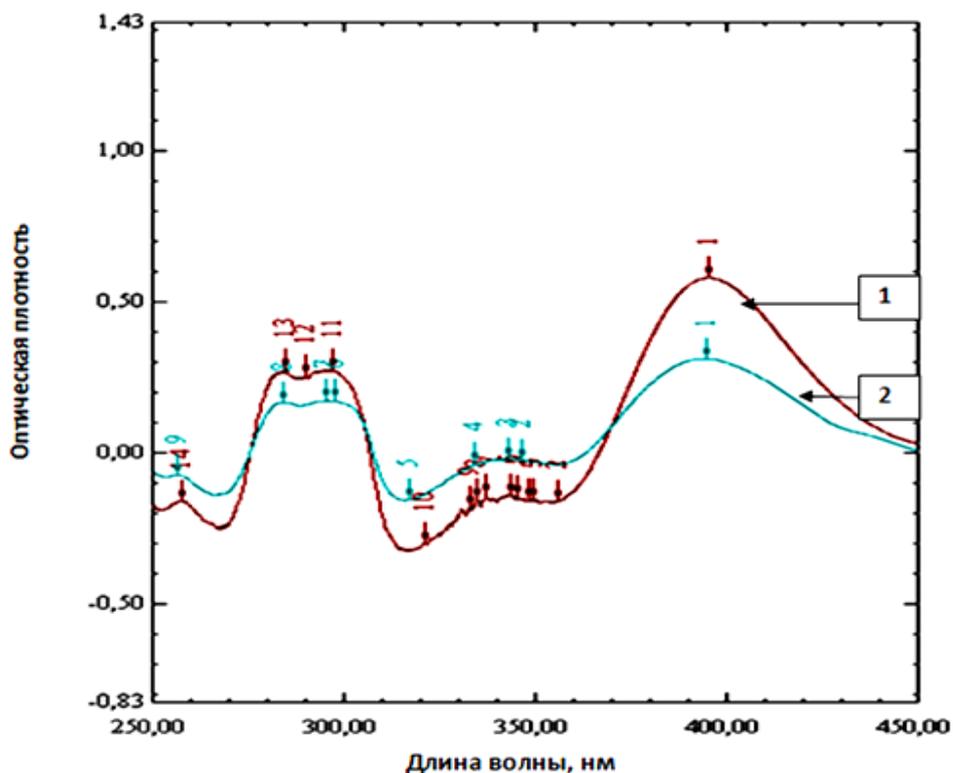


Рисунок 35 – Дифференциальные спектры поглощения спиртового раствора СО лютеолин-7-глюкозида (1) и спиртового раствора травы ярутки полевой (2) с алюминия хлоридом

Таблица 16 – Выбор оптимальных условий экстракции флавоноидов из травы ярутки полевой

<i>Влияние степени измельченности сырья</i>	
Степень измельченности сырья, мм	Содержание флавоноидов, %
1	1,38±0,04
2	1,44±0,05
3	1,40±0,03
4	1,33±0,04
5	1,26±0,04
<i>Подбор концентрации экстрагента (спирта этилового)</i>	
Концентрация, %	Содержание флавоноидов, %
40	1,31±0,04
70	1,46±0,05
90	1,37±0,02
95	1,24±0,03

<i>Оптимальные соотношения сырье:экстрагент</i>	
Соотношение сырье:экстрагент, мл	Содержание флавоноидов, %
1:50	1,36±0,04
1:100	1,45±0,05
1:150	1,38±0,03
1:200	1,22±0,02
<i>Необходимое время экстракции</i>	
Время экстракции, мин	Содержание флавоноидов, %
30	1,25±0,04
60	1,46±0,05
90	1,41±0,02
120	1,34±0,02
<i>Необходимая кратность экстракции</i>	
Кратность экстракции	Содержание флавоноидов, %
Однократная	1,45±0,05
Двукратная	1,36±0,04
Трехкратная	1,17±0,04
<i>Оптимальная концентрация комплексообразователя</i>	
Концентрация алюминия хлорида, %	Содержание флавоноидов, %
1	1,33±0,04
2	1,44±0,04
5	1,23±0,04
<i>Необходимое количество комплексообразователя</i>	
Объем алюминия хлорида, мл	Содержание флавоноидов, %
1	1,36±0,04
2	1,45±0,04
3	1,34±0,02
4	1,23±0,04
5	1,11±0,04
<i>Оптимальное время реакции комплексообразования</i>	
Время, мин	Содержание флавоноидов, %
20	1,38±0,04
30	1,46±0,05
40	1,42±0,05
60	1,41±0,04

Таким образом, оптимальными условиями экстракции флавоноидов из травы ярутки полевой являются: степень измельченности сырья - 2 мм, экстрагент – спирт этиловый 70%, время экстракции 60 минут при однократной экстракции, соотношение сырье - экстрагент 1:100, концентрация комплексообразователя – 2%, его количество – 2 мл, время реакции комплексообразования 30 мин.

Таким образом, предлагается следующая методика количественного определения суммы флавоноидов в траве ярутки полевой: около 1,0 г (точная навеска) измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито размером 2 мм, сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл 70% спирта этилового и взвешивали с погрешностью $\pm 0,01$ г. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 минут, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Колбу с содержимым охлаждали до комнатной температуры, взвешивали и при необходимости доводили до первоначальной массы спиртом этиловым 70%. Извлечение фильтровали в мерную колбу вместимостью 100 мл через бумажный фильтр, предварительно смоченный 70% спиртом (*раствор А*).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 2,0 мл раствора А, прибавляют 2 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида в 95% спирте и доводят объем раствора до метки 95% спиртом (*раствор Б*). Раствор сравнения: 2,0 мл раствора А, добавляли 1 мл 3% кислоты уксусной и доводят 70% спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Через 30 мин измеряли оптическую плотность исследуемого раствора с алюминия хлоридом на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 395 нм, используя раствор сравнения.

Параллельно, в тех же условиях, измеряли оптическую плотность раствора комплекса стандартного образца (СО) лютеолина-7-глюкозида с алюминия хлоридом: в две мерные колбы вместимостью 25 мл помещали по

2,0 мл раствора СО лютеолина-7-глюкозида, в одну колбу прибавляли 2 мл 2% спиртового раствора хлорида алюминия в 95% спирте, а в другую – 1 мл 3% уксусной кислоты и доводили соответствующим спиртом до метки, перемешивали и через 30 мин измеряли оптическую плотность.

Приготовление СО лютеолин-7-глюкозида: 0,05 г стандартного образца лютеолин-7-глюкозида (точная навеска) предварительно высушенного при температуре 130-135⁰С в течение 3 часов, растворяли в 85 мл 95% этилового спирта при нагревании на водяной бане при периодическом перемешивании. Раствор охлаждали, количественно перенося в другую мерную колбу на 100 мл, доводили объем раствора до метки тем же спиртом и перемешивали.

Приготовление 2% раствора алюминия хлорида: 2,0 г алюминия хлорида (ГОСТ 3759-75) растворяли в 40 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводили объем раствора 95% спиртом до метки.

Содержание суммы флавоноидов в абсолютно сухом сырье в пересчете на лютеолин-7-глюкозид рассчитывали по формуле:

$$x = \frac{A \times a_0 \times 100 \times 2 \times 25 \times 100 \times 100}{A_0 \times a \times 2 \times 25 \times 100 \times (100 - W)}$$

A – оптическая плотность испытуемого раствора

A₀- оптическая плотность СО лютеолин-7-глюкозида

a₀ - масса СО лютеолин-7-глюкозида, г

a – масса навески сырья, г

W – потеря в массе при высушивании, %.

С учетом разработанной методики были проанализированы образцы травы ярутки полевой различных мест естественного произрастания (таблица 17).

Таблица 17 – Содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид в траве ярутки полевой

№	Образец травы ярутки	f	X _{ср}	S \bar{x}	P, %	t(P,f)	Δ \bar{x}	ε, %
1.	Республика Башкортостан	5	1,46	0,0215	95	2,78	0,06	4,11
2.	Самарская область	5	1,32	0,0143	95	2,78	0,04	3,03

3.	Алтайский край	5	1,58	0,0251	95	2,78	0,07	4,43
4.	Оренбургская область	5	1,26	0,0179	95	2,78	0,05	3,96
5.	Краснодарский край	5	1,50	0,0143	95	2,78	0,04	2,67

В результате содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид варьирует от $1,26 \pm 0,05\%$ ~ $1,58 \pm 0,07\%$.

5.3 Валидация методики количественного определения основной группы биологически активных веществ

Валидация или оценка пригодности аналитической методики является неотъемлемой частью количественного определения биологически активных веществ изучаемого растения.

Определение линейности проводили путем анализа растворов 5 уровней концентраций – 80%, 90%, 100%, 110%, 120% от теоретического содержания флавоноидов (в пересчете на лютеолин-7-глюкозид) в траве ярутки полевой (таблица 18).

Таблица 18 – Определение линейности методики

№ п/п	Величина аналитической области, %	Объем аликвоты, мл	Оптическая плотность, нм	Содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид, %
1	80	0,8	0,331	1,14
2	90	0,9	0,378	1,29
3	100	1,0	0,423	1,44
4	110	1,1	0,462	1,58
5	120	1,2	0,523	1,72

Экспериментальные данные обрабатывались методом наименьших квадратов, составляя уравнение регрессии. Критерием для параметра линейности является коэффициент корреляции, который должен быть не ниже 0,99 (рисунок 36). Если его величина близка к единице, то совокупность данных можно описать прямой линией.

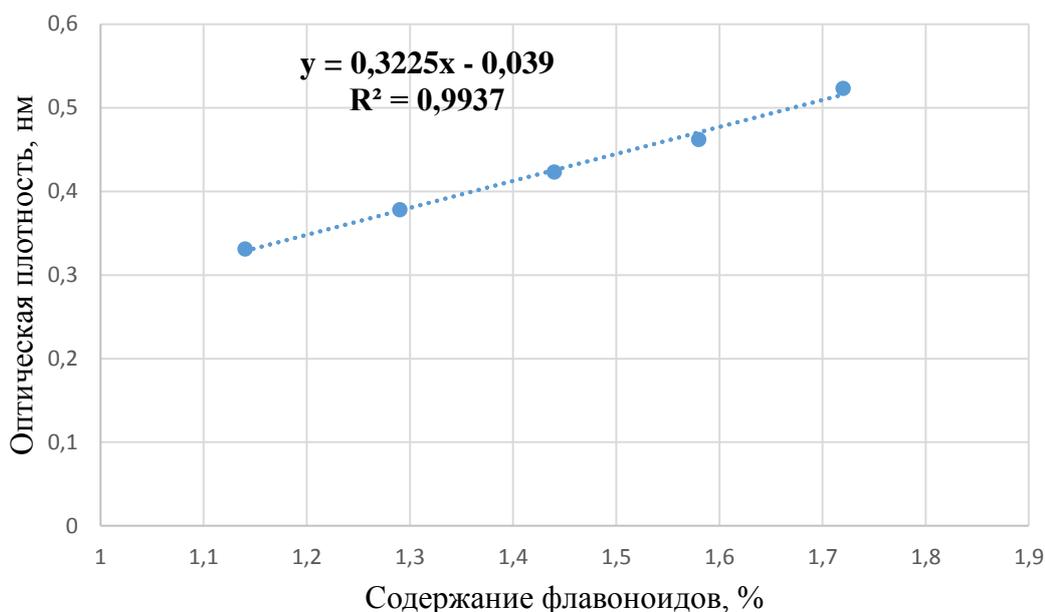


Рисунок 36 – Зависимость оптической плотности от концентрации флавоноидов

Коэффициент корреляции составил более 0,99; можно сделать вывод, что методика является линейной.

Правильность данной методики устанавливали методом добавок путем добавления необходимого количества стандарта к исследуемому раствору [16]. В разработанной методике процент восстановления находился в пределах от 97,86 до 100,23%, который соответствует допустимым пределам $100 \pm 5\%$ (таблица 19).

Таблица 19 - Определение правильности методики

Объем экстракта в аликвоте, мл	Содержание флавоноидов в аликвоте, мг	Добавлено СО лютеолин-7-глюкозида, мг	Ожидаемое содержание, мг	Полученное содержание, мг	Ошибка (отн.,%)

0,5	0,7223	1,0	1,7223	1,6991	- 0,0232 (2,32)
1,0	1,4446	1,0	2,4446	2,4328	- 0,0118 (1,18)
1,5	2,1669	1,0	3,1669	3,1773	0,0104 (1,04)
Среднее значение					100 ±1,51

Прецизионность исследовалась по показателям - повторяемость (сходимость); внутрилабораторная и межлабораторная прецизионность (воспроизводимость). Критерием приемлемости считается относительная погрешность среднего результата, которая не должна быть больше 10%.

Показатель повторяемости оценивался по результатам, проводимым в одинаковых условиях – в одной лаборатории и одним исполнителем, с применением одинакового оборудования, реактивов в пределах короткого промежутка времени (таблица 20).

Таблица 20 – Определение повторяемости методики определения флавоноидов

№ п/п	Содержание флавоноидов, %	Метрологические характеристики
1	1,46	$\bar{y}=1,44$ $S_{\bar{y}} = \sqrt{\sum(X-\bar{y})^2/n(n-1)}=0,01108$ $\Delta X= t*S_{\bar{y}}= 0,0308$ $\varepsilon_{отн} = \Delta X \cdot 100 / \bar{y} = 2,14\%$
2	1,45	
3	1,41	
4	1,53	
5	1,38	
6	1,43	
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		0,77

Следующим этапом исследования было определение внутрилабораторной и межлабораторной прецизионности методики, которая проводилась 2 аналитиками в 3-х повторностях, и межлабораторной прецизионности (воспроизводимости), проводимой в двух разных лабораториях (таблица 21).

Таблица 21 - Определение внутрилабораторной и межлабораторной прецизионности методики

№ п/п	Содержание флавоноидов, %	Метрологические характеристики
1 день (1 испытатель, 1 лаборатория)		
1	1,46	$\bar{y}=1,43$ $S_{\bar{y}} = 0,01158$ $\Delta X = 0,0416$ $\epsilon_{\text{отн}} = 2,91\%$
2	1,44	
3	1,41	
4	1,53	
5	1,38	
6	1,36	
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		0,81
2 день (2 испытатель, 1 лаборатория)		
1	1,41	$\bar{y}=1,45$ $S_{\bar{y}} = 0,01059$ $\Delta X = 0,0452$ $\epsilon_{\text{отн}} = 3,12\%$
2	1,48	
3	1,36	
4	1,51	
5	1,49	
6	1,43	
Относительное стандартное отклонение (RSD), %		0,73

Из данных представленных в таблицах следует, что величина относительного стандартного отклонения результата при оценке повторяемости равна 0,77% (не превышает 2 %), при оценке внутрилабораторной прецизионности – 0,81% и 0,73% (не превышает 5 %), что свидетельствует о прецизионности методики.

Все критерии приемлемости при определении правильности, воспроизводимости и повторяемости находятся в допустимых пределах и не превышают критических значений. Таким образом, методика

количественного

определения флавоноидов в траве ярутки полевой специфична, линейна, прецизионна и правильна. Основные показатели валидации ниже критических, а новая разработанная методика дает точные и воспроизводимые данные, поэтому данная методика является пригодной и может быть использована для стандартизации травы ярутки полевой и включена в проект фармакопейной статьи на данный вид растительного сырья.

5.4 Разработка проекта фармакопейной статьи «Ярутки полевой трава» и определение срока годности травы ярутки полевой

Итогом проведенных фармакогностических исследований по изучению травы ярутки полевой, включающих макроскопический, микроскопический, фитохимический, товароведческий анализ сырья ярутки полевой, разработки показателей подлинности и качества является разработка нормативной документации. Определение основных показателей качества сырья описаны выше в главе 5, раздел 5.1. Для проведения испытания на подлинность основной группы веществ предлагается проводить ТСХ:

Тонкослойная хроматография.

Пластинка. ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

Подвижная фаза (ПФ): *n*-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (5:1:3).

Раствор стандартного образца лютеолин-7-глюкозида.

Около 5 мг лютеолин-7-глюкозида растворяют в 10 мл спирта этилового 70%.

Испытуемый раствор. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1,0 г помещают в коническую колбу на 100 мл, прибавляют 20 мл спирта 70%, нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 30 минут. После охлаждения до комнатной температуры полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр.

На линию старта пластинки капилляром наносят 20 мкл извлечения и по 10 мкл 0,05% растворов СО апигенина, лютеолина, лютеолин-7-глюкозида, рутина. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в предварительно насыщенную смесью растворителей камеру и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 10 см, пластинку вынимают, подсушивают при комнатной температуре 10 минут и затем просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм в течение 2 минут. В результате на хроматограмме обнаруживается пятна, предположительно с R_f около 0,83 апигенин, с R_f около 0,88 лютеолин, с R_f около 0,74 лютеолин-7-глюкозид и с R_f около 0,57 рутин. После проявления пластинки 5% спиртовым раствором алюминия хлорида происходит изменение окраски.

Примечание:

1. Подготовка пластинок. Пластины «*Sorbfil ПТСХ-II-A-УФ*» вырезают размером 14 на 5 см, наносят линию старта на расстоянии 1 см от края и перед использованием активируют в сушильном шкафу при 100-105 °С в течение 1 часа.

2. Приготовление системы растворителей для хроматографирования. Для проведения ТСХ-анализа рекомендуется система *n*-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (5:1:3). Система используется свежеприготовленная. Насыщение камеры для хроматографирования системой растворителей в течение 1 часа.

3. Приготовление раствора проявителя. 5,4 г алюминия хлорида 6-водного растворяют в 80 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки, перемешивают.

4. Приготовление растворов сравнения.

Растворы рутина, лютеолин-7-глюкозида, лютеолина, апигенина: около 0,05 г (точная навеска) СО, предварительно высушенного при температуре 130-135°С в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают. Срок годности раствора 1 месяц.

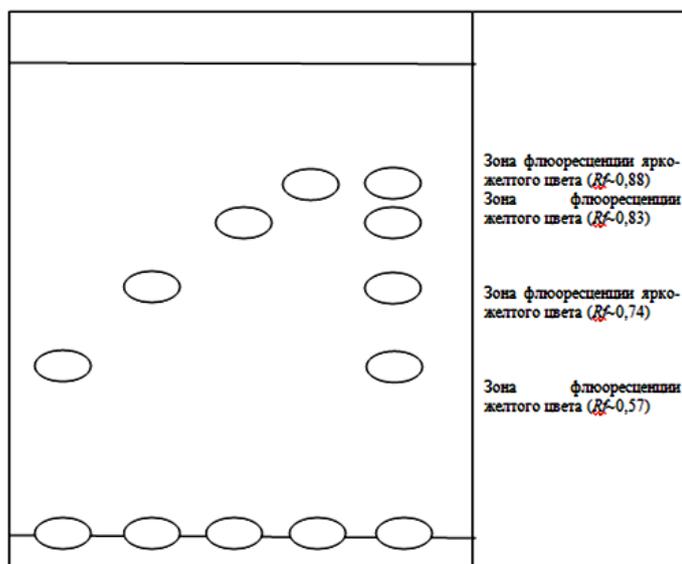


Рисунок 37 - Схема ТСХ-анализа флавоноидов травы ярутки полевой в системе «*n*-бутанол – ледяная уксусная кислота - вода» (5:1:3): 1 – СО рутин; 2 – СО лютеолин-7-глюкозид; 3 - СО апигенин; 4 – СО лютеолин; 5 – испытуемый раствор

Для установления оптимальных сроков заготовки лекарственного сырья полевой ярутки изучена динамика накопления основной группы биологически активных веществ в различных фазах вегетации растения (таблица 22). Для выполнения этих исследований в Уфимском районе Республики Башкортостан были собраны образцы сырья ярутки полевой, заготовленного в разные фазы вегетации и в разные годы подготовки.

Таблица 22 – Содержание суммы флавоноидов при пересчете на лютеолин-7-глюкозид в траве ярутки полевой в различные фазы вегетации

№	Место заготовки сырья и год сбора	f	X_{cp}	$S_{\bar{x}}$	P, %	t(P,f)	$\Delta \bar{x}$	$\varepsilon, \%$
1.	Республика Башкортостан, Уфимский район, 2023 год, май, фаза бутонизации, начала цветения	5	1,35	0,0179	95	2,78	0,05	3,70
2.	Республика Башкортостан	5	1,48	0,0252	95	2,78	0,07	4,73

	Уфимский район, 2023 год, июнь-июль, фаза цветения							
3.	Республика Башкортостан Уфимский район, 2023 год, июль-август, фаза плодоношения	5	1,26	0,0144	95	2,78	0,04	3,17

Таблица 23 – Критерии подлинности и качества травы ярутки полевой

Показатели	Методы анализа	Нормы содержания
Внешние признаки	ГФ РФ XV издания, визуально с помощью лупы или стереомикроскопа, ОФС.1.5.1.0002	смесь кусочков листьев различной формы, стеблей, цветков, стручков, проходящих сквозь сито диаметром 7 мм; цвет от зеленого до темно-зеленого, цветки белые; запах слабый; вкус горьковатый
Микроскопия	ГФ РФ XV издания, ОФС.1.5.3.0003	характерные диагностические признаки травы ярутки полевой
Качественные реакции	Цветная реакция с раствором алюминия хлорида (III) спиртовым	Желто-зеленое окрашивание (флавоноиды)
	ТСХ	соответствует ФС
Числовые показатели: Измельченное сырье	Спектрофотометрия: содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид	не менее 1,2%

Влажность	ГФ РФ XV издания, ОФС.1.5.3.0007	не более 12%
Зола общая	ГФ РФ XV издания, ОФС.1.2.2.2.0013	не более 10%
Зола, не растворимая в хлористоводородной кислоте	ГФ РФ XV издания, ОФС.1.5.2.0005	не более 2%
Частиц, не проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 7 мм	ГФ РФ XV издания, ОФС.1.5.3.0004	не более 5%
Частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 0,5 мм	ГФ РФ XV издания, ОФС.1.5.3.0004	не более 5%
Органические примеси	ГФ РФ XV издания, ОФС.1.5.3.0004	не более 2%
Корни (в том числе отделенные при анализе)	ГФ РФ XV издания, ОФС.1.5.3.0004	не более 3%
Минеральные примеси	ГФ РФ XV издания, ОФС.1.5.3.0004	не более 1%
Определение содержания радионуклидов	ГФ РФ XV издания, ОФС.1.5.3.0001	не более предельно допустимого содержания радионуклидов в ЛРС
Микробиологическая чистота	ГФ РФ XV издания, ОФС.1.2.4.0002	категория 4А
Упаковка	ГФ РФ V издания, ОФС.1.1.0019	в соответствии с требованиями ОФС
Хранение	ГФ РФ XV издания, ОФС.1.1.0011	в соответствии с требованиями ОФС
Срок годности		2 года

Для установления оптимальных сроков заготовки лекарственного сырья полевой ярутки изучена динамика накопления основной группы биологически активных веществ в различных фазах вегетации растения (табл.23). Для выполнения этих исследований в Уфимском районе Республики Башкортостан были собраны образцы сырья ярутки полевой, заготовленного в разные фазы вегетации и в разные годы подготовки.

Таблица 24 – Содержание суммы флавоноидов при пересчете на лютеолин-7-глюкозид в траве ярутки полевой в различные фазы вегетации

№	Место заготовки сырья и год сбора	f	X_{cp}	$S_{\bar{x}}$	P, %	t(P,f)	$\Delta \bar{x}$	$\epsilon, \%$
1.	Республика Башкортостан, Уфимский район, 2023 год, май, фаза бутонизации, начала цветения	5	1,35	0,0179	95	2,78	0,05	3,70
2.	Республика Башкортостан Уфимский район, 2023 год, июнь-июль, фаза цветения	5	1,48	0,0252	95	2,78	0,07	4,73
3.	Республика Башкортостан Уфимский район, 2023 год, июль-август, фаза плодоношения	5	1,26	0,0144	95	2,78	0,04	3,17

На основе полученных результатов можно сделать вывод, что оптимальным сроком заготовки травы ярутки полевой рекомендуется период цветения – это июнь-июль месяц.

Для определения срока годности травы ярутки полевой изучали стабильность числовых показателей исследуемых образцов путем периодического и систематического контроля показателей качества (таблица 24). Анализируя обобщенные данные замечено, что исследуемые образцы сырья полевой ярутки соответствуют показателям исходного анализа и проектным нормам ФС, поэтому рекомендуемый срок годности полевой ярутки травы составляет 2 года.

Таблица 25 - Показатели качества сырья травы ярутки полевой в процессе хранения

Сырье	Дата анализа	Подлинность (ТСХ)	Содержание в процентах								Продолжительность хранения
			Флавоноиды в пересчете на лютеолин-7-глюкозид	Влажность	Зола общая	Зола, не раств. в 10 % HCl	Измельченность	Примеси			
								Органические	Минеральные	Корней	
1	2	3	5	6	7	8	10	11	12		13
Ярутка полевая (Республика Башкортостан, Уфимский район)	10.2019	Соотв.	1,44	7,53	8,76	1,92	Соотв.	1,66	0,75	1,65	исх.
	10.2020	То же	1,45	7,48	8,74	1,90	То же	1,58	0,72	1,71	1 год
	10.2021	-«-	1,43	7,21	8,71	1,85	-«-	1,52	0,68	1,54	2 года
	10.2022	-«-	1,22	7,17	8,67	1,81	-«-	1,35	0,61	1,48	3 года
	10.2023	-«-	1,08	6,98	8,65	1,76	-«-	1,31	0,56	1,52	4 года

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 5:

1. Определены критерии подлинности и показатели качества доброкачественности травы ярутки полевой.

2. Проработана и реализована методика определения количества суммы флавоноидов при пересчете на лютеолин-7-глюкозид в траве ярутки полевой и установлена норма их содержания. Проведена валидационная оценка предлагаемой методики определения количеств, которая показала следование критериям правильности, прецизионности, линейности и специфичности.

3. Изучены тенденции накопления флавоноидов в траве ярутки полевой и определен необходимый период заготовки сырья – в фазу цветения (июнь-июль). Рассмотрена устойчивость показателей качества в процессе хранения сырья ярутки и установлен срок годности сырья «Ярутки полевой трава» - 2 года.

4. Разработаны параметры подлинности и качества травы ярутки полевой и нормативы содержания показателей для включения их в проект регламентационной документации: влажность не более 12%; зола общая не более 10%; зола, нерастворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты не более 2%; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями 7 мм – не более 5%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм – не более 5%; органической примеси не более 2%; примеси корней – не более 3%; минеральной примеси - не более 1%; содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид не менее 1,2%.

5. Предложен и проработан проект нормативной фармакопейной статьи «Ярутки полевой трава».

ГЛАВА 6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТРАВЫ ЯРУТКИ ПОЛЕВОЙ (*THLASPI ARVENSE* L.)

6.1 Острая токсичность

Извлечения (спиртовое и водное ярутки 1:10) вводили внутрижелудочно в дозах 1000, 3000 и 5000 мг/кг. Вводя однократно исследуемые извлечения мышам размещали в отдельные самостоятельные прозрачные короба с множеством круглых отверстий. В течение первых 24 часов после введения растворов за мышами вели пристальное наблюдение. Через сутки после введения тестируемого вещества животных пересаживали в клетки со свободным доступом к поилкам и корму. Общая длительность наблюдения за животными при изучении острой токсичности составляла 14 суток.

При наблюдении за мышами после введения исследуемых извлечений в последующие дни изменений в поведении не отмечено. Мыши активно передвигались в клетке, реагировали на звуковые и тактильные раздражители. Отсроченной гибели не зарегистрировано (таблица 25). Различий в эффекте в зависимости от пола не наблюдалось.

Таблица 26 - Показатели острой токсичности водного и спиртового извлечений ярутки полевой при внутрижелудочном введении мышам

Доза, мг/кг	Группа	Пол, n=10	Эффект абс (%)
1000	Спиртовое извлечение из травы ярутки	М	0 (0)
		Ж	0 (0)
3000	Спиртовое извлечение из травы ярутки	М	0 (0)
		Ж	0 (0)
5000	Спиртовое извлечение из травы ярутки	М	0 (0)
		Ж	0 (0)
1000	Водное извлечение из травы ярутки	М	0 (0)
		Ж	0 (0)
3000	Водное извлечение из травы ярутки	М	0 (0)
		Ж	0 (0)
5000	Водное извлечение из травы ярутки	М	0 (0)
		Ж	0 (0)

Принимая во внимание факт отсутствия гибели животных в дозе 5000 мг/кг, исследуемые экстракты согласно ГОСТ 12.1.007-76 могут быть отнесены к 4 классу опасности (малоопасные вещества).

6.2. Противовоспалительная активность

Оценка противовоспалительного действия водных и спиртовых извлечений из травы ярутки полевой была осуществлена в рамках диссертационной работы. Обобщенные заключительные данные приведены в таблице 26. Снижение воспалительной реакции идентифицировали по снижению отечности лапки у крыс рассматриваемых извлечений из ярутки полевой сравнительно к данным контрольной группы и препарата-эталона. Об обширности воспаления анализировали по проценту ингибирования отека на пике.

Таблица 27 – Показатели противовоспалительной активности экстрактов из травы ярутки полевой, Me (25-75)

Препарат	Число животных	Диаметр лапки (мм)			Выраженность воспалительной реакции, %		Угнетение отека на пике воспаления, %
		0ч	4ч	24ч	4ч	24ч	
Контроль	10	2,9 (2,9-3,4)	4,7(4,3-4,7) ^a	4,1 (3,6-4,1) ^a	62,07±5,68	41,38±4,12	-
Водное извлечение из травы ярутки	10	2,9 (2,7-3,3)	3,8 (3,7-4,1) ^{*, a}	3,2 (2,9-3,4) [*]	31,03±3,04	10,34±1,02	50,02
Спиртовое извлечение из травы ярутки	10	3,0 (2,7-3,4)	3,6 (3,4-4,0) ^{*, a}	3,3 (3,1-3,5) [*]	20,01±1,96	10,02±0,94	66,67
Диклофенак натрия, 10 мг/кг	10	3,0 (2,7-3,2)	3,5 (3,3-3,9) ^{*, a}	3,2 (2,9-3,6) [*]	16,67±1,62	6,67±0,65	72,22

Приведены медиана и межквартильный интервал по результатам 10 измерений. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,001$ - в сравнении с контролем по соответствующему времени; ^a $p \leq 0,05$ - 0ч vs 4ч и 24ч.

По полученным заключительным данным эксперимента было определено, что извлечения из травы ярутки полевой снижают площадь отечности на пике её развития (4 ч). Индекс ингибирования отека на пике воспаления спиртового экстракта травы ярутки полевой составил 66,67%, что было сопоставимо с препаратом сравнения – диклофенаком натрия (72,22%), а индекс водного экстракта был ниже и составил 50,02%. К концу опыта (24 ч) выраженность воспалительной реакции снижалась в двух исследуемых группах, что свидетельствовало о торможении экссудативной фазы воспаления, но более выраженные показатели отмечались при использовании спиртового экстракта травы ярутки полевой.

6.3 Антиоксидантная активность

В рамках проведенного исследования нами была изучена антиоксидантная активность водных и спиртовых извлечений из травы ярутки полевой в соответствии с методикой, приведенной в главе 2, раздел 2.2.3.

Результаты исследования приведены в таблице 28.

Таблица 28 - Влияние извлечений из травы ярутки полевой и аскорбиновой кислоты на показатели хемиллюминесценции на модельных системах перекисного окисления липидов (I) и активности макрофагов крови (II), % к контролю

№	Объект исследования	Модель	Светосумма	Максимальная интенсивность свечения
1	Спиртовое извлечение из травы ярутки	I	- 22,4 (17,8-24,5) ** ^a	- 17,5(16,7-19,3) ** ^a
		II	- 50,5 (44,7-52,1) ** ^a	- 14,9 (12,7-15,2) ** ^a
2	Водное извлечение из травы ярутки	I	- 14,5 (11,7-15,4) ^{*^a}	- 10,4 (9,5-16,5) ^{*^a}
		II	- 30,3 (28,1-32,5)** ^a	- 8,5 (7,4-11,3) ^{*^a}
3	Аскорбиновая кислота	I	- 84,5 (79,3-87,1)**	- 91,7 (82,3-95,2)**
		II	- 78,1 (70,4-82,4)**	- 86,8 (80,3-92,1)**

Приведены медиана и межквартильный интервал по результатам 6 измерений. * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,001$ - в сравнении с контролем; ^a $p \leq 0,05$ - в сравнении с аскорбиновой кислотой.

В результате установлено, что исследуемые водные и спиртовые извлечения из травы ярутки полевой проявляют антиоксидантную активность как в системе модельного индуцирования активных форм кислорода (I), так и перекисного липидного окисления (II). Итоговые данные спиртового извлечения их ярутки показали более близкие значения с препаратом-эталоном как в системе АФК, так и системе ПОЛ: аскорбиновая кислота ингибировала генерацию АФК на 84,5% и резко замедляла скорость ПОЛ на 78,1%, спиртовой экстракт ярутки полевой уменьшал генерацию АФК на 22,4% и снижал скорость ПОЛ на 50,5%. Показатели водного экстракта в большей степени отличались от препарата сравнения, уменьшая генерацию АФК на 14,5% и снижая скорость ПОЛ на 30,3%. Таким образом, в условиях *in vitro* спиртовой экстракт из травы ярутки полевой проявлял более выраженную антиоксидантную активность, чем водный.

6.4 Антиагрегантная и антикоагуляционная активности

В рамках проведенного исследования нами была изучена антиагрегантная и антикоагуляционная активности извлечений из травы ярутки полевой.

Показатели антиагрегационной активности извлечений травы ярутки полевой и препаратов сравнения представлены в таблице 29.

Таблица 29 - Влияние извлечений из травы ярутки полевой и препаратов сравнения на показатели агрегации тромбоцитов, Ме (0,25-0,75)

№	Объект исследования	Латентный период, % к контролю	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Время достижения МА, % к контролю	Дезагрегация, % к контролю
1.	Водное извлечение из травы ярутки	+4,2 (2,4-6,3)††,#	-12,5 (9,3-13,7)*,††	-2,4 (1,3-3,5)††,#	+11,8 (7,4-14,7)*,††	0,0 (0,0-0,0)††
2.	Спиртовое извлечение из травы	+6,5 (4,1-8,5)*,††,#	-12,0 (9,4-13,1)*,††	-2,0 (1,1-2,7)††, #	+13,5 (9,2-14,7)*,††, #	0,0 (0,0-0,0)††

	ярутки					
3.	Ацетилсалициловая кислота	-2,1 (1,1-2,6)††	-13,7 (10,8-16,4)*,††	-10,5 (7,6-12,3)*,††	+10,5 (8,7-13,4)*,††	0,0 (0,0-0,0)††
4.	Пентоксифиллин	+32,4(28,7-35,6)*	-48,4 (42,7-56,5)**	- 34,9(28,7-39,6)**	+ 32,1 (27,6-32,4)**	13,6(11,2-16,8)**

*Примечание: Латентный период представлен для агрегации тромбоцитов, индуцированной коллагеном, остальные параметры для АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. *p≤0.05, **p≤0.001 - в сравнении с контролем; †p≤0.05, ††p≤0.001 - в сравнении с пентоксифиллином; #p≤0.05, ##p≤0.001 - в сравнении с ацетилсалициловой кислотой (n=6).*

В результате установлено, что водные и спиртовые извлечения травы ярутки полевой уменьшают максимальную амплитуду агрегации тромбоцитов на уровне с препаратом сравнения ацетилсалициловой кислотой (водное - на 12,5%, спиртовое - на 12,0%, ацетилсалициловая кислота на 13,7%), а препарат сравнения - пентоксифиллин на 48,4%. Следовательно, извлечения из травы ярутки полевой проявляют антиагрегационную активность, сопоставимую с показателями активности ацетилсалициловой кислоты. Исследуемые образцы увеличивают латентный период агрегации тромбоцитов: водное извлечение на 4,2%, спиртовое - на 6,5%, а препарат сравнения пентоксифиллин - на 32,4%, в то время как препарат сравнения ацетилсалициловая кислота уменьшает этот показатель (на 2,1%). Извлечения из травы ярутки полевой оказывали влияние на скорость агрегации тромбоцитов снижая ее: водное - на 2,4%, спиртовое - на 2,0%, в то время как препараты сравнения снижали - на 10,5% ацетилсалициловая кислота и на 34,9% пентоксифиллин. По показателю время достижения максимальной амплитуды водное (11,8%) и спиртовое (13,5%) извлечения из травы ярутки полевой превосходили препарат сравнения ацетилсалициловую кислоту, но отличались от значений пентоксифиллина (32,1%). В присутствии исследуемых извлечений ярутки полевой, как и препарата сравнения - ацетилсалициловой кислотой, не наблюдалась дезагрегация тромбоцитов, в отличие от препарата сравнения -

пентоксифиллина. Таким образом, установлено, что более выражено проявляет антиагрегационную активность спиртовое извлечение из травы ярутки полевой, сопоставимую с препаратом сравнения - ацетилсалициловой кислотой, а также отмечается тенденция к проявлению антикоагуляционной активности.

Показатели антикоагуляционной активности извлечений травы ярутки полевой представлены в таблице 30.

Таблица 30 - Влияние гепарина натрия и экстрактов из травы ярутки полевой на показатели плазменного звена гемостаза, Me (0,25-0,75)

№	Объект исследования	Изменение АПТВ, % к контролю	Изменение ПВ, % к контролю	Фибриноген, % к контролю
1.	Водное извлечение из травы ярутки	+ 4,7 (3,6-6,2)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)
2.	Спиртовое извлечение из травы ярутки	+ 5,3 (4,9-8,3)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)
3.	Гепарин натрия	+ 20,3 (19,7-21,4)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)

Примечание: данные достоверны в сравнении с контролем и гепарином при $p < 0,05$ ($n=6$).

Согласно полученным данным установлено, что водное и спиртовое извлечения из травы ярутки полевой показали различной степени выраженности влияние на плазменный компонент системы гемостаза, проявляющееся изменением показателя внутреннего пути свертывания крови – удлинением активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ). Гепарин натрия пролонгирует АПТВ на 20,3%, медиана удлинения АПТВ для водного экстракта травы ярутки полевой составляет 4,7%, а для спиртового экстракта травы ярутки полевой – 5,3%. Исследуемые образцы в указанной концентрации не влияли на показатель концентрации фибриногена и ПВ. Таким образом, можно говорить о тенденции к проявлению антикоагуляционной активности.

6.5 Оценка влияния на характеристики репродуктивной системы самцов крыс

В качестве объекта исследования использовали водный настой травы ярутки полевой в соотношении 1:10. Итоги исследования особенностей репродуктивного поведения животных на фоне курсового введения настоя травы ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.) представлены в таблице 31.

Таблица 31 - Показатели половой мотивации и сексуальной активности самцов крыс на фоне введения настоя травы ярутки полевой в течение 21 суток ($M \pm m$)

Группа	Латентный период первого подхода к самке, с	Количество «эмоциональных» подходов к самке, шт	Общее время ухаживания, с	Количество садок, шт
Контрольная	6,6±1,8	24,2±1,02	716,4±90,3	0,8±0,1
Опытная	4,8±1,3	29,4±1,3	1022,6±174,4*	2,7±0,2*

* - статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой при $p < 0,05$

У крыс опытной группы наблюдалось повышение процептивных и рецептивных мотиваций. Так, у самцов на фоне применения ярутки полевой определялось уменьшение на 27,3% латентного периода первого «эмоционального» подхода к интактной крысе самке, увеличение количества «эмоциональных» подходов на 24,8 % и повышение длительности периода «ухаживания» за самками на 42,2%. Исследование собственно полового поведения показало увеличение количества покрытий самок более, чем в два раза.

Результаты микроскопического исследования эякулята крыс представлены в таблице 32.

Таблица 32 - Показатели спермограммы крыс до и после применения
настоя травы ярутки полевой

Группа	Общее число сперматозоидов, млн	Патологические формы, %	Неподвижные формы, %
Контрольная	9,12±2,6	25,8±3,2	45,4±8,9
Опытная	12,5±2,4*	16,1±2,0*	31,3±5,4*
* - статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой при $p < 0,05$			

Установлено, что на фоне курсового 21-дневного курса введения настоя травы ярутки полевой у самцов опытной группы количество сперматозоидов было значительно выше, чем у крыс контрольной группы ($p < 0,05$). Одновременно с этим обнаружено значительное снижение числа патологических и неподвижных форм сперматозоидов на 38% и 31% соответственно.

При гистологическом исследовании выявлено, что структурная организация семенников крыс контрольной группы соответствовала типичной для этих животных. На гистологических препаратах четко визуализируются плотно расположенные извитые семенные каналцы округлой формы (рисунок 38А). Между петлями извитых семенных каналцев располагается интерстициальная ткань, в которой определяются гемокапилляры, обеспечивающие обмен веществ между кровью и сперматогенным эпителием, а также группы клеток Лейдига. Сперматогенный эпителий каналцев расположен на базальной мембране и образован сперматогенными клетками на разных стадиях сперматогенеза. В просвете каналцев часто определяются нормальные и зрелые сперматозоиды. Морфологическая картина семенников крыс опытной группы (рисунок 38Б) отличается значительной толщиной эпителиосперматогенного слоя, обусловленной наличием клеток всех стадий

сперматогенеза (сперматогонии, первичные сперматоциты, сперматиды, сперматозоиды). Диаметр извитых семенных канальцев крыс опытной группы был шире.

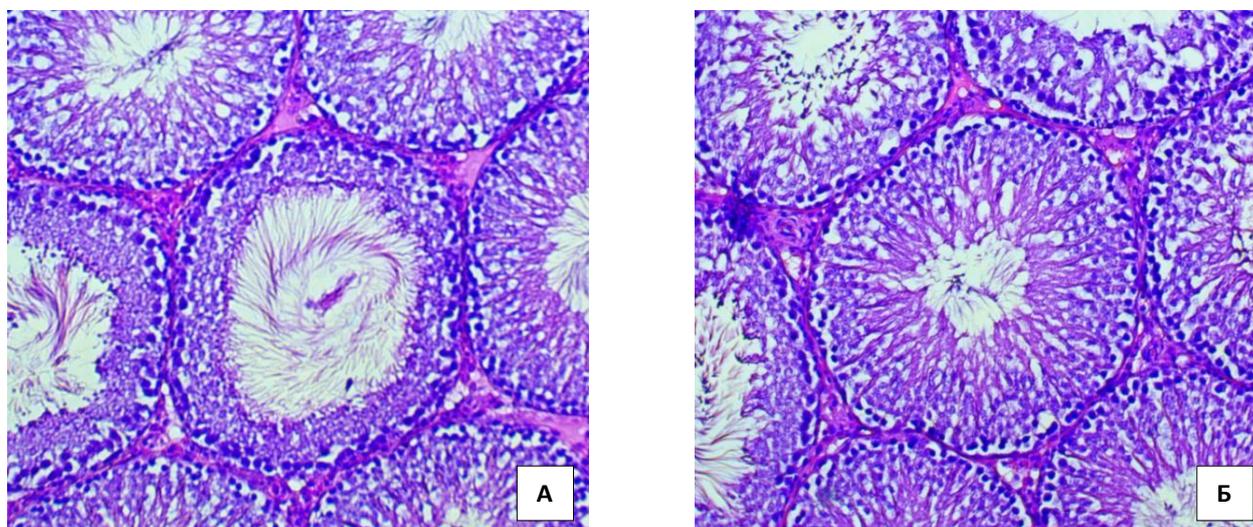


Рисунок 38 - Извитые семенные канальцы семенников крыс контрольной (А) и опытной (Б) групп животных. Окраска гематоксилин-эозином, ув.х100: 1 – интерстициальная ткань с клетками Лейдига, 2 – сперматогенный эпителий

Результаты проведенного морфометрического анализа семенников контрольной и опытной групп представлены в таблице 32.

Таблица 33 - Морфофизиологические показатели сперматогенеза крыс после курсового приема настоя травы ярутки полевой (M±m)

Наименование показателя	Контрольная группа	Опытная группа
Толщина сперматогенного эпителия (мкм)	41,79±3,36	83,76±8,6*
Диаметр поперечного сечения извитых семенных канальцев (мкм)	149,51±6,49	171,97±6,5*
Индекс сперматогенеза (число)	3,25±0,07	4,69±0,06*

* - статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой при $p < 0,05$

Морфометрические показатели (диаметр извитых семенных канальцев, высота сперматогенного эпителия, индекс сперматогенеза) на фоне

курсового приема настоя травы ярутки полевой значительно отличаются от результатов контрольной группы исследования. Толщина сперматогенного эпителия у крыс экспериментальной группы на фоне внутривенного введения настоя травы ярутки полевой увеличилась по сравнению с контрольной группой на 100% ($p < 0,05$), а диаметр поперечного сечения извитых семенных канальцев - на 15% ($p < 0,05$). В семенниках опытных крыс по сравнению с группой контроля увеличивается индекс сперматогенеза ($p < 0,05$). Этот показатель, отражающий количество генераций сперматогенных клеток в стенке извитых семенных канальцев, является важнейшим количественным показателем, характеризующим генеративную активность семенника.

Проведен иммуноферментный анализ по определению уровня тестостерона в сыворотке крови контрольной и опытной групп животных (таблица 34).

Таблица 34 - Иммуноферментные показатели концентрации тестостерона в сыворотке крови животных на фоне введения настоя травы ярутки полевой

Группа	Уровень тестостерона, нмоль/л
Контрольная	3,96±0,36
Опытная	4,89±0,43 *

* - статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой при $p < 0,05$

Результаты анализа показали увеличение концентрации тестостерона в сыворотке крови опытной группы животных под влиянием настоя травы ярутки полевой, что имеет важное значение, так как уровень тестостерона как наиболее важного андрогенного гормона оказывает прямое влияние на деление стволовых клеток и дифференцировку сперматогенных клеток. Биологически активные вещества ярутки полевой напрямую влияют на клетки Лейдига, стимулируя секрецию тестостерона, это также

подтверждают исследования последних лет, в которых указано, что входящие в состав ярутки полевой флавоноиды, производные лютеолина, являются естественными ингибиторами ароматазы, которая способствует уменьшению объема преобразования мужского гормона в эстроген и, следовательно, способствует росту тестостерона [154].

В итоге проведенного исследования можно сделать заключение о повышении фертильности крыс на фоне курсового введения настоя травы ярутки полевой, о чем свидетельствует увеличение содержания тестостерона в крови, улучшение показателей спермограммы и морфофизиологических характеристик сперматогенеза в семенниках крыс. Выявлено статистически значимое увеличение толщины сперматогенного эпителия, диаметра поперечного сечения извитых семенных канальцев и индекса сперматогенеза по сравнению с контрольной группой животных. Обобщая полученные результаты, можно отметить, что настой травы ярутки полевой оказывает положительное влияние на показатели половой мотивации и сексуальной активности самцов, протекторное действие на сперматогенез, механизм действия которого может заключаться в способности тормозить процессы перекисного окисления липидов и мембранодеструкции за счет прямого и опосредованного антиоксидантного и мембранопротекторного действия.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ 6:

1. Определена острая токсичность извлечений из травы ярутки полевой и установлено, что они относятся к классу малотоксичных соединений, что позволяет судить об их безопасности и возможности дальнейшего использования.

2. Изучена противовоспалительная активность водного и спиртового извлечения из травы ярутки полевой на скрининговой модели формалинового отека лап у мышей и установлено, что более выраженной она была для спиртового экстракта, который более активно снижал выраженность воспалительной реакции.

3. Изучена антиоксидантная активность водных и спиртовых извлечений из травы ярутки полевой и установлено, что исследуемые извлечения из травы ярутки полевой проявляют антиоксидантную активность как в модельной системе генерации активных форм кислорода, так и перекисного окисления липидов в условиях *in vitro*. Спиртовое извлечение из травы ярутки полевой проявляло более выраженную антиоксидантную активность, так как его показатели имели более близкие значения с препаратом сравнения как в системе АФК, так и системе ПОЛ, чем показатели водного экстракта.

4. Исследованы антиагрегантное и антикоагуляционное действия водного и спиртового извлечений из травы ярутки полевой. Достоверно определено, что они ингибируют максимальную амплитуду агрегации тромбоцитов сопоставимо эталонному препарату - ацетилсалициловой кислоте, продлевают латентное время агрегации тромбоцитов, проявляют влияние на скорость агрегации тромбоцитов резко замедляя ее, по показателю периода достижения максимальной амплитуды экспериментальные результаты водного и спиртового извлечений из травы ярутки полевой превосходили препарат сравнения ацетилсалициловую кислоту, но не превышали значений пентоксифиллина, не наблюдалась дезагрегация тромбоцитов, в отличие от препарата сравнения – пентоксифиллина. Более выражено проявляет антиагрегационную активность

спиртовый экстракт из травы ярутки полевой, сопоставимую с препаратом сравнения - ацетилсалициловой кислотой, а также отмечается тенденция к проявлению антикоагуляционной активности.

5. Изучено влияние водного настоя травы ярутки полевой на характеристики репродуктивной системы самцов крыс. Результаты исследования позволяют сделать вывод о повышении фертильности крыс на фоне курсового введения настоя травы ярутки полевой, о чем свидетельствует увеличение содержания тестостерона в крови, улучшения показателей спермограммы и морфофизиологических характеристик сперматогенеза в семенниках крыс. Применение настоя травы ярутки полевой оказывает простатопротекторное действие, оказывает положительное влияние на либидо, количество и подвижность сперматозоидов, выработку половых гормонов, сперматогенез, а также на гипофизарно-гонадную ось, что связано с содержанием в ней комплекса биологически активных веществ.

6. Полученные результаты позволяют сделать вывод о целесообразности дальнейшего более глубокого исследования фармакологической активности ярутки полевой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований достигнута цель работы и решены все поставленные задачи по комплексному фармакогностическому изучению ярутки полевой, содержащей богатый набор ценных биологически активных веществ, обладающих разнообразными видами фармакологической активности.

Итоги выполненного исследования:

1. В результате анализа данных литературы обобщены сведения о химическом составе и фармакологической активности ярутки полевой и показана недостаточная степень её изученности.

2. В сравнительном аспекте изучены морфолого-анатомические особенности травы ярутки полевой из различных мест естественного произрастания и установлены сопоставимые диагностически значимые признаки независимо от места произрастания, позволяющие идентифицировать сырье и определить показатели подлинности. В результате макроскопического анализа установлены морфологические особенности стеблей, листьев, цветков, плодов и семян, их запах, цвет, которые проявлялись во всех анализируемых объектах различных мест естественного произрастания и несколько отличались по форме и размерам плодов и семян. В результате микроскопического анализа установлены следующие диагностические признаки: при рассмотрении листа с верхней стороны видны изодиамитричные клетки с извилистыми стенками, устьичный аппарат анизоцитного типа, с нижней стороны - вытянутые извилистые клетки, многочисленные устьица анизоцитного типа меньшего размера, волоски отсутствуют. На поперечном срезе жилки видны мелкие коллатеральные пучки, друзы оксалата кальция. Эпидермис стебля представлен вытянутыми по длине стебля клетками, встречаются устьица, на поперечном срезе визуализируются эпидерма с кутикулой, склеренхима, лубяные волокна, хлоренхима, уголковая колленхима, клетки эндодермы, открытые коллатеральные пучки, паренхима сердцевинны. Клетки лепестков

цветка извилистые вытянутые, имеются устьяца, пыльцевые зерна. При рассмотрении плодов отмечается складчатость кутикулы, в семенах видны многоугольные клетки с каплями жирного масла, каменистые клетки.

3. Изучен химический состав травы ярутки полевой с использованием современных физико-химических методов. Установлено присутствие в ярутке полевой основных метаболитов (аскорбиновая кислота, витамин К, органические кислоты, полисахаридный комплекс, высшие жирные кислоты (пальмитиновая, стерариновая, оленовая, бегеновая, эруковая) и вторичных метаболитов (флавоноиды: апигенин, лютеолин, лютеолин-7-глюкозид, рутин; гидроксикоричные кислоты: хлорогеновая, кофейная, феруловая кислоты; кумарины (кумарин, скополетин); дубильные вещества, тритерпеновые соединения (β -эсцин, урсоловая кислота); аллилглюкозинолат (синигрин)); обнаружены фитол, γ -ситостерол, изучен элементный состав.

4. В сравнительном аспекте изучено количественное содержание отдельных групп биологически активных веществ в траве ярутки полевой различных мест произрастания, содержание которых варьирует в следующих пределах: аскорбиновой кислоты ($1,16 \pm 0,03\% \sim 1,46 \pm 0,06\%$), витамина К ($0,210 \pm 0,008\% \sim 0,360 \pm 0,017\%$), суммы органических кислот в пересчете на яблочную кислоту ($2,28 \pm 0,08\% \sim 2,67 \pm 0,12\%$), полисахаридного комплекса (водорастворимые полисахариды - $8,75 \pm 0,38\%$, пектиновые вещества - $7,36 \pm 0,29\%$, гемицеллюлоза А - $15,42 \pm 0,68\%$ и гемицеллюлоза Б - $6,83 \pm 0,24\%$), суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид ($1,26 \pm 0,05\% \sim 1,58 \pm 0,07\%$), суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на хлорогеновую кислоту ($3,98 \pm 0,14\% \sim 4,86 \pm 0,21\%$), суммы кумаринов в пересчете на кумарин ($0,46 \pm 0,02\% \sim 0,87 \pm 0,04\%$), суммы дубильных веществ в пересчете на танин ($3,87 \pm 0,13\% \sim 4,56 \pm 0,18\%$), суммы сапонинов в пересчете на β -эсцин ($1,27 \pm 0,04\% \sim 1,74 \pm 0,08\%$), эссенциальных микроэлементов.

5. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в траве ярутки полевой в пересчете на лютеолин-7-глюкозид. Проведена ее валидационная оценка, которая показала соответствие критериям правильности, прецизионности, линейности и специфичности.

6. Установлены критерии подлинности и показатели качества травы ярутки полевой и предложены нормы их содержания: влажность не более 12%; зола общая не более 10%; зола, нерастворимая в 10% растворе хлористоводородной кислоты не более 2%; частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями 7 мм – не более 5%; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм – не более 5%; органической примеси не более 2%; примеси корней – не более 3%; минеральной примеси не более 1%; содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-глюкозид не менее 1,2%.

7. Изучена стабильность показателей качества в процессе хранения сырья и установлен срок годности сырья «Ярутки полевой трава» - 2 года.

8. Изучена фармакологическая активность водных и спиртовых извлечений из травы ярутки полевой и установлена антиоксидантная, противовоспалительная, антиагрегантная и антикоагуляционная активности, показано положительное влияние на характеристики репродуктивной системы самцов крыс, определена острая токсичность и установлено, что извлечения из травы ярутки полевой относятся к классу малотоксичных соединений.

9. Разработан проект фармакопейной статьи «Ярутки полевой трава».

Практические рекомендации

Результаты диссертационного исследования по разработке показателей подлинности и качества травы ярутки полевой, методики качественного и количественного анализа биологически активных веществ могут быть использованы в учебном процессе при изучении вопросов стандартизации лекарственного растительного сырья, в центрах контроля качества лекарственных средств. Результаты изучения фармакологической активности

ярутки полевой подтверждают целесообразность ее дальнейшего изучения для обоснования возможности применения в научной медицине.

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в поиске и разработке новых лекарственных растительных средств из числа малоизученных растений, применяемых в нетрадиционной медицине для расширения ассортимента лекарственных средств растительного происхождения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АФК	Активные формы кислорода
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
КОЕ	Колониеобразующая единица
МС	Модельная система
ПОЛ	Перекисное окисление липидов
РНК	Рибонуклеиновая кислота
СО	Стандартный образец
ТСХ	Тонкослойная хроматография
IC ₅₀	Концентрация полумаксимального ингибирования
ED ₅₀	Полуэффективная доза

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ лекарственных растений из флоры Башкортостана на содержание биологически активных веществ / К.А. Пупыкина, Е.В. Красюк, А.Р. Казеева [и др.] // Вестник Башкирского государственного медицинского университета. - 2014. - № 6. - С. 66-69.
2. Авдеева, Е.Ю. Динамика содержания флавоноидов и фенолокислот в надземной части *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. (Rosaceae)/Е.Ю. Авдеева, Е.А. Краснов, И.В. Шилова // Растительные ресурсы. – 2009, №1. – С.107-112.
3. Андрияненко, А.В. Динамика маркеров воспаления под влиянием густого экстракта ярутки полевой при экспериментальном простатите у крыс / А.В. Андрияненко, А.В. Зайченко, Н.В. Панков // Украинский биофармацевтический журнал. – 2013. - №1(24). – С. 43-46.
4. Андрияненко А.В. Изучение фармакологической эффективности густых экстрактов Ярутки полевой и Эспарцета песчаного на модели доброкачественной гиперплазии предстательной железы у крыс / А.В. Андрияненко // ScienceRise. - 2015. - № 4. - С. 46–51.
5. Багирова, В.Л. О стандартизации лекарственных средств на современном этапе / В.Л. Багирова, Е.Л. Ковалева, Н.П. Садчикова // Химико-фармацевтический журнал – 2000. – № 11. – С. 46-47.
6. Барнаулов О. Д. Фитотерапия при импотенции: обзор лекарственных растений и их композиций, применяемых для профилактики и лечения нарушений репродуктивных функций у мужчин. СПб.: Изд-во Н.-Л.; 2012. 416 с.
7. Белоусова, М.П. Микроморфологическое исследование ярутки пронзеннолистной *Thlaspi perfoliatum* L. / М.П. Белоусова, Е.Н. Хромцова // Молодежный научный форум: Естественные и медицинские науки. Электронный сборник статей по материалам XLIX студенческой международной заочной научно-практической конференции. – Москва: Изд. «МЦНО». – 2017. – № 9 (48). - С. 5-9. [Электронный ресурс] – Режим доступа. – URL: [http://www.nauchforum.ru/archive/MNF_nature/9\(48\).p](http://www.nauchforum.ru/archive/MNF_nature/9(48).p).

8. Беляков, К.В. Методологические подходы к определению биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье спектрофотометрическим методом / К.В. Беляков. - М., 2004. - 188 с.
9. Биологически активные вещества растительного происхождения: в 3 т. / Б.Н. Головкин, Р.Н. Руденская, И.А. Трофимова [и др.] - М.: Наука, 2001. – Т.1. – 350 с.
10. Блок, Г. Фрукты, овощи и профилактика онкологических заболеваний: обзор эпидемиологических данных / Г. Блок, В. Паттерсон, А. Субар// Институт онкологических заболеваний. -Дж. Ната. -1992. -№18. -Р.1-29.
11. Браузи М. Тренды фармакотерапии в урологии. Инновации и обращение к прошлому. *Эффективная фармакотерапия*. 2016;23:32-33. EDN WHOVWN.
12. Бубенчикова, В.Н. Разработка и валидация методики количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в траве хондриллы ситниковидной / В.Н.Бубенчикова, В.Н. Левченко // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. 2015. №16 (213). Выпуск 31. С.168-173
13. Бубенчиков, Р. А. Фитохимическое изучение травы кульбабы осенней (*Leontodon autumnalis* L.)/ Р. А. Бубенчиков, Н. Н. Гончаров, Ю. А. Мاستихина// Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2015. – №1. – С. 41-43.
14. Галимов Ш. Н., Громенко Д. С., Юлдашев В. Л. [и др.] Азбука мужского здоровья. Уфа: ДизайнПолиграфСервис; 2009. 24 с.
15. Гармонизация подходов к оценке безопасности состава лекарственных растительных препаратов / О.И. Терёшкина, И.А. Самылина, И.П.Рудакова [и др.] // Биомедицина. – 2011. - № 3. - С. 80-86.
16. Гарсия, Е.Р. Количественный анализ углеводного комплекса травы татарника колючего / Е.Р. Гарсия, Д.А. Коновалов // 4 Гаммермановские чтения: сб. науч. тр. 30-31 янв. 2019 г. – М., 2018. – С. 74-76
17. Георгиевский, В.П. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / В.П. Георгиевский ; под ред. В.П. Георгиевского. – НТМТ, 2011. – Т. 2. – 474 с.

18. Георгиевский, В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комисаренко, С.Е. Дмитрук. - Новосибирск: Наука, 1990. - 333 с.
19. Гетманенко А.Ю., Бугаева Л.И., Спасов А.А., Лебедева С.А., Кузубова Е.А., Мальцев М. С. Исследование полового поведения и сперматогенеза у крыс-самцов с экспериментальным дефицитом магния. Вестник ВолгГМУ.2016; 4 (60): 20-23.
20. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. - М.: Практика, 1998. - 459 с.
21. Горин, А.Г. Получение и фитохимическое исследование полисахаридов из лекарственных растений / А.Г. Горин // Всероссийский съезд фармацевтов. – Свердловск, 1975. – С. 313-314
22. Государственная Фармакопея Российской Федерации, XIV издание, Том II. Формы лекарственных средств, Лекарственное растительное сырье, Радиофармацевтические /Геннотерапевтические/ Биологические/ Гомеопатические лекарственные препараты и методы их анализа. - М.: «Медицина», 2018.– Режим доступа:<http://docs.ruscml.ru/feml/pharma/v14/vol 2/>.
23. Государственная Фармакопея Российской Федерации, XIV издание, Том I. Введение, Общие положения, Методы анализа лекарственных средств. Реактивы. – Министерство здравоохранения Российской Федерации. - М.: Медицина, 2018. – <http://docs.ruscml.ru/feml/pharma/v14/vol 1/> (дата обращения 09.12.2023).
24. Государственная Фармакопея Российской Федерации, XIV издание, Том IV. Биологические лекарственные препараты, Растительные средства и препараты, Гомеопатические фармацевтические субстанции. - М.: «Медицина», 2018. –Режим доступа:<http://docs.ruscml.ru/feml/pharma/v14/vol 4/>.
25. Гринкевич, Н.И. Химический анализ лекарственных растений / Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронович. - М. : Высшая школа, 1983. – 176 с.
26. Дорофеев В.И. Крестоцветные (Cruciferae Juss.) Европейской России / В.И. Дорофеев // Turczaninowia. 2002. Т.5, №3. С. 5-114.

27. Егорова, Т.В. Ярутка / Т. В. Егорова // Энциклопедия - Яя. - М.: Советская энциклопедия, 1978. - Т. 30. - С. 572.
28. Ефремов, А. П. Лекарственные растения и грибы средней полосы России. Полный атлас-определитель. С. 602
29. Жигунова С.Н. Анализ лекарственной флоры республики Башкортостан / С.Н. Жигунова // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2018. – Т. 27, № 4(1). – С. 109-117.
30. Жилиякова, Е.Т. Применение принципа подобия при разработке составов лекарственных средств с использованием лекарственного растительного сырья / Е.Т. Жилиякова, К.С. Кривцова, О.О. Новиков // Научный результат. Серия: Медицина и фармация. - 2016. - Т. 2, № 3. - С. 49- 55.
31. Журавлева П. И. Морфолого-анатомическое исследование Ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.) / Журавлева П. И., Рыжов В. М., Тарасенко Л. В. // Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы. Сборник материалов. ФГБОУ ВО Самарский государственный медицинский университет Минздрава России; под редакцией В.А. Куркина. - 2017. - С. 82-91.
32. Зайченко, А. В. Эффективность лекарственных средств Доклиническое изучение эффективности густого экстракта ярутки полевой на модели криотравматического простатита у крыс / А. В. Зайченко, А. В. Андриянчиков // Лекарственные препараты и рациональная фармакотерапия. – 2012. – № 1. – С. 16-21.
33. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные) / И.А. Губанов, К.В. Киселёва, В.С. Новиков, В.Н. Тихомиров. - М.: Изд-во КМК, Институт технологических исследований, 2004. - Т.3. - 520 с.
34. И-Сан Лин, Р. Биохимические вещества и антиоксиданты / В кн.: Функциональные пищевые продукты: лечебные пищевые продукты, биологически активные вещества растительного происхождения, под ред. Голдберг. И. -Нью-Йорк: Чапмен энд Холл и Зал. -1994. - С. 435-449.

35. Кавтарадзе, Н. Ш. Хроматоспектрофотометрический метод количественного определения витамина К1 в листьях *Urtica dioica* L. / Н. Ш. Кавтарадзе, М. Д. Алания // Раст. ресурсы. – 2002. – Т. 38, вып. 4.
36. Киселева, Т.Л. Разработка методологических подходов к созданию лекарственных средств природного происхождения на основе опыта традиционной медицины России: автореф. дис. ... д-ра фарм. наук : 15.00.02 / Т.Л. Киселева - Санкт-Петербург, 2000. – 44 с.
37. Козарь, Е.Г. Биогическая активность вторичных метаболитов растений семейства *Brassicaceae* / Е.Г. Козарь // Овощи России. - 2011. - №1(10). – С.46-53.
38. Кондратьев М.Н. Потенциальные биогербицидные свойства некоторых лекарственных растений / Кондратьев М.Н., Ларикова Ю.С., Давыдова А.Н. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии - 2016. - Т.19, № 6. - С. 62–67.
39. Копейка В.И. Семейный справочник лекарственных растений. Донецк: ООО «ПКФ БАО» 2009. 224 с.
40. Корепанова, Н.С. Сравнительное фармакогностическое изучение ярутки полевой и пастушьей сумки / Н.С. Корепанова., М.Н. Козицына // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии, 2007. №2. – С.242-245.
41. Королева, Е.Ф. Анализ действующих веществ разных органов ярутки полевой в сравнительном аспекте / Е.Ф. Королева, К.А. Пупыкина, Б.Р. Хамидуллин //Казахский журнал медицины и фармации. 2023. IV выпуск С.42-46
42. Королева, Е.Ф. Изучение гидроксикоричных кислот травы ярутки полевой / Е.Ф. Королева, К.А. Пупыкина // Вестник Южно-Казахстанской медицинской академии / Материалы IX международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» 8-9 декабря 2022 года. – Шымкент. – 2022. - № 4(98). - Т. VII. – С.89

43. Королева, Е.Ф. Изучение показателей качества сырья ярутки полевой из флоры Башкортостана / Е.Ф. Королева, Е.В. Красюк, К.А. Пупыкина, Р.Г. Фархутдинов // Вестник Южно-Казахстанской медицинской академии / Материалы VIII международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» 9-10 декабря 2021 года. – Шымкент. – 2021. - № 4(94). - Т. IV. – С. 114-115
44. Королева, Е.Ф. Изучение фенольных соединений ярутки полевой / Е.Ф. Королева, К.А. Пупыкина, Р.Г. Фархутдинов // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: Сборник материалов XI Международного симпозиума, Москва, 11-15 апреля 2022 года / Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. – Москва: Издательство «Перо», 2022. – С. 191
45. Королева, Е.Ф. Микроэлементный состав травы ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.) различных мест произрастания / Е.Ф. Королева, К.А. Пупыкина, И.В. Михайлова // Башкирский химический журнал. – 2023. Т. 30, № 3. – С. 127-129.
46. Королева, Е.Ф. Перспективы использования травы ярутки полевой / Е.Ф. Королева, К.А. Пупыкина, Р.Г. Фархутдинов, А.М. Федорова, Е.В. Красюк, П.А. Ахмадиев // Альманах XIX Санкт-Петербургских фитотерапевтических чтений. – Санкт-Петербург, 2022. – С. 78-95.
47. Королева, Е.Ф. Фитохимическое изучение ярутки (*Thlaspi arvense* L.) / Е.Ф. Королева, К.А. Пупыкина // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств: Сборник трудов 9-ой Международной научно-методической конференции. Посвящается 25-летию создания фармацевтического факультета в Воронежском государственном университете, Воронеж, 28-29 сентября 2023 года / Под общей редакцией А.С. Беленовой, А.А. Гудковой, Н.А. Дьяковой. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2023. – С. 360-364

48. Королева, Е.Ф. Химический анализ травы ярутки полевой / Е.Ф. Королева, К.А. Пупыкина // Материалы студенческой научно-практической конференции с международным участием «Фармация-движение вперед!». - Казахстан, Караганда, 13-14 апреля, 2023 г. – С. 97-99
49. Королева, Е.Ф. Хроматоденситометрический анализ фенольных соединений травы ярутки полевой / Е.Ф. Королева, К.А. Пупыкина // Сборник тезисов Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 15-летию создания фармацевтического отделения на факультете фундаментальной медицины МГУ «Образование и наука – стратегическая платформа для будущего Фармации». – Москва: РУДН, 2023. – С. 83-85.
50. Кочетков, Н.К. Химия углеводов / Н.К. Кочетков. – М.: Химия, 1967. – 672 с.
51. Кроткова, О.А. Сравнительное изучение липофильных веществ растений рода *Euphrasia* L. / О. А. Кроткова, Т. В. Бомбела, В. М. Петриченко // Химия растительного сырья. – Пермь. – 2014. - №1. – С. 147 – 151.
52. Кудашкина, Н.В. Фитохимический анализ: учеб. пособие по фармакогнозии для студентов. / Н.В. Кудашкина, С.Р. Хасанова, С.А. Мещерякова. - Уфа.: Изд-во ГОУ ВПО БГМУ РОСЗДРАВа, 2007. - 281с.
53. Куркин В.А. Фармакогнозия. – Самара: ООО «Офорт», 2004. – 1180 с.
54. Куркин, В.А. Фенилпропаноиды как важнейшая группа биологически активных соединений лекарственных растений. - Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – No 12 (часть 7) – С. 1338-1342.
55. Лекарственные средства растительного происхождения в современных лекарственных формах: характеристика и классификация / И.В. Сакаева, Н.Д. Бунятян, Е.И. Саканян [и др.] // Ведомости НЦЭСМП. - 2013. - №4.–С. 51-58.
56. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. Изд-е 10-е М.: Т-во науч. изд. КМК. 2006. 330 с.

57. Маликова, М.Х. Изучение пектинов некоторых диких яблок / М.Х. Маликова, Д.А. Рахимов, Э.Л. Кристаллович // Химия природных соединений. – 1998. – № 3. – С. 355-357
58. Маслова, С.В. Исследование морфологических органов *Thlaspi arvense* L. / С.В. Маслова, Н.С. Корепанова // Вестник ПГФА. - №9. - 2012. - С. 193-196.
59. Мельникова, О.В. Вынос элементов питания сорными растениями / О.В. Мельникова // Земледелие. - 2008. - № 8. - С. 44.
60. Мироненко Н.В., Селеменев В.Ф. Разработка способов идентификации и количественного определения сапонинов *Sapindus mukorossi* // Эпистемологические основания современного образования: актуальные вопросы продвижения фундаментального знания в учебный процесс: материалы Международной научнопрактической конференции Борисоглебского филиала ФГБОУ ВО «ВГУ». Москва, 2020. С. 377-382.
61. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований средств / А.Н. Миронов. - Издательство: Гриф и К., 2012. – Ч. 1. - 197 с.
62. Михайлова И.В., Иванова Е.В., Пупыкина К.А. и др. Оценка содержания эссенциальных микроэлементов в траве цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.), произрастающего в Оренбургской области // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2023. – Т. 26, № 5. – С. 3-7.
63. Муллагулов, Р.Т. Изучение антиоксидантной активности лекарственных трав методом хемилюминесценции в опытах *in vitro* / Р.Т. Муллагулов, В.Н. Козлов, Л.Ф. Пономарева // Вестник Волжского университета им. В.Н. Татищева. – 2012. – № 1. – С. 231–234.
64. Наумов Н. П., Щеплев П. А., Полозов В. В. Роль антиоксидантов в профилактике мужского бесплодия. *Андрология и генитальная хирургия*. 2019;1:22-28. DOI: 10.17650/2070-9781-2019-20-1-22-29.
65. Никитин В. В. Сорные растения флоры СССР. - Л.: Наука, 1983. - С.218

66. Отраслевой классификатор сорных растений: информ. издание. - М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2018. - 52 с.
67. Оценка активности лекарственных растений флоры Башкортостана / К.А. Пупыкина, Л.А. Валеева, Н.Н. Макарова, Г.Г. Давлятова, Е.В. Красюк, А.Р. Казеева, С.Р. Шамсутдинова //Традиционная медицина. - 2015. - С. 41-43.
68. Павлов В. Н., Кутлияров Л. М., Хайретдинов А. В. [и др.] Фитотерапия и мужское здоровье. Уфа:Травы Башкирии. 2008. 32 с.
69. Позднякова Т.А. Тритерпеновые соединения герани сибирской (*Geranium sibiricum* L.) // Материалы Евразийского конгресса с международным участием «Медицина, фармация и общественное здоровье». Екатеринбург, 2013. С. 113–117.
70. Полухина Т.С. Количественное определение аскорбиновой кислоты в траве ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.) / Полухина Т.С., Шатрова М.С., Бешенцева А.В. // В сборнике: Наука и образование: сохраняя прошлое, создаём будущее. сборник статей IX Международной научно-практической конференции: в 3 частях. - 2017. - С. 225-227.
71. Полухина Т.С. Количественное определение суммы органических кислот в траве ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.) / Полухина Т.С., Шатрова М.С., Бешенцева А.В. // В сборнике: прорывные научные исследования: проблемы, закономерности, перспективы. Сборник статей VIII Международной научно-практической конференции. - 2017. - С. 252-254.
72. Полухина, Т. С. Количественное определение флавоноидов в надземной части ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.) / Т.С. Полухина, М.С. Шатрова, А.В. Бешенцева //Сборник статей X Международной научно-практической конференции. - В 3 ч., Ч.1 – Пенза:МЦНС «Наука и просвещение». - 2017. - С. 269-271.
73. Полухина Т.С. Ярутка полевая (*Thlaspi arvense* L.) - перспективный источник биологически активных веществ / Полухина Т.С., Шатрова М.С., Бешенцева А.В. // В сборнике: Инновационное развитие современной науки:

проблемы, закономерности, перспективы. сборник статей III Международной научно-практической конференции. - 2017. - С. 270-272.

74. Потанина, О.Г. Оценка доброкачественности лекарственного растительного сырья с учетом диагностически значимых признаков / О.Г. Потанина, И.А. Самылина // Фармация. - 2003. - No 4. - С. 12-14.

75. Пупыкина, К.А. Исследование ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.) / К.А. Пупыкина, Е.Ф. Королева // Сборник материалов III Международной научно-практической конференции «Современная фармация: новые подходы в образовании и актуальные исследования», посвященной 70-летию Юбилею Лауреата Государственной премии РК, д.фарм.н., про. - НАО «Медицинский университет Астана», 2023. – С. 98-101.

76. Пупыкина, К.А. Определение показателей подлинности и доброкачественности травы ярутки полевой / К.А. Пупыкина, Т.Д. Даргаева, А.А. Маркарян, Е.Ф. Королева // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. 2024. №1(43). С. 41-48.

77. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. – Т.2. Семейства Actinidiaceae – Malvaceae, Euphorbiaceae - Haloragaceae /Отв.ред. А.Л. Буданцев – СПб: М.: Тов-во научн.изд. КМК. 2009. – С.129.

78. Самылина, И.А. Фармакогнозия: Атлас: в 2-х т. / И.А. Самылина, О. Г. Аносова. - М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2007. - Т. 1: Общая часть. Термины и техника микроскопического анализа в фармакогнозии: учебное пособие. - 189с.

79. Сапарклычева С.Е. Дикорастущие полезные растения, распространенные во флоре среднего Урала / Сапарклычева С.Е. // Вестник биотехнологии. - 2020. - № 3. - С. 7.

80. Саргсян, Е.Э. Изучение флавоноидов травы монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.) / Е.Э. Саргсян, А.С. Никитина, С.Н. Степанюк // Беликовские

- чтения: матер. IV Всероссийской науч.- практ. конф., 2 декаб. 2015. – Пятигорск, 2015. - С. 128-129.
81. Сельскохозяйственная компания «Сингента», Ярутка полевая. URL: <https://www.syngenta.ru/target/thlaspi-arvense> (дата обращения: 29.01.2024).
82. Семенова, В.В. Изучение жизненного цикла *Thlaspi arvense* L. в Центральной Якутии / В.В. Семенова, Д.Н. Андросова, Н.С. Данилова // Юг России: экология, развитие. 2019.- Т.14, №2.- С.180 - 188.
83. Слепцов И.В. Динамика изменения жирно-кислотного состава щирицы запрокинутой, ярутки полевой и лофанта тибетского / Слепцов И.В., Хлебный Е.С., Журавская А.Н. // Наука и образование. - 2015. - № 4. - С. 100–105.
84. Слепцов И.В. Динамика накопления флавоноидов в листьях *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa* и *Thlaspi arvense*, собранных в Центральной Якутии / Слепцов И.В., Журавская А.Н. // Химия растительного сырья. - 2016. - № 3. - С. 67–72.
85. Слепцов И.В. Кратковременное воздействие постоянного магнитного поля на физиологические, морфологические и биохимические характеристики проростков *Amaranthus retroflexus*, *Agastache rugosa* и *Thlaspi arvense* / Слепцов И.В., Шашурин М.М., Журавская А.Н. // Физиология растений. - 2019. Т.66, № 1. - С. 66–72.
86. Смирнова, Ю.А. Лекарственные растения, применяемые в народной медицине для лечения онкологических заболеваний. / Ю.А. Смирнова, Т.Л. Киселева // Традиционная медицина. Москва, 2006. - С. 61.
87. Субботина С.Н., Парфёнова А.А., Юдин М.А., Быкова А.Ф. Сравнительный анализ информативности методов оценки полового поведения самцов крыс. Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. 2020; 70 (2): 277-288. DOI: 10.31857/S0044467720020124.
88. Тартынская Г.С. Анализ суммы летучих соединений в траве ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.) / Тартынская Г.С., Журавель И.О., Кисличенко В.С. // Украинский журнал клинической и лабораторной медицины.- 2012. - Т.7, № 2. - С. 17–20.

89. Тартынская Г.С. Определение качественного состава и количественного содержания сахаров и органических кислот в траве ярутки полевой / Тартынская Г.С., Журавель И.О., Кисличенко В.С. // Украинский журнал клинической и лабораторной медицины. - 2011. - Т.6, № 3. - С. 116–117.
90. Тартынская Г.С. Определение количественного содержания фенольных соединений в семенах, траве и створках стручков ярутки полевой / Тартынская А.С. // Украинский журнал клинической и лабораторной медицины. - 2013. - Т.8, № 4. - С. 89–91.
91. Траволекарь, Ярутка полевая. URL: https://www.travolekar.ru/herbs/_herbs4/thlaspi.htm (дата обращения: 13.09.2023)
92. Тринеева О.В., Сафонова И.И., Сафонова Е.Ф., Сливкин А.И. Идентификация органических кислот методом ТСХ в извлечениях из растительных объектов. // Сорбционные и хроматографические процессы. 2013. Т. 13. Вып. 6. С. 896-901.
93. Узбеков М.Г. Перекисное окисление липидов и антиоксидантные системы при психических заболеваниях / Узбеков М.Г. // Социальная и клиническая психиатрия. - 2016. - Т. 26, № 3. - С. 65-71.
94. Фархутдинов, Р.Г. Изучения влияния ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.) на характеристики репродуктивной системы самцов крыс / Р.Г. Фархутдинов, К.А. Пупыкина, Е.Ф. Королева, и др. // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2024. Т.13. №2. С.164-172.
95. Фархутдинов Р.Р., Тевдоразде С.И. Методики исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилюминометре ХЛ-003. Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ, РУДН, Москва, (2005), с. 147-154.
96. Фитоаптекарь, Ярутка полевая URL: <https://fitoaptekar.ru/articles/188595/> (дата обращения: 13.09.2023)

97. Фитотерапия и российское травничество / В.Ф. Корсун, Е.В. Корсун, С.М. Николаев, Г.И. Российская // Развитие традиционной медицины в России. - Улан-Удэ: «Вита Магистра» РЦМП, 2004. - С. 10-15.
98. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / под ред. Ю.С. Тараховского. – Пушино: Synchronobook, 2013. – 310 с.
99. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриев. - М.: Медицина, 2005. - 832 с.
100. Чечета, О.В. Исследования по стандартизации и оценке качества растительных масел и масляных экстрактов, применяемых в фармации. Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / ГОУВПО «Курский государственный медицинский университет». Курск, 2009. – 201 с.
101. Щемелинина, Т. В. Содержание аскорбиновой кислоты и органических кислот в траве донника лекарственного / Т. В. Щемелинина, А. А. Сорокина // Фармация. – 2015. - №2. – С. 22-24.
102. Эбель, Т. В. Идентификация ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L., Brassicaceae) – регулируемого странами-импортерами вида сорных растений / Т. В. Эбель, С. И. Михайлова // Проблемы изучения растительного покрова Сибири: труды VII Международной научной конференции, посвященной 135-летию Гербария им. П. Н. Крылова Томского государственного университета и 170-летию со дня рождения П. Н. Крылова (Томск, 28-30 сентября 2020 г.). - Томск, 2020. - С. 160-162.
103. Эбель Т.В. Распространение ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L., Brassicaceae) в агроценозах Сибирского федерального округа и с подкарантинной продукцией / Эбель Т.В., Михайлова С.И. // Вестник КрасГАУ. - 2021. - Т.66, № 1. - С. 56–61.
104. Эль М.Х., Каухова И.Е., Сорокин В.В., Минина С.А. Разработка методики количественного определения сапонинов в траве грыжника голого

Herniaria glabra L. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2014. № 24 (195). С. 235-238.

105. A draft genome of field pennycress (*Thlaspi arvense* L.) provides tools for the domestication of a new winter biofuel crop / Dorn K. M. [et al.] // DNA Research: An International Journal for Rapid Publication of Reports on Genes and Genomes. - 2015. - Vol. 22, № 2. - P. 121–131.

106. Aitken R.J. Free radicals, lipid peroxidation and sperm function. Reproduction, Fertility and Development. 1995; 7 (4): 659-668.DOI: 10.1071/rd9950659.

107. Analyzing Mass Spectrometry Imaging Data of ¹³C-Labeled Phospholipids in *Camelina sativa* and *Thlaspi arvense* (Pennycress) Embryos / Romsdahl T. B. [et al.] // Metabolites. - 2021. - Vol. 11, № 3. - P. 148.

108. Antioxidant activity of hydroxycinnamic acid derivatives in human low density lipoprotein: Mechanism and structure–activity relationship / J.C. Cheng, F. Dai, B. Zhou [et al.] // Food Chem. – 2007. – Vol. 104, No 1. – P. 132– 139.

109. Bennett J. P., Gomperts B. D., Wollenweber E. Inhibitory effects of natural flavonoids on secretion from mast cells and neutrophils. *Arzneimittelforschung*. 1981;31(3):433–437.

110. Biodiesel preparation from *Thlaspi arvense* L. seed oil utilizing a novel ionic liquid core-shell magnetic catalyst / Zhao R. [et al.] // Industrial Crops and Products. - 2021. - Vol. 162. - P. 113-116.

111. Boroujeni S. N., Malamiri F. A., Bossaghzadeh F., Esmaeili A., Moudi E. The most important medicinal plants affecting sperm and testosterone production: a systematic review. *JBRA Assist Reprod*. 2022;26(3):522-530. DOI: 10.5935/1518-0557.20210108

112. Born G.G.V. *Nature* (London).-1962 .- Vol.194. – P. 927-929.

113. Brassicaceae — The Plant List [Электронный ресурс]. URL: <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Brassicaceae/> (дата обращения: 04.12.2023).

114. Brody S.A. Мужское бесплодие и окислительный стресс: роль диеты, образа жизни и пищевых добавок. *Андрология и генитальная хирургия*. 2014;15(3):33-41. DOI: 10.17650/2070-9781-2014-3-33-41
115. Characterization of Se-enriched *Pleurotus ostreatus* polysaccharides and their antioxidant effects in vitro / Ma L. [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. - 2018. - Vol. 111. - P. 421–429.
116. Chopra R. Combined genotype and fatty-acid analysis of single small field pennycress (*Thlaspi arvense* L.) seeds increases the throughput for functional genomics and mutant line selection / Chopra R., Folstad N., Marks M. D. // *Industrial Crops and Products*. - 2020. - V.156. - P. 112823.
117. Chromosome-level *Thlaspi arvense* genome provides new tools for translational research and for a newly domesticated cash cover crop of the cooler climates / Nunn A. [et al.] // *Plant Biotechnology Journal*. - 2022. - Vol. 20. № 5. - C. 944–963.
118. Cindolo. L. Drug Adherence and Clinical Outcomes for Patients Under Pharmacological Therapy for Lower Urinary Tract Symptoms Related to Benign Prostatic Hyperplasia: Population-based Cohort Study [Text] / L. Cindolo. L. Pirozzi, C. Fanizza, M. Romero, A. Tubaro, R. Autorino et. al // *European Urology*. – 2015. – Vol. 68, Issue 3. – P. 418–425.
119. CRISPR/Cas9-Induced *fad2* and *rod1* Mutations Stacked With *fae1* Confer High Oleic Acid Seed Oil in Pennycress (*Thlaspi arvense* L.) / Jarvis B. A. [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. - 2021. - Vol. 12. - P. 652319.
120. De novo assembly of the pennycress (*Thlaspi arvense* L.) transcriptome provides tools for the development of a winter cover crop and biodiesel feedstock / Dorn K. M. [et al.] // *The Plant Journal*. - 2013. - Vol. 75. № 6. - P. 1028–1038.
121. Exploring the antiplasmodal efficacy of erucic acid and its derivative isolated from *Thlaspi arvense* D. C. (Brassicaceae) / Walter N. S. [et al.] // *South African Journal of Botany*. - 2021.- Vol. 139. - P. 158–166.

122. Extraction, Composition and Functional Properties of Pennycress (*Thlaspi arvense* L.) Press Cake Protein / Hojilla-Evangelista M. P. [et al.] // Journal of the American Oil Chemists' Society. - 2015. - Vol. 92, № 6. - C. 905–914.
123. Forgacs, E. Molecular bases of chromatographic separation / E. Forgacs, T. Cserhati. - Heidelberg: Springer-Verlag, 1997. – 288 p.
124. Functional analysis of β -ketoacyl-CoA synthase from biofuel feedstock *Thlaspi arvense* reveals differences in the triacylglycerol biosynthetic pathway among Brassicaceae / Claver A. [et al.] // Plant Molecular Biology. - 2020. - Vol. 104, № 3. - P. 283–296.
125. Gebreegziabher Y., Marcos E., McKinon W., Rogers G. Sperm characteristics of endurance trained cyclists. *Int J Sports Med.* 2004;25(4):247-51
126. Generating Pennycress (*Thlaspi arvense*) Seed Triacylglycerols and Acetyl-Triacylglycerols Containing Medium-Chain Fatty Acids / Esfahanian M. [et al.] // Frontiers in Energy Research. - 2021. - Vol.9.
127. Genomic analysis of field pennycress (*Thlaspi arvense*) provides insights into mechanisms of adaptation to high elevation / Geng Y. [et al.] // BMC biology. - 2021. - Vol. 19, № 1. - P. 143.
128. Geva E., Bartoov B., Zabludovsky N. et al. The effect of antioxidant treatment on human spermatozoa and fertilization rate in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril.* 1996;66(3):430–434
129. Identification of target genes and processes involved in erucic acid accumulation during seed development in the biodiesel feedstock Pennycress (*Thlaspi arvense* L.) / Claver A. [et al.]. // Journal of Plant Physiology. - 2017. - V.208. - P. 7–16.
130. Increased epigenetic diversity and transient epigenetic memory in response to salinity stress in *Thlaspi arvense* / Geng Y. [et al.] // Ecology and Evolution. - 2020. - Vol. 10, № 20. - P. 11622–11630.
131. Kim H. P., Son K. H., Chang H. W., Kang S. S. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *J. Pharmacol Scis.* 2004;96(3):229–245.

132. Lee, S. S. 5-alpha-reductase inhibitors and the risk of diabetes mellitus: A nationwide population-based study [Text] / S.S. Lee, Y. W. Yang, T. H. Tsai, Y. H. Kuo et al. // *Prostate*. – 2015. doi: 10.1002/pros.23097
133. Liu J., Chen M., Zhang Y. et al. Analyses of the oil content, fatty acid composition, and antioxidant activity in seeds of *Thlaspi arvense* L. from different provenances and correlations with environmental factors. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 2022;9(1)
134. Marks M. D. Technologies enabling rapid crop improvements for sustainable agriculture: example pennycress (*Thlaspi arvense* L.) / Marks M. D., Chopra R., Sedbrook J. C. // *Emerging Topics in Life Sciences*. - 2021. - Vol. 5, № 2. - P. 325–335.
135. Metabolite fingerprinting of pennycress (*Thlaspi arvense* L.) embryos to assess active pathways during oil synthesis / Tsogtbaatar E. [et al.] // *Journal of Experimental Botany*. - 2015. - Vol. 66, № 14. - P. 4267–4277.
136. Molecular tools enabling pennycress (*Thlaspi arvense*) as a model plant and oilseed cash cover crop / McGinn M. [et al.] // *Plant Biotechnology Journal*. - 2019. - Vol. 17, № 4. - P. 776–788.
137. Monageng E., Offor U., Takalani N., Mohlala K.: Opuwari C. A Review on the Impact of Oxidative Stress and Medicinal Plants on Leydig Cells. *Antioxidants*. 2023;12:1559. DOI: 10.3390/antiox12081559.
138. Monteiro M. S. Physiological and Biochemical Effects of Cd Stress in *Thlaspi Arvense* L—A Non-Accumulator of Metals / Monteiro M. S., Soares A. M. V. M. // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. - 2021. - Vol. 81, № 2. - P. 285–292.
139. Oi Y., Imafuku M., Shishido C., Kominato Y., Nishimura S., Iwai K. Garlic supplementation increases testicular testosterone and decreases plasma corticosterone in rats fed a high protein diet. *J Nutr.* 2001;131(8):2150-2156
140. One-pot process for simultaneously obtaining oil and sinigrin from field pennycress (*Thlaspi arvense*) seeds using microwave-assisted biphasic extraction / Zhao R. [et al.] // *Industrial Crops and Products*. - 2021. - Vol. 166. - P. 113483.

141. Pharmacognostic study of herba *Thlaspi arvense* L./Koroleva E. [et al.]//International Pharmacy Acta. Proceedings of Pharmacy Updates 2022. – Publisher: Pharmaceutical Sciences Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences. – 2022. – P. 118
142. Purification, characterization and antioxidant activity of selenium-containing polysaccharides from pennycress (*Thlaspi arvense* L.) / Xiang A. [et al.]. // Carbohydrate Research. - 2022. - Vol. 512. - P. 108498.
143. Ralebona N., Sewani-Rusike C. R., Nkeh-Chungag B. N. Effects of ethanolic extract of *Garcinia kola* on sexual behaviour and sperm parameters in male Wistar rats. *Afr J Pharm Pharmacol.* 2012;6:1077–1082. DOI: 10.5897/AJPP11.652
144. Rapid Genome Evolution and Adaptation of *Thlaspi arvense* Mediated by Recurrent RNA-Based and Tandem Gene Duplications / Hu Y. [et al.] // Frontiers in Plant Science. - 2021. - Vol. 12. - P. 772655.
145. Sedbrook J. C. New approaches to facilitate rapid domestication of a wild plant to an oilseed crop: example pennycress (*Thlaspi arvense* L.) / Sedbrook J. C., Phippen W. B., Marks M. D. // Plant Science: An International Journal of Experimental Plant Biology. - 2014. - Vol. 227. - P. 122–132.
146. Significant variation for seed oil content, fatty acid profile, and seed weight in natural populations of field pennycress (*Thlaspi arvense* L.) / Altendorf K. [et al.]. // Industrial Crops and Products. - 2019. - V. 129. - P. 261–268.
147. Spatial genetic and epigenetic structure of *Thlaspi arvense* (field pennycress) in China / Guan Y. [et al.] // Genes & Genetic Systems. - 2021. - Vol. 95, № 5. - P. 225–234.
148. Spring flowering habit in field pennycress (*Thlaspi arvense*) has arisen multiple independent times / Dorn K. M. [et al.] // Plant Direct. - 2018. - Vol. 2, № 11. - P. e00097.
149. The pennycress (*Thlaspi arvense* L.) nectary: structural and transcriptomic characterization / Thomas J. B. [et al.] // BMC Plant Biology. - 2017. - Vol. 17, № 1. - P. 201.

150. The Study of the Quantitative Content of Flavonoids and Biological Activity of the Herba *Thlaspi arvense* L./ E. Koroleva, K. Pupykina, R. Farkhutdinov [et al.] // Intelligent Biotechnologies of Natural and Synthetic Biologically Active Substances. Lecture Notes in Networks and Systems. Springer Nature, Cham, 2022. - Vol. 408. – P. 176-183
151. *Thlaspi arvense* binds Cu(ii) as a bis-(l-histidinato) complex on root cell walls in an urban ecosystem / Manceau A. [et al.] // Metallomics. - 2013. - Vol. 5, № 12. - P. 1674.
152. *Thlaspi arvense* — Plants of the world online [Электронный ресурс]. URL: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:290477-1> (дата обращения: 04.12.2023).
153. Tsogtbaatar E. Non-conventional pathways enable pennycress (*Thlaspi arvense* L.) embryos to achieve high efficiency of oil biosynthesis/ Tsogtbaatar E., Cocuron J.-C., Alonso A. P. // Journal of Experimental Botany. - 2020. - Vol. 71, № 10. - P. 3037–3051.
154. Yahyazadeh A. Altunkaynak BZ. Protective effects of luteolin on rat testis following exposure to 900 MHz electromagnetic field. Biotech Histochem. 2019 May;94(4):298-307
155. Zou, Y. Effects of E/Z isomers of lycopene on experimental prostatic hyperplasia in mice [Text] / Y. Zou, Q. Sun, J. Li, C. Yang, J. Yang, L. Zhang // Fitoterapia. – 2014. – Vol. 99. – P. 211–217.

ПРИЛОЖЕНИЯ

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОЕКТ ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬИ

Ярутки полевой трава

Thlaspi arvense L. herba

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Собранная в фазу цветения и начала плодоношения (до побурения плодов) и высушенная надземная часть дикорастущего однолетнего растения ярутки полевой - *Thlaspi arvense* (L.), семейство Капустные (Brassicaceae).

Содержит не менее 1,2 % суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в сухом сырье.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Внешние признаки. Сырье исследуют визуально, с помощью лупы или стереомикроскопа в соответствии с ОФС.1.5.1.0002.

Цельное сырье: цельные или частично измельченные стебли в среднем длиной до 50 см, прямостоячие, ребристые, нередко ветвистые, голые. Листья простые, очередные, без прилистников, стеблевые листья сидячие, прикорневые - образуют небольшую розетку. Форма листовой пластинки продолговато-ланцетная, при основании остро-стреловидные, по краям листья зубчатые. Околоцветник двойной. Чашечка состоит из 4 чашелистиков длиной 2,0 - 2,5 мм. Венчик правильный, раздельнолепестный, состоит из 4 белых лепестков 3,0 - 5,0 мм длиной, расположенных крестообразно. Соцветие - верхушечное кистевидное или щитковидное, безлистное. Плод сплюснутый - стручочек, округло-овальной формы, длиной 12-18 мм, шириной - 11-16 мм. Семена темно-коричневые, маслянистые, овальные, слабо блестящие, немного сжатые, 1,2-2,5 мм длиной, 1,5 мм шириной, с дугообразными, морщинистыми ребрами, без эндосперма.

Цвет листьев и стеблей зеленый, цветки белые, плоды-зеленовато-коричневые, семена – темно-коричневые. Запах своеобразный, вкус горьковатый.

Измельченное сырье: кусочки листьев, стеблей, цветков, плодов, проходящие сквозь сито диаметром 7 мм. Цвет зеленый, цветки белые, запах своеобразный, вкус горьковатый.

Микроскопические признаки. Проводится в соответствии с ГФ РФ XIV издания, ОФС.1.5.3.0003.

Из аналитической пробы готовят препараты по методике приготовления микропрепаратов из цельного сырья ОФС «Трава» (ГФ РФ XV издания, ОФС.1.5.1.0002).

Цельное, измельченное сырье. При рассмотрении листа с поверхности должны быть видны с верхней стороны - изодиамитричные клетки с извилистыми, антиклинальными стенками, устьичный аппарат анизоцитного типа, с нижней стороны - вытянутые извилистые клетки, многочисленные устьица анизоцитного типа, меньшего размера, чем на верхней стороне листа (рисунки 1-5), волоски отсутствуют, на поперечном срезе жилки видны мелкие коллатеральные пучки, друзы оксалата кальция (рисунок 6).

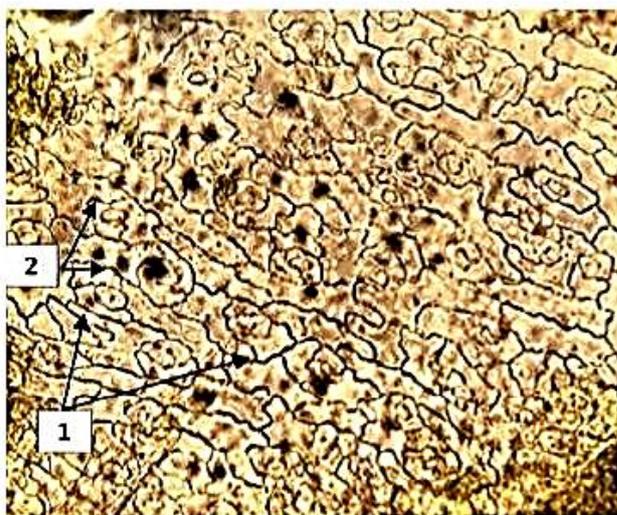


Рисунок 1. Верхняя сторона листа (x100).
Обозначения: 1 – изодиамитричные клетки с извилистыми, антиклинальными стенками; 2- устьица анизоцитного типа

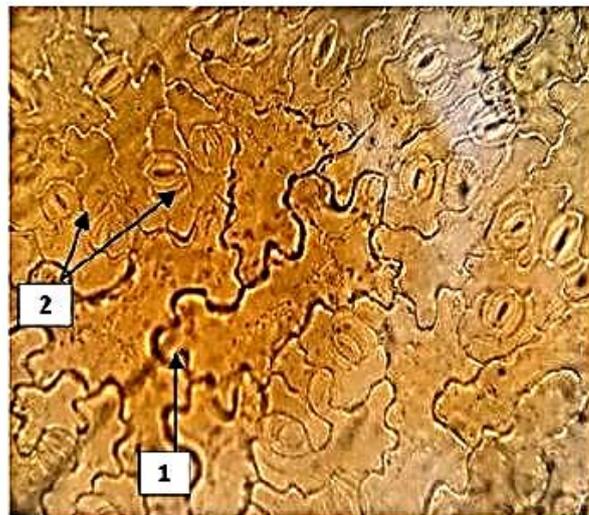


Рисунок 2. Верхняя сторона листа (x200).
Обозначения: 1 – извилистые клетки эпидермиса; 2 – устьица анизоцитного типа

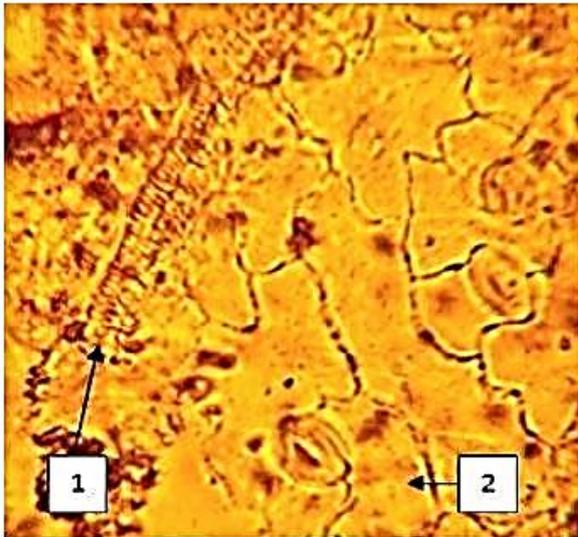


Рисунок 3. Верхняя сторона листа (x100).
Обозначения: 1 – сосуды; 2 - устьичный аппарат анизокитного типа

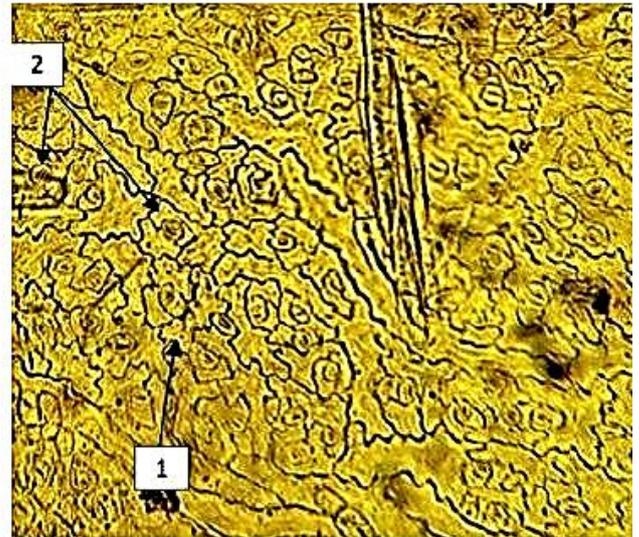


Рисунок 4. Нижняя сторона листа (x100).
Обозначения: 1 – извилистые клетки эпидермиса; 2 - устьица анизокитного типа

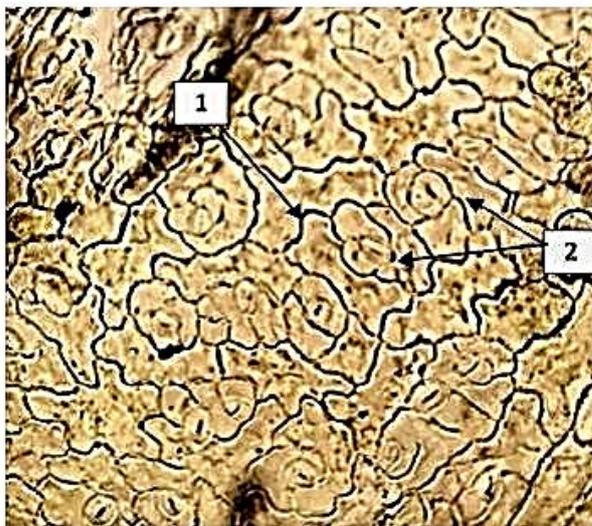


Рисунок 5. Нижняя сторона листа (x100).
Обозначения: 1 – извилистые клетки эпидермиса; 2- устьица анизокитного типа

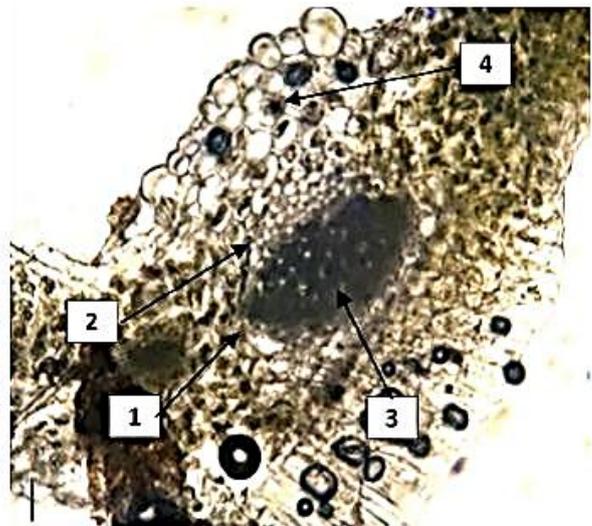


Рисунок 6. Жилка листа (x100).
Обозначения: 1 – коллатеральный пучок; 2 – флоэма; 3- ксилема; 4 - друзы оксалата кальция

Эпидермис лепестков цветка состоит из извилистых вытянутых клеток, содержит устьиц анизокитного типа, обнаруживаются округлые пыльцевые зерна (рисунки 7-8).

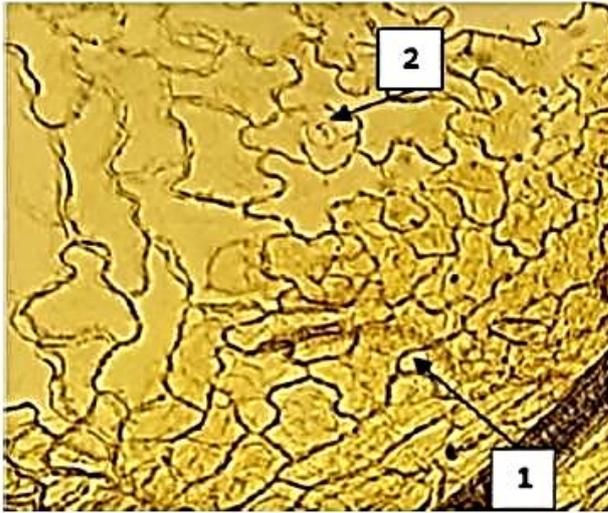


Рисунок 7. Эпидермис цветка (x100).
Обозначения: 1 – извилистые вытянутые
клетки эпидермиса; 2- устьице

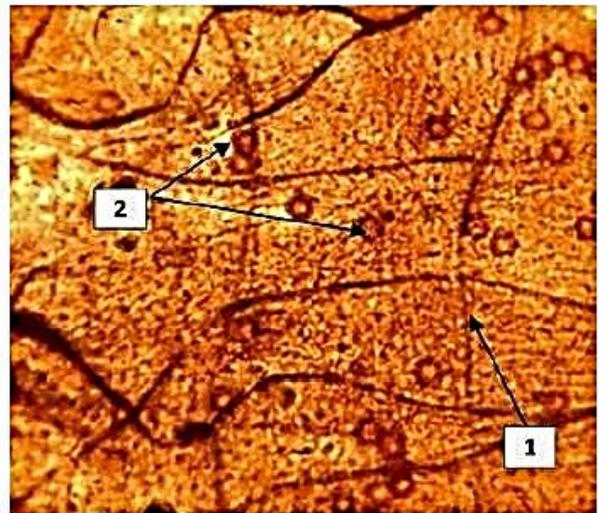


Рисунок 8. Эпидермис цветка(x100).
Обозначения: 1 – многоугольные клетки
эпидермиса; 2-пыльцевые зерна

Эпидермис плодов состоит из удлиненных тонкостенных клеток, видна складчатость кутикулы (рисунок 9-10). Эпидермис семян состоит из многоугольных клеток с утолщенными стенками, капли жирного масла, каменные клетки (рисунок 11-12).

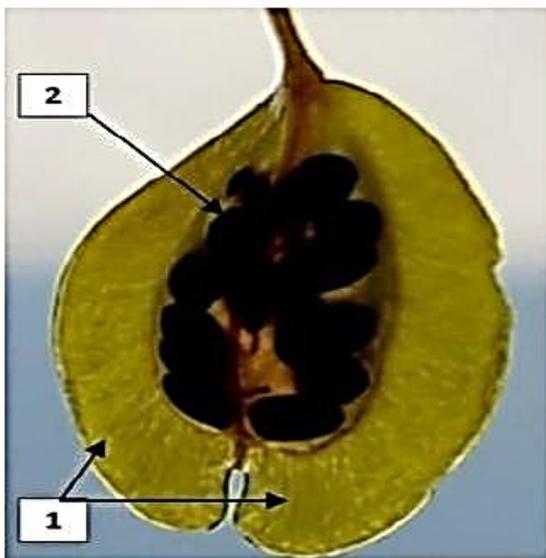


Рисунок 9. Плод (x100). Обозначения: 1 –
створки стручочка; 2- семена

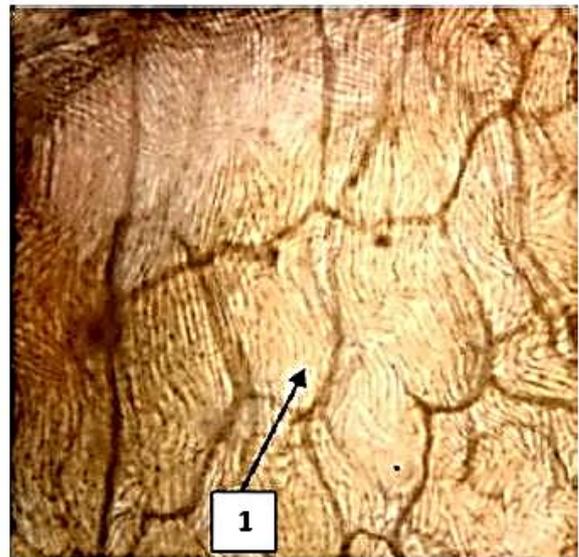


Рисунок 10. Эпидермис плода (x100).
Обозначения: 1 – складчатость кутикулы

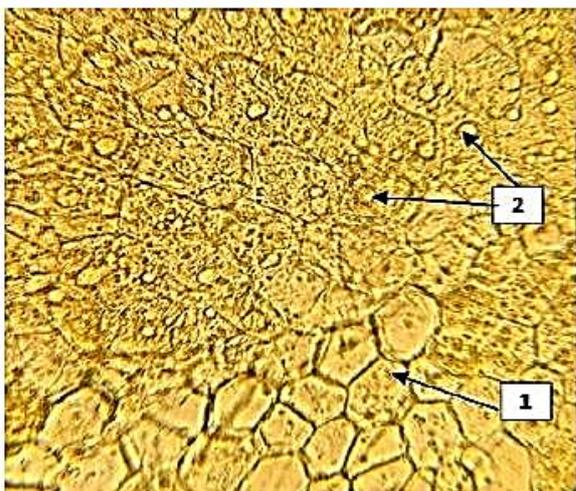


Рисунок 11. Эпидермис семени (x100).
Обозначения: 1 – многоугольные клетки
эпидермиса; 2 - капли жирного масла

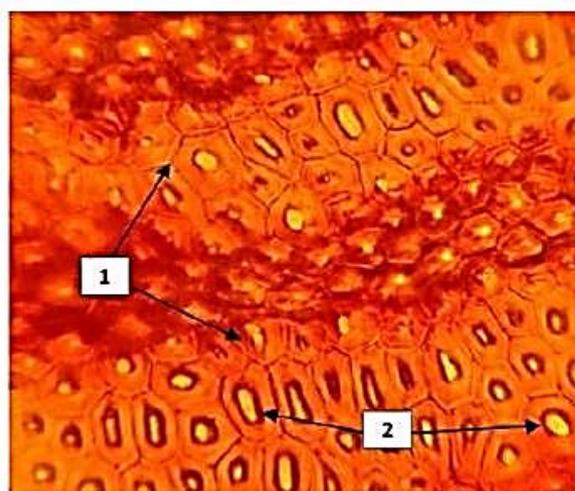


Рисунок 12. Эпидермис семени (x100).
Обозначения: 1 – утолщенные стенки клеток
эпидермиса; 2- каменные клетки

Эпидермис стебля состоит из вытянутых клеток, на поверхности встречаются устьица (рисунок 13-14). На поперечном срезе видны кора и центральный цилиндр. Кора состоит из уголкового колленхима, хлоренхима и эндодермы. Колленхима располагается под эпидермой, хлоренхима образует 3-4 ряда клеток, эндодерма выражена. Перицикл представлен склеренхимой, расположенной между и над проводящими пучками. Проводящая система в нижней части стебля переходного типа, в средней части - пучкового типа, открытые коллатераль-ные пучки. Сердцевина образована крупными клетками паренхимы.

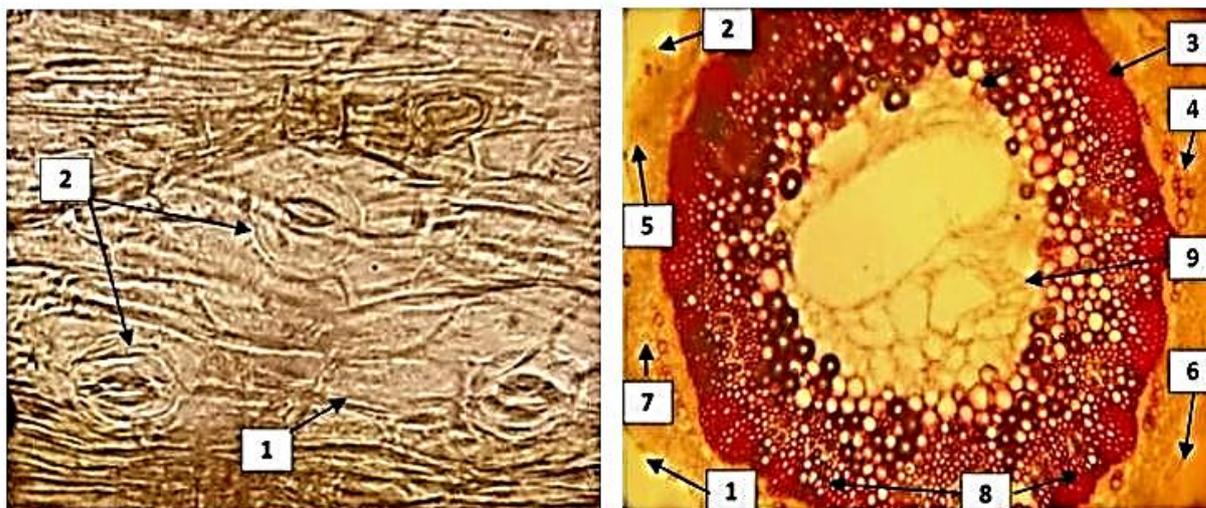


Рисунок 13. Стебель (x400).
Обозначения: 1 – выгнутые клетки эпидермиса; 2- устьица.

Рисунок 14. Стебель (x100).
Обозначения: 1 – эпидерма с кутикулой; 2 - ребро стебля; 3 – склеренхима стебля; 4 – лубяные волокна; 5 – хлоренхима; 6 – уголковая колленхима; 7 – клетки эндодермы; 8 – открытые коллатеральные пучки; 9 – паренхима сердцевины

Определение основных групп биологически активных веществ

Тонкослойная хроматография.

Определение проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

Пластинка. ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

Подвижная фаза (ПФ): *n*-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (5:1:3).

Раствор стандартного образца лютеолин-7-гликозида.

Около 5 мг лютеолин-7-гликозида растворяют в 10 мл спирта этилового 70%.

Испытуемый раствор. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1,0 г помещают в коническую колбу на 100 мл, прибавляют 20 мл спирта 70%, нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 30 минут. После охлаждения до комнатной температуры полученное извлечение фильтруют через бумажный фильтр.

На линию старта пластинки капилляром наносят 20 мкл испытуемого раствора и по 10 мкл 0,05% растворов СО лютеолина, лютеолин-7-гликозида, рутина, апигенина. Пластинку с нанесенными пробами высушивают на воздухе, затем помещают в предварительно насыщенную смесью растворителей камеру, и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 10 см, пластинку вынимают, подсушивают при комнатной температуре 10 минут и затем просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм в течение 2 минут. В результате на хроматограмме обнаруживаются пятна, предположительно с R_f около 0,74 лютеолин-7-гликозид, с R_f около 0,57 рутин, с R_f около 0,83 апигенин и с R_f около 0,88 лютеолин. После проявления пластинки 5% спиртовым раствором алюминия хлорида происходит изменение окраски.

Примечание:

1. Подготовка пластинок. Пластины «*Sorbfil ПТСХ-II-A-УФ*» вырезают размером 14 на 5 см, наносят линию старта на расстоянии 1 см от края и перед использованием активируют в сушильном шкафу при 100-105 °С в течение 1 часа.

2. Приготовление системы растворителей для хроматографирования. Для проведения ТСХ-анализа рекомендуется система *n*-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (5:1:3). Система используется свежеприготовленная. Насыщение камеры для хроматографирования системой растворителей в течение 1 часа.

3. Приготовление раствора проявителя. 5,4 г алюминия хлорида 6-водного растворяют в 80 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки, перемешивают.

4. Приготовление растворов сравнения.

Растворы рутина, лютеолин-7-гликозида, лютеолина, апигенина: около 0,05 г (точная навеска) СО, предварительно высушенного при температуре 130-135°С в течение 3 часов, растворяют в 85 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100мл при нагревании на водяной бане, охлаждают, доводят этиловым спиртом до метки и перемешивают. Срок годности раствора 1 месяц.

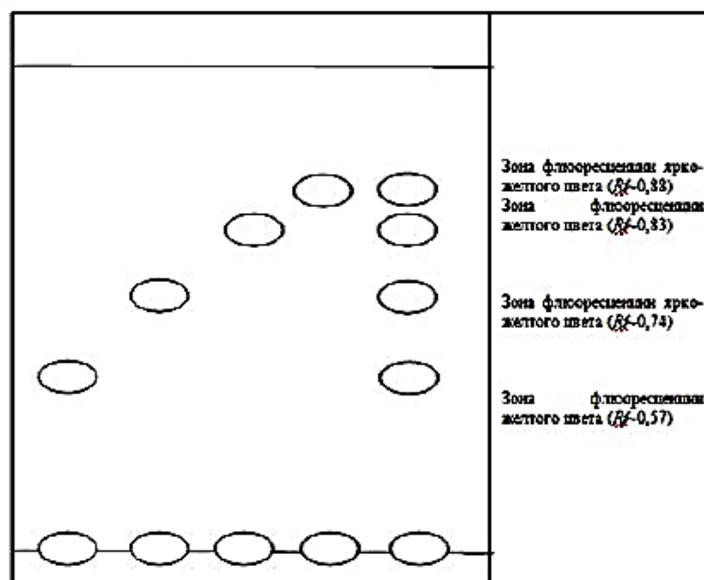


Схема ТСХ-анализа флавоноидов травы ярутки полевой в системе «*n*-бутанол – ледяная уксусная кислота - вода» (5:1:3): 1 – СО рутин; 2 – СО лютеолин-7-гликозид; 3 - СО апигенин; 4 – СО лютеолин; 5 – испытуемый раствор

ИСПЫТАНИЯ

Влажность. *Цельное, измельченное сырье* – не более 12%.

Зола общая. *Цельное, измельченное сырье* – не более 10%.

Зола, нерастворимая в HCl. *Цельное, измельченное сырье* – не более 2%.

Измельченность сырья. *Цельное, измельченное сырье:* частиц, не проходящих сквозь сито диаметром 7 мм не более 5%; частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 0,5 мм не более 5%.

Посторонние примеси.

Органические примеси. *Цельное, измельченное сырье* – не более 2%.

Корни (в том числе отделенные при анализе). *Цельное, измельченное сырье* – не более 3%.

Минеральные примеси. *Цельное, измельченное сырье* – не более 1%.

Содержание радионуклеидов. *Измельченное сырье* – не более предельно допустимых значений в соответствии с ОФС.

Количественное определение. *Цельное, измельченное сырье* – содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид не менее 1,2%.

около 1,0 г (точная навеска) измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито размером 2 мм, сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл 70% спирта этилового и взвешивали с погрешностью $\pm 0,01$ г. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 минут, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Колбу с содержимым охлаждали до комнатной температуры, взвешивали и при необходимости доводили до первоначальной массы спиртом этиловым 70%. Извлечение фильтровали в мерную колбу вместимостью 100 мл через бумажный фильтр, предварительно смоченный 70% спиртом (*раствор А*).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 2,0 мл раствора А, прибавляют 2 мл 2% спиртового раствора алюминия хлорида в 95% спирте и доводят объем раствора до метки 95% спиртом (*раствор Б*). Раствор сравнения: 2,0 мл раствора А, добавляли 1 мл 3% кислоты уксусной и доводят 70% спиртом до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Через 30 мин измеряли оптическую плотность исследуемого раствора с алюминия хлоридом на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 395 нм, используя раствор сравнения.

Параллельно, в тех же условиях, измеряли оптическую плотность раствора комплекса стандартного образца (СО) лютеолина-7-глюкозида с алюминия хлоридом: в две мерные колбы вместимостью 25 мл помещали по 2,0 мл раствора СО лютеолина-7-глюкозида, в одну колбу прибавляли 2 мл 2% спиртового раствора хлорида алюминия в 95% спирте, а в другую – 1 мл 3% уксусной кислоты и доводили соответствующим спиртом до метки, перемешивали и через 30 мин измеряли оптическую плотность.

Приготовление СО лютеолин-7-глюкозида: 0,05 г стандартного образца лютеолин-7-глюкозида (точная навеска) предварительно высушенного при температуре 130-135⁰С в течение 3 часов, растворяли в 85 мл 95% этилового спирта при нагревании на водяной бане при периодическом перемешивании. Раствор охлаждали, количественно перенося в другую мерную колбу на 100 мл, доводили объем раствора до метки тем же спиртом и перемешивали.

Приготовление 2% раствора алюминия хлорида: 2,0 г алюминия

хлорида (ГОСТ 3759-75) растворяли в 40 мл 95% этилового спирта в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводили объем раствора 95% спиртом до метки.

Содержание суммы флавоноидов в абсолютно сухом сырье в пересчете на лютеолин-7-глюкозид рассчитывали по формуле:

$$x = \frac{A \times a_0 \times 100 \times 2 \times 25 \times 100 \times 100}{A_0 \times a \times 2 \times 25 \times 100 \times (100 - W)}$$

A – оптическая плотность испытуемого раствора

A₀ – оптическая плотность СО лютеолин-7-глюкозида

a₀ – масса СО лютеолин-7-глюкозида, гр

a – масса навески сырья, гр

W – потеря в массе при высушивании, %.

Упаковка. Цельное сырье упаковывается по 15 кг в мешки бумажные многослойные по ГОСТ 2226-88; в мешки полипропиленовые из пропилена окрашенного по ГОСТ 26 996-86 для лекарственных средств или пищевых продуктов; по 20 кг в мешки тканевые продуктовые по ГОСТ 30 090-93. На мешки наклеивают этикетку из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86, бумаги писчей по ГОСТ 18 510-87.

Маркировка и транспортировка. В соответствии с требованиями ОФС.1.1.0019 на этикетке указывают название лекарственного средства на русском и латинском языках, масса, влажность, регистрационный номер, номер серии, срок годности, условия хранения.

Хранение. В соответствии с требованиями ГОСТ 6077-80 и ОФС.1.1.0011 изолированно от других видов сырья, в сухом, проветриваемом, защищенном от света месте.

Срок годности. 2 года.

Фармакологическая группа. Противовоспалительное, антиоксидантное, простатопротекторное.

***ИНСТРУКЦИЯ ПО СБОРУ И СУШКЕ ТРАВЫ
ЯРУТКИ ПОЛЕВОЙ***

Ярутка полевая - однолетнее травянистое растение. Стебель в среднем 30 см, но может достигать 50 (85) см, прямостоячий, ребристый, нередко ветвистый. Растение практически голое, стержневая корневая система. Листья простые, очередные, без прилистников, стеблевые листья сидячие, прикорневые - образуют небольшую розетку. Форма листовой пластинки продолговато-ланцетная, при основании остро-стреловидные, по краям листья зубчатые. Околоцветник двойной. Чашечка состоит из 4 чашелистиков длиной 2,0 - 2,5 мм. Венчик правильный, раздельнолепестный, состоит из 4 белых лепестков 3,0 - 5,0 мм длиной, расположенных крестообразно. Тычинок - 6, расположенных в два круга: наружный круг - 2 боковые короткие, внутренний круг - 4 срединные более длинные. Пестик 1, с одним столбиком, завязь верхняя сидячая, состоит из 2 плодолистиков. Соцветие - верхушечное кистевидное или щитковидное, безлистное. Плод сплюснутый - стручок, округло-овальной формы, длиной 12-18 мм, шириной - 11-16 мм, гнезда - 5-8 семянные, по краю хорошо заметное крыло. Плод раскрывающийся двумя опадающими створками, внутри которых имеется пленчатая ложная перегородка, на которой прикрепляются семена, створки выпуклые, ладьевидные (рисунок 2). Семена темно-коричневые, маслянистые, овальные, слабо блестящие, немного сжатые, 1,2-2,5 мм длиной, 1,5 мм шириной, с дугообразными, морщинистыми ребрами, без эндосперма

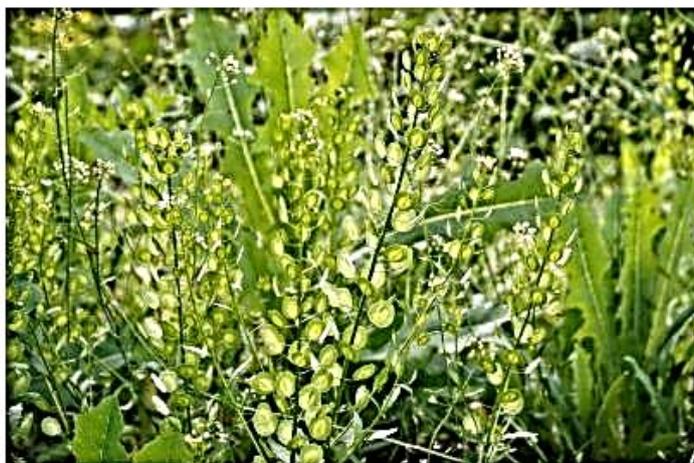


Рисунок 1. Ярутка полевая

В России ярутка полевая встречается повсеместно от Западной и Восточной Сибири до Дальнего Востока, на Кавказе. Общее распространение по России: Архангельская, Астраханская области, Башкирия, Белгородская, Брянская, Владимирская, Волгоградская, Вологодская, Воронежская, Ивановская, Калининградская области, Калмыкия, Карелия, Коми, Кировская, Калужская, Костромская, Курская, Ленинградская, Липецкая, Московская, Мурманская, Нижегородская, Новгородская, Оренбургская, Орловская, Пензенская, Псковская, Ростовская, Рязанская, Самарская, Саратовская, Смоленская, Тамбовская области, Татарстан, Тверская, Тульская области, Удмуртия, Ульяновская, Ярославская области)

В качестве сырья у ярутки полевой используется трава. Сырье необходимо заготавливать в фазу цветения (июнь-первая половина июля), срезая верхнюю часть растения или вырывая всё растение с корнями и затем обрезая надземную часть. Сушат траву ярутки полевой в хорошо проветриваемом помещении или под навесом при температуре не выше 35-40⁰С. Для сушки сырье необходимо разложить тонким слоем на бумагу или ткань, периодически переворачивая сырье. Возможна сушка в сушилках при температуре не выше 40⁰С.

Сырье представляет собой цельные или частично измельченные стебли, ребристые, голые, части простых продолговато-ланцетных листьев остро-стреловидных при основании, по краям листья зубчатых зеленого цвета, цветков с крестообразно расположенными раздельнолепестными белыми лепестками, допускается присутствие небольшого количества плодов – сплюснутых стручков округло-овальной формы с темно-коричневыми маслянистыми семенами. Запах сырья своеобразный, вкус водного извлечения горьковатый.

Числовые показатели. Содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид не менее 1,2 %, влажность не более 12 %, золы общей не более 10%, золы, нерастворимой в 10 % растворе кислоты HCl не более 2%, органическая примесь не более 2%, минеральная примесь не более 1%, частиц,

не проходящих сквозь сито $d=7$ мм не более 5%, частиц, проходящих сквозь сито $d=0,5$ мм не более 5%.

Высушенную траву ярутки полевой упаковывают в тюки. Хранят изолированно от других видов сырья на стеллажах в сухом, хорошо проветриваемом помещении, защищенном от прямых солнечных лучей месте. Срок годности - 2 года.

Инструкцию составили:

Аспирант кафедры

фармакогнозии и ботаники

ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

Е.Ф.Королева

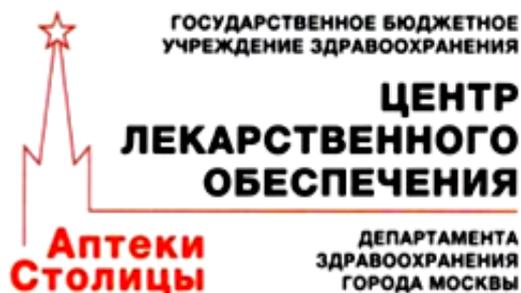
Профессор кафедры

фармакогнозии и ботаники

ФГБОУ ВО БГМУ

Минздрава России, д.фарм.н

К.А. Пупыкина



от _____ № _____

на № _____ от _____

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Предмет внедрения: методики качественного и количественного анализа суммы флавоноидов в траве ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.).

Разработчики методики: профессор кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, д.фарм.н. Пупыкина К.А., аспирант кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России Королева Е.Ф.

Цель внедрения: подтверждение возможности использования методик качественного анализа с использованием хроматографических проб методом ТСХ и количественного определения суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии в пересчете на лютеолин-7-глюкозид для оценки содержания данной группы биологически активных веществ в траве ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.).

Результаты внедрения: методики качественного и количественного анализа флавоноидов являются экспрессными, нетрудоемкими, легко воспроизводимыми и статистически достоверными, могут использоваться для оценки качества травы ярутки полевой и рекомендованы для включения в проекты нормативной документации.

Заведующий
лабораторией – провизор
ГБУЗ «ЦЛО ДЗМ»



Г.Р. Айсина

УТВЕРЖДАЮ
 Генеральный директор
 ООО «Алтын Солок»
 _____ Н.С. Нургалеев
 _____ 2024 г.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов диссертационной работы Королевой Екатерины Фаридовны «Фармакогностическое исследование ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.)», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия в работу ООО «Алтын Солок»

Комиссия в составе: председатель – генеральный директор ООО «Алтын Солок» Н.С. Нургалеев.

Члены комиссии: технолог – Нургалеев Р.С., аналитик Рычкова Е.Н. составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Королевой Е. Ф. внедрены в работу ООО «Алтын Солок». Разработанные методики качественного и количественного анализа травы ярутки полевой апробированы в работе предприятия. В основе разработанных методик лежит унифицированный подход к анализу лекарственного растительного сырья: качественный анализ с использованием хроматографических проб методом ТСХ и количественное определение суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид в траве ярутки полевой методом дифференциальной спектрофотометрии. Методики являются нетрудоемкими, экспрессными, легко воспроизводимыми и статистически достоверными.

Внедрение результатов диссертационного исследования Королевой Е.Ф. будет способствовать оптимизации анализа лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды и дальнейшего ее внедрения в медицину.

Технолог
 ООО «Алтын Солок»

Р.С. Нургалеев

Аналитик
 ООО «Алтын Солок»

Е.Н Рычкова



УТВЕРЖДАЮ

Ректор ФГБОУ ВО БГМУ

Минздрава России, академик РАН,
профессор

В.Н. Павлов

«15» мая 2024 г.



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Приложение 6

результатов диссертационной работы Королевой Екатерины Фаридовны «Фармакогностическое исследование ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.)», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия в учебную работу кафедры фармакогнозии и ботаники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Комиссия в составе: председатель – заведующий кафедрой фармакогнозии и ботаники, д. фарм. н., профессор Н.В. Кудашкина

Члены комиссии: профессор кафедры фармакогнозии и ботаники, д. фарм. н., С.Р. Хасанова, доцент кафедры фармакогнозии и ботаники, к. фарм. н., Галиахметова Э.Х. составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Королевой Е.Ф. «Фармакогностическое исследование ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.)» внедрены в учебный процесс кафедры фармакогнозии и ботаники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (450008, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3) и применяются на практических занятиях у студентов 3 и 4 курса фармацевтического факультета при изучении вопросов качественного и количественного анализа лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды, и при разработке методов стандартизации лекарственного растительного сырья и средств растительного происхождения.

Председатель комиссии:

Н.В. Кудашкина

Члены комиссии:

С.Р. Хасанова

Э.Х. Галиахметова



450095, г. Уфа, ул. Ленина, 3

Ректор ФГБОУ ВО БГМУ
Минздрава России

УТВЕРЖДАЮ

Ректор ФГБОУ ВО БГМУ
Минздрава России, академик
РАН, профессор



В.Н. Павлов

«15» мая 2024 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов диссертационной работы Королевой Екатерины Фаридовны «Фармакогностическое исследование ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.)», представленной на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия в учебную работу кафедры фармацевтической, аналитической и токсикологической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Комиссия в составе: председатель – заведующий кафедрой фармацевтической, аналитической и токсикологической химии, д. фарм. н., профессор Клен Е.Э.

Члены комиссии: профессор кафедры фармацевтической, аналитической и токсикологической химии, д. фарм.н., Дианов В.М., доцент кафедры фармацевтической, аналитической и токсикологической химии, к. фарм. н., Шарипов И.М. составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Королевой Е. Ф. «Фармакогностическое исследование ярутки полевой (*Thlaspi arvense* L.)» внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтической, аналитической и токсикологической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (450008, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3) и применяются при изучении вопросов качественного и количественного анализа лекарственных препаратов растительного происхождения на практических занятиях у студентов 3 и 4 курса фармацевтического факультета.

Председатель комиссии

Члены комиссии

450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3

Е. Э. Клен

В.М. Дианов

И.М. Шарипов



Ученый секретарь ФГБОУ ВО БГМУ
Минздрава России