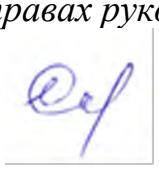
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЛЕКАРСТВЕННЫХ И АРОМАТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ»

*На правах рукописи*



**Сайбель Ольга Леонидовна**

# КОМПЛЕКСНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАСТЕНИЙ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ПРОДУКТОВ ПИЩЕВОГО НАЗНАЧЕНИЯ

3.4.2 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация на соискание ученой степени
доктора фармацевтических наук

Научный консультант:
Даргаева Тамара Дарижаповна,
доктор фармацевтических наук,
профессор

Москва – 2022

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ..... 5

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ФИТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ И КОМПЛЕКСНОЙ ПЕРЕРАБОТКИ РАСТЕНИЙ..... 15

1.1. Возможности ресурсосберегающих технологий в получении лекарственных средств и функциональных продуктов ..... 15

1.2. Представители семейства Астровых – объекты рационального природопользования ..... 21

1.2.1. Цикорий обыкновенный..... 21

1.2.2. Топинамбур ..... 48

1.3. Актуальные методы фитохимического исследования лекарственных растений..... 54

Выводы к главе 1..... 61

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ..... 62

ГЛАВА 3. КОНЦЕПТУАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТЕНИЙ ..... 69

Выводы к главе 3..... 77

ГЛАВА 4. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ И ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО..... 78

4.1. Сравнительное изучение химического состава травы дикорастущего и листьев культивируемого растения ..... 78

4.2. Определение основных БАВ и изучение их накопления в растении ..... 88

4.2.1 Фракционирование суммарного экстракта. Определение основных действующих веществ..... 88

4.2.2. Разработка методики количественного определения ..... 98

4.2.3 Накопление фенольных соединений в различных частях растения ..... 107

4.2.4. Накопление фенольных соединений в процессе онтогенеза растения ..... 109

4.2.5. Накопление фенольных соединений в зависимости от места произрастания растений ..... 109

4.2.6. Выбор режима сушки сырья ..... 112

4.2.7. Характеристика запасов сырья дикорастущих растений.... 114

4.3. Определение показателей качества и разработка нормативной документации на траву и листья цикория обыкновенного ..... 116

4.4. Сравнительное изучение химического состава корней дикорастущего и культивируемого растения ..... 132

4.5. Определение основных БАВ и оценка их содержания в сырье 135

4.6. Определение показателей качества корней цикория обыкновенного ..... 136

Выводы к главе 4 ..... 140

ГЛАВА 5. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ И ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАВЫ ТОПИНАМБУРА ..... 142

5.1. Фитохимическое исследование травы топинамбура..... 142

5.2. Фармакогностическое исследование травы топинамбура..... 148

Выводы к главе 5 ..... 155

ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ И УСТАНОВЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА СТАНДАРТНЫХ ОБРАЗЦОВ ..... 157

Выводы к главе 6 ..... 163

ГЛАВА 7. РАЗРАБОТКА РЕСУРСОСБЕРЕГАЮЩИХ ТЕХНОЛОГИЙ КОМПЛЕКСНОЙ ПЕРЕРАБОТКИ ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО И ТОПИНАМБУРА ..... 164
7.1. Технологии переработки цикория обыкновенного ..... 165
7.1.1. Надземная часть (трава, листья) ..... 165
7.1.2. Подземная часть (корни) ..... 175
7.2. Технология переработки травы топинамбура ..... 178
7.3. Использование шрота цикория обыкновенного ..... 180
Выводы к главе 7 ..... 182
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ..... 183
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ ..... 185
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ..... 187
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ ..... 188
ПРИЛОЖЕНИЯ ..... 223

# ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования**

В настоящее время одним из приоритетов государственной политики в области лекарственного обеспечения Российской Федерации является расширение возможности применения системой здравоохранения доступных и эффективных лекарственных средств для населения. Решение задач в рамках обозначенного направления достигается путём проведения исследований по поиску новых активных субстанций и создание на их основе инновационных лекарственных средств.

Среди источников получения фармацевтических субстанций особое место занимают лекарственные растения. Многолетний опыт народной, традиционной и официнальной медицины разных стран подтверждает эффективность применения лекарственных средств растительного происхождения для профилактики и лечения различных заболеваний. Преимущества их использования по сравнению с продуктами химического синтеза, определяют актуальность расширения номенклатуры применяемых в настоящее время лекарственных препаратов по средствам изучения новых видов растений.

Современный уровень проведения научных исследований по разработке лекарственных растительных препаратов представляет собой комплекс последовательных этапов, включающих обоснование выбора объекта исследования, фитохимическое изучение растительного сырья, разработку технологий получения субстанций, экспериментальное подтверждение её эффективности и безопасности, решение вопросов стандартизации. Наиболее эффективная реализация такого подхода может быть достигнута путём комплексной переработки растений, позволяющей создавать продукты лечебного и профилактического назначения с использованием ресурсосберегающих технологий.

В данном аспекте перспективными, на наш взгляд, объектами изучения являются представители семейства Астровых (*Asteraceae)* –

цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.) и топинамбур (*Helianthus tuberosum* L.). Возможности комплексного использования данных растений позволяют обосновать и разработать концептуальную схему создания новых лекарственных средств и функциональных пищевых продуктов растительного происхождения.

Предлагаемая модель основывается на детальном исследовании дикорастущего цикория обыкновенного, обладающего значительных потенциалом заготовки отечественного сырья, а также изучении возможностей использования культивируемых сортов данного растения. Вместе с тем, общие биологические особенности корней цикория обыкновенного и клубней топинамбура, обусловливающие их промышленное использование в качестве инулинсодержащего сырья, позволяют предложить единые подходы и к переработке надземной части этих растений, содержащих схожий набор веществ фенольной природы.

Результатом разработки безотходных технологии комплексного использования растений и их внедрения в практику в рамках импортозамещения будут служить фармацевтические субстанции и функциональные пищевые продукты, применение которых в профилактических и лечебных целях будет способствовать сохранению здоровья населения Российской Федерации.

**Степень разработанности темы исследования**

В современной научной литературе представлены работы отечественных и зарубежных ученых, посвященные фитохимическому исследованию новых видов лекарственных растений (В.А. Куркина, Е.В. Авдеевой, В.Н. Бубенчиковой, Т.Л. Киселевой, О.Г.Потаниной, J.H. Doughari, A. R. Abubakar, N. N. Azwanida и др.). Возможности использования современных физико-химических методов анализа в идентификации биологически активных веществ (БАВ) растений обозначены в работах J.L.Wolfender, K. Hostettmann, V. Exarchou, C. Carazzone, D. Mascherpa, G. Gazzani. Теоретическую основу диссертационной работы составили труды,

рассматривающие методические вопросы разработки новых лекарственных растительных средств и решения вопросов их стандартизации (В.И. Глызина, С.М. Николаева, В.А. Куркина и др.). Публикации по исследованию цикория обыкновенного посвящены преимущественно изучению его корней (R.S. Peña-Espinoza, S.H.Kim, A. L. Al-Malki, O. M. Ahmed, G.Y. Li, Gilani A.H. Chandra K. Jasim, M., Malarz J. И др.); топинамбур рассматривается в научной литературе, прежде всего, в качестве инулинсодержащего сырья (М.И. Ярошевич, В.Н. Зеленков, И.И. Самокиш, E. Mansouri, T. Paseephol и др.).

Анализ данных по обозначенным выше вопросам свидетельствует о недостаточном изучении надземной части цикория обыкновенного и топинамбура, исследований динамики накопления и распределения БАВ в растениях, разработке методик стандартизации сырья и способов их переработки.

Таким образом, выбор темы диссертационного исследования продиктован необходимостью комплексного использования указанных растений с учетом ценности надземной и подземной частей, наличия дикорастущих и культивируемых видов, а также возможностей переработки их вторичного сырья. На основе полученных в ходе исследования данных обоснованы и разработаны ресурсосберегающие технологии, позволяющие получить фармацевтические субстанции гепатопротекторного и иммуномодулирующего действия, а также функциональные продукты пищевого назначения.

**Целью** настоящей работы является теоретическое обоснование и экспериментальное подтверждение перспективы комплексного использования некоторых видов растений семейства Астровых (*Asteraceae)* как источников новых растительных средств и функциональных продуктов.

**Для достижения указанной цели необходимо было решить следующие задачи:**

- провести информационно-аналитическое исследование по данной проблеме и разработать концептуальную схему создания новых лекарственных средств на основе комплексного использования растений;

- изучить химический состав травы дикорастущего цикория обыкновенного, определить фармакогностические характеристики и показатели качества сырья, установить их нормы;

- обосновать использование сырья культивируемых растений для расширения сырьевой базы травы дикорастущего цикория обыкновенного;

- выявить закономерности накопления БАВ в траве цикория обыкновенного, обосновать выбор методик стандартизации;

- исследовать товароведческие показатели корней дикорастущего и культивируемого цикория обыкновенного, определить основные группы вторичных метаболитов;

- провести фармакогностическое исследование и изучить химический состав травы топинамбура, установить закономерности накопления БАВ в растении, разработать методики контроля качества;

- предложить способ получения стандартных образцов цикориевой и хлорогеновой кислот из листьев цикория обыкновенного и топинамбура;

- разработать рациональные технологии комплексного использования цикория обыкновенного и способ переработки травы топинамбура, оформить лабораторные регламенты на получение экстрактов сухих;

- подготовить нормативную документацию на новые виды лекарственного растительного сырья цикория обыкновенного и топинамбура, а также стандартные образцы цикориевой и хлорогеновой кислот.

**Научная новизна**

На основе обобщения данных литературы, анализа опыта традиционной медицины и проведенных исследований создана концептуальная схема разработки лекарственных средств на основе комплексного использования растений. Реализация представленной методологии осуществлена на примере безотходной переработки цикория обыкновенного и топинамбура, результатом которой явились фармацевтические субстанции иммуномодулирующего и гепатопротекторного действия, а также функциональные продукты пищевого назначения.

С использованием метода ВЭЖХ-УФ-МС/МС охарактеризован состав фенольного комплекса травы дикорастущего и листьев культивируемого цикория обыкновенного, при этом установлены различия в качественном составе доминирующих метаболитов. Выявлены особенности распределения фенольных соединений в растении, изучена динамика их накопления в зависимости от фазы вегетации и места произрастания.

На основании результатов фракционирования и скрининга выявлено, что основной группой БАВ, определяющей биологическую активность экстрактов травы и листьев цикория обыкновенного, являются фенольные соединения, в связи с чем предложено проводить стандартизацию сырья по данной группе веществ.

На основании фитохимического изучения травы топинамбура показана возможность её использования для получения экстракта сухого иммуномодулирующего действия.

Разработан способ получения экстракта сухого из травы дикорастущего цикория обыкновенного, обладающего гепатопротекторным действием, обусловленный наличием фенольных соединений.

Впервые предложен унифицированный способ получения из цикория обыкновенного и топинамбура цикориевой и хлорогеновой кислот, которые

используются в методиках подтверждения подлинности и количественного определения фенольных соединений в изучаемых объектах.

Результаты проведенных исследований вносят существенный вклад в разработку новых лекарственных средств растительного происхождения и могут служить новым подходом в создании ресурсосберегающих технологий получения фармацевтических субстанций целенаправленного фармакологического действия, а также функциональных продуктов. Возможности использования отходов возделывания пищевых растений (вторичного сырья) позволяют создавать отечественные лекарственные средства, доступные широким слоям населения и будут способствовать повышению эффективности профилактики заболеваний.

**Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные в ходе фитохимических исследований результаты дополняют информационный массив данных по составу, содержанию, распределению и динамике накопления БАВ в надземной и подземной частях цикория обыкновенного и траве топинамбура. Реализация предложенной концептуальной схемы разработки лекарственных средств на примере цикория обыкновенного и топинамбура позволяет рекомендовать её для использования при создании новых ресурсосберегающих технологий комплексной переработки растений.

Результаты, полученные в ходе исследования внедрены в работу ФБУЗ ДЗ г. Москвы «Центр лекарственного обеспечения и контроля качества лекарственных средств», в учебный процесс и научно-исследовательской работе ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России; Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» в работе ООО «Травы Башкирии», государственного предприятия «Бурят-Фармация» Минздрава Республики Бурятия.

На основании полученных данных оформлены проекты фармакопейных статей «Цикория обыкновенного трава» (направлен на рассмотрение в ФГБУ НЦЭСМП МЗ России (Исх.№ 43314/139 от 17.08.2021 г.), «Цикория обыкновенного листья», «Топинамбура трава»; технические условия ТУ 72.19.30-001-04868244-2018 «Цикориевая кислота – стандартный образец», ТУ 72.19.30-004-04868244-2021 «Хлорогеновая кислота – стандартный образец».

По результатам балансовых загрузок составлены и утверждены Лабораторный регламент ЛР-02468244-04-2021 на производство фармацевтической субстанции «Цикория обыкновенного травы экстракт сухой», ЛР-02468244-05-2021 на производство фармацевтической субстанции «Топинамбура травы экстракт сухой». Получена декларация о соответствии пищевых продуктов на основе травы цикория обыкновенного и травы топинамбура требованиям Евразийского экономического союза за № ЕАЭС N RU Д-RU.PA01.B.55681/21 от 28.06.2021 г.

**Положения, выносимые на защиту:**

- концептуальная схема создания новых лекарственных растительных средств и функциональных пищевых продуктов на основе комплексной переработки перспективных видов растений семейства Астровых;

- результаты исследований качественного состава и содержания фенольных соединений травы дикорастущего и листьев культивируемого цикория обыеновенного, а также травы топинамбура с использованием современных физико-химических методов анализа;

- оптимальные параметры экстракции, обепечивающие максимальный выход БАВ, положенные в основу разработки ресурсосберегающих технологий получения экстрактов сухих травы цикория обыкновенного и топинамбура;

- морфолого-анатомические признаки травы, листьев, корней цикория обыкновенного и травы топинамбура, позволяющие подтвердить подлинность исследуемых видов сырья;

- экспериментальный подбор условий проведения методик количественного определения фенольных соединений в пересчете на доминирующее вещество в изучаемых видах сырья и их валидационная оценка.

**Методология и методы исследования**

Теоретическую основу диссертационной работы составили труды В.И. Глызина, И.А. Самылиной, Т.А. Сокольской, О.Г. Потаниной, В.К. Колхира, С.М. Николаева и др., которые позволили наметить вектор перспективных исследований и обосновать возможности создания современных лекарственных средств из отечественного растительного сырья.

Методология исследований заключалась в теоретическом обосновании и экспериментальном подтверждении разработки рациональных технологий получения экстрактов сухих на основе комплексной переработки лекарственных растений.

Исследования проведены с использованием современных физико-химических методов анализа на аттестованном оборудовании.

**Личный вклад автора**

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, постановке цели и определении задач, выполнении экспериментальных работ, обобщении, анализе и статистической обработке полученных данных, оформлении и представлении научных работ.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.4.2 – фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки). Результаты проведенного исследования соответствуют пунктам 2, 3, 6 паспорта специальности.

**Связь задач исследований с проблемным планом**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБНУ ВИЛАР по теме № FNSZ-2019-0010 «Поиск активных фракций природных соединений, разработка способов их получения из растительного сырья, методик стандартизации и создание на их основе современных лекарственных форм» (Регистрационный номер АААА-А20-117080910129-7).

**Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность результатов подтверждена проведением каждого эксперимента в нескольких повторностях с использованием поверенных и аттестованных приборов, последующей статистической обработкой полученных результатов, а также их сопоставлением с данными литературы.

Разработанные методики количественного определения валидированы. Выводы сформулированы на основе результатов экспериментальных исследований.

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: III Научно-практической конференции «Молодые ученые и фармация XXI века» (Москва, 2015). XII Международном симпозиуме «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». – (Пущино, 2017); Международной научной конференции «Перспективы лекарственного растениеведения», посвященной 100-летию со дня рождения профессора А.И. Шретера (Москва, 2018), XXVI Российского национального конгресса «Человек и лекарство» (Москва, 2019), IX international research to practice Conference «Traditional medicine: ways of consolidation with modern health care» (Ulan-Ude, 2019); IX Международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию Победы в Великой Отечественной войне. Формы и методы социальной работы в различных сферах жизнедеятельности (Улан-Удэ, 2020); Международной научной конференции «От растения до лекарственного препарата» (Москва,

2020); Международной научно-практической конференции «PLANTA+. Наука. Практика. Образование» (Киев, 2021); Международной научной конференции «90 лет – от растения до лекарственного препарата: достижения и перспективы» (Москва, 2021); III Международном симпозиуме «Innovations in life sciences» (Белгород, 2021); 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим» (Волгоград, 2021); Annual Meeting American College of Clinical Clinical pharmacology in drug development (USA, 2021); Международной научно-практической конференции «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» (Томск, 2021). VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной году науки и технологий «Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации» (Электрогорск, 2021).

**Публикации**

По результатам диссертационной работы опубликованы 42 научные работы, в том числе 16 статей - в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, 1 монография, получен патент РФ.

**Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа изложена на 248 страницах, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 5 глав собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, списка цитируемой литературы, включающего 278 источников, в том числе - 212 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 81 рисунком и 47 таблицами.

# ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ФИТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ И КОМПЛЕКСНОЙ ПЕРЕРАБОТКИ РАСТЕНИЙ

## 1.1. Возможности ресурсосберегающих технологий в получении лекарственных средств и функциональных продуктов

С древних времен человечество использует растения для получения средств профилактики и лечения различных заболеваний. Если народная медицина традиционно применяет настои, отвары и настойки, то современный уровень развития фармацевтической отрасли позволяет получать из растений суммарные, очищенные экстракты, а также индивидуальные БАВ и их суммы. Создание таких продуктов достигается путём детального изучения химического состава новых видов растений, выявления действующих компонентов, оценки их эффективности и безопасности, решения вопросов стандартизации. Реализация данного подхода позволяет разрабатывать высокотехнологичные способы переработки растительного сырья и, тем самым, рационально использовать природные ресурсы [54].

Функциональным и экономически целесообразным направлением ресурсосберегающих технологий, представляется комплексное использование растений. Среди возможностей данного принципа, на наш взгляд, можно выделить следующие.

### 1.1.1. Использование разных частей одного растения для получения лекарственных субстанций различного действия.

Наглядным примером такой переработки может служить шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.). Фармакопейным сырьем этого растения являются листья, стандартизуемые по содержанию эфирного масла. При промышленном выращивании данного растения его плантации после четырехлетней эксплуатации перекапываются, и корни подлежат утилизации. Фитохимическое исследование подземной части шалфея показало, что одной из основных групп БАВ являются абиетановые дитерпеноиды: ройлеанон, 7-

гидроксиройлеанон (горминон) и 7-ацетоксиройлеанон, обладающие высокой антимикробной активностью. Таким образом, вторичное сырье шалфея служит источником получения антимикробных средств [9].

При заготовке лекарственного растительного сырья «Тополя почки», применяемых как антимикробное, противовоспалительное средства, ветки (побеги) тополя (*Populus nigra* L.) являются отходом производства. Исследования Браславского В.Б. с соавт. показали, что кора этих побегов содержат флавоноиды, в частности, пиностробин и может также рассматриваться как источник получения БАВ [28].

Плоды шиповника (род *Rosa*) широко используются в качестве витаминного средства. Одним из эффективных приемов увеличения урожайности шиповника, наряду с агротехникой, служит механизированная омолаживающая обрезка кустов. Срезанные части растения сжигаются. Кроме того, при раскорчевке старовозрастных плантаций, выбрасывается большая масса корней. Однако, все эти отходы, могут служить дополнительным источником получения С и Р витаминных средств [35].

### 1.1.2. Использование шрота лекарственного растительного сырья после экстракции целевых БАВ

В процессе переработки растительного сырья на фармацевтических предприятиях накапливаются значительные количества отходов после экстракции – шрота в виде измельченных стеблей, листьев или корней, масса которых достигает в среднем 85-90 % от исходного сырья. Имея в своем составе большинство тех же компонентов, что и исходное сырье, технологические отходы являются ценным вторичным сырьем для дальнейшей их переработки.

Так, на базе Опытного производства Институт химии растительных веществ (ОП ИХРВ) АН РУз осуществляется серийное производство фармацевтических субстанций из растений рода *Aconitum* L. и *Thermopsis alterniflora* L. При изучении шрота сырья этих растений было установлено, что, суммарное содержания полисахаридов в нем составляет 61,4 и 64,9 %

соответственно, что несущественно отличается от содержания их в древесине наиболее распространенных древесных пород (64,3 - 65,5 %). Это обстоятельство позволяет использовать их в качестве вторичного сырья для химической и биологической переработки [3].

Шрот корней солодки (*Glycyrrhiza glabra* L.), получаемый при производстве лекарственного средства «Сироп солодки», представляет интерес в качестве источника получения ценных БАВ: глицирризиновой кислоты, фенольных соединений, липофильных веществ, полисахаридов, в том числе галактоглюканов, а также крахмала, клетчатки и белка [61].

Трёхкратная экстракция шрота корней солодки спиртом этиловым 80 % позволяет получить экстракт с содержанием флавоноидов (4,66 – 4,76) % и глицирризиновой кислоты (0,88 – 0,91) %. Методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) показано наличие в данном экстракте до 14 флавоноидных соединений, среди которых преобладают ликвиритигенин и формононетин. Экстракт шрота корней солодки и его фракции, обладают высокой антиоксидантной, антимикробной и антимутагенной активностью и могут служить основой для разработки лекарственных средств на их основе [61, 60].

Примером такого принципа также является эфиромасличное сырье. Исследования, проведенные Первышиной Г. Г. с соавт позволили предложить принципиальную схему переработки травы душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.) и корней аира болотного (*Acorus calamus* L.), произрастающих на территории Красноярского края, которая, включает стадии выделения эфирного масла методом перегонки с паром; экстракции шрота водой и получение на основе водного экстракта сиропа профилактического действия [48].

Еще одним направлением использования шрота является разработка сорбентов различного действия [31].

### 1.1.3. Технологии комплексного использования одного вида сырья для получения нескольких лекарственных субстанций в рамках одного технологического процесса

Возможности комплексного использования сырья для получения различных лекарственных субстанций можно показать на примере амми большой, плоды которого служат сырьем для получения препарата фотосенсебилизирующего действия «Аммифурин» и противогрибкового - «Анмарин».

Производство аммифурина (сумма фурокумаринов ксантотоксина, бергаптена и изопимпинеллина) характеризуется сравнительно невысоким выходом субстанции и нетехнологичностью стадии очистки суммы фурокумаринов, при этом водный раствор мармезина, получаемый при осаждении фурокумаринов, служит отходом производства. В свою очередь, получение анмарина (смесь двух изомеров ангидромармезина, получаемых полусинтетическим путём из мармезина) осуществляется также из плодов амми, но по отдельной технологии и в этом случае аммифурин является отходом производства анмарина. В связи с этим, была изучена возможность объединения двух технологических схем и предложен единый технологический процесс, позволяющий использовать отходы производства одной субстанции для повышения выхода другой. Такая комплексная переработка позволила снизить расходы сырья и растворителей, а также уменьшить энерго- и трудозатраты [34].

Плоды расторопши *Silybum marianum* L. также являются примером комплексного использования сырья. Сначала из плодов расторопши выделяют масло, которое используют для экстракции травы ромашки и календулы – получают препарат «Камадол» (противовоспалительное и ранозаживляющее средство). Оставшийся жмых служит сырьем для производства гепатопротекторного препарата «Силимар». В свою очередь, шрот плодов расторопши, имея значительную пищевую ценность, используют в качестве корма для скота [40].

Наряду с производством сиропа, корни солодки используются для получения фармацевтических субстанций отхаркивающего и противовоспалительного действия глицирам (аммония глицирризинат), а также спазмолитического, противовоспалительного, антацидного препарата ликвиритон (сумма флавоноидов корней солодки). Благодаря оптимально подобранному экстрагенту, Бибиковой Н.Е. удалось предложить технологию комплексной переработки данного сырья, позволяющую получить две субстанции БАВ тритерпеновой и флавоноидной природы в одном процессе [6].

В результате комплексной переработки древесины лиственницы, можно получить биофлавоноидный комплекс, содержащий 90,0 - 98,0 % дигидрокверцетина и сопутствующих флавоноидов, антиоксидантного капилляропротекторноого, противовоспалительного, антигистаминного, гепатопротекторного действия, а также полисахарид, в частности арабиногалактан, который применяется в медицине в качестве пребиотика, гастропротектора, иммуномодулятора; в пищевой промышленности в качестве текстуратора, эмульгатора и желирующего агента [47].

Теоретическое и экспериментальное обоснование технологических параметров позволили Мухамеджановой Д. М. предложить схему комплексного использования плодов шиповника, заключающуюся в получении липофильной фракции - диоксидом углерода и последующей экстракции шрота водой для извлечения гидрофильной фракции и получения сухого экстракта. На основе $CO_2$-экстракта шиповника разработаны мягкие желатиновые капсулы, сухого экстракта – гранулы иммуномодулирующего действия [36].

### 1.1.4. Использование вторичного сырья пищевых производств

В пищевой промышленности находит применение использование отходов производств для получения продуктов профилактического назначения. Так, плоды винограда культурного (*Vitis vinifera* L.) являются ценным пищевым продуктом. Однако при его выращивании и переработке

образуются значительное количество отходов, которые успешно используются для получения лечебных средств и функциональных продуктов.

Красные листья винограда культурного образуются на растениях после уборки плодов, когда растения в процессе адаптации к холодной погоде вместо хлорофилла начинают вырабатывать антоцианы. Данный вторичный продукт виноградарства служит сырьем для получения лекарственного средства «Антистакс» и его аналогов [21, 21].

Жом плодов и гребни винограда, получаемые после отжима сока, являются источником получения БАВ фенольного характера, на основе которых разработаны биологически активные добавки к пище, а также лекарственные средства для стоматологии [33, 22, 62].

Ценным источником белковых веществ являются отходы переработки масличных культур (подсолнечника, рапса, льна и др.). Жмых содержит набор незаменимых аминокислот и успешно используется для обогащения рациона питания жвачных животных [13].

Вторичным сырьем служит также побочные продукты крупяных производств, в частности, гречихи. Фитохимическое исследование околоплодников гречихи выявило наличие комплекса БАВ фенольной природы и его противовоспалительные и противогрибковые свойства [56]. Сухие экстракты, полученные с применением технологии двухфазной экстракции данного вторичного сырья системой растворителей изопропанол-хлороформ, имеют наиболее разнообразный компонентный состав фенольных соединений, что позволяет эффективно использовать их в качестве активных ингредиентов твердых лекарственных форм и БАД к пище [2].

Таким образом, все вышеперечисленные примеры реализации принципа комплексного использования растительного сырья свидетельствуют о его рациональности и позволяют обеспечить высокотехнологичность и экономическую целесообразность фитохимических

производств. В связи с этим, именно этот поход, по возможности, должен быть применен при исследовании новых видов лекарственных растений.

Перспективными в этом отношении объектами являются растения семейства Астровых *(Asteraceae):* цикорий обыкновенный и топинамбур.

## 1.2. Представители семейства Астровых – объекты рационального природопользования

### 1.2.1. Цикорий обыкновенный

Род *Cichorium* относится к семейству Астровых *(Asteraceae)* и включает 10 видов [262] На территории стран СНГ (бывшей СССР) встречаются 4 вида (*C. endivia*, *C.glabratum*, *C.glandulosum*, *C.intybus*, *C.pumilum*, *C.spinosum*) [128], среди которых *C. intybus* является наиболее распространенным.

Название растения происходит от греческого и латинского языков. «*Cichorium»* означает поле, а «*intybus»* частично является производным от греческого «*éntomos*» (резать), обозначающее изрезанный край листьев и частично из латинского «*tubus*» - свидетельствующее о полом стебле [74, 152].

**Ботаническая характеристика**

Цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.) - многолетнее травянистое растение высотой 20 - 150 см, зеленое или сизовато-зеленое; стебли прямостоячие, обычно разветвленные, часто с сильно отклоненными в стороны и несколько утолщающимися к верхушке ветвями, щетинисто- или курчавоволосистые, нередко голые или почти голые; листья с нижней стороны обычно щетинисто- и курчавоволосистые, с верхней стороны курчавоволосистые, прикорневые обычно сохраняющиеся во время цветения растения, от струговидно перистараздельных до цельных, но более или менее зубчатых по краю, у основания постепенно суженные в крылатый черешок, стеблевые (кроме самых нижних, сходных с прикорневыми) относительно немногочисленные и сильно уменьшенные, от ланцетно-яйцевидных до

ланцетных, стеблеобъемлющие, с закругленными или стреловидными, часто зубчатыми ушками. Корзинки обычно многочисленные, одиночные или скученные по несколько на верхушке стебля и его боковых ветвей, а также в пазухах средних и верхних стеблевых листьев; обертки 8 - 14 мм длиной; наружные листочки их в 1,5 - 2 раза короче внутренних и обычно от них отстоящие, неодинаковой длины и формы, в нижней части относительно тонкокожистые, по краю более или менее реснитчатые, снаружи также часто волосистые, с простыми или железистыми волосками, нередко совершенно голые; внутренние листочки в верхней части обычно волосистые или реснитчатые; венчики цветков 15 - 25 мм дл., голубые разных оттенков, иногда беловатые, в воде быстро обесцвечивающиеся; семянки 2 - 3 мм длиной с хохолком длиной 0,2 – 0,3 мм. Цветение июль - сентябрь.

Рисунок 1 – Цикорий обыкновенный – *Cichorium intybus* L.
(Московская область, г.о. Серпухов, д. Волково)

Цикорий обыкновенный произрастает на лугах, лесных полянах, травянистых склонах, часто как сорное растение у дорог, на полях, близ населенных пунктов; в горах до среднего горного пояса. Распространен на Европейской части (Рисунок 2): все районы (но на севере (Карельско-

Лапландский, Двинско-Печорский) только как редкое заносное растение); Кавказе (повсеместно); Западной Сибири: Обск. (южн. ч.), Верх.-Тоб., Ирт. (редко); Восточной Сибири: Анг.-Саян. и Даур. (только как редкое заносное растение); Средней Азии. Общий ареал распространения: почти вся Европа, Северная Африка, Передняя Азия, Иран, западные провинции Китая; как заносное растение - в Южной Африке, Северной и Южной Америке, Австралии и Новой Зеландии [59, 128].

Рисунок 2 – Зона распространения цикория обыкновенного [1]

Культивируемые сорта цикория можно разделить на несколько категорий в зависимости от их использования [256]:

- «Промышленный» или «корневой» цикорий (выращивается в основном в Северо-западной Европа, Индии, Южной Африке и Чили; используется для получения инулина и производства заменителя кофе);

- «Brussels» или «witloof» цикорий (самый распространенный салатный промышленный сорт Европы);

- «Листовой» цикорий, используемый в свежем или вареном виде;

- «Пастбищный» цикорий (специально выведенные из дикорастущих растений сорта для обогащения рациона питания пастбищных животных)

**Использование и хозяйственное значение**

Введение в культуру цикория обыкновенного было вызвано, прежде всего, возможностью использования его корней в производстве заменителей кофе и чая. Родиной «цикорного кофе» является Франция, которая и в настоящее время остается одним из крупнейших мировых производителей и экспортеров этого продукта.

В России основным районом культивирования цикория обыкновенного стал Ростовской район Ярославской области, где уже более ста лет функционирует кофе-цикорный комбинат. Многолетний опыт эксплуатации плантаций цикория позволили отработать агротехнологические приемы по выращиванию, уборке и переработке цикория, а селекционерам – создать новые сорта, характеризующиеся высокими показателями урожайности и качества корнеплодов, имеющий форму, пригодную для уборки с помощью выкапывающих устройств [8, 10, 14]. Корнеплоды культивируемого цикория после обжарки используют для получения «цикориевого кофе» [17]. В настоящее время в реестре селекционных достижений РФ, допущенных к использованию, зарегистрировано 8 сортов корневого цикория (*Cichorium intybus* L. *var. sativum* DC): «Александрит», «Гоголевский», «Кризолит», «Никольский», «Петровский», «Ростовский», «РЦ4», «Флюор», 1 сорт *Cichorium intybus* L. *partium* «Стрелы амура» и 10 сортов цикорного салата (*Cichorium intybus* L. *var.folisum Hegi)* [19].

Благодаря продолжительному времени цветения, цикорий является хорошим медоносом. С одного гектара можно получить до 100 кг высококачественного мёда, в то время как аналогичный показатель для гречихи составляет 70 кг [64, 30].

Обладая высокопитательными характеристиками и лечебными свойствами, все части цикория обыкновенного являются особо ценными кормовыми продуктами для сельскохозяйственных животных, [216]. В 100 кг корнеплодов цикория содержится 25,7 кормовых единиц, что в два раза выше, чем у кормовой свеклы [64]. Некоторые сорта «пастбищного»

цикория, специально выведенные в Новой Зеландии (например, *Cichorium intybus* cv. Puna - Grasslands Puna или Puna chicory) по пищевой ценности сопоставимы с люцерной [239].

**Биотехнология**

Кроме того, цикорий обыкновенный характеризуется высокой способностью к регенерации в культуре клеток *in vitro*, быстро накапливает вегетативную массу, что делает его привлекательным для биотехнологии и генной инженерии [32, 65]. Проведены эксперименты по трансформации семядолей цикория диким штаммом *Agrobacterium rhizogenes* A4 из культуры «бородатых» корней и получены трансгенные растения *Cichorium intybus* L. var. foliosum Hegi, которые несут ген интерферона-α2b человека или гены esxA::fbpBTMD антигенов ESAT6 и Ag85B *Mycobacterium tuberculosis*. Показана возможность прямого (без образования каллусной ткани) формирования побегов из трансгенных корней на питательной среде без регуляторов роста. Перенос и транскрипция генов в растениях подтверждены результатами ПЦР-анализа [51].

Наряду с использованием в пищевом производстве и биотехнологии, цикорий во многих странах мира рассматривается и как лекарственное растение.

**Использование в народной и традиционной медицине**

Цикорий обыкновенный не описан в Европейской, Британской, Американской фармакопеях, однако, широко используются в традиционных национальных системах лечения и народной медицине многих стран мира (Таблица 1).

Трава и корни цикория обыкновенного и цикория железистого включены в Китайскую фармакопею [221]. В гомеопатической практике используют цветки, траву и цветущее растение, в Германской гомеопатической фармакопеи описан отвар из корней цикория обыкновенного [7].

Таблица 1 – Использование в традиционной медицине цикория обыкновенного

| Страна | Использование | Часть растения | Форма применения | Источник информации |
|---|---|---|---|---|
| Афганистан | Малярия | Корни | водный экстракт | [93] |
| Босния и Герцеговина | Диарея, нарушение функций простаты и других репродуктивных органов, рак легких, | Надземная часть, цветки, корни | Нет данных | [156] |
| | Нарушение функций печени. В качестве желчегонного, спазмолитического, антисептического средства | Надземная часть | Отвар | [261] |
| Болгария | В качестве желчегонного и гипогликемического средства | Корни, надземная часть | Отвар | [205] |
| Индия | Заболевания печени, головная боль, астма, расстройства пищеварения | Семена | Нет данных | [71, 73] |
| | Сахарный диабет | Цельное растение | Нет данных | [86] |
| | Желтуха, увеличение печени, подагра и ревматизм | Корни | Отвар | [86] |
| Иран | Диспепсические расстройства. В качестве, желудочного, очищающие, желчегонное, слабительное, гипотензивное, тонизирующее, и жаропонижающего средства | Все растение | Нет данных | [211] |
| Италия | «Очищение крови» | Листья | Нет данных | [227] |
| | Повышенное артериальное давление | Листья | Отвар | [172] |
| | «Очищение крови», артериосклероз, противоартритное средство. В качестве спазмолитическо го средства | Листья/корни | Отвар | [207] |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | В качестве очищающего средства | Цельное растение | Отвар | [157] |
| | Желтуха. В качестве желчегонного, гепатопротекторного, легкого слабительного, гипогликемического средства | Листья | Отвар измельченных свежих листьев | [205] |
| Иордания | Внутренние кровотечения, успокаивающее при брюшном тифе | Цельное растение | Нет данных | [71] |
| Марокко | Почечная недостаточность | Надземная часть/корни | Нет данных | [155] |
| | Заболевания почек, сахарный диабет | Цельное растение | Отвар | [151] |
| Пакистан | Сахарный диабет | Корни | Отвар | [266] |
| Польша | Нарушение пищеварения, отсутствие аппетита | Корни | Чай | [158] |
| Сербия | Диарея | Цветки | Настой | [1] |
| | Нарушение функций печени. В качестве мочегонного, желудочного слабительного, противовоспалительного, гипогликемического средства | Корни | Отвар, чай | [77] |
| | В качестве желчегонного, желудочного, гипогликемического средства | Надземная часть/корни | Нет данных | [245 ] |
| Южная Африка | Желтуха. В качестве тонизирующего средства | Листья, семена, корни | Нет данных | [270] |
| Турция | Рак, мочекаменная болезнь | Корни | Отвар | [130] |
| | Раны | Листья | Мазь | [267] |
| | Геморрой, нарушение мочеиспускания | Надземная часть | Чай | [254] |

**Химический состав**

Согласно данным литературы, все части цикория обыкновенного (корни, трава, листья, цветки, семена) содержат биологически активные вещества.

В корнях накапливается инулин, его содержание в «корневых» сортах культивируемых растений может достигать 68 % в пересчете на сухой вес [275]. Изучение накопления инулина в цикории показало, что его образование в растении происходит на уровне шейки корня из моносахаридов, синтезировавшихся в листьях, что объясняет его отсутствие в надземной части. Накопление инулина сопровождается также образованием инулидов - сходных веществ с меньшей степенью полимеризации фруктозы (псевдоинулин, инуленин, левулин и т.д.) [15].

Одной из основных групп БАВ корней также являются сесквитерпеновые лактоны: гермакранолиды (лактуцин, лактукопикрин и 8-дезоксилактуцин), а также гуанолиды (цикриозиды B и C, сончузид C) [201, 67]. На примере кормовых сортов цикория было показано, что их содержание в течение вегетационного периода обычно снижается или остается постоянной, в то время как качественный состав варьирует среди видов кормового цикория [186]. В исследованиях было показано, что и трансформированная корневая культура («бородатые корни») продуцирует сесквитерпеновые лактоны гуанолидного и гермакранового типа: лактукопикрин, 8-дезоксилактуцин и гликозиды: крепидиазид B, сончузид A и иксеризозид на ранней стационарной фазе культивирования [210, 209].

В корнях накапливается до 0,1-0,02 % горького гликозида интибина (придающего корням при обжарке специфический вкус кофе); гидроксикоричные кислоты, тритерпеновые соединения.

Преобладающей группой соединений надземной части являются производные оксикоричной кислоты, представленные сложными эфирами кофейной, феруловой, кумаровой кислот с органическими кислотами – винной и хинной в различных сочетаниях), оксикумарины (эскулетин и его гликозиды) и флавоноиды (гликозиды кверцетина, кемпферола и лютеолина).

Наибольшее суммарное содержание фенольных соединений отмечено в листьях, и может достигать 865,91 мг/100 г. в пересчете на галловую

кислоту и сухое сырье [94], что больше, чем в некоторых фруктах и овощах [206].

В цветках накапливаются кумарины (эскулетин и его гликозиды, умбеллиферон и скополетин), флавоноиды, стерины, эфирные масла. Окраска цветков обусловлена наличием антоцианов (гликозидов цианидина и дельфинидина) [214].

Наряду с этим, в цикории обыкновенном обнаружены дубильные вещества, холин, жирные кислоты, белки, витамины, макро- и микроэлементы [256, 74, 152, 133, 123].

Обобщенные сведения о химическом составе вторичных метаболитов цикория обыкновенного и их локализации в растении приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Биологически активные вещества цикория обыкновенного

| Название | Локализация в растении |
|---|---|
| **Кумарины** | |
| Эскулетин (6,7-дигидроксикумарин) | Цветки, трава [117], семена [73] |
| Эскулин (эскулетин-6-глюкозид) | |
| Цикориин (эскулетин-7-глюкозид) | |
| 6’-n-гидроксифенилцикориина ацетат | |
| Умбеллиферон (7-гидроксикумарин) | |
| Скополетин 6-метилэскулетин | |
| **Фенолкарбоновые, органические кислоты и их производные** | |
| Хлорогеновая | Корни [68]; трава [218] |
| Неохлорогеновая | |
| Изохлорогеновая | |
| Кофейная кислота | Корни [216]; листья [94, 180] |
| Коричная | Листья [216, 94] |
| 3,4,5-метоксикоричная | Листья [216, 94] |
| Феруловая, изоферуловая | Листья [216, 94] |
| Цикориевая кислота | Трава [11, 218, 225]; листья [138] |
| Кафтаровая кислота (цис-, транс-) | Трава [225]; листья [138, 180] |
| *п*-кумаровая | Корни [216, 94]; листья [216, 94] |
| *п*-гидроксибензойная | Корни [216, 94]; листья [216, 94] |
| 4-кофеоилхинная | Листья [138] |
| 3-кофеоилхинная | Листья [180] |
| 5-кофеоилхинная | Листья [180, 138] |
| 5-кумароилхинная | Листья [180] |
| 5-ферулоилхинная | Листья [180] |
| 1,3-дикофеоилхинная | Листья [180] |
| 1,4-дикофеоилхинная | Листья [180] |
| 3,4-дикофеоилхинная | Листья [180] |
| Кофеоилферуоилвинная | Листья [218] |
| Кофеоилщикимовая | Листья [180] |

| | |
|---|---|
| Кофеоилвинная | Листья [218] |
| Диметоксициннамоил шикимовая кислота | Листья [180] |
| Сиреневая | Семена [73] |
| Ванилиновая | Семена [73] |
| Изованилиновая | Корни [216, 94]; листья [216, 94] |
| *п*-гидроксифенилуксусная кислота и её эфиры | Трава [117] |
| 3-гидрокси-4-метоксибензойная кислота | Трава [117] |
| Гидроксибензойной кислоты-О-гексозид | Листья [138] |
| Галловая | Листья [216, 94] |
| Бензойная | Листья [216, 94] |
| Эллаговая | Листья [216, 94] |
| Салициловая | Листья [216, 94] |
| Шикимовая | Листья [179] |
| Яблочная | Листья [180] |
| Хинная | Листья [179] |
| Щавелевая | Листья [179] |
| Янтарная | Листья [179] |
| **Флавоноиды** | |
| Кверцетин | Листья [94] |
| Апигенин | Трава [225]; листья [138] |
| Апигенин -7-О-глюкозид | Листья [138, 180] |
| Лютеолин-7-О-глюкуронид | Трава [218]; листья [133] |
| Лютеолин гексозид | Листья [138] |
| Кверцитрин | Трава [225] |
| Изокверцитрин | Трава [225] |
| Кверцетина-3-О-глюкуронид | Трава [11,218]; листья [228, 133, 180] |
| Кверцетин-галактозид | Листья [180] |
| Кверцетин глюкозид | Листья [138, 180] |
| Кверцетин рутинозид (рутин) | Трава [225]; Листья [138] |
| Изорамнетин | Листья [138] |
| Изорамнетин-7-О-глюкозид | Листья [180] |
| Изорамнетин-7-О-глюкуронид | Листья [180] |
| Изорамнетин-7-О- (6 ′ ′ - О-ацетил) -глюкозид | Листья [180] |
| Кемпферол-3-О-глюкозил-7-О- (6 ′ ′ - О-малонил) -глюкозид | Листья [180] |
| Кемпферол-7-О-глюкозил-3-О- (6 ′ ′ - малонил) -глюкозид | Листья [180] |
| Кемпферол-3-О-софорозид | Листья [180] |
| Кемпферол-7-О-глюкозид | Листья [180] |
| Кемпферол-3-О-глюкозид | Листья [180] |
| Кемпферол-7-О-рутинозид | Листья [180] |
| Кверцетин-7-оп-кумароилглюкозид | Листья [180] |
| Изорамнетин-7-О-неогесперидозид | Листья [180] |
| Кемпферол-7-О-глюкуронид | Листья [180] |
| Лютеолин | [225] |
| Катехин | Листья [94] |
| **Танины** | |
| Эпикатехин | Корни [193]; трава [193]; семена [118, 193], листья [94], листья [94] |
| Эпигаллокатехин галлат | |
| **Углеводы** | |

| | |
|---|---|
| Инулин | Корни (70,43–90,77 %); листья (38,2–72.11%); семена 31,66–34,72% [74], корни [74, 15, 160] |
| Моно-, дисахара | Корни [140] |
| Аминокислоты | Листья [215]; семена [274] |
| **Моно- и сесквитерпеноиды** | |
| Лактуцин | Корни [107, 201, 192] |
| Лактупикрин | Корни [107, 201, 192] |
| 8-дезоксилактуцин | Корни [107, 201, 192, 251] |
| Крепидиозид B | Корни [201] |
| Сончузид A | Корни [201] |
| Сончузид C | Корни [201] |
| Цикориозид A | Корни [247] |
| Цикориозид B | Корни [201, 247] |
| Цикориозид C | Корни [247] |
| 11(β),13-дигидролактупикрин | Корни [107, 251] |
| 11(β),13-дигидролактуцин | Корни [107] |
| 11(β),13-дигидро-8-дезоксилактуцинлактупикрин | Корни [107] |
| 3,4-β-дигидро-15-дегидролактукопикрин (иксеризозид D) | Корни [201] |
| Магнолиалид | Корни [201, 188, 189] |
| Цикориолид | Корни [201] |
| Цикопумилид | Корни [201] |
| Артезин (артемизин) | Корни [201, 188, 189] |
| Жаскуленин | Корни [192] |
| Интибулид A | |
| 2α, 6β, 7β,15-тетрагидроксигвайан-1(10), 4(5)-диен-9α,12олид-7-O-β-кофеоил-15-O-β-D-глюкопиравозид (цикотибозид) | Семена [88] |
| Цикориолид A | Корни [247] |
| Эфирное масло. Летучие вещества (камфора, цимен, нонадекан, алифатические соединения и их производные | Корни [240, 197]; трава [134]; листья [171, 116] |
| **Тритерпеноиды** | |
| α-амирин | Трава [117] |
| Тараксерон | |
| Бауренилацетат | |
| Лупеол | |
| ψ-тараксастерол | |
| 28 β- гидрокситараксастерол | Трава [114] |
| Фриделин | Семена [73] |
| Бетулиновая кислота | Семена [73] |
| Бетуоин | Семена [73] |
| Бетулиновый альдегид | Семена [73] |
| 18α,19β)20(30)-тараксастен-3β,21α-диол (цикоридиол) | Семена [73] |
| 17-эпиметил-6-гидроксианголенсат (интибузолоид) | Семена [73] |

| | |
|---|---|
| **Стероиды** | |
| β-ситостерин | Трава [117, 126]; семена [73] |
| Даукостерин | |
| Стигмастерин | Трава [126]; семена [73] |
| Кампестерин | Листья [202] |
| β-ситостерина 3-О-βглюкопиранозид | Трава [117, 126, 114] |
| 13,14-секосигма5(6), 14(15)-диен-3β-ол (цикостерол) | Семена [131] |
| ситоиндозид | Трава [114] |
| ситоиндозид | Трава [114] |
| **Каучук** | Корни 0,042 % |
| **Азотсодержащие соединения** | |
| Холин | Листья [202,115] |
| Путресцин | |
| Спермидин | |
| **Витамины** | |
| Аскорбиновая кислота | Корни [193]; трава [193]; семена [193] |
| **Другие гетероциклические кислородсодержащие соединения** | |
| цихорины D | Корни [126] |
| цихорины E | Корни [126] |
| антрахинонцихорин F | Корни [126] |
| **Полиацетиленовые соединения** (Понтикаэпоксид) | Корни |
| **Жирные кислоты и их производные** | |
| Пальмитиновая | Корни [198]; семена [223] |
| эйкозановая | Корни [198]; семена [223] |
| стеариновая | Корни [198]; семена [223] |
| Линолевая | Корни [198]; семена [223] |
| Линоленовая | Семена [223] |
| Миристиновая | Семена [223] |
| триакотанол | Трава [117] |
| **Халконы** | |
| 4,4’-дигидроксихалкон | Трава [117] |
| 3,3’,4,4’-тетрагидроксихалкон | Трава [117] |
| **Антоцианы** | |
| Цианидин -3-(6-малонилглюкопиранозидо)-5-малонилглюкозид | Цветки [214], листья [180, 112] |
| Цианидин—3-глюкозид | |
| Цианидин—3-галактозид | |
| Цианидин | |
| Дельфинидин | |
| Дельфинидин-3-(6-малонилглюкозидо)-5малоилглюкозид | |
| Дельфинидин-3,5-ди-О-(6-О-малонил-β-D-глюкозид) | |
| Дельфинидин-3-О-(6-О-малонил-β-D-гюкозидо)-5-О- β-D-глюкозид | |
| Дельфинидин-3-О- β-D-глюкозидо-5-О-(6-малонил- β-D-глюкозид) | |
| Дельфинидин-3,5-ди-О- β-D-глюкозид | |

**Фармакологические свойства**

Благодаря разнообразному составу БАВ, различные части растения обладают гепатопротекторной, антидиабетической, антиоксидантной, антимикробной, антигельминтной и другой биологической активностью [123, 250, 256, 111, 135].

***Антиоксидантная активность***

Румынскими учеными в опытах *in vitro* с помощью 2,2-дифенилпикрил-гидразила (DPPH) и методики, основанной на оценки способности восстанавливать железо (FRAP) были изучены антиоксидантная активность настойки травы цикория обыкновенного для обоснования возможного механизма кардиопротекторного и нефропротекторного действия данного растения. На модели ишемии миокарда, вызванной изопреналином, показано выраженное снижение системного окислительного стресса и воспалительной реакции. На модели острого повреждения печени, вызванного гентамицином, по показателям функций почек (креатинин сыворотки, мочевины сыворотки, креатинин мочи, мочевина мочи, клиренс креатинина) показано дозозависимое нефропротекторное действие настойки. Антиоксидантая активность настойки цикория, по мнению авторов, обусловлена наличием флавоноидов и фенолокислот, главным образом, цикориевой кислоты. При этом, отмечено, что активность фенольных соединений *in vivo* выше, чем *in vitro* [225].

В результате изучения метанольного экстракта и различных фракций (н-бутанол, этилацетат, хлороформ и н-гексан) семян цикория, показано, что максимальную антиоксидантную активность проявляют суммарный метанольный экстракт и этилацетатная фракция [96].

Лиофилизированный экстракт, полученный из семян цикория, среди экстрактов различных частей растения, проявил наибольшие антиоксидантные свойства. Содержание полифенольных соединений в нем составило 10 %, включая 71 % дикаффеоилхиных кислот [132].

Сравнительное изучение экстрактов листьев дикорастущих и культивируемых растений показало, что большей антиоксидантной активностью обладают извлечения дикорастущих экземпляров.

В эксперименте Dorostghoal M. et al. показали, что экстракт листьев цикория может предотвращать окислительный стресс, вызванный свинцом, и подавлять неблагоприятное воздействие свинца на репродуктивные органы самцов крыс [143].

***Гепатопротекторная активность***

На модели окислительного стресса печени, вызванного метотрексатом показано, что у животных, получавших экстракт листьев цикория, было выявлено значительное увеличение активности каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы; снижение уровня малонового диальдегида (МА) по сравнению с группой, получавшей метотрексат. Данные результаты свидетельствуют об антиоксидантном механизме защиты печени [263]. Гепатопротекторные свойства экстракта листьев также подтверждены в исследовании Al-Malki A.L. et al. и Jamshidzadeh A. et al. [72, 175].

Лиофилизированный порошок этилацетатной фракции травы цикория на модели тетерахлорметанового гепатита при пероральном введении в дозах 6, 18 и 54 мг/кг в день продемонстрировал значительный гепатопротекторный эффект, особенно в дозе 54 мг/кг в день. Наблюдалось снижение уровни аспартатаминотрансферазы (АСТ) (149,04 ± 34,44, P <0,01), аланинаминотрансферазы (АЛТ) (100,72 ± 27,19, P <0,01), гексадеценовой кислоты (548,50 ± 65,09, P <0,01), ламинина (28,69 ± 3,32, P <0,01) и гидроксипролина (263,33 ± 75,82, P <0,01). Гепатопротекторное действие в дозе 54 г/кг в день показало наиболее значительный эффект за счет увеличения глутатион (3,11 ± 0,81), СОД (269,98 ± 33,77, P <0,01) и снижения МА (2,76 ± 0,51, P < 0,01) в печени. Иммуногистологическим методом оценена экспрессия трансформирующего фактора роста-β1 (TGF-β1) и α-актина гладких мышц (α-SMA) и показано её дозозависимое снижение [176].

В эксперименте на 40 крысах-самцах в составе комплексного средства экстракт цикория улучшал липидный профиль, снижал активность ферментов печени на фоне высокожировой диеты [148]. Аналогичные данные были получены при исследовании экстракта семян [269].

Gilani A.H. et al. исследовали водно-метанольный экстракт семян цикория на гепатопротекторную активность в отношении поражения печени у мышей, вызванного ацетаминофеном и четыреххлористым углеродом. Авторами было отмечено снижение смертности животных, а также уровня сывороточных ферментов - щелочной фосфатазы (ЩФ), АЛТ и АСТ [169]. Аналогичные результаты были получены другими учеными [71]. На основании биохимических анализов и гистологических исследований антигепатотоксическая активность установлена для экстракта корней и корневых каллусов [278].

При исследовании влияния экстракта семян цикория на стеатоз печени, вызванный ранней и поздней стадиями диабета у крыс *(in vivo*) и на клетках HepG2 (*in vitro*), инициированной комплексом БСА-олеиновой кислоты было установлено, что экстракт является агонистом рецептора альфа, активируемого пролифератором пероксиса (PPARα) и экспрессии белка-1c, связывающего регуляторный элемент стерола (SREBP-1c). Исследуемый экстракт способствовал высвобождению глицерина из клеток HepG2 и способствовал предотвращению первой и второй фазы стеатоза печени [75].

Sultana S. et al. установили дозозависимое действие фракции, полученной из спиртового экстракта листьев, направленное на опосредованное свободными радикалами повреждение дезоксирибозы ДНК (полученной из тимуса теленка) и его корреляцию с гепатопротекторной активностью данного растения [136].

Изучение антигепатотоксических свойств экстрактов и фракций цикория, показало, что наибольшей активностью обладают метанольная и водная фракции [166]. Другими исследователями показано, что

гепатопротекторная активность экстракта корней цикория превосходит Карсил [11].

Одним из метаболитов, вносящих вклад в гепатопротекторное действие экстрактов цикория является эскулетин. Для исследования данного предположения Gilani AH et al. оценили предотвращение действия парацетамола на фоне токсического гепатита, вызванного тетрахлорметаном. Предварительное введение животным эскулетина (6 мг/кг) снижало показатель смертности мышей до 40 % по сравнению со 100 % контролем, а также предотвращало индуцированное парацетамолом (640 мг/кг) и тетрахлорметаном повышение сывороточных ферментов: ЩФ, АСТ и АЛТ.

Наряду с этим, было показано, что эскулетин предотвращает вызванное гепатотоксической дозой тетрахлорметана (1,5 мл/кг; перорально) удлинение времени фенобарбиталового сна, подтверждая тем самым гепатопротективную активность [168].

Цихотибозид (cichotyboside) выделенный из семян цикория проявил антигепатотоксическую активность, сравнимую с силимарином [88]. Экстракт семян цикория проявил гепаторотекторное действие [95].

В результате изучения молекулярных механизмов антигепатотоксического действия *in silico* показано, что метил-4-гидроксифенолацетат и 4-гидроксифенилуксусная кислота могут уменьшить повреждение печени, воздействуя на свои мишени (RAC-α серин/треонин-протеинкиназу (Akt-1) и каспазу-1), связанные с апоптозом или аутофагией [183].

Экстракт травы цикория обыкновенного входит в состав индийского препарата ЛИВ-52 (LIV-52). Результаты его клинических исследований показали, что по истечении 6 месяцев лечения, у пациенты с циррозом печени значительно улучшились показатели по шкале Чайлд-Пью, отмечено уменьшение асцита и снижение сывороточных ферментов АЛТ и АСТ [260, 12]. Аналогичные результаты были получены в результате доклинического

исследования другого комплексного индийского средства «Jigrine», содержащего экстракт листьев цикория [165].

***Антипаразитарная активность***

Наряду с высокой пищевой ценностью кормовых сортов цикория обыкновенного, преимуществом их использования является антигельминтное действие в отношении паразитарных нематод [97, 246].

В опытах *in vitro* было показано, что экстракты, полученные из свежих корней, пульпы корней (остатка после промышленного получения инулина) и листьев в отношении *Caenorhabditis elegans* и *Ascaris suum* показали высокую активность, при этом установлена их низкая токсичность на клетки млекопитающих. Наибольшим эффектом обладали экстракты пульпы, основными веществами которого являлись сесквитерпеновые лактоны [144].

Вместе с тем, Woolsey I.D. et al. были получены экстракты листьев и корней цикория (*Cichorium intybus* cv. Spadona), обогащенных сесквитерпеновыми лактонами. В опытах *in vitro* было установлено, что по активности против *Cryptosporidium parvum* оба экстракта оказывают дозозависимое действие, однако экстракт листьев проявляет большую активность по сравнению с экстрактом корней, при этом содержание сесквитерпеновых лактонов в первом было в 2,5 раза меньше. Полученные авторами результаты позволяют предположить, что сесквитерпеновые лактоны являются не единственными метаболитами цикория, оказывающими антипротозойное действие [99].

В эксперименте на ягнятах, которые приобрели гельминтоз естественным путём, было показано, что выпас животных на пастбищах с цикорием позволяет снизить количество взрослых паразитов сычужных гельминтов более эффективнее по сравнению с Lotus corniculatus Trifolium repens [258].

***Противовирусная активность***

В опытах *in vitro* клеточных линий Vero, BSC-1, Hep-II и RD установлена активность экстракта цикория против гепатита, вызванного вирусом HSV-1 и в более высоких концентрациях - аденовируса типа 5 [100].

Цикориевая кислота, выделенная из цикория обыкновенного, на модели D-галактозамин-индуцированного повреждения гепатоцитов человека (HL-7702) проявила противовирусные свойства в отношении вируса гепатита B [161].

В исследовании Shawky et al. с использованием метода молекулярного докинга цикорий обыкновенный рассматривали в качестве источника получения БАВ, потенциальных ингибиторов протеазы 3-химотипсина (3CLpro), папаин-подобной протеазы (PLpro) и РНК-зависимой РНК-полимераза (RdRp) для создания лекарственного средства для борьбы с новой коронавирусной инфекцией, вызванной SARS-CoV-2 [249, 103, 264]. Одним из перспективных классов вторичных метаболитов в отношении данной вирусной инфекции Adem Ş.et al. указывают производные кофейной кислоты [109].

***Антибактериальная и противогрибковая активность***

Цикорий обыкновенный активен в отношении грамположительных и отрицательных бактерий и дрожжей.

Водные экстракты, наряду с другими извлечениями, семян проявляют наибольшую активность в отношении *Staphylococcus aureus* [242]

При исследовании экстрактов надземных частей цикория обыкновенного против *E. coli, S. aureus, S. epidermidis, B. subtilis, P. aeruginosa, K. pneumoniae, E. carotovora, P. vulgaris, E. cloacae, S. pyogenes и C. albicans,* метольной экстракт показал более широкий спектр действия. Тогда как водный экстракт оказался сильнее против *S. epidermidis, S. pyogenes* и *S. aureus*, даже более активнее, чем стандартные антибиотики [194].

Этилацетатный экстракт корней по сравнению с водным и спиртовым в большей степени подавляет *B. subtilis, S. lutea, S. aureus, A. tumefaciens, E. carotovora, E. coli, P. aeruginosa, P. fluorescens* [82].

В отношении патогенных бактерий, таких как грамположительные (*B. subtilis*, *S. aureus* и *M. luteus*) и грамотрицательные (*E. coli* и *S. typhi*) бактерии методом диффузии в агар показано, что гексановый и этилацетатный экстракты корней цикория проявляют более выраженное ингибирование, чем хлороформный, петролейноэфирный и водный экстракты [213].

Исследования активности спиртового и этилацетатного извлечения из семян против *S. aureus, P. aeruginosa, E. coli и C. albicans* свидетельствуют о значительной антимикробной активности против тестируемых микроорганизмов, наиболее чувствителен к экстрактам оказался *S. ureus*. Водный экстракт проявил максимальную активность против *S. aureus* при этом не проявляя какой-либо значительной активности против других исследуемых бактерий [248]. Mares D. et al. оценили возможной биологической активности экстракта корней цикория на грибах из различных экологических сред. Экстракты были неэффективны в отношении геофильных видов и испытанных фитопатогенов, за исключением *P. ultimum*, в то время как они подавляли рост зоофильных и антропофильных дерматофитов, в частности *T. surans var. Sulfureum* [124].

***Гипогликемическая и гиполипидемическая активность***

Экстракты различных частей растения могут использоваться для замедления темпов развития диабета и предотвращения развития его осложнений.

В эксперименте на крысах-самцах (Sprague-Dawley) на модели стрептозотоцин-индуцированного диабета изучен 80 % спиртовой экстракт цикория (цельного растения). В результате было установлено, что экстракт в дозе 125 мг/кг проявляет наиболее сильный гипогликемический эффект. Отмечено снижение уровня глюкозы в сыворотке крови на 20 %, триглицеридов на 91 % и общего холестерина - на 16 %. Прямого влияния

на секрецию инсулина бета-клетками поджелудочной железы не обнаружено. Однако замечено уменьшение активности печеночной глюкозо-6-фосфатазы по сравнению с контрольной группой, что может приводить к снижению выработки глюкозы в печени [86].

Внутрибрюшинное введение водного экстракта семян цикория (125 мг/кг в течение 28 дней) крысам на поздней и ранней стадии сахарного диабета 2 типа, индуцированного стрептозотоцином и комбинацией стрептозотоцина с ниацинамидом, продемонстрировало предотвращение потери веса и снижение сахара в крови. Наряду с этим, наблюдалось снижение активности АЛТ, уровня триацилглицеридов, общего холестерина и гликозилированного гемоглобина; увеличивалась концентрация NO. В отличие от диабета на поздних стадиях, у крыс с диабетом на ранней стадии, получавших цикорий, концентрация инсулина в сыворотке натощак была выше, а характер теста толерантности к глюкозы был приближен к норме [145]. Гипогликемическое в сочетании с гиполипидемическим действием водного экстракта семян подтверждено и в работах K. Chandra et al. [87]. Для оценки дополнительной эффективности и безопасности данного экстракта этими же авторами проведено двойное слепое рандомизированное клиническое исследование, в котором приняли участие 150 пациентов с сахарным диабетом 2 типа. В результате было показано, что экстракт семян цикория в качестве пищевой добавки на фоне приема метформина способствовал уменьшению воспалительной реакции, окислительного стресса и гипертриглицеридемии, тем самым замедлял прогрессирование заболевания [147].

В исследовании M. Sharma et al. на крысах было показано кардиопротекторное действие экстракта семян цикория в дозах 250 и 500 мг/кг на диабетическую кардиомиопатию, вызванную стрептозотоцином. По мнению авторов, в основе механизма действия лежит ингибирование окислительного стресса и воспалительной реакции [127].

Преимуществом применения экстракта цикория Muthusamy V.S. et al. считают, то, что он снижает уровень глюкозы в крови, не вызывая адипогенез в адипоцитах 3T3-L1 [252]. Этими же авторами при изучении молекулярного механизма гипогликемического действие на модели диабета показана роль производных кофейной кислоты листьев цикория в нормализации биохимических показателей по средствам ингибирования протеинтирозинфосфатазы 1B (PTP1B) как *in vitro*, так и *in vivo* [187]. Экстракт листьев цикория также рассматривается учеными в качестве средства профилактики метаболический осложнений, сопровождающих диабет [85].

D. Tousch et al. в опытах *in vitro* продемонстрировали потенциал использования производных кофейной кислоты, выделенных из цикория, в качестве противодиабетических средств [122]. J. Azay-Milhau et al. сравнивали эффекты кофейной, феруловой и цикориевой кислот (50 и 100 мкг/мл) в опытах *in vitro* на трёх основных тканях, участвующих в гликемической регуляции (поджелудочной железы, мышцы и печени), а также *in vivo* - на крысах Wistar (при внутрибрюшинном введении данных кислот в дозе 3, 15 или 30 мг/кг в течение 4 дней). Анализ полученных данных показал, что кофейная кислота в основном способствует снижению гликогенолиза в печени. Феруловая кислота вызывает увеличение высвобождения инсулина и снижение гликогенолиза в печени, при этом ингибирует усвоения глюкозы мышцами. Цикориевая кислота вызывает увеличение высвобождения инсулина и поглощения глюкозы, при этом, не влияя на гликогенолиз в печени, т.е. оказывает антигипергликемический эффект, в основном, за счет периферического воздействия на усвоение глюкозы мышечной тканью. Все исследованные вещества не влияют на печеночную глюкозо-6-фосфатазу, в отличие от хлорогеновой кислоты, являющейся ингибитором данного фермента [89]. Аналогичный механизм действия цикориевой кислоты предположен и в работе K. Ferrare et al. [185].

На модели стрептозотоцинового диабета при сравнительном изучении настоев листьев *Cichorium intybus*, *Sonchus oleraceus* (100 мг/кг) и эскулетина (6 мг/кг), одного из доминирующих компонентов этих растений было установлено, что активность последнего значительно превышает действие суммарных экстрактов исследуемых растений [106]. В качестве механизма действия авторы предполагают антиоксидантный эффект эскулетина [238].

***Противовоспалительная активность***

Наряду с гипогликемическим действием, лиофилизированный порошок водного экстракта семян (125 мг/кг) проявляет противовоспалительный эффект, только на ранних стадиях диабета и, следовательно, его активность, по-видимому, зависит от присутствия инсулина [146].

Водные и спиртовые экстракты корней цикория в опытах *in vivo* продемонстрировали значительное дозозависимое уменьшение отека лапы, вызванного каррагинаном. Наряду с этим, исследуемые экстракты снижают уровни сывороточного фактора некроза опухоли альфа (TNF-α), интерлейкинов (IL-6 и IL-1), МА и увеличивают активность каталазы и глутатионпероксидазы в ткани лапы, а также способствуют уменьшению образования гранулемы, инициированной ватным шариком [90].

Olsen N.J. et al. опубликовали результаты 1 фазы клинических исследований с участием 40 пациентов старше 50 лет с остеоартрозом бедра или колена, при исследовании лечения возрастающими дозами запатентованного экстракта корней цикория в дозах 600 мг/день, 1200 мг/день и 1800 мг/день в течение 1 месяца. В когорте с самой высокой дозой 18 пациентов, завершивших лечение в соответствии с протоколом, были проанализированы на эффективность. В этой группе 13 пациентов показали улучшение на 20 % в определенных областях ответа, таких как боль, скованность и общая оценка состояния. Токсических реакций не выявлено. Исследования носили предварительный характер и будут продолжены на более длительном курсе лечения или в комбинации с минимальными дозами нестероидных противовоспалительных препаратов [222].

Ripoll C et al. показали на модели отека лапы крысы, что экстракт корня цикория в дозе 50 и 100 мг/кг значительно уменьшал воспаление на 58 и 76 % соответственно через 24 часа после инъекции каррагинана. В модели артрита, индуцированного коллагеном, у мышей, экстракт цикория (200 мг/кг) уменьшал отек лапы на 71 % во время введения экстракта и на 31 % через 48 часов после прекращения приема экстракта. В основе механизма противовоспалительного действия лежит подавление экспрессии циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2), фактора некроза опухоли (TNF-α), интерлейкинов (IL1β) и NO-синтазы (iNOS), а также уменьшение продукции оксида азота в зависимости от дозы.

Дигидролактукопикарин и 8-дезоксилактуцин, выделенные из исследуемого экстракта, показали высокую ингибирующую активность в отношении оксида азота (IC 50 = 13 мкМ для обоих веществ). Также было показано, что дигидролактукопикрин подавляет экспрессию провоспалительных генов [91].

***Иммуномодулирующая активность***

В работе Karimi M. et al. исследовали влияние экстракта корней этого растения на созревание и функцию дендтитрных клеток (ДК) путем оценки экспрессии маркеров созревания ДК, их аллостимулирующей способности и высвобождения основных цитокинов Th1 и Th2. Результаты показали, что спиртовой экстракт корней цикория в более высоких концентрациях может ингибировать стимулирующую Т-клетки активность ДК, тогда как при более низких концентрациях может модулировать секрецию цитокинов в направлении Th1-паттерна. Эти данные могут частично предположить традиционное использование этого растения для лечения иммуноопосредованных заболеваний [259].

Этанольный экстракт корней цикория предотвращает иммунотоксические эффекты этанола у мышей. В исследовании Kim J.H. et al. было отмечено, что одновременный прием этанола с экстрактом цикория не изменяет массу тела животных, а также вес печени и селезенки. При этом

наблюдалось восстановление маркеров иммунитета, а именно титра гемагглютинации, образования бляшек селезенки, выработки вторичных антител IgG, реакции гиперчувствительности замедленного типа (в ответ на подкожное введение эритроцитов барана в лапу), фагоцитарной активности, пролиферацию клеток и продукцию интерферона-γ по сравнению с животными не получавшими экстракт цикория [150].

Среди традиционных растений Ирана цикорий обыкновенный (водно-спиртовой экстракт корней) наряду с календулой лекарственной показал полное ингибирующее действие на пролиферацию лимфоцитов в присутствии фитогемагглютинин (диапазон SI 0,01 - 0,49) с помощью анализа пролиферации митогенов и реакции смешанных лимфоцитов (MLR) [76].

***Обезболивающая активность***

Сесквитерпеновые лактоны корней цикория (лактуцин, лактукопикрин и 11-бета, 13-дигидролактуцин), показали обезболивающее действие в дозах 15 и 30 мг/кг в тесте с горячей пластиной, сопоставимое с действием ибупрофена в дозе 30 мг/кг. Анальгетическая активность соединений в дозе 30 мг/кг в тесте «взмах хвоста» была сравнима с таковой ибупрофена, введенного в дозе 60 мг/кг. Лактукопикрин оказался наиболее сильнодействующим анальгетиком из трех испытанных соединений. Лактуцин и лактукопикрин, в отличие от 11-бета, 13-дигидролактуцина, также показали седативные свойства в тесте «спонтанная двигательная активность» [78].

***Антинейротоксическая активность***

Исследования, проведенные с помощью поведенческих тестов (вращающегося стержня, дефекта стопы и горячей пластины), показали, что водно-метанольный экстракт корней цикория с положительным эффектом может в некоторой степени уменьшить признаки периферической нейропатии, вызванной пиридоксином. Эффективность подтверждена при

гистологических исследованиях и при анализе уровня фактора некроза опухоли (TNF-α) в седалищном нерве крыс с нейропатией.

Исследования эффектов экстракта показали, что соединения корней цикория, такие как гликозиды и флавоноиды, повышают уровень экспрессии рецептора гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), особенно ГАМК типа А. Наряду с этим, гликозиды, стерины, полифенолы, флавоноиды, дубильные вещества и терпеноиды обладают противовоспалительной активностью за счет снижения медиаторов воспаления, включая TNF-α, простагландинов, NO, интерлейкинов (IL-6 и IL-1); тритерпеноиды и сесквитерпеновый лактон обладают потенциалом ингибировать ЦОГ-2, что может также помимо снижения воспалительной реакции влиять на ГАМКергические нейроны [182].

***Противоопухолевая активность***

Согласно данным литературы экстракты цикория обыкновенного проявляют цитотоксическое действие на клеточные линии рака груди (MCF-7) [70], амеланотической меланомы (C32), рака простаты (LNCaP), аденокарциномы почек (ACHN) [98]; гексановый экстракт надземной части - лимфобластомной лейкемии (Т-клеточный лейкоз Jurkat) [84, 153]; спиртовой экстракт корней - асцитной карциномы Эрлиха [268], рака простаты (PC-3) [159]; метальной экстракт корней - клетки рака груди (T47D и SKBR3) [159, 83]. Сесквитерпены, полученные из цикория, показали цитотоксическое действие на клеточных линиях рака яичников (A2780) [253]; магнолиолид, в отличие от других сесквитерпенов цикория – лейкемии человека (L-5178Y) [247, 142].

Обзор исследований метаболитов корней цикория позволил выявить вещества, включая гвайанолиды, 6-метоксифлавон, эудесманолиды, гермакранолиды, полиацетилен, стерол, антоцианин, дельфинидин, 3,4 - дигидроксифенетил, многие из которых показали положительную цитотоксическую активность *in vitro* и противоопухолевое действие *in vivo* [137].

***Гипотензивная активность***

В исследовании на 32 крысах-самцы (Wistar) было показано, что спиртовой экстракт цикория с содержанием флавоноидов и фенолов 8,21 и 27,19 мг/г сухого вещества соответственно, в дозе 50 мг / кг значительно снижает систолическое, диастолическое артериальное давление и среднее (медидиан) по сравнению с контрольной группой и группами, получавшими экстракт 200 мг/кг. Авторы предполагают, что одним из механизмов этого действия является антиоксидантная активность экстракта, которая составляет 47,85% по методике с DPPH [178].

***Антималярийная активность***

В некоторых областях Афганистана настой из свежих корней цикория используется как средство от малярийной лихорадки. Исследование Bischoff T.A. et al. показало, что горькие сесквитерпеновые соединения, а именно лактуцин, лактукопикрин и гвайанолид, выделенные из водных экстрактов корней цикория, являются противомалярийными компонентами растения, Лактуцин и лактупикрин полностью ингибируют HB3 клон штамм Гондурас-1 из малярийного плазмодия при концентрациях 10 и 50 мкг/мл, соответственно [92].

***Гастропротекторная активность***

В Турции отвар корней цикория используется в народной медицине в качестве гастропротекторного средства. Для научного обоснования данного факта Gürbüz I. et al. оценили действие данного лечебного средства на модели язвенной болезни желудка, вызванной этанолом, у крыс. Результаты гистологического анализа подтвердили, что отвар цикория обладает гастропротекторными свойствами [184].

***Другие виды активности***

Исследования сосудорасширяющей активности цикориевой кислоты, выделенной из цикория на изолированных полосках аорты крысы показали медленную релаксационную активность против вызванного норэпинефрином (НЭ) сокращения аорты крысы с/без эндотелия. Это соединение не влияло на

сокращение, вызванное высокой концентрацией калия (60 мМ K+), в то время как она ингибировало НЭ-индуцированное сокращение сосудов в присутствии никардипина. Данные результаты показывают, что ингибирование вазоконтракции, вызванной НЭ, связано с уменьшением притока кальция из внеклеточного пространства [271].

С целью поиска природных ингибиторов ацетилхолинэстеразы (АХЭ) для повышения уровня ацетилхолина при болезни Альцгеймера, был проведен поиск биологически активных веществ среди неалкалоидных соединений. В ходе скрининга *in vitro* с использованием ферментативного анализа с реактивом Эллмана дихлорметановый экстракт корней цикория 1 мг/мл показал 70 % ингибирующее действие на АХЭ. На основе трехмерной мульти-конформационной базы данных молекулярных структур вторичных метаболитов цикория, известных из литературы, проведен виртуальный скрининг с использованием как модели фармакофоров, основанной на признаках, так и процедуры стыковки. Некоторые низкомолекулярные сесквитерпеноиды проявляли отчетливые взаимодействия с моделью фармакофора. Для подтверждения этого прогноза стратегии, было проведено фракционирование и выделены два сесквитерпеновых лактона, 8-дезоксилактуцин и лактукопикрин, демонстрирующих значительную и дозозависимую ингибирующую активность на АХЭ (IC (50) 308,1 мкМ [ДИ (95) 243,9 - 405,3 мкМ] и 150,3 мкМ [ДИ (95) 100,8 - 188,1 мкМ], соответственно) [101].

Lin Z. et al. исследовали инулин цикория на 60 самцах французских перепелов, получавших диету, обогащенную пуринами. Результаты показали, что диета, богатая пуринами, может способствовать развитию гиперурикемии, гипертриглицеридемии и абдоминального ожирения, тогда как прием инулина цикория снижает содержание мочевой кислоты и триглицеридов, а также способствует уменьшению отложения брюшного жира за счет изменения экспрессии белка ацетил-CoA-карбоксилазы и активности синтазы жирных кислот и ксантиноксидазы [149].

На модели мочекаменной болезни, вызванной 1 % раствором этиленгликоля на 24 крысах (Wistar) Emamiyan M.Z. et. исследовали водный экстракт цветков цикория в дозах 50 и 200 мг/кг (внутрибрюшинно). В результате после 30-дневного введения было отмечено снижение уровня цитрата, оксалата ($p > 0,05$) и креатинина ($p < 0,05$) в моче, сывороточного кальция, креатинина ($p < 0,05$) и мочевой кислоты ($p < 0,001$), а также pH мочи ($p < 0,05$), в группах, получавших экстракт [235].

**Токсикологические свойства**

Ilaiyaraja N. et al. в опытах на крысах показали, что экстракт листьев цикория не вызывал каких-либо токсических симптомов при острой и субхронической токсичности [181].

Исследование субхронической токсичности экстракта корня цикория на самцах и самках крыс (Sprague-Dawley) не выявили мутагенной активности в тесте Эймса. В течение 28-дневного изучения на крысах в дозах 70, 350 или 1000 мг/кг/день (перорально) не наблюдалось побочных эффектов экстракта [265].

### 1.2.2. Топинамбур

Другим представителем семейства *Asteraceae* является однолетнее (по некоторым данным многолетнее) клубненосное растение топинамбур (*Helianthus tuberosum* L.).

Род *Helianthus* насчитывает более 100 видов, из которых только два: *Helianthus annus* L. (подсолнечник) и *Helianthus tuberosum* L. (топинамбур или подсолнечник клубневой) имеют производственное значение.

Естественный ареал обитания топинамбура находится на территории Северной Америки. В начале XVI века данное растение было завезено во Францию, и затем быстро распространилось по всей Европе; как сорное растение встречается в Австралии и Японии. На данный момент топинамбур культивируется во многих странах мира. Значительные площади посева располагаются во Франции, США, Англии, Скандинавских странах, Японии,

КНР, странах Малой Азии. Следует отметить, в зарубежной научной литературе топинамбур чаще встречается под названием «иерусалимский артишок» [25].

В России топинамбур выращивался с XIX века и со временем распространился от северо-запада Европейской части до Сахалина. В настоящее время топинамбур культивируется в южных районах страны для получения клубней, и в центральных, северо-западных нечерноземных зонах и Прибалтике – для получения надземной части. Кроме того, выращивается на приусадебных участках, среди садоводов топинамбур более известен под названием «земляная груша». Известно выращивание топинамбура в культуре клеток [217].

Рисунок 3 – Топинамбур
(Рязанская обл., р.п. Сапожок, производственная база ООО «Рязанские просторы»)

**Ботаническая характеристика**

С биологической точки зрения топинамбур относится к однолетним растениям, в свою очередь после зимовки, на почках, расположенных на клубнях, столонах и подземной части стебля происходит возобновление роста, что позволяет отнести его к многолетникам [25].

Топинамбур – травянистое растение высотой от 1 до 5 м. Стебель облиственный, прямой, густо опушенный. Листорасположение меняется в

зависимости от сорта и места произрастания. Листья простые. Листовые пластинки от яйцевидной до широкояйцевидной с заостренной вершиной формы с тремя основными жилками от длиной 2-8 см, край от пильчатого до цельного, сверху от короткоопушенного или шероховатых до коротковойлочных с сидячими железками, снизу – грубо шероховатые. Соцветие – корзинка диаметром 1,3-2 см, листочки обертки темно-зеленые, ланцетные, краевые цветки язычковые желтые, трубчатые – с желтыми венчиками и темно-коричневыми тычинками. В Европейской части цветет в августе-сентябре, в силу чего семена вызревают редко. В отличие от подсолнечника стебли топинамбура образуют многочисленные подземные боковые побеги – столоны, на концах которых находятся клубни.

Топинамбур по сравнению с другими сельскохозяйственными культурами отличается экологической пластичностью, способностью произрастать в неблагоприятных условиях, устойчивостью к высоким и низким температурам.

В мире известно более 300 сортов и гибридов топинамбура, в том числе 12 дикорастущих. В России по состоянию на март 2017 г. в Реестре селекционных достижений, допущенных к использованию, зарегистрировано 5 сортов топинамбура: Скороспелка, Интерес, Пасько, Солнечный и Омский белый [19].

**Использование и хозяйственное значение**

Анализ литературы показал, что топинамбур является культурой многоцелевого использования [195, 66]. В сельском хозяйстве – в качестве кормовой культуры, кормовых добавок. В пищевой промышленности экстракты топинамбура используются как пищевые добавки к хлебобулочным, кондитерским, мясным, молочным и другим продуктам [57, 243]. В косметической промышленности топинамбур находит применение в составе лечебно-профилактической косметике [45]. Из клубней и надземной части получают биотопливо для двигателей внутреннего сгорания [110, 229].

В настоящее время на основе топинамбура (преимущественно клубней) разработаны различные продукты пищевого, лечебно-профилактического назначения [40, 41, 43, 44, 46, 4]. В базе данных Федерального института промышенной собственности (ФИПС) зарегистрированы десятки патентов на композиции, содержащие экстракт топинамбура, в виде пищевых добавок, паст, сиропов, инулин-пектиновые концентратов, биологически активных добавок к пище, а также способы получение инулина из данного растительного сырья [39].

В научной литературе описаны результаты разработки таблеток клубней топинамбура, таблеток с экстрактом травы топинамбура с кислотой аскорбиновой, капсул с экстрактом клубней топинамбура [4,49].

Топинамбур используется в гомеопатии. Матричная настойка свежих клубней включена в Гомеопатическую фармакопею Германии [50].

**Химический состав**

Основной группой БАВ клубней топинамбура является углеводный комплекс, представленный фруктозанами, среди которых преобладает инулин (до 80 % от массы сухого вещества в зависимости от сорта), пектиновыми веществами (до 11 % от массы сухого вещества), свободными сахарами. Помимо углеводов, в клубнях содержатся аминокислоты (валин, лейцин, триптофан, фенилаланин, аргинин и др.), органические кислоты до 6-9 % (яблочная, лимонная, янтарная, глютаминовая, хинная, молочная), иридоиды, клетчатка, каротиноиды, витамины группы В, С [257, 273]. Содержание эфирного масла в подземной части составляет до 0,03486 %, в надземной части – до 0,002 %, преобладающим компонентом которого является (-)-β-бисаболен. Топинамбур активно аккумулирует кремний (до 8 % в расчете на зольный остаток), содержит марганец, железо, кальций, магний калий, натрий [241, 79, 5].

В надземной части топинамбура установлено наличие дубильных веществ, β-каротина, 15 свободных аминокислот. Среди флавоноидов идентифицированы апигенин, лютеолин, лютеолин-7-глюкозид, кверцитрин,

астрагалин. Кумарины представлены скополетином, эскулетином, эскулином, умбеллифероном. Наряду с этим установлено наличие углеводов, иридоидов, органических кислот и оксикоричных кислот (кофейной, хлорогеновой, феруловой).

Методом ВЭЖХ-МС в листьях идентифицированы хлорогеновая, кофейная, п-кумароилхинная, ферулоилхинная, 3,4-дикофеилхинная, 3,5-дикофеилхинная кислоты, а также изорамнетина глюкозид, кемпферола глюкоронид, кемферол-3-О-глюкозид [80].

Разнообразный состав БАВ топинамбура обусловливает фармакологическое действие различных средств, получаемых из клубней и травы данного растения.

**Фармакологические свойства**

***Пробиотическая активность***

Во многих странах мира топинамбур рассматривается, прежде всего, как источник инулина. Лечебно-профилактические средства на основе инулина в виде различных пищевых и биологически активных добавок, рекомендуются к использованию для больных сахарным диабетом [233]. Инулин известен также как биогенный фактор, способствующий поддержания естественной микрофлоры кишечника при дисбактериозах.

Исследования показывают потенциал использования фруктозанов в качестве средства, увеличивающих рост лакто- и бифидобактерий [231, 232]. Добавление 4 % инулина, выделенного из топинамбура, в нежирный йогурт повышает жизнеспособность *Lactobacillus casei* LC-01 в процессе хранения [220]. При использовании 5 % (масса/объем) добавки водного экстракта топинамбура наблюдается достоверное по сравнению с контролем увеличение роста *Lactobacillus acidophilus* P106 [273]. Пробиотическое действие инулина топинамбура подтверждено в эксперименте на 48 молодых (10-дневных) поросятах. Животные, разделенные на 6 групп, в течение 40 дней в разных режимах получали пробиотики или пробиотики с добавлением порошка высушенных клубней топинамбура и цикория. В результате

исследования фрагментов толстой и слепой кишки было установлено, что использование экстракта топинамбура уменьшало активность β-глюкозидазы и β-глюкуронидазы в толстой кишке и повышало активность *Bifidobacterium spp*. в проксимальном и дистальном отделах ободочной кишки и изменяло экологию микрофлоры в большей степени по сравнению с экстрактом цикория [105].

***Гипогликемическая активность***

Гипогликемический эффект экстракта топинамбура подтвержден в ряде опытов *in vivo*. С помощью теста толерантности к глюкозе на кроликах подвергнутых предварительному 18 часовому голоданию при свободном доступе к воде, при последующем внутрибрюшинном введении глюкозы из расчета 2 г/кг массы, установлено, что концентрация глюкозы в крови в контрольных группах через 60 мин по сравнению с исходными увеличивается в 2 раза, а через 120 мин этот показатель остаётся на уровне 43 %. Полученные результаты свидетельствуют о достоверном гипогликемическом действии водного экстракта клубней топинамбура в дозах 0,5 и 0,7 г/кг (Р 0,001-0,05) [63]. В эксперименте на 30 самцах-альбиносах крыс было показано, что введение инулина топинамбура способствует снижению уровня глюкозы в крови, а также холестерина и триглицеридов у диабетических крыс по сравнению с контрольной группой [162]. Кроме того, в опытах *in vitro* показано, что сахароснижающий эффект топинамбура обусловлен также ингибированием α-глюкозидазы [164].

***Гепатопротекторная активность***

На модели стрептозотоцин-индуцированного диабета у крыс водный экстракт топинамбура предотвращает повышение сывороточных трансфераз АСТ, АЛТ, а также лактатдегидрогеназы и γ-глутамилтранспептидазы [173].

Густой экстракт топинамбура сорта «Интерес» и «Сарват» на модели токсического гепатита, вызванного подкожным введением четыреххлористого углерода, при внутрижелудочном введении в дозе 0,35 г/кг массы в течение 1 месяца достоверно (P<0,001) снижает активность

маркеров цитолитического синдрома (АЛТ, АСТ, ЩФ). Экстракт топинамбура улучшает показатели липидного обмена сыворотки крови по сравнению с контрольными группами почти до уровня показателей интактных крыс, улучшает антиоксидантную, антитоксическую функцию печени и показатели билирубина и, как следствие, оказывает гепатопротекторное действие [173, 16, 196].

***Иммуномодулирующая активность***

Иммуностимулирующий эффект экстракта топинамбура (фактор-ТОПИКС) обусловлен преимущественно стимулирующим влиянием на Т-клеточное звено иммунитета, снижением количество активированных Т-лимфоцитов, повышением количества клеток субклассов индукторов/хелперов, способности продуцировать факторы миграции лейкоцитов [24, 23].

## 1.3. Актуальные методы фитохимического исследования лекарственных растений

Как известно, вторичные метаболиты растений характеризуются разнообразием химических структур и представляют особый интерес для создания на их основе фармацевтических субстанций и функциональных продуктов. Являясь продуктами естественного природного синтеза, они в виде суммарных, очищенных экстрактов или индивидуальных соединений находят широкое применение в профилактических целях, а также при лечении хронических заболеваний, на стадиях долечивания, требующего длительного приема малотоксичных средств.

В настоящее время создание новых лечебных и профилактических средств растительного происхождения базируется, прежде всего, на научно-обоснованном подходе, включающем информационно-аналитические исследования и экспериментальное подтверждение их эффективности и безопасности, выявление закономерности структура-свойство, а также разработка рациональных ресурсосберегающих технологий и методик

стандартизации с использованием современных физико-химических методов анализа [108, 200, 104].

Основополагающим этапом такой научно-исследовательской работы является фитохимическое изучение новых видов растений, включающее извлечение, очистку, фракционирование, разделение и идентификацию вторичных метаболитов [234, 163].

Экстракция – ключевая стадия процесса, позволяющая извлечь вещества из растительного сырья. Выбор растворителя определяется свойствами БАВ; полярностью экстрагента; типом, временем и температурой экстрагирования [219]. Предпочтительными свойствами экстрагента являются низкая токсичность, легкость удаления при невысоких температурах, отсутствие взаимодействия с извлекаемыми метаболитами, консервирующее действие. Наиболее часто используемые растворители представлены на рисунке 4.

| **РАСТВОРИТЕЛИ** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Вода** | **Спирт этиловый** | **Спирт метиловый** | **Хлороформ** | **Эфир** | **Ацетон** |
| Антоцианы<br>Углеводы<br>Танины<br>Сапонины<br>Терпеноиды<br>Полипептиды<br>Лектины | Танины<br>Полифенолы<br>Полиацетилены<br>Флавонолы<br>Терпеноиды<br>Стерины<br>Алкалоиды | Антоцианы<br>Терпеноиды<br>Сапонины<br>Танины<br>Лактоны<br>Флавоны<br>Феноны<br>Полифенолы | Терпеноиды<br>Флавоноиды | Алкалоиды<br>Терпеноиды<br>Кумарины<br>Жирные кислоты | Фенолы<br>Флавонолы |

Рисунок 4 – Растворители, используемые для экстракции БАВ из растительного сырья [219]

В некоторых случаях оправдано использование двухфазного экстрагента – системы несмешивающихся растворителей различной полярности, позволяющих в одном процессе извлекать как липофильные, так и гидрофильные соединения [20].

Растительное сырье, как правило используют в измельченном виде, что позволяет увеличить площадь контакта твердой фазы с растворителем. Наиболее рациональным является соотношение сырья и экстрагента (масс/объем) 1:10 [219].

При выборе режима экстракции учитывают тип экстрагента, время и температуру извлечения [226, 102]. Наиболее распространенным способом экстрагирования является настаивание. Для интенсификации этого процесса применяют нагревание и перемешивание. Для циркуляционной экстракции используют аппарат Сокслета. Расход растворителя при таком извлечении значительно ниже, однако, метод имеет ряд ограничений по термостабильности извлекаемых БАВ.

Для экстракции фенольных соединений полярными растворителями может быть использована экстракция с помощью микроволн с частотой от 300 МГц до 300 ГГц. Микроволновое излучение взаимодействует с диполями полярных и поляризуемых материалов, вызывая нагрев вблизи поверхности материала, тем самым повышает растворяющую способность экстрагента [199].

Механический эффект акустической кавитации ультразвука (20 кГц до2000 кГц) также используют в качестве способа интенсификации экстракции. Под действием ультразвука увеличивается поверхностный контакт между растворителем и растительным материалом за счет разрушения клеточных стенок, попадания растворителя внутрь растительных клеток и лучшего извлечения метаболитов [102].

Для экстракции неполярных БАВ успешно применяют сжиженные газы (диоксид углерода, хлор- и фторсодержащие углеводороды, так называемые хладоны) [26]. Данный метод может быть также использован для очистки экстрактов гидрофильных соединений от смолистых веществ, а также в технологиях комплексной переработки растительного сырья.

Следующим после экстракции этапом фитохимических исследований является фракционирование, очистка и разделение.

Данный этап реализуется по средствам сочетания нескольких методов и проводится до тех пор, пока не будут получены индивидуальные соединения [144, 234, 163]. Для этого используют химические и физические методы (Рисунок 5).

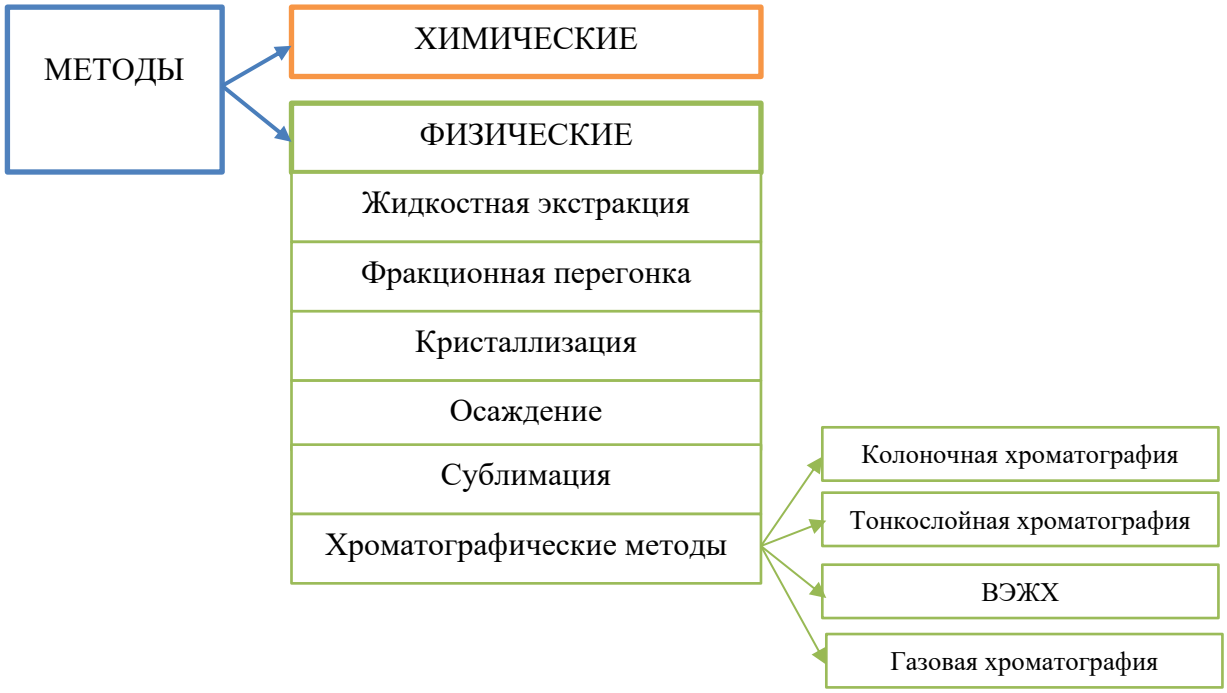



Рисунок 5 – Наиболее используемые методы фракционирования, очистки и разделения БАВ растений

Химические - основаны на разделении веществ с помощью реакций взаимодействие определенных веществ со специфичными реагентами.

Физические - включают методы избирательной жидкостной экстракции, фракционную перегонку, фракционную кристаллизацию, осаждение, сублимацию и хроматографические методы.

Фракционирование суммарного экстракта жидкость-жидкостной экстракцией проводят с использованием системы несмешивающихся растворителей («метод делительной воронки»). Последовательную обработку концентрированного извлечения осуществляют в порядке возрастания полярности, начиная с наименее полярного *н*-гексана (Таблица 3).

На практике, как правило, выбирают два растворителя с низкой полярностью (н-гексан, хлороформ), два со средней полярностью (дихлорметан, н-бутанол) и один с самой высокой полярностью (вода) [234].

Таблица 3 – Полярность растворителей

| Растворитель | Полярность | Растворитель | Полярность |
|---|---|---|---|
| *н*-Гексан | 0,009 | Ацетон | 0,355 |
| Петролейный эфир | 0,117 | *н*-Бутанол | 0586 |
| Диэтиловый эфир | 0117 | Спирт этиловый | 0,654 |
| Этилацетат | 0,228 | Спирт метиловый | 0,762 |
| Хлороформ | 0,259 | Вода | 1,000 |
| Дихлорметан | 0,309 | | |

Фракционная перегонка - процесс очистки соединений от смеси, обычно используемый для отделения углеводородов. Очистка достигается за счет разницы их температур кипения.

При кристаллизации разделение осуществляют по средствам образования кристаллов во время концентрирования экстракта при нагревании или охлаждении.

Осаждение применяют при выделении БАВ алкалоидной природы, способных образовывать растворимые соли и нерастворимые основания.

Сублимация - метод предполагает переход от твердого состояния к газообразному без перехода через жидкое состояние и может быть применен для таких веществ, как камфора и других летучих соединений.

Хроматографические методы, основанные на принципах адсорбции, сродства к растворителю, ионного обмена, различий в размере, получили широко применение при исследовании различных классов БАВ.

Хроматография в тонком слое сорбента (ТСХ) наиболее доступный и простой метод, позволяющий в непродолжительные сроки установить наличие целевых соединений при наличии стандартных образцов. Метод может быть применен для скринингового препаративного получения микроколичеств веществ. Высокое качество разделения определяется использованием высокоэффективных хроматографических пластинок (ВЭТСХ) и правильно подобранной системой растворителей подвижной фазы.

Колоночная хроматография применима для получения субфракций и индивидуальных соединений. При адсорбционном механизме разделения веществ в качестве неподвижной фазы используется силикагель, полиамид, окись алюминия; при эксклюзионном – сефадекс. Элюирование БАВ с колонки осуществляется одним растворителем или смесью при постепенном повышении полярности системы. В зависимости от диаметра и высоты колонки можно разделять различные количества экстракта или фракции.

Инструментальным воплощением хроматографического разделения является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и газовая хроматография (ГХ).

ВЭЖХ - универсальный, надежный и широко применяемый метод исследования растительных объектов. Разрешающая способность метода позволяет его использовать для многокомпонентных образцов как в аналитическом, так и в препаративном масштабе.

Возможности данного метода определяются типом детектирующего устройства. УФ- и диодно-матричный детектор позволяют работать с большинством группами вторичных метаболитов, поглощающих в УФ-области спектра и использовать его для качественного и количественного анализа (со стандартными образцами веществ сравнения).

ВЭЖХ в сочетании с масс-спектрометрией является, на сегодняшний день, наиболее информативным инструментом исследования веществ в сложных растительных матрицах. Комбинированные методы обнаружения ВЭЖХ-УФ-МС/МС позволяют предоставлять информацию для каждого пика на хроматограмме и, следовательно, осуществлять идентификацию вещества на основе сравнения с опубликованными данными или со стандартными соединениями [69, 180, 237, 113, 174].

Перспективой развития хроматографических методов в анализе вторичных метаболитов растений является сочетание эффективной разделяющей способности жидкостной хроматографии и высокоточного установления структуры спектроскопией ядерного магнитного резонанса

ВЭЖХ-ЯМР [276, 277, 167]. Впервые о возможности использования ЯМР в качестве детектора для ВЭЖХ было заявлено в конце 1970-годов [272]. В последующие десятилетия было достигнуто значительное улучшение производительности системы за счет технологических достижений, таких как селективное подавление сигналов растворителя, криогенные зонды, миниатюризация зондов (микрозондов) и автоматизация различных режимов работы. Кроме того, способность накапливать несколько аналитов с использованием контуров хранения и картриджей твердофазной экстракции улучшила чувствительность до уровня нанограмм. Комбинация этих технических достижений способствовало превращению ЖХ-ЯМР из экспериментальной модели в аналитический инструмент. Первые опубликованные в 1990-х годах данные о практическом использовании метода касались именно исследования объектов растительного происхождения: изофлавоноидов из корней *Smirnowia iranica* Sabeti, флавононов из *Munotes engleri* GILG, пирролизидиновых алкалоидов из экстрактов *Senecio vulgaris* L., *Senecio mariettea* M. и *Senecio venosus* H., нафтохинонов из корней *Cordia linnaei Stearn* [203]. Однако данный метод в настоящее время пока не получил широкого распространения и применения в исследовательской работе.

Для идентификации индивидуальных выделенных соединений также используется спектроскопия в УФ-, видимой и ИК-области. При этом, основным инструментом установления структуры неизвестного или впервые выделенного соединения является ЯМР-спектроскопия. В качестве основных характеристичных показателей служат значения химических сдвигов и интегральных интенсивностей сигналов отдельных ядер - $^{1}H$, $^{13}C$ и других атомов структуры. Константы спинового взаимодействия дают однозначную информацию об относительном расположении атомов. Данный метод позволяет с высокой точностью проводить идентификацию вещества без использования референтных стандартный образцов, а также единовременно

получать информацию о строении и содержании основного и минорных компонентов [29, 27].

## Выводы к главе 1

1. На основании информационно-аналитического исследования и патентного поиска обоснована рациональность комплексного использования растений при разработке лекарственных средств и функциональных продуктов.

2. Соглано данным литературы особый интерес для детального изучения, в качестве перспективных источников получения БАВ, представляют растения семейства Астровых. Цикорий обыкновенный в дикорастущем виде характеризуется широким ареалом, что позволяет обеспечить достаточную сырьевую базу при производстве лекарственных средств. В свою очередь листья культивируемых сортов цикория и травы топинамбура, являясь вторичным сырьем пищевой промышленности, могут служить дополнительным источником получения целевых веществ.

3. Проведенный анализ данных научной литературы позволил сформулировать цель, определить задачи исследования, направленного на разработку теоретической концептуальной модели создания новых лекарственных средств и функциональных продуктов на основе комплексного использования растений и показать целесообразность экспериментального исследования для подтверждения реализации такого подхода с использованием комплекса современных инструментальных методов фитохимического анализа сырья и биологического скрининга.

4. Результатом проведенных исследований будут служить технологии рациональной переработки сырья и стандартизованные субстанции и пищевые продукты со стабильными показателями качества, а также нормативная документация, содержащая критерии подлинности и нормы содержания целевых БАВ.

# ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

***Объекты исследования***

- трава и корни дикорастущего цикория обыкновенного, заготовленные в Московской, Рязанской, Самарской, Белгородской, Липецкой, Тульской, Курской областях, Краснодарском крае, республике Башкортостан в 2015 – 2021 гг.

- листья и корни культивируемого цикорий сортов Александрит, Tid, Spica K, заготовленные на опытных полях Ботанического сада ВИЛАР, а также на промышленных плантациях в Тульской и Липецкой областях (Сорт Голевский) в 2018 – 2021 гг.

- трава топинамбура, заготовленная в Московской, Тверской, Рязанской областях в 2018 – 2021 гг.

***Фармакогностические исследования***

Качество опытных партий сырья оценивали по показателям: внешние признаки (ГФ РФ XIV ОФС.1.5.1.0002.15 «Трава», ГФ РФ XIV ОФС.1.5.1.0006.15 «Корни, корневища, клубни, луковицы, клубнелуковицы»); микроскопия (ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»); влажность (ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»); зола общая (ГФ РФ XIV ОФС.1.2.2.2.0013.15 «Зола общая»); зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте (ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0007.15 «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте»); органическая и минеральная примесь (ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0004.15 «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»); радионуклиды (ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и

лекарственных растительных препаратах»); тяжелые металлы (ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0009.15 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», остаточные пестициды (ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0011.15 «Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах»).

*Оборудование:* биологический микроскоп Альтами БИО 2 LED с цифровой насадкой (ООО «Альтами», Россия); анализатор влажности ML-50 (AND, Япония); гамма-бета-спектрометрический комплекс Прогресс-БГ (НПО «Доза», Россия); атомно-абсорбционный спектрометр КВАНТ.Z (ООО «Кортэк», Россия); газовый хромато-масс-спектрометр 220-MS/450-GC (Varian, США).

***Фитохимические исследования***

*Хроматографические методы*

Установление подлинности сырья и экстрактов проводили методом хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ) на пластинках Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ (ООО «Имид», Россия) и Kieselgel 60 (Merk, Германия) в системе растворителей *н*-бутанол, насыщенный водой – муравьиная кислота (100:1).

*Приготовление подвижной фазы:* 100 мл *н*-бутанола помещали в делительную воронку вместимостью 250 мл, добавляли 50 мл воды очищенной и встряхивали в течение 5 мин. Делительную воронку оставляли на 30 мин до полного разделения фаз, затем нижний слой (водный) сливали, а в верхний (бутанольный) добавляли 1 мл муравьиной кислоты, перемешивали (срок годности системы 30 суток).

*Приготовление раствора стандартного образца (СО) цикориевой кислоты* (ТУ 72.19.30-001-04868244-2018): около 0,025 г СО цикориевой кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в спирте этиловом 70 % и доводят до метки этим же растворителем (срок годности раствора 14 суток).

*Приготовление раствора СО хлорогеновой кислоты* (ТУ 72.19.30-004-04868244-2021): около 0,025 г СО хлорогеновой кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в спирте этиловом 70 % и доводят до метки этим же растворителем (срок годности раствора 14 суток).

*Приготовление раствора СО эскулетина* (CAS 305-01-1): около 0,025 г СО *эскулетина* помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в небольшом количестве спирта 70 % и доводят до метки этим же растворителем. 0,5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и объем раствора доводят до метки тем же растворителем (срок годности раствора 14 суток.

Качественный состав БАВ экстрактов и фракций изучали методом ВЭЖХ-УФ-МС/МС. Условия анализа: ионизация - электрораспыление (ESI), сканирование масс в режиме регистрации положительных и отрицательных ионов в диапазоне m/z 100-1000; напряжение на капилляре источника ионизации 5 кВ; температура нагревательного блока 400 ºС; поток газа осушителя (азота) 20 л/мин). Хроматографирование проводили на колонке Luna 5µm C18 100 Å (250 x 4,6 мм), при температуре термостатирования колонки 30 °С, скорости потока подвижной фазы 1 мл/мин, объем инжекции испытуемого раствора – 10 мкл. В качестве подвижной фазы использовали системы растворителей 0,2 % раствор муравьиной кислоты (А) и ацетонитрил (В) в градиентном режиме элюирования: (0-20 мин – 10 %, В, 20-30 мин – 10-25 % В, 30-40 мин – 40 % В, 40-44 мин – 60 % В, 44-48 мин – 80 % В, 48-60 мин – 10 % В).

Идентификацию вторичных метаболитов цикория обыкновенного и топинамбура проводили на основании интерпретации масс-спектров по характерным фрагментам ионного распада, характеристикам УФ-спектров, их сопоставлением с данными литературы, а также путем сравнения со спектрами индивидуальных соединений ранее выделенных нами веществ [69, 180, 129, 237, 190, 113].

Количественное определение основных фенольных соединений проводили методом ВЭЖХ-УФ в вышеописанных условиях. В качестве стандартных образцов использованы индивидуальные соединения (чистота не менее 98 %), выделенная нами и идентифицированные методом ЯМР-спектроскопии.

*Оборудование:* хромато-масс-система LCMC-8040 (Shimadzu, Япония), включающей ультраэффективный жидкостной хроматограф Nexera, диодно-матричный и тройной квадрупольный детектор; хроматограф Prominence-I LC-2030C 3D (Shimadzu, Япония) с диодно-матричным детектором.

*Спектральные методы*

Установление структуры индивидуальных соединений, выделенных из растений, проводили методом ЯМР-спектроскопии.

Количественное определение суммы фенольных соединений в сырье и экстрактах проводили методом прямой спектрофотометрии по разработанной нами методике. Оптическую плотность определяли в максимуме поглощения. Расчет содержания суммы фенольных соединений в сырье и экстрактах цикория обыкновенного проводили с использованием удельного показателя поглощения цикориевой кислоты, равного 782 [18], а также с параллельным определением оптической плотности раствора СО цикориевой кислоты: около 0,0200 г (точная навеска) СО цикориевой кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл и растворяли в 40 мл спирта этилового 70 %, объем раствора доводили тем же растворителем до метки, перемешивали. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещали 1 мл полученного раствора и доводили его объем до метки спиртом этиловым 70 %, перемешивали. Раствор использовали свежеприготовленным.

Приготовление раствора СО хлорогеновой кислоты для количественного определения суммы фенольных соединений в траве и сухом экстракте топинамбура: около 0,0200 г (точная навеска) СО хлорогеновой кислоты, помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл и растворяли в 40 мл спирта этилового 70 %, объем раствора доводили тем же растворителем

до метки, перемешивали. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещали 1 мл полученного раствора и доводили его объем до метки спиртом этиловым 70 %, перемешивали. Раствор использовали свежеприготовленным.

Содержание суммы фруктозанов в пересчете на инулин определяли по методике, изложенной в ФС.2.5.0070.18 «Девясила высокого корневища и корни».

*Оборудование:* ЯМР-спектрометр Gemini-200 (Varian, США), спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu, Япония)

***Исследование шрота***

Определение общего азота проводили по ГФ РФ XIV ОФС.1.2.30011.15 «Определение азота в органических соединениях методом Къельдаля». Определение белка проводили по ГФ РФ XIV ОФС.1.2.3.0012.15 «Определение белка» (Метод 7. Определение белка по содержанию азота). Определение аминного азота (азота свободных аминокислот) проводили по ГФ РФ XIV ОФС.1.2.3.0022.15 «Определение аминного азота методами формольного и йодометрического титрования» (метод формольного титрования).

Количественное определение суммы аминокислот проводили методом спектрофотометрии при длине волны 568±2 нм по реакции с нингидрином в пересчете на глутаминовую кислоту по следующей методике: около 1,000 (точная навеска) шрота, измельченного до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм помещали в колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 40 мл воды очищенной и нагревали с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 1 часа. Извлечение охлаждали и фильтровали через обеззоленный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл, объем доводили до метки водой, перемешивали (Испытуемый раствор).

Около 0,0500 г (точная навеска) кислоты глютаминовой (ВФС 42-2722-96) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли воде и

доводили объем раствора водой до метки (Раствор СО глутаминовой кислоты).

1 мл испытуемого раствора помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл прибавляли 1 мл 0,25 % раствора натрия карбоната. 2 мл спиртового раствора нингидрина и нагревали 10 минут на кипящей водяной бане. После охлаждения раствор доводили водой до метки. Параллельно в мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1 мл раствора СО глутаминовой кислоты и далее поступали как указано выше. Оптическую плотность полученных растворов измеряли на спектрофотометре при длине волны 568±2 нм. В качестве раствора сравнения использовали воду очищенную.

Содержание суммы аминокислот в сырье (X) в процентах, в пересчёте на кислоту глутаминовую и абсолютно сухое сырьё. рассчитывали по формуле:

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

где $A_0$ – оптическая плотность испытуемого раствора,
A – оптическая плотность раствора СО глутаминовой кислоты,
$a_0$ – масса СО глютаминовой кислоты, в граммах.
a – масса сырья в граммах;
W – потеря массы при высушивании сырья в процентах.

Определение аминокислотного состава шрота проводили по ГОСТ 34132-2017 «Мясо и мясные продукты. Метод определения аминокислотного состава животного белка» по верифицированной методике.

*Оборудование:* хроматограф 1290 Infinity II (Agilent, США), анализатор белка К-360 (Buchi, Швейцария).

***Исследование биологической активности***

Изучение гепатопротекторной активности, острой и хронической токсичности проводили в Центре доклинических исследований ФГБНУ ВИЛАР.

Исследование иммуномодулирующей активности экстрактов и фракций осуществляли в Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН (г. Улан-Удэ).

Исследование суммарной антиоксидантной активности проводили методом кулонометрии с помощью электрогенерированного брома. Электрогенерацию брома осуществляли из 0,2 М раствора калия бромида в 0,1 М водном растворе кислоты серной при постоянной силе тока 50,0 мА. Определение проводили при комнатной температуре, результат выражали в мг рутина в пересчете на 100 г абсолютно сухого вещества.

*Оборудование:* «Эксперт-006» (Россия)

***Статистическая обработка результатов анализа***

В экспериментальной части работы результаты количественного определения суммы фенольных соединений и индивидуальных веществ приведены в виде средних значений из трёх определений и стандартных отклонений (M±SD).

Валидация методик количественного определения проведена в соответствии с ГФ РФ XIV ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» по основным аналитическим параметрам (Таблица 4).

Таблица 4 – Валидационные параметры методики и критерии их приемлемости

| Наименование параметра | Методика определения | Критерий приемлемости |
|---|---|---|
| Контроль специфичности | Оценка соответствия максимумов поглощения извлечения из сырья/экстракта (3 серии) и СО | Совпадение максимумов поглощения спиртового извлечения из сырья/экстракта и СО с точностью 2 нм |
| Контроль линейности | Анализ серии из пяти стандартных растворов в диапазоне 80 – 120 % от рабочей концентрации | Коэффициент корреляции не менее 0,995 |
| Контроль правильности | Испытуемый раствор А разводили таким образом, чтобы получить испытуемые растворы Б в диапазоне 80 – 120 % от аналитической области. Правильность оценивали методом добавок (25 %, 50 % и 75 %) на трёх уровнях концентраций | Соотношение «найдено/введено» в % для каждого испытания должно составлять 100 ± 5 %. |
| Контроль повторяемости | Проводили шесть параллельных определений одной серии испытуемого образца | Относительное стандартное отклонение (RSD), % должно составлять не более 5 % |
| Контроль внутрилабораторной прецизионности | Другим аналитиком проводили испытание той же серии, что и при контроле повторяемости | Совпадение результатов между двумя аналитиками должно быть не менее 95 %. |
| Контроль аналитической области | Определение правильности, линейности и прецизионности аналитической методики | Правильность, линейность и прецизионность должны быть установлены внутри аналитической области. |

# ГЛАВА 3. КОНЦЕПТУАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАСТЕНИЙ

Одним из приоритетных направлений стратегии инновационного развития фармацевтической отрасли Российской Федерации является проведение исследований, направленных на поиск новых источников БАВ для разработки отечественных лекарственных средств. Создание новых лекарственных препаратов представляет собой сложный многоэтапный процесс, включающий тесно связанные между собой этапы теоретического и экспериментального обоснования объектов исследования, а также подтверждение прогнозируемой эффективности и безопасности конечного продукта.

В основе поисковых исследований лежит изучение частоты заболеваемости среди населения в сочетании с анализом номенклатуры зарегистрированных на данный момент препаратов для выявления наиболее критичных патологий, требующих разработки новых средств профилактики и лечения.

Выбор перспективных видов растений осуществляется, как правило, на основании оценки опыта народной, традиционной и научной медицины, а также ассортимента лекарственных средств, применяемых в зарубежной медицинской практике.

Наряду с этим, важное значение имеет изучение ареала произрастания дикорастущих растений, установление возможности культивирования видов и наличие отработанных арготехнологий.

На основании проведенного таким образом информационно-аналитического обзора, осуществляется выбор объектов, перспективных для дальнейшего детального изучения и создание на их основе инновационных лекарственных средств.

Ключевым этапом разработки нового лекарственного растительного препарата является проведение скрининговых исследований, направленных на выявление основных групп биологически активных веществ с заданной специфической фармакологической активностью. Данный этап включает изучение качественного состава и количественного анализа исходного сырья и оценку его извлечений с использованием тест-систем *in vitro* и моделей на животных в соответствии с действующими методическими указаниями. Дальнейшие исследования направлены на разработку методик стандартизации и установление критериев подлинности и норм содержания действующих веществ в новых видах лекарственного растительного сырья.

С целью рационального использования растений осуществляется подбор оптимальных условий экстрагирования БАВ, очистки, сушки для получения конечного продукта со стабильными показателями качества в виде экстракта сухого. Результатом данного этапа разработки служит стандартизованная фармацевтическая субстанция, которая может быть использована для создания современных лекарственных форм на её основе, доступных к применению для различных категорий пациентов.

В рамках доклинического сегмента разработки проводится подтверждение специфической фармакологической активности новой фармацевтической субстанции, характеристика её общих фармакологических свойств, а также оценка безопасности в условиях острого и хронического эксперимента согласно действующим нормативным документам. Критериями реализации этой стадии является более высокая эффективность разрабатываемого лекарственного средства по сравнению с имеющимися аналогами, при низкой токсичности.

При успешном завершении доклинических исследований осуществляется окончательная обработка полученных данных, оформление проектов нормативной документации на исходное растительное сырьё и фармацевтическую субстанции для подачи на регистрацию в соответствии с процедурой, утвержденной в установленном порядке. На стадии

промышленной апробации нового средства к критериям достижения цели можно отнести разработку регламентирующих показателей качества и экономическую оценку перспективности и окупаемости промышленного производства.

Эффективность реализации поставленных задач и достижения намеченной цели определяется путём использования комплекса современных физико-химических методов анализа, различных экспериментальных моделей на животных, а также оценки достоверных результатов, полученных по средствам обработки экспериментальных данных с применением методов математической статистики.

Новизна предлагаемой концепции заключается в применении принципа комплексной использования растения, позволяющего разработать ресурсосберегающие технологии переработки растительного сырья и получить стандартизованные продукты лечебного и профилактического назначения (Рисунок 6).

В создании таких продуктов можно обозначить следующие подходы:

- изучение качественного состава и содержания вторичных метаболитов всего растения и выбор вида растительного сырья (надземная или подземная часть) с учетом различий в компонентном составе БАВ;
- использование экологически безопасных органических растворителей, обеспечивающих избирательное извлечение целевых БАВ из каждого вида сырья одного растения;
- обоснование выбора оптимальных технологических параметров получения субстанций, обеспечивающих максимальный выход БАВ для создания рациональной схемы получения фармацевтической субстанции;
- разработка унифицированных методик качественного и количественного анализа БАВ, основанных на специфичности компонентного состава различных частей растения, позволяющих осуществлять стандартизацию по общепринятому принципу «от сырья до лекарственного препарата»;

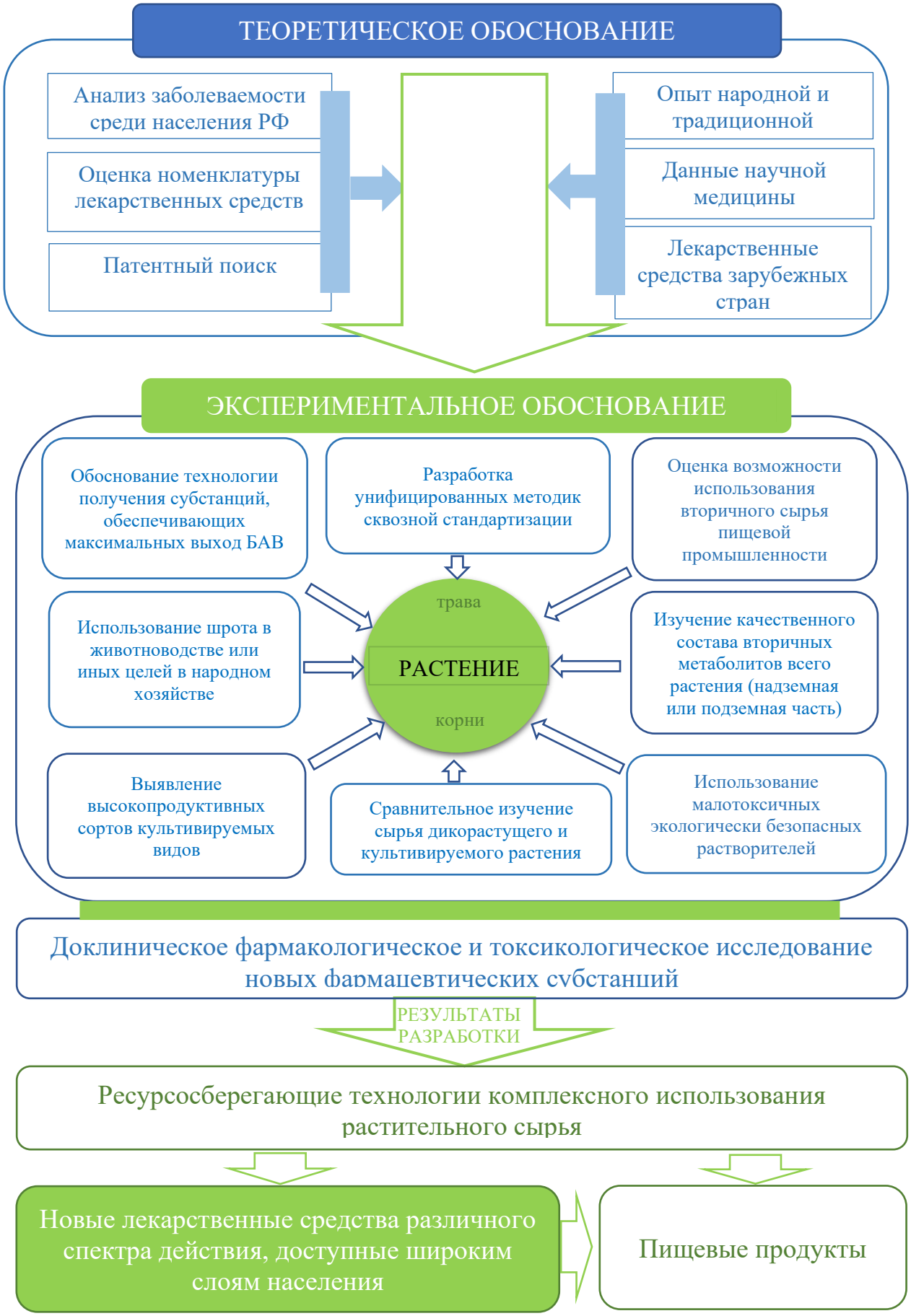



Рисунок 6 – Концептуальная схема разработки новых лекарственных средств и функциональных продуктов на основе комплексной переработки растений

- исследование возможности использования шрота после экстракции для применения в качества кормовых добавок в животноводстве или иных целей в медицине и народном хозяйстве;

- сравнительное изучение сырья дикорастущего и культивируемого растения для выявления особенностей и закономерностей накопления вторичных метаболитов;

- изучение возможности использования вторичного сырья (отходов производства) при выращивании пищевых растений;

- оценка накопления целевых БАВ в сортовых культурах изучаемых видов растений для выявления высокопродуктивных образцов и составления рекомендаций по заготовке и сушке лекарственного растительного сырья;

Таким образом, предлагаемая концепция представляет собой комплекс взаимосвязанных сегментов, включающих теоретические выводы и их экспериментальное подтверждение.

Результатом реализации последовательности данных этапов с использованием современных информационных, физико-химических и биологических методов будет служить фармацевтические субстанции с доказанной эффективностью и безопасностью, а также функциональные продукты пищевого назначения. При этом, принцип комплексной переработки лекарственного растительного сырья откроет возможность создания прогрессивных ресурсосберегающих технологий, позволяющих рационально использовать природные ресурсы и получать инновационный стандартизованный продукт со стабильными показателями качества.

В качестве модели наглядной реализации обозначенной концептуальной схемы выбран цикорий обыкновенный, обладающий согласно данным народной и научной медицины потенциалом иммуномодулирующего, гепатопротекторного и антиоксидантного действия (Рисунок 7).

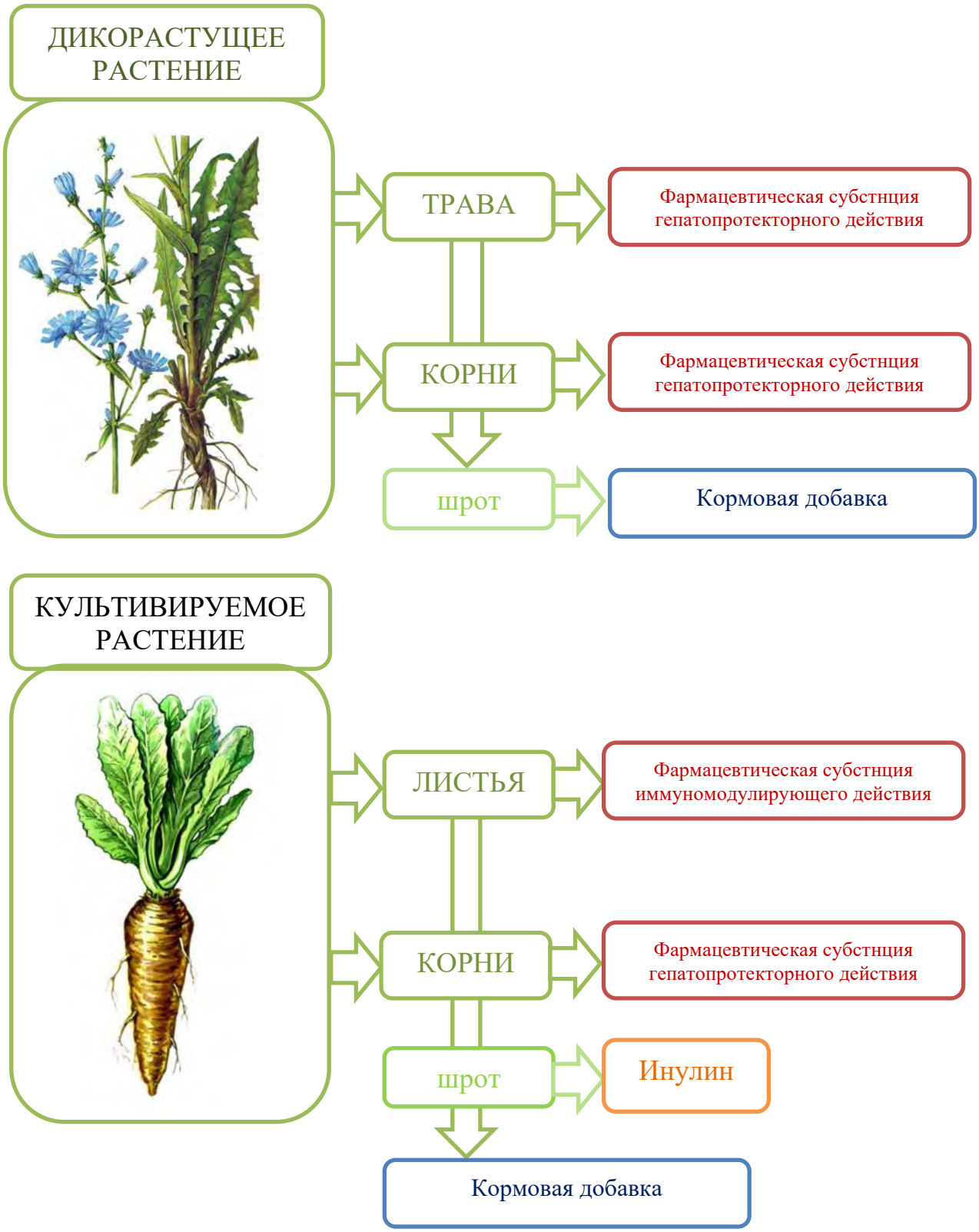



Рисунок 7 – Принципиальная схема комплексного использования цикория обыкновенного

В соответствии с предлагаемым подходом, растение рассматривается в целом как «биофабрика» биологически активных соединений, с учетом наличия дикорастущих и культивируемых разновидностей и различных вариантов их использования.

С одной стороны, цикорий обыкновенный в дикорастущем виде имеет обширный ареал, что может обеспечить стабильную сырьевую базу для заготовки сырья в промышленных масштабах. С другой стороны, результатом многолетнего опыта культивирования цикория для получения пищевых продуктов, на сегодняшний день служат отработанные агротехнологии его возделывания и наличие высокопродуктивных корневых сортов. Учитывая особенности химического состава вторичных метаболитов, корни могут служить источником получения БАВ фенольной природы и инулина. Данная задача может быть реализована посредством последовательной избирательной экстракции сырья спиртом этиловым 70 %, затем водой. Полученный при этом шрот может быть в дальнейшем использован в качестве кормовой добавки сельскохозяйственным животным.

Вместе с тем, надземная часть культивируемого цикория, представленная листьями и являющаяся отходом производства при заготовке корней, представляет интерес в качестве вторичного сырья для получения фармацевтических субстанций.

Таким образом, результатом комплексной переработки цикория обыкновенного будут служить фармацевтические субстанции гепатопротекторного и иммуномодулирующего действия, а также функциональные продукты пищевого назначения.

Наряду с этим, руководствуясь предлагаемым алгоритмом разработки показана возможность комплексного использования топинамбура.

Топинамбур является ценной пищевой культурой, имеющей большое хозяйственное значение. Клубни данного растения используются для получения различных биологически активных добавок к пище и других пищевых продуктов, применяемых в качестве источника инулина. При

выращивании клубней в промышленных масштабах, надземная часть (трава) служит отходом производства. Учитывая её значительную биомассу и малую изученность химического состава, трава топинамбура представляет интерес для более детального исследования как перспективный источник получения БАВ для создания эффективных лекарственных средств в рамках комплексного использования данного растения (Рисунок 8).

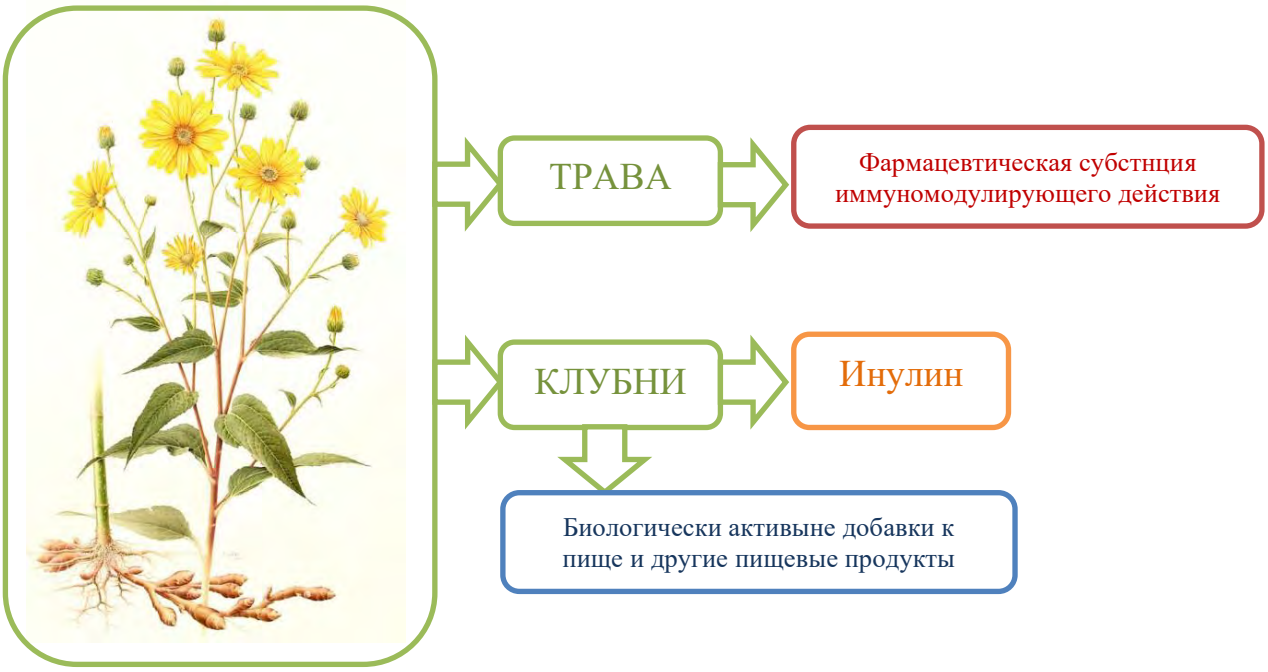



Рисунок 8 – Принципиальная схема комплексного использования топинамбура

Разрабатываемые согласно предлагаемому подходу профилактические и лечебные средства из цикория обыкновенного и топинамбура будут способствовать расширению номенклатуры эффективных препаратов отечественного производства, что отвечает основным направлениям стратегии инновационного развития фармацевтической отрасли. Наряду с этим, технологии безотходной переработки дадут возможность минимизировать затраты на промышленное производство лекарственных средств, что, в свою очередь повысит доступность инновационных препаратов для широкого круга пациентов и будет способствовать увеличению продолжительности и повышению качества жизни населения Российской Федерации.

## Выводы к главе 3

1. Предложена концептуальная модель разработки лекарственных средства и функциональных пищевых продуктов на основе комплексного использования растений, которая представляет собой многоступенчатый алгоритм действий, включающий теоретические и экспериментальные сегменты.

2. Основываясь на предлагаемом подходе выбраны объекты исследования – цикорий обыкновенный и топинамбур. Реализация концепции на примере данных растений позволит предложить новые фармацевтические субстанции, на основе которых могут быть разработаны инновационные лекарственные препараты с заданной фармакологической активностью.

3. Технологии комплексной переработки растений, наряду с фармацевтическими субстанциями, позволят получить функциональные продукты пищевого назначения и кормовые добавки для животных.

# ГЛАВА 4. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ И ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО

## 4.1. Сравнительное изучение химического состава травы дикорастущего и листьев культивируемого растения

Согласно данным литературы основными биологически активными веществами надземной части цикория являются низкомолекулярные метаболиты, преимущественного фенольного характера. В связи с этим для характеристики качественного состава нами использован метод ВЭЖХ-УФ-МС/МС, позволяющий идентифицировать гидрофильные вещества в извлечении из сырья по специфичным фрагментам ионного распада молекул, а также характеристикам УФ-спектра.

На рисунке 9 приведена хроматограмма извлечения травы дикорастущего цикория обыкновенного.

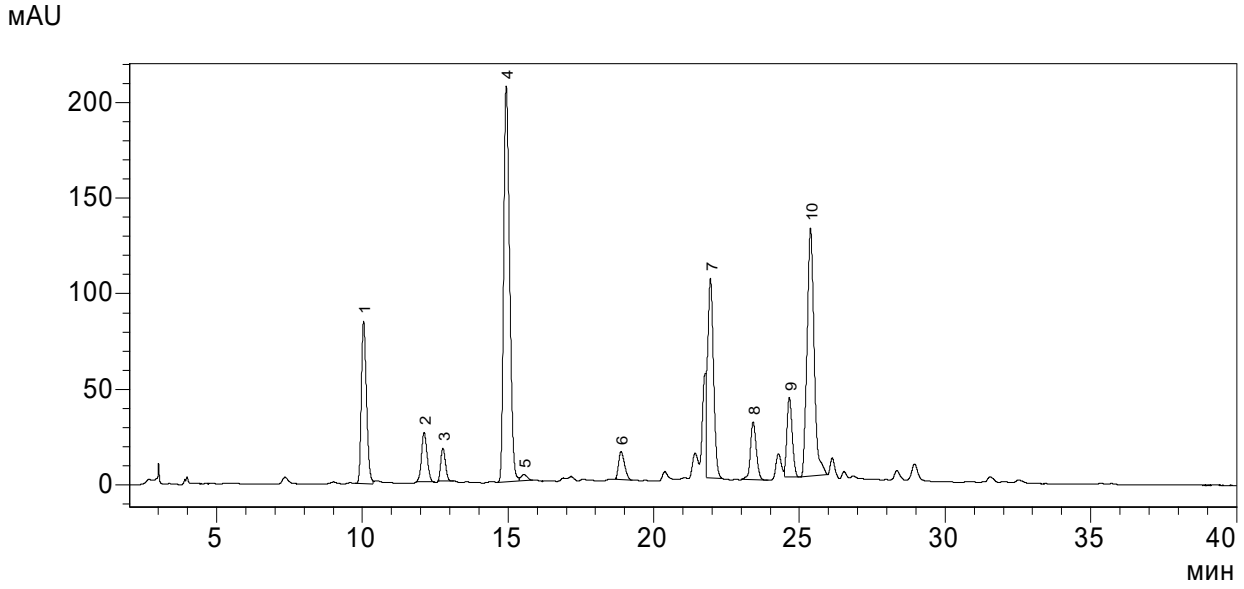



Рисунок 9 – ВЭЖХ-УФ-хроматограмма извлечения трвы дикорастущего цикория обыкновенного (330 нм)

При исследовании УФ-спектров наиболее интенсивных пиков вторичных метаболитов травы цикория обыкновенного было установлено, что они представлены веществами фенольного характера: оксикумаринами, производными гидроксикоричных кислот и флавоноидами.

Соединения, относящиеся к оксикумаринам, имеют наиболее интенсивные пики с временами удерживания 10,0 мин (1) и 14,89 мин (4). Масс-спектр вещества (4) имеет пик молекулярного иона $[M-H]^-$ с m/z 177,1. При этом, аналогичный ион присутствует и у метаболита (1), молекулярный ион которого $[M-H]^-$ с m/z 339,1, что свидетельствует о наличии единого фрагмента у данных веществ. По разнице молекулярных масс можно предположить, что одно из них является агликоном оксикумарина, а другое – его гликозидом. Основываясь на полученных данных, соединения (4) и (1) идентифицированы как эскулетин и его гликозид – цикориин соответственно.

Производные гидроксикоричных кислот в траве цикория обыкновенного, как и у других видов семейства *Asteraceae* характеризуются довольно широким разнообразием и представлены сложными эфирами кофейной, феруловой, винной, хинной кислот в различных сочетаниях [180, 190, 218]. УФ-спектры данных соединений имеет характерную спектральную кривую, с максимумом поглощения при 320-330 нм и плечом при 280-300 нм.

На хроматограмме исследуемого нами образца к этой группе отнесены пики веществ с временами удерживания: 12,02 мин (2), 12,73 мин (3), 15,50 мин (5), 24,62 мин (9), 25,35 мин (10). Наибольшую интенсивность имеет пик (10). Масс-спектр данного вещества характеризуется наличием пика молекулярного иона $[M-H]^-$ с m/z 473,1, а также иона димерного фрагмента $[2M-H]^-$ с m/z 947,4 и иона $[M-H]^-$ с m/z 311,2, соответствующего фрагменту после потери кофейной кислоты. Подобный распад свойствен дикафеоилвинной (цикориевой) кислоте [218]. Цикориевая кислота впервые была выделена именно из данного растения в 1958 г, от чего и получила своё тривиальное название [244].

Вещество (2) с временем удерживания 12,02 мин имеет характерный УФ-спектр и пик молекулярного иона $[M-H]^-$ с m/z 311,1, что позволило идентифицировать его как 2-кофеилвинную (кафтаровую) кислоту. Близкой по полярности кафтаровой кислоте является другая фенолкарбоновая кислота (3) с временем удерживания 12,73 мин с пиком молекулярного иона $[M-H]^-$ с

m/z 353,2. По сопоставлению времени удерживания УФ- и масс-спектру с аналогичными характеристиками стандартного образца, установлено, что данное соединение представляет собой 3-кофеилхинную (хлорогеновую) кислоту. К хлорогеновым кислотам также отнесено соединение (9), имеющее пик молекулярного иона $[M-H]^-$ с m/z 515,1, идентифицированное нами как 3,5-дикафеолхинная (изохлорогеновая А) кислота [139, 191].

Меньшую интенсивность среди производных гидроксикоричных кислот на хроматограмме исследуемого образца имеет вещество (5) с временем удерживания 15,50 мин и m/z 178,1, являющееся 3,4-дигидроксикоричной (кофейной) кислотой. Присутствие данного соединения также было подтверждено по характеристикам аутентичного стандартного образца.

Производные флавоноидной природы в траве цикория обыкновенного, согласно данным литературы, представлены преимущественно гликозидами кверцетина и кемпферола [218, 180]. При изучении УФ-спектров было определено, что вторичные метаболиты изучаемого суммарного экстракта с временем удерживания 20,35 мин (6), - 21,71 мин (7) и 23,4 мин (8) имеют схожий характер спектра с максимумами поглощения 255 и 350 нм (6); 256 и 353 нм (7); 264 и 342 нм (8). Сопоставление масс-спектров данных соединений со спектрами достоверных стандартных образцов позволило идентифицировать их как кверцетин-3-рутинозид (рутин) – (6), кверцетин-3-глюкозид (изокверцетин) – (7) и кемпферол-3-глюкозид (астрагалин) – (8).

В целом, характеризуя фенольный комплекс травы цикория обыкновенного, следует отметить единые пути синтеза вторичных метаболитов. Как известно, основным механизмом формирования ароматического кольца в процессе образования фенольных соединений в растении является шикиматный путь, при этом биосинтез кумаринов генетически связан с биосинтезом гидроксикоричных кислот [55]. Являясь общим предшественником, *п*-оксикоричная (n-кумаровая) кислота при последовательном гидроксилировании и метилировании преобразуются в

различные гидроксикоричные кислоты, а также под действием фермента она может превращаться в неустойчивую о-оксикоричную (кумариновую) кислоту, которая в свою очередь лактонизируется с образованием кумарина - умбелиферона. Подобное превращение кофейной кислоты приводит к образованию эскулетина. Последующее преобразование *п*-гидроксикоричной кислоты в процессе вторичного метаболизма приводит к образованию флавоноидных соединений. Именно вещества из группы гидроксикоричных кислот, кумаринов и флавоноидов были идентифицированы в результате проведенного нами исследования.

На основании проведенного изучения, можно прогнозировать и фармакологическое действие субстанций, полученных из данного сырья. Так, например, эскулетин, являясь доминирующим компонентом дикорастущего растения, по данным литературы в опытах *in vivo* демонстрирует антигепатотоксическое действие. Предварительное пероральное введение эскулетина в дозе 6 мг/кг снижает уровень гибели животных на 40 % и предотвращает, вызванное тетрахлорметаном и парацетамолом повышение уровня сывороточных ферментов аланинаминотранстферазы (АЛТ), аспарагинаминотрансферазы (АСТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ), а также сокращает время индуцированного тетрахлорметаном удлиненного фенобарбиталового сна [168]. Эскулетин (40 мг / кг массы тела) оказывает защитное действие при диабете, ослабляя опосредованный гипергликемией окислительный стресс в тканях печени и почек [230]; влияет на липогенез и глюкогенез [125].

В свою очередь цикориевая кислота, обладает гипогликемической активностью, увеличивая поглощение глюкозы в мышечных клетках и повышая выработку инсулина [122]; проявляет гепатозащитное и противовирусное действие [161,204]

Таким образом, в траве дикорастущего цикория обыкновенного преобладающими соединениями являются эскулетин, цикориин, цикориевая, хлорогеновая и кафтаровая кислоты. Для подтверждения наличия данных

соединений нами было проведено их выделение из сырья и установление их структуры методом ЯМР-спектроскопии.

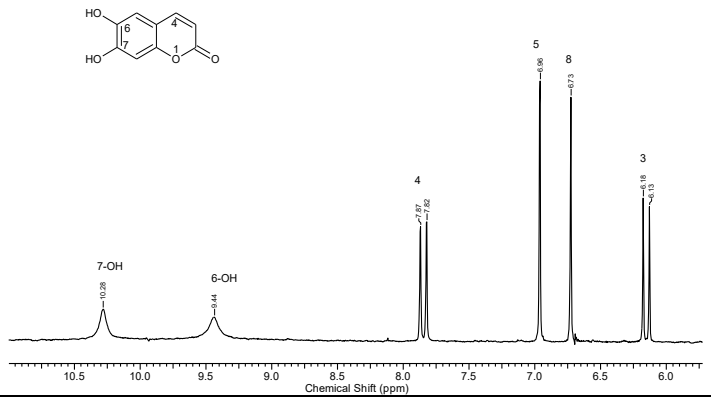
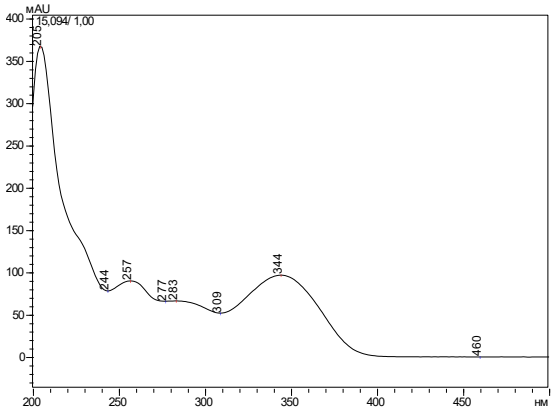
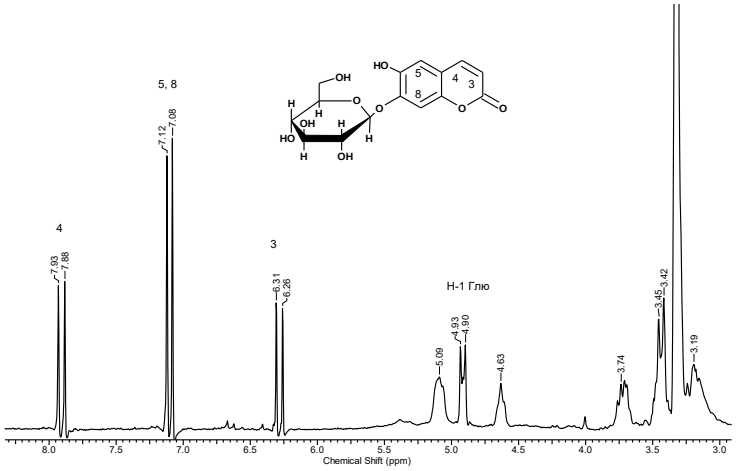
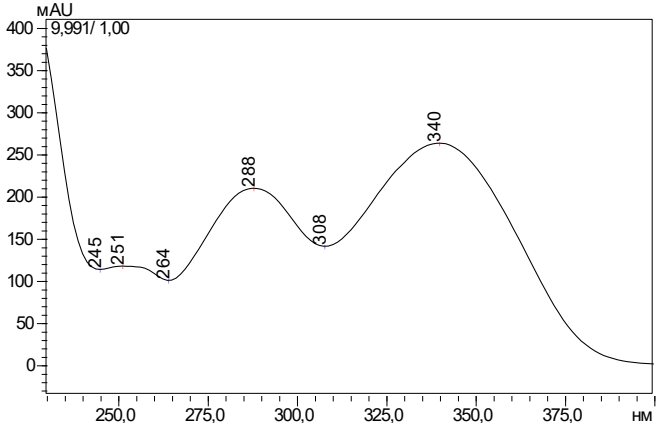
Выделение проводили из соответствующих фракций экстракта дикорастущего растения. Для этого использовали метод колоночной хроматографии (на колонках с полиамидом). Элюирование веществ осуществляли смесью растворителей вода-метанол с постепенным увеличением концентрации последнего (от 0 до 100 %). Фракции отбирали по 20 мл и анализировали методом ТСХ на пластинках Sorbfil ПТСХ-ПА-УФ в системе растворителей бутанол-муравьиная кислота-вода (4:1:5). Целевые фракции объединяли, упаривали досуха и рехроматографировали на колонках с силикагелем (5/40), используя в качестве элюента смесь растворителей хлороформ-метанол с увеличением градиента последнего. Рехроматографию повторяли до максимального отделения целевых веществ от примесей. Полученные индивидуальные соединения перекристаллизовывали и анализировали методом ЯМР-спектроскопии и ВЭЖХ-УФ, определяли температуру плавления (Таблица 5).

***Эскулетин.*** В спектре эскулетина (раствор в ДМСО) сигналы винильных протонов проявляются в виде дублетов с константой взаимодействия 9,5 Гц при 6,14(Н-3) и 6,84(Н-4) м.д., синглеты при 6,73 и 6,96 м.д. относятся к протонам Н-5 и Н-8 соответственно.

Фенольные гидроксильные группы дают сигналы в виде синглетов при 9,44 (ОН-6) и при 10,28 (ОН-7) м.д.

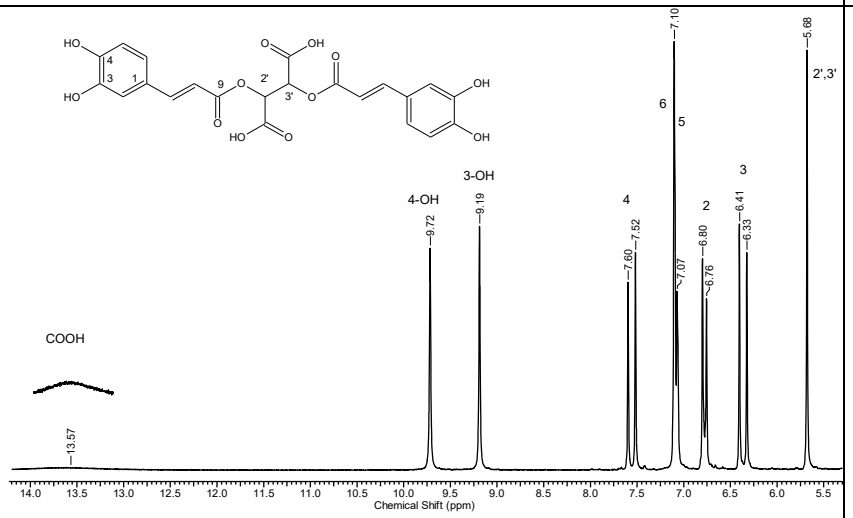
***Цикориин.*** В спектре цикориина (раствор в ДМСО) сигналы винильных протонов проявляются в виде дублетов (константа взаимодействия 9,5 Гц) при 6,29 (Н-3) и 7,92 (Н-4) м.д., синглеты при 6,73 и 6,96 м.д. относятся к протонам Н-5 и Н-8 соответственно. Сигнал при 8,99 м.д. относится к фенольной гидроксильной группе ОН-6. Сигнал Н-1’

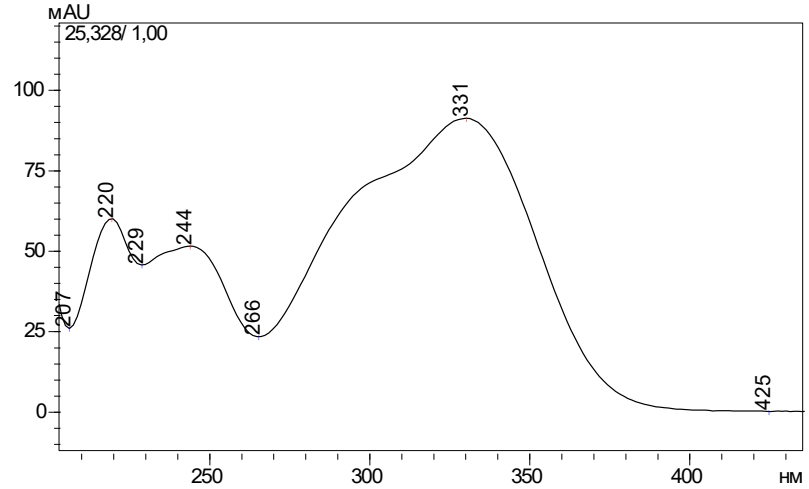
Таблица 5 – Характеристика БАВ, выделенных из надземной части цикория обыкновенного

| Молярная масса | Структурная формула, ЯМР-спектр | УФ-спектр |
|---|---|---|
| **Эскулетин** | | |
| $C_9H_6O_4$<br>Mm.178 |  |  |
| **Цикориин** | | |
| $C_{15}H_{16}O_9$<br>Mm.340 |  |  |

## Цикориевая кислота

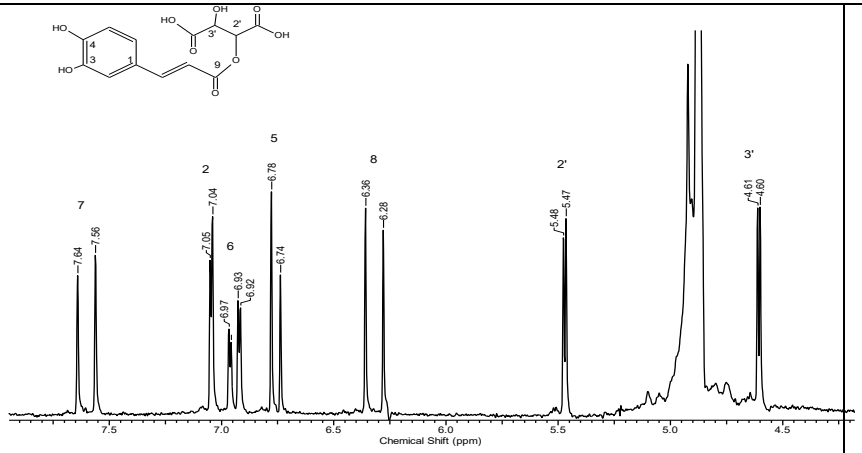
$C_{22}H_{18}O_{12}$
Mm.474,3

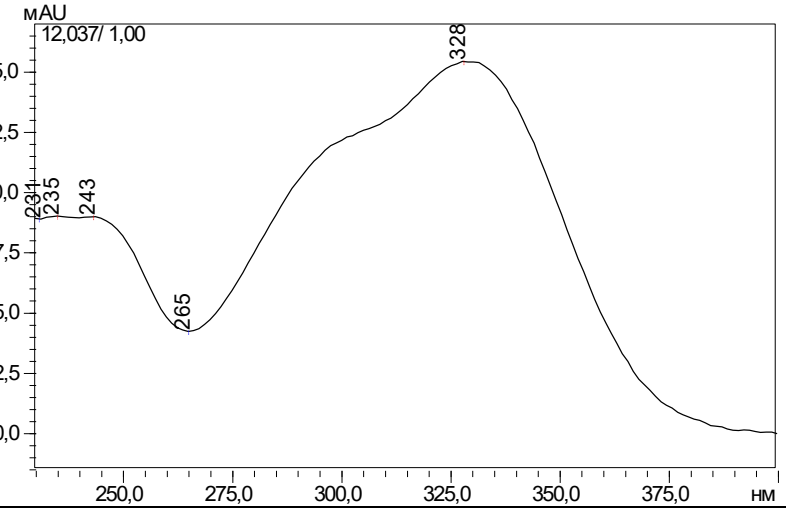


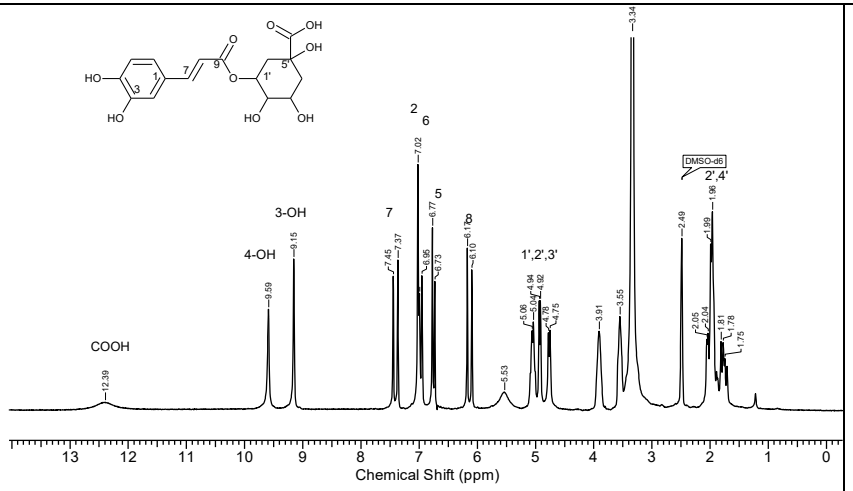
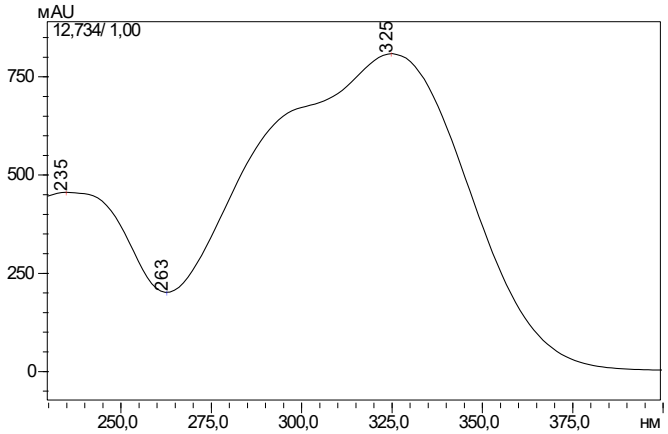




## Кафтаровая кислота

$C_{13}H_{12}O_9$
M.m 312



| **Хлорогеновая кислота** | | |
|---|---|---|
| $C_{16}H_{18}O_9$<br>Mm.354 |  |  |

глюкозы проявляется при 5,08 м.д. (д; 2,8). Другие СН и СН2 группы дают сигналы в области 3,1-3,8 м.д. Гидроксильные протоны глюкозного фрагмента дают сигналы при 4,92; 5,12 и
5,36 м.д. Сигнал протона ОН-6' гидроксильной в виде триплета с уширенными компонентами (константа взаимодействия с протонами метиленовой группы 3,6 Гц) проявляется при 4,64 м.д.

***Цикориевая кислота.*** Вследствие симметрии молекулы цикориевой кислоты в спектре $^{1}$Н-ЯМР-сигналы протонов двух остатков кофейной кислоты, а также четырех протонов фрагмента винной кислоты совпадают. В спектре (в растворе ДМСО) представлены сигналы в виде дублетов при 6,37 и при 7,54 м.д. (КССВ = 15,9 Гц) относятся к винильным протонам Н-7 и Н-8 соответственно. Ароматические протоны дают сигналы при 6,78 м.д. (Н-5, д, КССВ = 8,7Гц), при 7,08 м.д. (Н-6, дд, 8,7 и 2,1) и при 7,10 м.д. (Н-2, с уш). Фенольные гидроксильные группы дают два сигнала в виде уширенных синглетов при 9,20 м.д. (ОН-3) и при 9,73 (ОН-4). Протоны Н-2' и Н-3'дают сигнал в виде синглета при 5,68 м.д. Карбоксильные группы дают один сигнал (13,6 м.д.).

***Кафтаровая кислота.*** В спектре кафтаровой кислоты (в растворе $CD_3OD$) сигналы в виде дублетов при 6,32м.д. (константа взаимодействия 15,8Гц) и при 7,54 м.д. (д; 15,8) относятся к винильным протонам Н-7 и Н-8 соответственно. Ароматические протоны дают сигналы при 6,76 м.д. (Н-5, д; 8,1), при 6,95 м.д. (Н-6, дд; 8,6 и 2,2) и при 7,05 м.д. (Н-2, д; 2,2). Протоны Н-2' и Н-3'остатка винной кислоты дают сигналы при 5,48 м.д. (д; 2,2) и при 4,61 м.д. (д; 2,2) соответственно.

***Хлорогеновая кислота***. В спектре хлорогеновой кислоты (в растворе ДМСО) сигналы в виде дублетов при 6,37 (д; 15,8) и при 7,54 м.д. (д: 15,8) относятся к винильным протонам Н-7 и Н-8 соответственно. Ароматические протоны дают сигналы при 6,75 м.д. (Н-5, д; 8,1), при 6,97 м.д. (Н-6, д. уш; 8,1) и при 7,02 м.д. (Н-2, с. уш). Фенольные гидроксильные группы дают два сигнала в виде уширенных синглетов при 9,15 м.д. (ОН-3) и при 9,59 (ОН-4).

Сигналы остатка хинной кислоты дают четырехпротонный сигнал (две метиленовые группы) в области 1,7-2,2 м.д., три сигнала с химическими сдвигами (хс) 4,77; 4,93 и 5,05 м.д. относятся к СН протонам, а три сигнала с значениями хс 3,55; 3,91 и 5,53 м.д. относятся к протонам гидроксильных групп. Карбоксильная группа дает сигнал при 12,39 м.д.

Таким образом, подтверждена структура всех основных соединений надземной части цикория обыкновенного. Индивидуальные вещества, полученные в результате проведенного исследования использованы нами в дальнейшей работе в качестве стандартных образцов для оценки их содержания в сырье, экстрактах и фракциях изучаемого сырья.

В отличии от травы дикорастущего растения, надземная часть культивируемого представлена листьями корневой розетки. При сравнительном исследовании хроматограмм извлечений из надземной части дикорастущего (травы) и культивируемого (листьев) цикория обыкновенного, было установлено, что состав метаболитов культивируемой формы данного растения представлен меньшим разнообразием (Рисунок 10).

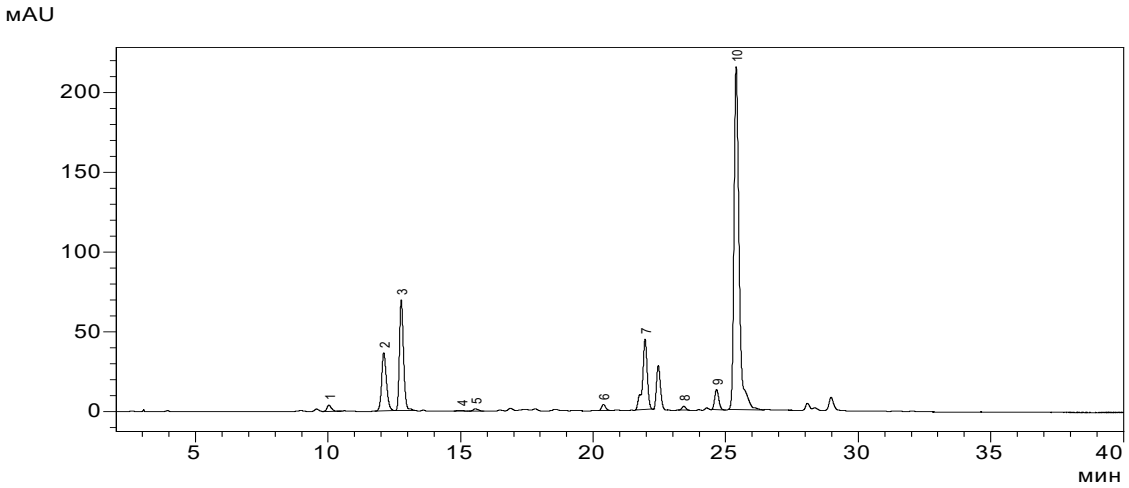



Рисунок 10 – ВЭЖХ-УФ-хроматограмма экстракта листьев культивируемого цикория обыкновенного (330 нм)

Практически отсутствуют пики оксикумаринов – эскулетина и цикориина. В свою очередь показано, что пик с временем удерживания 25,35 мин, соответствующий цикориевой кислоте, значительно преобладает по интенсивности среди всех остальных пиков. Наряду с этим, по временам

удерживания и масс-спектрам в листьях культивируемого цикория обыкновенного подтверждено наличие кафтаровой кислоты (12,03 мин), хлорогеновой кислоты (12,72 мин), изохлорогеновой А кислоты (24,63 мин), а также изокверцетина (21,73 мин).

Согласно полученным данным, комплекс фенольных соединений листьев культивируемого растения имеет схожий качественный состав гидроксикоричных кислот и флавоноидов с травой дикорастущей формы, однако характеризуются меньшим разнообразием. Оксикумарины в листьях обнаруживаются в следовых количествах.

## 4.2. Определение основных БАВ и изучение их накопления в растении

Современные требования к качеству лекарственных средств обусловливают необходимость использования научно-обоснованного подхода к созданию фитопрепаратов, включающего оценку опыта народной и научной медицины, сочетающегося с установлением структуры действующих веществ, определением механизмов их фармакологического действия и возможных побочных эффектов. Одним из базисных этапов такого подхода являются исследования химического состава новых видов лекарственных растений, установление основных групп действующих веществ и разработка методик стандартизации.

### *4.2.1 Фракционирование суммарного экстракта. Определение основных действующих веществ*

Для обоснования выбора методики стандартизации надземной части цикория обыкновенного нами проведены исследования по определению групп БАВ, вносящих основной вклад в фармакологический эффект субстанций на её основе. Для этого водно-спиртовое извлечение, полученное путём исчерпывающей экстракцией сырья спиртом этиловым 70 % концентрировали до водного остатка, очищали от липофильных соединений дихлорэтаном и последовательно обрабатывали этилацетатом, *н*-бутанолом. Затем водный остаток высаждали в трехкратном объеме спирта этилового,

оставляли на 24 часа в холодильнике, после чего осадок отделяли, высушивали вакуум-сушильном шкафу (водная фракция). Надосадочный раствор, этилацетатное и бутанольное извлечение концентрировали на роторном испарителе досуха и также высушивали, получая соответственно этилацетатную, бутанольную и спиртовую фракции.

Фитохимический анализ метаболитов полученных фракций проводили методом ВЭЖХ-УФ, ВЭЖХ-УФ-МС/МС, СФМ. Наряду с этим, методом кулонометрии изучали антиоксидантные свойства фракций, а также в опытах *in vivo* на модели тетрахлорметанового гепатита устанавливали гепатопротекторное действие фракций травы дикорастущего цикория и изучали влияние на иммунный ответ фракций листьев культивируемого цикория.

В результате проведенного исследования в надземной части дикорастущего растения обнаружено более 160 веществ, из которых идентифицировано 29 (Таблица 6).

Таблица 6 – Фенольные соединения, идентифицированные в траве дикорастущего цикория обыкновенного

| | Фракция | Время удерживания, мин | Вещество | Молекулярная масса, Da | Положительная ионизация, m/z фрагменты | Отрицательная ионизация, m/z фрагменты |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | СП | 2,94 | Лимонная кислота | 192 | 193 $[M+H]^-$<br>210 $[M+H_2O]^-$ | 191 $[M-H]^-$<br>383 $[2M-H]^-$ |
| 2 | БУ<br>СП | 3,42 | Яблочная кислота | 134 | - | 133 $[M-H]^-$ |
| 3 | ЭА | 9,47 | Дигидроксибензойная кислота | 154 | 172 $[M+H_2O]^-$ | 153 $[M-H]^-$ |
| 4 | ЭА<br>БУ<br>СП<br>ВО | 10,24 | Цикориин | 340 | 179 (эскулетин)<br>341 $[M+H]^-$<br>363 $[M+Na]^-$<br>681 2M+H<br>703 $[2M+Na]^-$ | 177 (эскулетин)<br>339 $[M-H]^-$<br>679 $[2M-H]^-$ |
| 5 | ЭА | 12,85 | *п*-гидроксибензойная кислота | 138 | 139 $[M+H]^-$ | 137 $[M-H]^-$ |
| 6 | ЭА<br>БУ<br>СП<br>ВО | 13,15 | Хлорогеновая кислота | 354 | 163 (кофейная кислота – $H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>355 $[M+H]^-$<br>377 $[M+Na]^-$<br>731 $[2M+Na]^-$ | 191 (хинная кислота)<br>353 $[M-H]^-$<br>707 $[2M-H]^-$ |
| 7 | БУ<br>СП | 13,5 | Кафтаровая кислота | 312 | 313 $[M+H]^-$<br>330 $[M+H_2O]^-$<br>335 $[M+Na]^-$ | 149 (винная)<br>179 (кофейная)<br>311 $[M-H]^-$ |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | 357 $[M+HCOOH]^-$ |
| 8 | ЭА | 15,0 | Эскулетин | 178 | 179 $[M+H]^-$<br>201 $[M+Na]^-$<br>379 $[2M+Na]^-$ | 177 $[M-H]^-$<br>355 $[2M-H]^-$ |
| 9 | ЭА<br>БУ<br>СП<br>ВО | 15,67 | Кофейная кислота | 180 | 163 $[M-H_2O]^-$<br>181 $[M+H]^-$<br>198 $[M+H_2O]^-$ | 179 $[M-H]^-$ |
| 10 | ЭА<br>БУ | 17,0 | Кумароилхинная кислота | 338 | 147 (хинная кислота)<br>339<br>361 $[M+Na]^-$<br>699 $[2M+H]^-$ | 191 (хинная кислота)<br>337<br>675 $[2M-H]^-$ |
| 11 | ВО | 17,19 | Коутаровая кислота (кумароилвинная) | 296 | 147 (кумаровая кислота)<br>297 $[M+H]^-$<br>314 $[M+H_2O]^-$<br>319 $[2M+Na]^-$ | 295 $[M-H]^-$ |
| 12 | ЭА, БУ | 18,35 | Ферулоилхинная кислота 4 / 5 | 368 | 177 (феруловая кислота - $H_2O$)<br>195 (феруловая кислота)<br>369 $[M+H]^-$<br>391 $[M+Na]^-$<br>759 $[2M+Na]^-$ | 367 $[M-H]^-$<br>735 $[2M-H]^-$ |
| 13 | ВО | 18,6 | Фертаровая кислота (ферулоилвинная) | 326 | 195 (феруловая кислота)<br>327 $[M+H]^-$<br>344 $[M+H_2O]^-$<br>349 $[M+Na]^-$ | 325 $[M-H]^-$ |
| 14 | ЭА | 20,48 | Рутин | 610 | 303 (кверцетин)<br>611 $[M+H]^-$<br>633 $[M+Na]^-$ | 609 $[M-H]^-$ |
| 15 | ЭА<br>БУ<br>СП<br>ВО | 21,86 | Изокверцетин | 464 | 303 (кверцетин)<br>465 $[M+H]^-$<br>487 $[M+Na]^-$<br>951 $[2M+Na]^-$ | 463 $[M-H]^-$<br>927 $[2M-H]^-$ |
| 16 | БУ<br>СП<br>ВО | 23,4 | Кверцетин-глюкуронид | 478 | 303<br>479 $[M+H]^-$<br>501 $[M+Na]^-$ | 477 $[M-H]^-$<br>955 $[2M-H]^-$ |
| 17 | БУ | 24,3 | Изохлорогеновая В кислота (дикофеоилхинная) | 516 | 499 $[M-H_2O]^-$<br>517 | 515<br>561 $[M+Na]^-$ |
| 18 | ЭА БУ | 24,38 | Астрагалин | 448 | 287 (кемпферол)<br>449 $[M+H]^-$<br>471 $[M+Na]^-$<br>919 $[2M+Na]^-$ | 447 $[M-H]^-$<br>895 $[2M-H]^-$ |
| 19 | ЭА<br>БУ | 24,7 | Изорамнетин-глюкозид/гаоактозид | 478 | 317 (изорамнетин)<br>479 $[M+H]^-$<br>501 $[M+Na]^-$<br>979 $[2M+Na]^-$ | 477 $[M-H]^-$<br>955 $[2M-H]^-$ |
| 20 | ЭА<br>БУ | 25,0 | Изохлорогеновая А кислота (дикофеоилхинная) | 516 | 163 (кофейная кислота $H_2O$) 181 (кофейная кислота)<br>499 $[M-H_2O]^-$<br>517<br>539 $[M+Na]^-$ | 353 (кофеоилхинная)<br>515<br>561 $[M+Na]^-$ |
| 21 | ЭА<br>БУ<br>ВО | 25,4 | Кемпферол/ лютеолин-глюкуронид | 462 | 287 (агликон)<br>463 $[M+H]^-$<br>485 $[M+Na]^-$ | 461 $[M-H]^-$<br>923 $[2M-H]^-$ |
| 22 | ЭА<br>БУ<br>ВО | 25,82 | Изорамнетин–глюкуронид | 492 | 317 (изорамнетин)<br>493 $[M+H]^-$<br>515 $[M+Na]^-$ | 491 $[M-H]^-$ |
| 23 | ЭА БУ | 26,15 | Изохлорогеновая С кислота (дикофеоилхинная | 516 | 163 (кофейная кислота – $H_2O$)<br>181 (кофейная кислота) | 515 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ) | | 499 $[M-H_2O]^-$<br>517<br>539 $[M+Na]^-$ | |
| 24 | БУ<br>ВО | 28,0 | Цикориевая (дикофеоилвинная кислота | 474 | 163 (кофейная кислота - $H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>475 $[M+H]^-$<br>492 $[M+H_2O]^-$<br>497 $[M+Na]^-$<br>971 $[2M+Na]^-$ | 293 [M- кофейная кислота -$H_2O$]$^-$<br>311 [M-кофейная кислота]$^-$<br>473 $[M-H]^-$<br>947 $[2M-H]^-$ |
| 25 | ЭА | 31,32 | Лютеолин | 286 | 287 $[M+H]^-$<br>309 $[M+Na]^-$ | 285 $[M-H]^-$ |
| 26 | БУ<br>СП<br>ВО | 31,67 | Кумароилферулоилвинная кислота | 488 | 177 (феруловая кислота - $H_2O$)<br>195 (феруловая кислота)<br>327 (ферулоилвинная кислота)<br>489<br>506 $[M+H_2O]^-$<br>511 $[M+Na]^-$ | 325 (ферулоилвинная кислота)<br>487 |
| 27 | ЭА | 32,5 | Диметоксикоричная кислота | 208 | 209<br>231 $[M+Na]^-$ | 207 |
| 28 | ЭА | 35,2 | Кемпферол | 286 | 287 | 285 |
| 29 | ЭА | 35,6 | Изорамнетин | 316 | 317 $[M+H]^-$ | 315 $[M-H]^-$ |

Примечание: ЭА-этилацетатная, БУ – бутанольная, СП – спиртовая, ВО – водная фракции

Учитывая, что в настоящее время всё большее внимание ученые уделяют исследованиям по изучению роли свободных радикалов в возникновении и развитии патологических процессов в организме человека, нами было проведено изучение антиоксидантной активности полученных фракций в сравнении с суммарным экстрактом надземной части дикорастущего цикория обыкновенного. Результаты проведенного исследования представлены на рисунке 11.

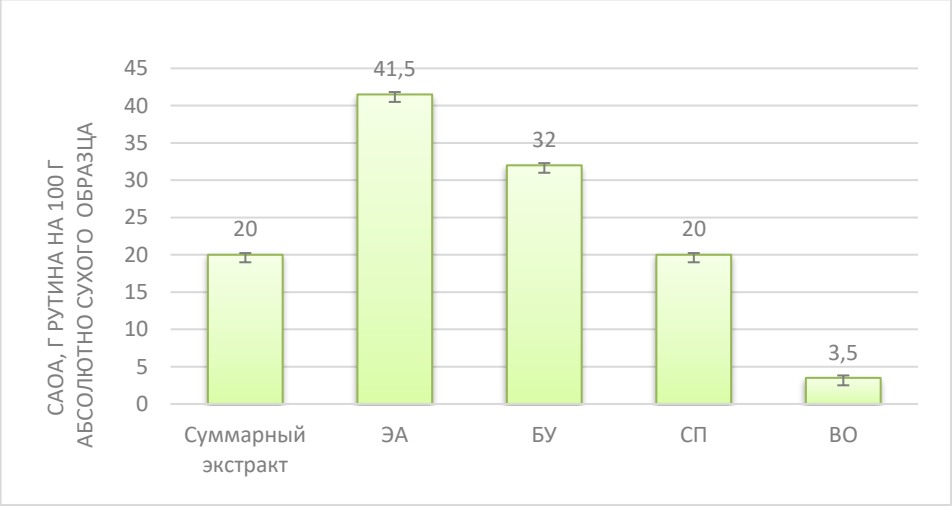
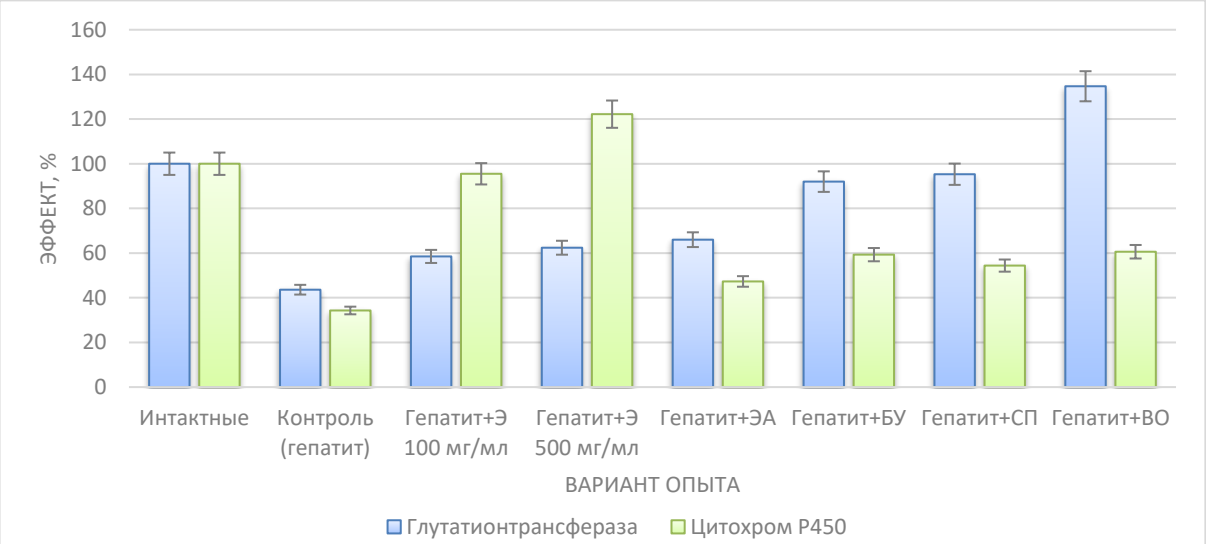



Рисунок 11 - Суммарная антиоксидантная активность (САОА) фракций надземной части цикория обыкновенного дикорастущего

Из диаграммы видно, что наибольшей антиоксидантной активностью обладает этилацетатная фракция, при этом её массовая доля в суммарном экстракте самая незначительная. Данная фракция является наиболее представительной по составу веществ и включает гидроксикоричные кислоты, оксикумарины и агликоны флавоноидов. Вероятно, именно суммарный эффект фенольных соединений, сконцентрированных в этилацетатный фракции обусловливает столь значительную антиоксидантную активность.

Изучение гепатопротекторных и детоксицирующих свойств полученных фракций проводили с применением биотест-систем на основе ключевых ферментов биотранформации и детоксикации - цитохрома Р 450 и глютатионтрансферазы в условиях *in vitro*. В результате эксперимента было установлено, что все фракции в большей или меньшей степени увеличивают скорость реакции коньюгации с участием глютатиотрансферазы, а также активируют детоксицирующую функцию системы цитохрома Р450. Однако, наибольшей активностью обладают водная и бутанольная фракции (Рисунок 12).




ЭА-этилацетатная, БУ – бутанольная, СП – спиртовая, ВО – водная фракции

Рисунок 12 – Влияние фракций цикория на скорость ферментативной реакции гидроксилирования анилина с участием цитохрома Р450 и скорость коньюгации токсических веществ глютатионтрансферазой

Сопоставляя результаты изучения биологической активности и химического состава фракций, можно предположить, что основной вклад в гепатопротекторный эффект экстракта травы цикория обыкновенного вносят гидроксикоричные кислоты, в частности цикориевая и хлорогеновая, содержание которых в данных фракциях наибольшее (Таблица 7).

Таблица 7 – Характеристика фракций травы цикория обыкновенного дикорастущего

| | Суммарный экстракт | Этилацетатная фракция | Бутанольная фракция | Спиртовая фракция | Водная фракция |
|---|---|---|---|---|---|
| Массовая доля, % | 100 | 11,24 | 15,25 | 20,0 | 53,21 |
| Эскулетин, % | 0,40±0,01 | 4,38±0,15 | 0,83±0,03 | 0,88±0,04 | 0,00 |
| Цикориин, % | 1,40±0,06 | 4,05±0,14 | 5,25±0,19 | 0,26±0,01 | 0,00 |
| Цикориевая кислота, % | 2,52±0,08 | 1,24±0,05 | 3,74±0,15 | 0,53±0,02 | 3,98±0,16 |
| Кафтаровая кислота, % | 0,18±0,007 | 0,08±0,003 | 0,17±0,008 | 0,09±0,004 | 0,56±0,02 |
| Хлорогеновая кислота, % | 0,17±0,008 | 5,88±0,23 | 4,92±0,17 | 0,53±0,02 | 0,40±0,02 |

В сравнении с дикорастущим, фракции надземной части (листьев) культивируемого цикория по данным ВЭЖХ-УФ-МС/МС содержат более 120 метаболитов, из которых идентифицировано 34 (Таблица 8).

Таблица 8 – Фенольные соединения, идентифицированные в листьях культивируемого цикория

| | Фракция | Время удерживания, мин | Вещество | Молекулярная масса, Da | Положительная ионизация, m/z фрагменты | Отрицательная ионизация, m/z фрагменты |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | ЭА<br>БУ<br>СП<br>ВО | 3,92 | Хинная кислота | 192 | - | 191 $[M-H]^-$ |
| 2 | ЭА | 9,51 | Дигидрокси-бензойная кислота | 154 | 155 $[M+H]^-$ | 153 $[M-H]^-$ |
| 3 | ЭА<br>БУ<br>СП | 9,82 | Неохлорогеновая кислота (кофеоилхинная кислота) | 354 | 163 (кофейная кислота -$H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>355 $[M+H]^-$<br>377 $[M+Na]^-$ | 353 $[M-H]^-$ |
| 4 | ЭА<br>БУ | 10,24 | Цикориин | 340 | 179 (эскулетин)<br>341 $[M+H]^-$<br>358 $[M+H_2O]^-$ | 177 (эскулетин)<br>339 $[M-H]^-$ |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 363 $[M+Na]^-$<br>703 $[2M+Na]^-$ | |
| 5 | ВО | 11,27 | Кофеоилдиферулоилхинная/ диферулоилкофеоилхинная | 706 | 707$[M+H]^-$<br>724 $[M+H_2O]^-$<br>729 $[M+Na]^-$ | 705 $[M-H]^-$ |
| 6 | БУ<br>СП<br>ВО | 12,55 | Кафтаровая кислота (кофеоилвинная) (изомер 1) | 312 | 163 (кофейная кислота -$H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>313 $[M+H]^-$<br>330 $[M+H_2O]^-$<br>335 $[M+Na]^-$<br>647 $[2M+Na]^-$ | 149 (винная кислота)<br>179 (кофейная кислота)<br>311 $[M-H]^-$<br>623 $[2M-H]^-$ |
| 7 | ЭА | 12,78 | *п*-гидроксибензойная кислота | 138 | 139$[M+H]^-$ | 137 $[M-H]^-$ |
| 8 | ЭА<br>БУ<br>СП<br>ВО | 13,14 | Хлорогеновая кислота (кофеоилхинная) | 354 | 163(кофейная кислота -$H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>355$[M+H]^-$<br>372 $[M+H_2O]^-$<br>377 $[M+Na]^-$<br>731 $[2M+Na]^-$ | 191 (хинная кислота)<br>353 $[M-H]^-$<br>707 $[2M-H]^-$ |
| 9 | ВО | 13,47 | Кафтаровая кислота (кофеоилвинная) (изомер 2) | 312 | 163 (кофейная кислота -$H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>313 $[M+H]^-$<br>330 $[M+H_2O]^-$<br>335 $[M+Na]^-$<br>647 $[2M+Na]^-$ | 149 (винная кислота)<br>311 $[M-H]^-$<br>623 $[2M-H]^-$ |
| 10 | БУ | 15,52 | Криптохлорогеновая кислота (кофеоилхинная) | 354 | 163 (кофейная кислота -$H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>355 $[M+H]^-$<br>372 $[M+H_2O]^-$377 $[M+Na]^-$ | 353 $[M-H]^-$<br>399 $[M+HCOOH]^-$ |
| 11 | ЭА<br>СП<br>ВО | 15,67 | Кофейная кислота | 180 | 163 (кофейная кислота -$H_2O$)<br>181 $[M+H]^-$ | 179 $[M-H]^-$<br>359 $[2M-H]^-$ |
| 12 | ЭА<br>БУ | 16,96 | Кумароилхинная кислота (изомер 1) | 338 | 147 (кумаровая кислота - $H_2O$)<br>339 $[M+H]^-$<br>361 $[M+Na]^-$<br>699 $[2M+Na]^-$ | 191 (хинная)<br>337 $[M-H]^-$<br>383 $[M+HCOOH]^-$<br>675 $[2M-H]^-$ |
| 13 | ЭА<br>БУ | 18,33 | Ферулоилхинная кислота (изомер 1) | 368 | 177<br>195 (феруловая кислота)<br>369 $[M+H]^-$<br>391 $[M+Na]^-$<br>759 $[2M+Na]^-$ | 367 $[M-H]^-$<br>735 $[2M-H]^-$ |
| 14 | ЭА | 18,98 | Кумароилхинная кислота (изомер 2) | 338 | 147 (кумаровая кислота - $H_2O$)<br>339 $[M+H]^-$<br>356 $[M+H_2O]^-$<br>361 $[M+Na]^-$ | 337 $[M-H]^-$<br>383 $[M+HCOOH]^-$<br>675 $[2M-H]^-$ |
| 15 | ЭА | 19,29 | Ферулоилхинная кислота (изомер 2) | 368 | 163 (кофейная кислота -$H_2O$)<br>181 (кофейная | 367 $[M-H]^-$ |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | кислота)<br>369 $[M+H]^-$<br>391 $[M+Na]^-$<br>759 $[2M+Na]^-$ | |
| 16 | ЭА<br>БУ | 20,52 | Рутин | 610 | 303 (кверцетин)<br>465 (рамноза)<br>611$[M+H]^-$<br>633 $[M+Na]^-$ | 609 $[M-H]^-$ |
| 17 | ЭА | 21,51 | Кверцетин-рамнозид | 448 | 303 (кверцетин)<br>449 $[M+H]^-$ | - |
| 18 | ЭА<br>БУ | 21,85 | Изокверцетин (кверцетин-3-глюкозид) | 464 | 303 (кверцетин)<br>465 $[M+H]^-$<br>487 $[M+Na]^-$<br>951 $[2M+Na]^-$ | 463 $[M-H]^-$<br>927 $[2M-H]^-$ |
| 19 | БУ | 22,85 | Кверцетин-глюкуронид (изомер 1) | 478 | 303 (кверцетин)<br>479 $[M+H]^-$<br>501 $[M+Na]^-$ | 477 $[M-H]^-$<br>955 $[2M-H]^-$ |
| 20 | ЭА<br>БУ<br>ВО | 23,19 | Лютеолин-глюкуронид (изомер 1) | 462 | 463 $[M+H]^-$<br>480 $[M+H_2O]^-$<br>485 $[M+Na]^-$ | 461 $[M-H]^-$<br>923 $[2M-H]^-$ |
| 21 | ЭА<br>БУ<br>СП<br>ВО | 23,46 | Кверцетин-глюкуронид (изомер 2) | 478 | 303 (кверцетин)<br>479 $[M+H]^-$<br>501 $[M+Na]^-$ | 477 $[M-H]^-$<br>955 $[2M-H]^-$ |
| 22 | ЭА | 24,05 | Изохлорогеновая В кислота (дикофеоилхинная) | 516 | 163 (кофейная-$H_2O$)<br>181 (кофейная)<br>499 $[M-H_2O]^-$<br>517 $[M+H]^-$ | 515 $[M-H]^-$ |
| 23 | ЭА | 24,38 | Лютеолин-глюкозид/ галактозид | 448 | 287 (лютеолин)<br>449 $[M+H]^-$<br>471 $[M+Na]^-$<br>919 $[2M+Na]^-$ | 447 $[M-H]^-$<br>895 $[2M-H]^-$ |
| 24 | ЭА | 25,04 | Изохлорогеновая А кислота (дикофеоилхинная) | 516 | 163 (кофейная кислота -$H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>499 $[M-H_2O]^-$<br>517 $[M+H]^-$<br>539 $[M+Na]^-$ | 353 $[M-H]^-$ (кофеоилхинная кислота)<br>515 |
| 25 | ЭА<br>БУ | 25,29 | Лютеолин-глюкуронид (изомер 2) | 462 | 287 (лютеолин)<br>463 $[M+H]^-$<br>485 $[M+Na]^-$<br>947 $[2M+Na]^-$ | 461 $[M-H]^-$<br>923 $[2M-H]^-$ |
| 26 | ЭА<br>БУ | 25,79 | Изорамнетин–глюкуронид | 492 | 317 (изорамнетин)<br>493 $[M+H]^-$<br>515 $[M+Na]^-$ | 491 $[M-H]^-$ |
| 27 | ЭА | 26,14 | Изохлорогеновая С кислота (дикофеоилхинная) | 516 | 163 (кофейная кислота -$H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>499 $[M-H_2O]^-$<br>517 $[M+H]^-$<br>539 $[M+Na]^-$ | 515 $[M-H]^-$ |
| 28 | ЭА<br>БУ<br>СП<br>ВО | 27,14 | Цикориевая кислота (дикофеоилвинная) | 474 | 163 (кофейная кислота -$H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>295<br>475 $[M+H]^-$<br>492 $[M+H_2O]^-$<br>497 $[M+Na]^-$<br>971 $[2M+Na]^-$ | 293 (кофеоилвинная кислота - $H_2O$)<br>311 (кофеоилвинная кислота)<br>473 $[M-H]^-$<br>947 $[2M-H]^-$ |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 29 | БУ<br>СП<br>ВО | 30,37 | Дикумароилферулоилвинная кислота (изомер 1) | 488 | 489 $[M+H]^-$<br>506 $[M+H_2O]^-$<br>511 $[M+Na]^-$ | 293 [М-феруловая кислота]$^-$<br>325<br>487 $[M-H]^-$ |
| 30 | ЭА | 31,28 | Лютеолин | 286 | 287 $[M+H]^-$<br>309 $[M+Na]^-$ | 285 $[M-H]^-$ |
| 31 | БУ<br>СП<br>ВО | 31,62 | Дикумароилферулоилвиннаякислота (изомер 2) | 488 | 195 (феруловая кислота)<br>177<br>506 $[M+H_2O]^-$<br>511 $[M+Na]^-$ | 487 $[M-H]^-$ |
| 32 | ЭА | 31,62 | Кверцетин | 302 | 303 $[M+H]^-$ | 301 $[M-H]^-$ |
| 33 | ЭА | 32,19 | Диферулоилхинная к-та | 544 | 527 $[M+H_2O]^-$<br>545 $[M+H]^-$ | 367 (ферулоилхинная кислота)<br>543 $[M-H]^-$ |
| 34 | ЭА | 32,46 | Диметоксикоричная кислота | 208 | 209 $[M+H]^-$ | 207 $[M-H]^-$ |

Изучение антиоксидантных свойств фракций показало, что наибольшей активностью обладает этилацетатная фракция (Рисунок 13).

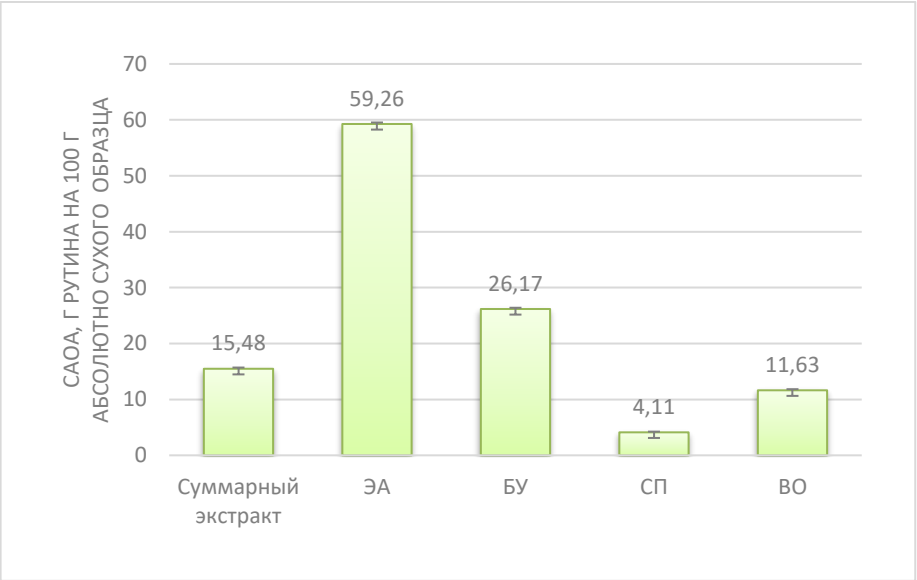
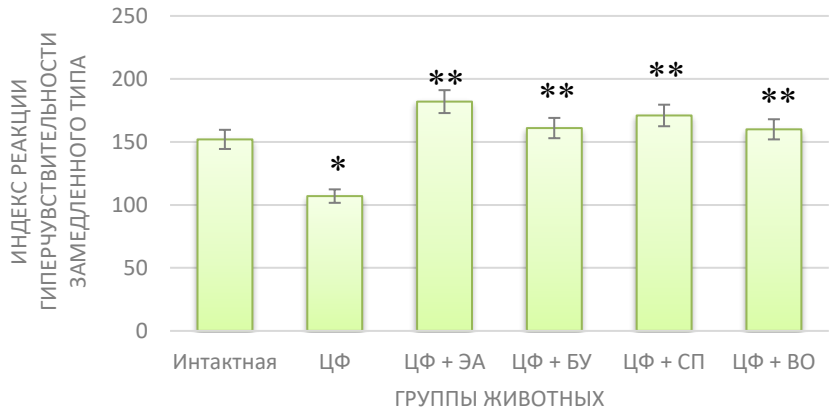
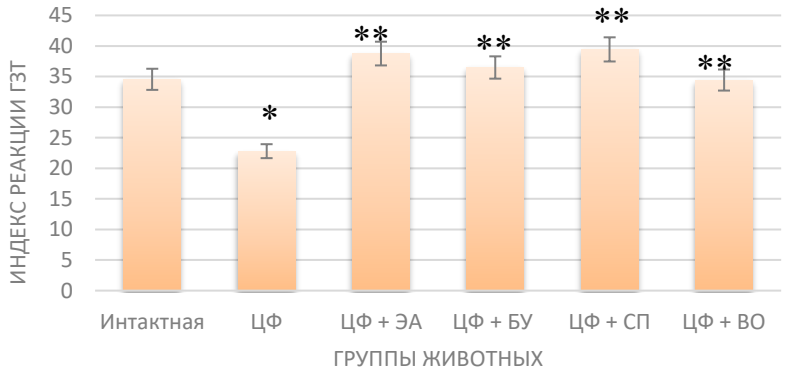
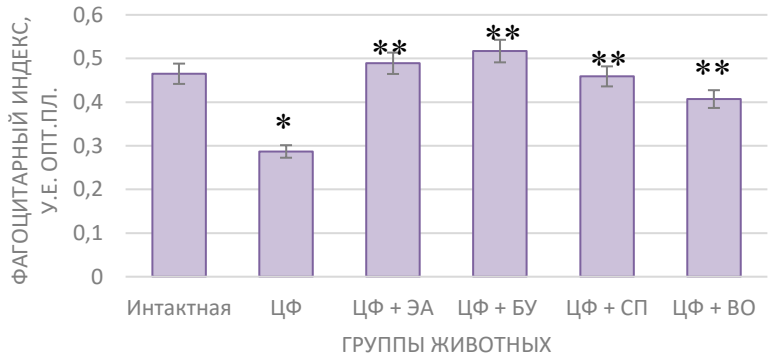



Рисунок 13 – Суммарная антиоксидантная активность (САОА) фракций надземной части цикория обыкновенного культивируемого

В результате исследования иммуномодулирующего действия фракций было установлено, что все фракции в равной степени проявляют данную активность, сопоставимую с суммарным экстрактом, что свидетельствует о вкладе суммы веществ, в том числе нефенольной природы в иммуномодулирующий эффект экстракта листьев цикория (Рисунок 14).

| | |
|---|---|
| Влияние фракций, на антителообразование |  |
| Влияние фракций, на выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) |  |
| Влияние фракций, на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов |  |

Примечание: различия достоверны по сравнению с данными: * – в интактной группе, ** – в контрольной группе при $p \leq 0{,}05$; n – количество животных в группе.

Рисунок 14 – Влияние экстракта листьев цикория на клеточное, гуморальное и макрофагальное звенья иммунитета (ЦФ – циклофосфан, ЭА – этилацетатная, БУ – бутанольная, СП – спиртовая, ВО – водная фракции)

Результаты определения содержания доминирующих БАВ в исследуемых фракциях представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Характеристика фракций листьев цикория обыкновенного культивируемого

| | Суммарный экстракт | Этилацетатная фракция | Бутанольная фракция | Спиртовая фракция | Водная фракция |
|---|---|---|---|---|---|
| Массовая доля, % | 100 | 8,1 | 23,5 | 23,3 | 45,1 |
| Эскулетин, % | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| Цикориин, % | 0,101±0,003 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 |
| Цикориевая кислота, % | 4,49±0,13 | 0,122±0,004 | 5,70±0,12 | 1,47±0,03 | 3,91±0,08 |
| Кафтаровая кислота, % | 1,18±0,04 | 0,76±0,02 | 0,182±0,005 | 0,042±0,001 | 1,23±0,04 |
| Хлорогеновая кислота, % | 2,81±0,08 | 4,02±0,12 | 7,78±0,23 | 0,64±0,02 | 0,34±0,01 |

Таким образом, фракционирование экстракта позволило разделить метаболиты по полярности и более детально охарактеризовать качественный состав фенольного комплекса надземной части цикория. Оценка активности полученных фракций в опытах *in vitro* и *in vivo* показало, что наибольшей активностью обладают фракции, наиболее представительные по составу веществ фенольного характера, основными компонентами которых являются производные гидроксикоричной кислоты. В связи с этим, стандартизацию надземной части травы цикория обыкновенного предложено проводить по сумме фенольных соединений.

### *4.2.2. Разработка методики количественного определения*

Изучение спектра поглощения спиртового извлечения из травы цикория обыкновенного показало, что в диапазоне от 200 до 400 нм, спектр имеет максимум поглощения при длине волны 329±2 нм и 298±2 нм (Рисунок 15). Наличие подобных максимумов характерно для гидроксикоричных кислот и соответствует аналогичным максимумам цикориевой кислоты, являющейся одним из доминирующих метаболитов исследуемого сырья.

Таким образом, в качестве аналитической длины волны предложено использовать 329±2 нм и проводить определение содержания суммы фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту.

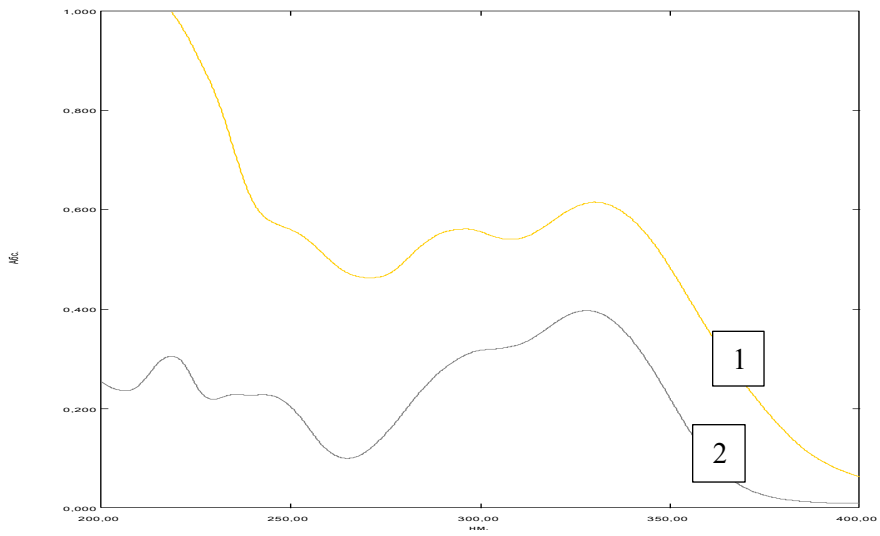



Рисунок 15 – Спектры поглощения извлечения из травы цикория обыкновенного (1) и раствора СО цикориевой кислоты (2)

В ходе дальнейших исследований было изучено влияние экстрагента, степени измельчения сырья, режима экстракции на выход фенольных соединений.

В качестве экстрагента нами были использованы вода и спирт этиловый различной концентрации (Таблица 10).

Таблица 10 – Влияние экстрагента на выход фенольных соединений

| Экстрагент | Содержание суммы фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту, % |
|---|---|
| Вода очищенная | 3,41±0,16 |
| Спирт этиловый 40 % | 3,78±0,18 |
| Спирт этиловый 50 % | 3,22±0,15 |
| Спирт этиловый 70 % | 3,44±0,16 |
| Спирт этиловый 96 % | 1,50±0,07 |

По результатам проведенного анализа было установлено, что при использовании в качестве экстрагента спирта этилового в концентрации от 40 до 70 % достигается примерно равное извлечение фенольные соединений из сырья, однако использование спирта этилового 70 % позволяет получить прозрачное извлечение и избежать завышения результатов ввиду незначительной опалесценции, что наблюдается при экстракции спиртами меньшей концентрации.

Важным фактором, влияющим на интенсификацию диффузии и повышение выхода действующих веществ, является степень измельчения растительного материала. В экспериментах было использовано сырье со степенью измельчения 0,5 мм, 1 мм, 2 мм и 3 мм. Полученные данные свидетельствуют о повышении выхода фенольных соединений при уменьшении размера частиц сырья. Кроме того, следует отметить, что высушенное сырье цикория обыкновенного представлено стеблями различного диаметра с редкими листьями и цветками и отдельными листьями, поэтому более мелкое измельчение до 0,5 мм будет способствовать однородности аналитической пробы и получению воспроизводимых результатов количественного определения.

Наряду с этим, оптимальным соотношением сырье : экстрагент было выбрано 1 : 100, увеличение соотношения приводит к незначительному увеличению выхода фенольных соединений и находится в пределах ошибки анализа.

Для установления режима экстракции были изучено влияние времени и кратности экстракции на выход фенольных соединений. Полученные данные свидетельствуют о том, что оптимальным является проведение однократной экстракции в течение 60 минут. Наряду с этим изучение температуры экстракции показало, что с увеличением температуры её интенсивность увеличивается, поэтому извлечение проводили на кипящей водяной бане.

Подобранные оптимальные условия анализа были положены в основу методики количественного определения суммы фенольных соединений в надземной части цикория обыкновенного.

*Методика проведения анализа:* аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстия 0,5 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу вместимостью 200 мл и добавляют 100 мл спирта этилового 70 %, колбу закрывают пробкой и взвешивают с точностью до ±0,01г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику, и нагревают на

кипящей водяной бане в течение 60 минут с момента закипания растворителя. Колбу охлаждают до комнатной температуры, доводят растворителем до первоначальной массы, перемешивают. Извлечение фильтруют через бумажный складчатый фильтр «синяя лента» (раствор А). В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1 мл раствора А и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 70%, перемешивают (Раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б измеряют на спектрофотометре при длине волны 329 ± 2 нм в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют спирт этиловый 70 %. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца (СО) цикориевой кислоты. Испытуемый и стандартный образец анализируют в двух повторностях. В расчетной формуле 1 используют среднюю навеску СО и среднюю оптическую плотность СО по результатам двух измерений.

Содержание суммы фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту и абсолютно сухое сырьё в процентах (X) вычисляют по формуле 1:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 100 \cdot P \cdot 50 \cdot 1 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 1 \cdot 50 \cdot 50 \cdot (100 - W)}, \quad (1)$$

где:
P – чистота стандартного образца цикориевой кислоты, %;
A – оптическая плотность испытуемого раствора;
$A_0$ – оптическая плотность СО цикориевой кислоты;
a – масса навески цикория обыкновенного травы, г;
$a_0$ – масса навески СО цикориевой кислоты, г;
$W$ – влажность, %

Допускается содержание суммы фенольных соединений вычислять с использованием удельного показателя поглощения по формуле 2:

$$X\% = \frac{A \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100}{782 \cdot a \cdot 1 \cdot (100 - W)} \quad (2)$$

В соответствии с ОФС «Валидация аналитических методик» данная методика относится к типу испытаний на количественное определение суммы действующих веществ, поэтому валидацию проводят по следующим

показателям: специфичность; линейность; правильность; повторяемость; внутрилабораторная прецизионность; аналитическая область.

***Специфичность методики*** оценивали соответствием максимумов поглощения извлечения из травы цикория обыкновенного и СО цикориевой кислоты (Таблица 11). Максимум поглощения должен быть 329±2 нм.

Таблица 11 – Максимум поглощения извлечения из травы цикория обыкновенного различных партий

| Название пробы | Максимум поглощения, нм |
|---|---|
| Раствор СО цикориевой кислоты | 328 |
| Испытуемый раствор (Московская обл., 2015) | 327 |
| Испытуемый раствор (Курская обл., 2018) | 329 |
| Испытуемый раствор (Рязанская обл. 2020) | 330 |

***Линейность методики*** определяли с использованием серии стандартных растворов, приготовленных согласно методике: точную навеску цикориевой кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляли спирт этиловый 70 %, перемешивали до полного растворения и объем раствора доводили до метки тем же растворителем (исходный раствор). Разведением растворителем исходного раствора получали необходимые концентрации стандартного раствора (чистота цикориевой кислоты 96,6 %). Результаты представлены в таблице 12, на рисунке 16.

Таблица 12 – Результаты оценки линейности методики

| Номер раствора | Объем исходного раствора, мл | Объем мерной колбы, мл | Концентрация цикориевой кислоты, мкг/мл | Оптическая плотность |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0,1 | 25 | 1,60 | 0,142 |
| 2 | 0,2 | 25 | 3,20 | 0,274 |
| 3 | 0,3 | 25 | 4,80 | 0,398 |
| 4 | 0,5 | 25 | 8,00 | 0,665 |
| 5 | 0,6 | 25 | 9,60 | 0,788 |
| 6 | 0,7 | 25 | 11,20 | 0,919 |

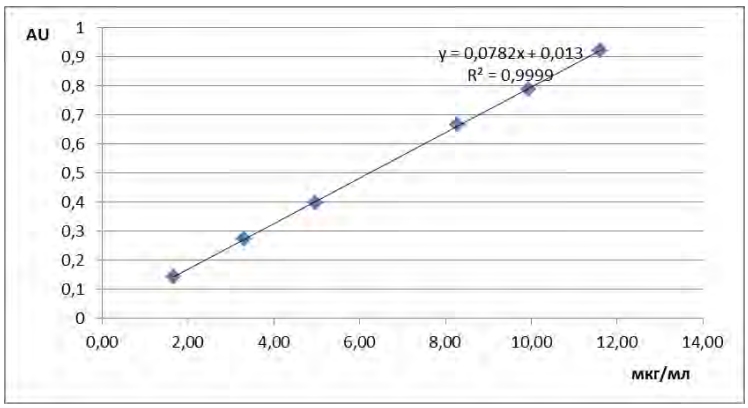



Рисунок 16 –Зависимость оптической плотности от концентрации раствора СО цикориевой кислоты

Для оценки ***повторяемости методики*** образец партии (Московская обл., 2020 г) был проанализирован согласно валидируемой методике 6 раз. Каждый испытуемый образец и стандартный раствор анализировали в двух повторностях (Таблица 13). Влажность сырья - 9,1 %. Чистота стандартного образца цикориевой кислоты - 96,6 %.

Таблица 13 – Результаты испытаний по оценки повторяемости

| Название образца | Масса навески, г | Оптическая плотность | В повторности | | В пробе | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Содержание по расчетной формуле 1 | Содержание по расчетной формуле 2 | Содержание по расчетной формуле 1 | Содержание по расчетной формуле 2 |
| СО1 | 0,0200 | 0,608 | – | – | - | - |
| СО2 | 0,0200 | 0,616 | – | – | | |
| Исп1-1 | 1,0107 | 0,342 | 2,350 | 2,380 | 2,35 | 2.38 |
| Исп1-2 | 1,0127 | 0,343 | 2,353 | 2,382 | | |
| Исп2-1 | 1,0175 | 0,321 | 2,191 | 2,219 | 2,16 | 2,19 |
| Исп2-2 | 1,0131 | 0,310 | 2,125 | 2,152 | | |
| Исп3-1 | 1,0161 | 0,316 | 2,160 | 2,188 | 2,19 | 2,22 |
| Исп3-2 | 1,0140 | 0,324 | 2,219 | 2,248 | | |
| Исп4-1 | 1,0192 | 0,312 | 2,126 | 2,153 | 2,18 | 2,21 |
| Исп4-2 | 1,0113 | 0,326 | 2,239 | 2,267 | | |
| Исп5-1 | 1,0002 | 0,303 | 2,104 | 2,131 | 2,11 | 2,16 |
| Исп5-2 | 1,0104 | 0,309 | 2,124 | 2,151 | | |
| Исп6-1 | 0,9769 | 0,288 | 2,048 | 2,074 | 2,08 | 2,12 |
| Исп6-2 | 0,9847 | 0,299 | 2,109 | 2,136 | | |
| Среднее значение | | | | | 2,18 | 2,21 |
| RSD | | | | | 0,09 | 0,10 |
| RSD, % | | | | | 4,33 | 4,33 |

***Правильность методики*** оценивали на испытуемом образце цикория обыкновенного партии 032020. Содержание суммы фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту определено как 2,2 %. Влажность - 9,1 %.

На основании анализа опытных партий травы цикория обыкновенного различных мест произрастания и годов заготовки было установлено, что

содержание фенольных соединений в данном сырье составляет до 2 % до 6 %. В связи с этим, учитывая требования к аналитическому диапазону методики 80 % – 120 % от нормы содержания, правильность оценивали в диапазоне 1,6 % – 7,2 %.

Данные содержания фенольных соединений согласно методике проведения анализа (пробоподготовке) соответствуют концентрациям суммы фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту испытуемого раствора Б 3,2 мкг/мл – 14,4 мкг/мл (в пересчете на 1,0000 г абсолютно сухого сырья). Измерения 1, 2, и 3 взяты вблизи низшей, средней и высшей точкам аналитического диапазона.

Приготовление исходных растворов

*Испытуемый раствор А*

Навеска сырья 1,0002 г. Согласно методике проведения анализа получили раствор А с содержанием суммы фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту 200,0 мкг/мл.

*Раствор цикориевой кислоты*

0,0200 г цикориевой кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в спирте этиловом 70 % и объем раствора доводили до метки тем же растворителем. Концентрация цикориевой кислоты в полученном растворе 386,4 мкг/мл.

Два параллельных анализа СО выполнены согласно методике, данные представлены в таблице 14. Необходимы для расчета по формуле 1.

Таблица 14 - Анализ стандартного раствора 2

| № измерения | Масса навески | Оптическая плотность |
|---|---|---|
| 1 | 0,0200 | 0,616 |
| 2 | 0,0200 | 0,597 |
| *Среднее* | *0,0200* | *0,607* |

В качестве испытуемых растворов приготовлены модельные смеси, при условии, что влажность сырья 0,0 %, навеска 1,0000 г. Результаты представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Результаты оценки правильности

| № измерения | Объем испытуемого раствора А, мл | Объем раствора цикориевой кислоты, мкл | Объем колбы, мл | Оптическая плотность | Концентрация, введено, мкг/мл | Добавка, % | Введено, %* | Концентрация найдено, формула 1, мкг/мл | Концентрация найдено, формула 2, мкг/мл | Открываемость, формула 1, % | Открываемость, формула 2, % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1.1 | 0,8 | 0 | 50 | 0,245 | 3,20 | 0 | 1,60 | 1,56 | 1,57 | 97,48 | 97,91 |
| 1.2 | 0,8 | 100 | 50 | 0,302 | 3,97 | 24 | 1,99 | 1,92 | 1,93 | 96,85 | 97,28 |
| 1.3 | 0,8 | 200 | 50 | 0,361 | 4,75 | 48,3 | 2,38 | 2,30 | 2,31 | 96,76 | 97,19 |
| 1.4 | 0,8 | 300 | 50 | 0,418 | 5,52 | 72,5 | 2,76 | 2,66 | 2,67 | 96,41 | 96,83 |
| 2.1 | 2 | 0 | 50 | 0,615 | 8,00 | 0 | 4,00 | 3,91 | 3,93 | 97,87 | 98,31 |
| 2.2 | 2 | 250 | 100 | 0,761 | 9,93 | 24,2 | 9,93 | 4,84 | 9,73 | 97,57 | 98,00 |
| 2.3 | 2 | 500 | 100 | 0,452 | 5,93 | 48,3 | 5,93 | 2,88 | 5,78 | 97,04 | 97,47 |
| 2.4 | 2 | 750 | 100 | 0,535 | 6,90 | 72,5 | 6,90 | 3,41 | 6,84 | 98,71 | 99,15 |
| 3.1 | 3,6 | 0 | 100 | 0,568 | 7,20 | 0 | 7,20 | 3,62 | 7,26 | 100,44 | 100,88 |
| 3.2 | 3,6 | 450 | 100 | 0,715 | 8,94 | 24,2 | 8,94 | 4,55 | 9,14 | 101,82 | 102,27 |
| 3.3 | 3,6 | 900 | 100 | 0,854 | 10,68 | 48,3 | 10,68 | 5,44 | 10,92 | 101,80 | 102,25 |
| 3.4 | 3,6 | 1350 | 100 | 0,998 | 12,42 | 72,5 | 12,42 | 6,35 | 12,76 | 102,30 | 102,75 |

* Рассчитано по формуле x%=C*V*100*100/1000000

где:

C - Концентрация, введено, мкг/мл;

V - Объем колбы, мл.

Для оценки ***внутрилабораторной прецизионности*** методики образец партии сырья анализировали дважды в двух повторностях согласно валидируемой методике другим аналитиком в другой день (влажность образца 9,1 %). Результаты представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Результаты оценки воспроизводимости

| Название образца | Масса навески, г | Оптическая плотность | В повторности | | В пробе | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Содержание по расчетной формуле 1, % | Содержание по расчетной формуле 2, % | Содержание по расчетной формуле 1, % | Содержание по расчетной формуле 2, % |
| СО1 | 0,0200 | 0,608 | – | – | - | - |
| СО2 | 0,0200 | 0,616 | – | – | | |
| 1.1 | 1,0163 | 0,321 | 2,194 | 2,222 | 2,21 | 2,24 |
| 1.2 | 1,0094 | 0,323 | 2,223 | 2,251 | | |
| 2.1 | 1,0115 | 0,312 | 2,142 | 2,170 | 2,20 | 2,23 |
| 2.2 | 1,0181 | 0,332 | 2,265 | 2,294 | | |
| Среднее значение | | | | | 2,2 | 2,2 |

***Аналитическая область методики.*** Валидируемая аналитическая методика пригодна для использования на всём установленном диапазоне содержания суммы фенольных кислот в пересчете на цикориевую кислоту в траве цикория обыкновенного, которая составляет 2 % - 6 %. Линейность, правильность и селективность подтверждены для диапазона 80 % - 120 % от указанной нормы содержания.

Согласно полученным данным разработанная методика по основным валидационным показателям соответствует критериям их приемлемости и может быть использована для анализа фенольных соединений в надземной части цикория обыкновенного.

С использованием данной методики было изучено распределение фенольных соединений в различных частях растения, динамика их накопления в процессе онтогенеза, а также проведен анализ сырья, заготовленных в различных местах произрастания дикорастущего растения и сортовых культур культивируемого растения.

### *4.2.3 Накопление фенольных соединений в различных частях растения*

На примере образцов сырья, заготовленных в Московской области, 2020 года в фазу массового цветения, было изучено накопление суммы фенольных соединений и доминирующих веществ в различных частях растения (Рисунок 17, таблица 17).

Таблица 17 – Содержание биологически активных веществ в различных частях цикория обыкновенного дикорастущего

| Часть растения | Сумма фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту, % | Эскулетин, % | Цикориин, % | Цикориевая кислота, % | Кафтаровая кислота, % | Хлорогеновая кислота, % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Цветки | 3,74±0,17 | 0,030±0,001 | 0,25±0,00 | 1,04±0,03 | 0,101±0,003 | 0,49±0,01 |
| Цветоносные стебли | 2,25±0,1 | 0,010±0,003 | 0,05±0,0 | 1,04±0,03 | 0,060±0,002 | 0,280±0,008 |
| Стеблевые листья | 7,19±0,33 | 0,000±0,00 | 0,02±0,00 | 3,91±0,12 | 0,210±0,006 | 0,98±0,03 |
| Стебли | 1,00±0,046 | 0,000±0,00 | 0,00±0,00 | 0,55±0,02 | 0,021±0,001 | 0,148±0,004 |
| Трава | 2,02±0,09 | 0,01±0,001 | 0,06±0,01 | 1,50±0,05 | 0,08±0,002 | 0,29±0,009 |

Рисунок 17 – Цикорий обыкновенный дикорастущий:
цветоносные стебли (1), цветки (2), стеблевые листья (3), стебли (4)

В результате было показано, что наибольшее количество фенольных соединений (7,19±0,33) % накапливается в стеблевых листьях, при этом доминирующим соединением этой части растения является цикориевая кислота (3,91±0,12) %. В цветках также установлено значительное содержание фенольных соединений (3,74±0,17) %, среди доминирующих соединений отмечено сравнительно высокое количество кумаринов – эскулетина и цикориина.

Несмотря на то, что в фазу цветения в листьях цикория обыкновенного накапливается больше фенольных соединений, чем в траве, в качестве сырья целесообразно заготавливать траву, что обусловлено почти в 2 раза большей урожайностью травы по сравнению с листьями.

Аналогичные закономерности были выявлены и для культивируемого растения второго года жизни (на примере сорта Александрит). Особенностью вегетации культивируемого цикория является редкие цветоносные побеги, большинство растений и в этот период представлено корневой розеткой листьев (Таблица 18).

Таблица 18 – Содержание биологически активных веществ в различных частях цикория обыкновенного культивируемого

| Часть растения | Сумма фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту, % | Эскулетин, % | Цикориин, % | Цикориевая кислота, % | Кафтаровая кислота, % | Хлорогеновая кислота, % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Цветки | 3,39±0,17 | 0,030±0,0 | 0,19±0,00 | 1,3±0,04 | 0,094±0,003 | 0,290±0,003 |
| Цветоносные стебли | 2,31±0,10 | 0,010±0,003 | 0,06±0,0 | 0,8±0,02 | 0,070±0,002 | 0,211±0,006 |
| Стеблевые листья | 5,79±0,33 | 0,000±0,00 | 0,01±0,00 | 3,8±0,11 | 0,211±0,006 | 0,43±0,01 |
| Стебли | 0,84±0,046 | 0,000±0,00 | 0,00±0,00 | 0,3±0,01 | 0,02±0,01 | 0,08±0,002 |
| Трава | 2,66±0,13 | 0,01±0,001 | 0,06±0,01 | 1,4±0,04 | 0,081±0,002 | 0,172±0,005 |
| Корневая розетка | 4,04±0,06 | 0,000±0,00 | 0,00±0,00 | 2,5±0,08 | 0,094±0,003 | 0,292±0,003 |

### *4.2.4. Накопление фенольных соединений в процессе онтогенеза растения*

Определение содержания фенольных соединений в различных фазах вегетации растения проводили образце сырья цикория обыкновенного, произрастающего в Рязанской области (Таблица 19). На основании полученных данных установлено, что заготовку сырья целесообразно проводить в фазу бутонизации, цветения и конца вегетации растения.

Таблица 19 – Содержание фенольных соединений в зависимости от фазы вегетации растения

| Фаза вегетации | Дата сбора | Сумма фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту, % | Эскулетин, % | Цикориин, % | Цикориевая кислота, % | Кафтаровая кислота, % | Хлорогеновая кислота, % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Фаза розеточные листья, ветвление | 30.05. 2021 | 1,52±0,05 | 0,00 | 0,00 | 0,90±0,01 | 1,01±0,005 | 0,41±0,006 |
| Фаза бутонизации | 15.06. 2021 | 3,63±0,17 | 0,00 | 0,02±0,01 | 1,20±0,03 | 0,09±0,002 | 0,28±0,009 |
| Фаза массового цветения | 20.07. 2021 | 3,01±0,14 | 0,01±0,001 | 0,06±0,01 | 1,50±0,05 | 0,08±0,002 | 0,20±0,009 |
| Фаза конца вегетации | 29.08. 2021 | 4,33±0,20 | 0,01±0,001 | 0,05±0,01 | 1,470±0,04 | 0,07±0,002 | 0,29±0,009 |

Из данных таблицы следует, что наибольшее содержание фенольных соединений наблюдается в фазу конца вегетации, при этом кумарины (эскулетин и цикориин) начинают обнаруживаются в фазу бутонизации и достигают максимума содержания в фазу цветения. Вероятно, это связано с накоплением данных соединений только в цветках цикория. Такая локализация накопления свойствена кумаринам, а также характерна для растений семейства *Asteraceae*.

### *4.2.5. Накопление фенольных соединений в зависимости от места произрастания растений*

Исследование проводили с 2015 по 2021 год. Все образцы сырья были собраны в фазу массового цветения и высушены воздушно-теневым способом. Результаты представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Содержание фенольных соединений в траве в зависимости от места произрастания цикория обыкновенного дикорастущего

| | Место произрастания | Год заготовки | Сумма фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту, % |
|---|---|---|---|
| 1 | Московская область, Луховицкий район, пойма р. Осётр. | 2015 | 3,07±0,14 |
| 2 | Китай, Синьцзен-Чигур, Автономный район 80 км восточнее г. Или | 2015 | 1,95±0,09 |
| 3 | Калужская область, Шуковский район, берег р. Нара (опушка леса) | 2015 | 2,44±0,12 |
| 4 | Липецкая область, д.Васильевка (вблизи р. Чечеря) | 2015 | 2,57±0,11 |
| 5 | Республики Башкортостан, Уфимский район, п.Чесноковка | 2015 | 3,28±0,15 |
| 6 | Республики Башкортостан, Уфимский район | 2015 | 2,30±0,11 |
| 7 | Московская область, городской округ Серпухов, д.Волково | 2015 | 3,61±0,17 |
| 8 | Курская область, г.Кузен (левый берег р.Тусколь) | 2015 | 4,9±0,23 |
| 9 | Курская область, Северо-западный район, г.Кузен | 2015 | 2,9±0,14 |
| 10 | Республика Башкортостан, Балтачевский район | 2016 | 3,25±0,15 |
| 11 | Московская область, Шатурский район, с. Кривандино | 2016 | 3,63±0,18 |
| 12 | Республика Башкортостан. Уфимский район (верхняя часть с цветоносами) | 2016 | 2,98±0,15 |
| 13 | Тульская область, д. Крюково | 2016 | 3,5±0,18 |
| 14 | Московская область, городской округ Серпухов, д.Волково | 2017 | 2,08±0,10 |
| 15 | Самарская область, Сергиевский район, п.Антоновка (конец вегетации) | 2017 | 2,58±0,13 |
| 16 | Самарская область, Сергиевский район, п.Антоновка (фаза массового цветения) | 2017 | 4,57±0,23 |
| 17 | Липецкая область, Галичья гора, с.Чечеры | 2017 | 2,38±0,12 |
| 18 | Республика Башкортостан, Туймазинский район | 2017 | 4,41±0,22 |
| 19 | Курская область | 2017 | 4,28±0,21 |
| 20 | Республика Башкортостан, Уфимский район | 2017 | 4,97±0,25 |
| 21 | Московская область, Шатурский район, с. Кривандино | 2017 | 3,72±0,19 |
| 22 | Архангельская область, Каргопольский район | 2017 | 2,73±0,14 |
| 23 | Курскя область | 2018 | 6,25±0,30 |
| 24 | Рязанская область, Рыбновский район, д.Раменки | 2019 | 2,06±0,10 |
| 25 | Краснодарский край, Динской район, | 2019 | 3,86±0,18 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | Станция Васюринская (обочина дороги) | | |
| 26 | Краснодарский край, Усть-Лабинский район, Станица Воронежская (вблизи р.Кубань) | 2019 | 4,49±0,21 |
| 27 | Краснодарский край, Коллекционный питомник Северо-Кавказского филиала (конец вегетации) | 2019 | 2,42±0,11 |
| 28 | Краснодарский край, Динской район, станция Васю ринская (травянистый склон около р.Кубань) | 2020 | 3,45±0,16 |
| 29 | Московская обл., городской округ Серпухов, д.Волково | 2020 | 2,02±0,01 |
| 30 | Самарская область, Сергиевский район, п.Антоновка | 2020 | 1,95±0,09 |
| 31 | Рязанская область, Рыбновский район, д.Раменки | 2020 | 2,02±0,10 |
| 32 | Краснодарский край, Усть-Лабинский район, Воронежская станица (обочина дороги) | 2020 | 3,98±0,19 |
| 33 | Самарская область, Сергиевский район, п. Антоновка (вблизи лесополосы) | 2020 | 4,59±0,22 |
| 34 | Краснодарский край, Усть-Лабинский район, вблизи Станицы Воронежской | 2020 | 4,98±0,23 |
| 35 | Краснодарский край, Динской район, Станица Васюринская (около лесополосы) | 2020 | 3,80±0,18 |
| 36 | Рязанская область, Рыбновский район, д.Раменки | 2020 | 3,16±0,15 |
| 37 | Рязанская область, Рыбновский район, д.Раменки | 2021 | 3,01±0,14 |
| 38 | Московская обл., городской округ Серпухов, д.Волково | 2021 | 3,03±0,14 |
| 39 | Самарская область, Сергиевский район, п. Антоновка | 2021 | 4,28±0,20 |
| 40 | Краснодарский край, Динской район, Станция Васюринская | 2021 | 4,96±0,23 |
| 41 | Белгородская область Белгородский район, п. Майский | 2021 | 2,33±0,11 |

Согласно полученным данным, можно установить норму содержания фенольных соединений – не менее 2 %. Наряду с этим, были получены ВЭЖХ-хроматограммы извлечений травы цикория обыкновенного, заготовленной в различных регионах РФ (Рисунок 18).

Схожесть представленных профилей исследованных образцов, позволяет говорить о типовой хроматографической картине спиртового извлечения травы цикория обыкновенного. На каждой хроматограмме

присутствуют 5 основных пиков веществ: эскулетина, цикориина, кафтаровой, хлорогеновой, цикориевой кислот.

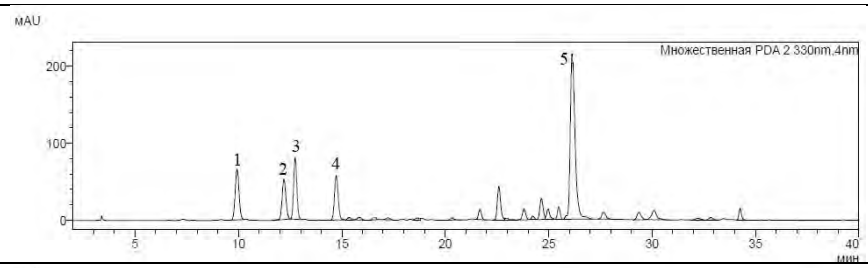
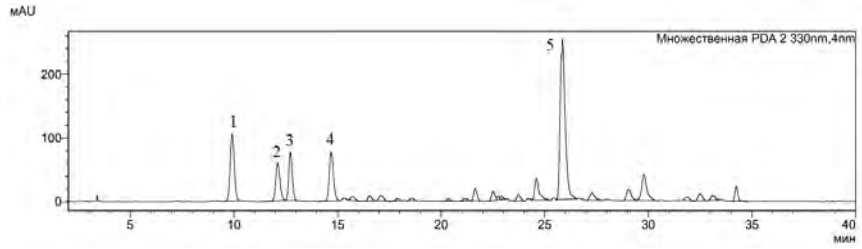
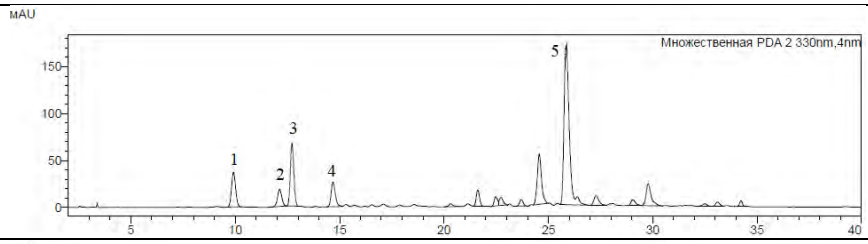
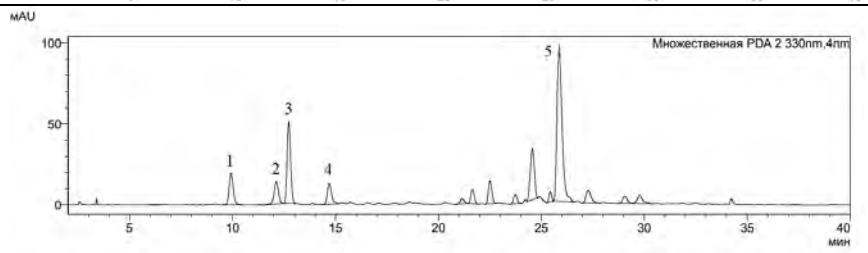
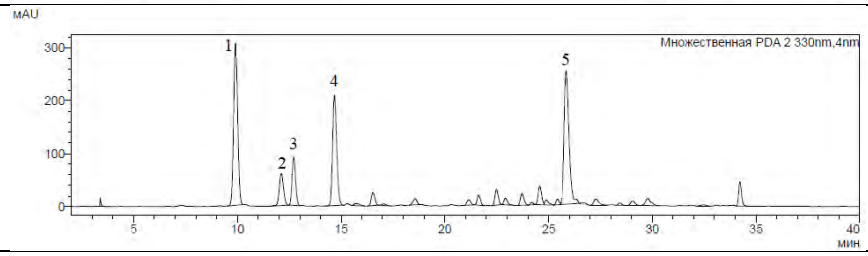
| | |
|---|---|
| Московская обл. (2021 г.) |   |
| Рязанская обл. (2020 г.) |   |
| Краснодарский край (2021 г.) |   |
| Белгородская обл. (2021 г) |   |
| Самарская обл. (2021 г.) |   |

Рисунок 18 – ВЭЖХ-УФ-хроматограммы (330 нм) извлечений травы цикория обыкновенного дикорастущего: 1 – эскулетин, 2 – кафтаровая кислота, 3 – хлорогеновая кислота, 4 – цикориин, 5 – цикориевая кислота

### *4.2.6. Выбор режима сушки сырья*

Для определения оптимального режима сушки сырья образец свежесобранной травы цикория обыкновенного разделяли на части и высушивали в камерной сушилке при 60 ºС, в помещении без доступа света

при температуре воздуха не более 40 ºС и на солнце в цельном и измельченном виде. В высушенных образцах определяли содержание фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту, а также изучали хроматографические профили извлечений (Таблица 21).

Таблица 21 - Влияние режима сушки травы цикория обыкновенного на содержание фенольных соединений

| Режим сушки | Сумма фенольных соединений, % |
|---|---|
| Камерная сушка 60 °С. Измельченная трава | 1,26±0,06 |
| Камерная сушка 60 °С. Цельная трава | 1,40±0,07 |
| Сушка на солнце. Измельченная трава | 2,63±0,12 |
| Сушка на солнце. Цельная трава | 3,01±014 |
| Сушка 40 °С без доступа света. Цельная трава | 3,63±0,17 |
| Сушка 40 °С без доступа света. Измельченная трава | 3,32±0,16 |

По результатам проведенного исследования установлено, что сушка при температуре более 40 ºС приводит к значительному снижению содержания гидроксикоричных кислот, особенно, цикориевой кислоты (на 46 %). Сушка цельного по сравнению с измельченным сырьем позволяет сохранить больше БАВ, однако, эти различия не существенные. Влияние солнечного света при сушке на открытом воздухе приводит к изменению цвета сырья, а также снижению содержания кумаринов (эскулетина и цикориина), более чем в 2 раза. Нагревание сырья до 60 °С позволяет ускорить время сушки, однако, при этом наблюдается процесс разрушения гидроксикоричных кислот и, как следствие, снижение содержания цикориевой кислоты в 3 раза, хлорогеновой – в 5, кафтаровой – в 2 раза) по сравнению с сушкой при 40 ºС.

Аналогичные данные получены при изучения влияния температуры сушки травы культивируемых растений второго года жизни (Таблица 22). При медленном высушивании сырья при комнатной температуре содержание суммы фенольных соединений определяется в среднем на 15 %, выше, чем при 60 °С, содержание цикориевой кислоты при этом повышается в среднем на 42 %. Возможно, это связано с содержанием цикориевой кислоты в

данном растении в связанном состоянии, под действием ферментов при медленном высушивании происходит её образование, в свою очередь, при нагревании сырья до 60 °С происходит инактивация ферментов и прекращение биохимических реакций.

Таблица 22 – Содержание БАВ в сырье культивируемого растения в зависимости от способа сушки сырья

| Свежесобранное/ высушенное | Сумма фенольных соединений, % | Эскулетин, % | Цикориин, % | Цикориевая кислота, % | Хлорогеновая кислота, % |
|---|---|---|---|---|---|
| **Александрит** | | | | | |
| Свежесобранное | 1,59±0,07 | 0,051±0,002 | 0,210±0,006 | 0,30±0,01 | 0,14±0,006 |
| Сушка при 25ºС | 2,66±0,13 | 0,083±0,002 | 0,273±0,008 | 1,00±0,03 | 0,29±0,010 |
| Сушка при 60°С | 2,31±0,11 | 0,201±0,006 | 0,300±0,012 | 0,29±0,01 | 0,11±0,004 |
| **Tid** | | | | | |
| Свежесобранное | 1,88±0,09 | 0,081±0,002 | 0,421±0,020 | 0,32±0,01 | 0,17±0,07 |
| Сушка при 25ºС | 2,18±0,10 | 0,010±0,001 | 0,082±0,003 | 0,73±0,03 | 0,38±0,010 |
| Сушка при 60°С | 1,93±0,09 | 0,051±0,002 | 0,071±0,003 | 0,35±0,01 | 0,11±0,003 |
| **Spica K** | | | | | |
| Свежесобранное | 1,38±0,06 | 0,070±0,002 | 0,44±0,02 | 0,202±0,008 | 0,122±0,004 |
| Сушка при 25ºС | 2,39±0,11 | 0,022±0,006 | 0,15±0,006 | 0,480±0,020 | 0,17±0,007 |
| Сушка при 60°С | 1,80±0,08 | 0,15±0,005 | 0,40±0,02 | 0,231±0,009 | 0,07±0,03 |

Таким образом, оптимальным режимом сушки, позволяющими максимально сохранить фенольные соединения, является высушивание сырья при температуре не выше 40 ºС без доступа солнечного цвета. Полученные данные положены в основу составления «Инструкции по сбору и сушке травы дикорастущего цикория обыкновенного».

### *4.2.7. Характеристика запасов сырья дикорастущих растений*

Цикорий обыкновенный в дикорастущем виде достаточно часто встречается на территориях со ступенями увлажнения (сухо- и свежелуговое) начиная от 57 ступени до 60 ступени. Единично может встречаться и в сильно сырых лугах. Предпочитает богатые почвы - от 14 до 15 ступени богатства почвы (луговые (дерновые), подзолистые).

Встречаемость цикория обыкновенного высокая и вид широко распространен в центральных и более южных, староосвоенных регионах

страны. Это характерно для дренированных местообитаний лесолуговой зоны и южнее, для степной растительности.

По данным полевых наблюдений, проведенных в Центре растениеводства ФГБНУ ВИЛАР (2018 – 2021 гг.) цикорий обыкновенный произрастает на участках малой площади от 5 до 40 м², где его плотность достигает 0,3 – 5 побега на 1 м² (в ср. 0,8 побега на 1 м². (Таблица 23). Данные получены путем прямого учета количества побегов цикория обыкновенного на отдельных участках («пятнах») разной площади и повторных учетов на трансектах (по 30 м²), проводимых в различных местообитаниях регионов.

Таблица 23 - Показатели плотности произрастания цикория обыкновенного в зарослях растения

| Регион (район) | Местообитание | Площадь участка с побегами цикория, м² | Кол-во побегов на участке, экз. | Плотность, побег./ м² |
|---|---|---|---|---|
| Липецкая область (Липовка, Чичера) | Обочина грунтовой дороги | 40 | 26 | 0,65 |
| Липецкая область (Липовка, Чичера) | Обочина грунтовой дороги | 32 | 19 | 0,6 |
| Белгородская область (Головино) | Луг на берегу пруда | 15 | 4 | 0,26 |
| Белгородская область (Головино) | Луг на берегу пруда | 25 | 10 | 0,4 |
| Белгородская область (Головино) | Луг на берегу пруда | 40 | 16 | 0,4 |
| Белгородская область (Бессоновка) | Склоны оврага | 10 | 5 | 0,5 |
| Белгородская область (Бессоновка) | Склоны оврага | 20 | 9 | 0,45 |
| Белгородская область (Бессоновка) | Склоны оврага | 10 | 9 | 0,9 |
| Костромская область (пойма р. Кера | Поемный луг | 20 | 7 | 0,35 |
| Костромская область (пойма р. Кера | Поемный луг | 25 | 15 | 0,6 |

Потенциальные запасы травы цикория обыкновенного распределены по залежам, пастбищам и сенокосам с различной плотностью, и хотя встречаемость растения достаточно высокая, но численность - небольшая.

Участки произрастания растения - от 2 м² до 50 м² (в южных регионах заросли большей площади), с весом отдельных растений от 12 до 100 г.

С учетом экологической особенности этого вида растения: активно произрастать на залежах, на начальной стадии сукцессии, потенциальный биологический запас растения в некоторых областях Центрального федеративного округа (ЦФО) характеризуется следующими оценками (Таблица 24).

Потенциальный биологический и эксплуатационный запас рассчитан относительно площади залежи в регионах ЦФО, с учетом количества зарослей («пятен») и показателей плотности произрастания на определенной площади местообитания.

Таблица 24 – Потенциальные запасы травы цикория обыкновенного на залежах областей ЦФО (площади залежей по данным Росреестра, на 1 января 2020 г.)

| Регион (область) | Площадь залежей, тыс. га | Биологический запас, т | Эксплуатационный запас, т |
|---|---|---|---|
| Липецкая | 0,1 | 0,06 | 0,03 |
| Курская | 0,7 | 0,4 | 0,2 |
| Тамбовская | 9,6 | 5,7 | 2,7 |
| Рязанская | 26,1 | 15,3 | 5,1 |
| Воронежская | 41,2 | 24,5 | 8,1 |
| Орловская | 55,7 | 33,6 | 11,2 |
| Калужская | 36,1 | 21,7 | 7,3 |
| Тверская | 19,4 | 11,6 | 3,8 |
| Смоленская | 17,7 | 10,6 | 3,5 |

### 4.3. Определение показателей качества и разработка нормативной документации на траву и листья цикория обыкновенного

Определение показателей качества травы цикория обыкновенного и установление их норм проводили на основании анализа пяти опытных партий сырья, заготовленных в различных регионах РФ. В результате проведенных исследований составлено описание внешних признаков, выявлены диагностические признаки в анатомическом строении, определены нормы

числовых показателей для сырья дикорастущего и культивируемого растения (Рисунок 19).

Рисунок 19 – Трава цикория обыкновенного (дикорастущего)

***Внешние признаки травы дикорастущего растения.*** Цельные или разрезанные на куски различной длины олиственные и безлистные стебли с цветочными корзинками и без них, отдельные стебли, листья, цветочные корзинки и их части. Стебли разветвленные, округлые, ребристые, полые, опушенные или почти голые. Прикорневые листья струговидно перистораздельные или цельные, зубчатые по краю, у основания постепенно суженные в крылатый черешок. Стеблевые листья очередные, сидячие, стеблеобъемлющие с закругленными или стреловидными ушками, ланцетно-яйцевидные или ланцетные; верхние – цельнокрайние, нижние – острозубчатые. Все листья более или менее опушенные. Соцветия – корзинки одиночные или собраны по нескольку в пазухах листьев или на верхушках стеблей. Обвертка корзинки двухрядная, наружные листочки в 1,5-2 раза короче внутренних, неодинаковой формы, сверху опушенные железистыми волосками. Цветки язычковые, пятизубчатые, обоеполые, венчик длиной до 25 мм. Цвет листьев зеленый, серовато-зеленый или коричневато-зеленый; стеблей зеленый, серовато-зеленый или коричневато-зеленый, иногда с фиолетовым оттенком; листочков обвертки зеленый или серовато-зеленый;

венчиков голубой, сине-фиолетовый, реже розоватый. Запах слабый. Вкус водного извлечения горьковатый.

***Микроскопические признаки травы дикорастущего растения.*** При рассмотрении листа с поверхности (Рисунок 20-28) клетки верхнего эпидермиса с прямыми и слабоизвилистыми стенками, нижнего – со слабоизвилистыми и извилистыми. Кутикула продольно морщинистая, около устьиц лучисто-морщинистая, местами стенки клеток четковидно утолщены. Устьица с обеих сторон листа, овально-округлые, окружены 3-6 околоустьичными клетками (аномоцитный тип). На обеих сторонах листа, чаще по жилкам и по краю, расположены простые многоклеточные волоски, одно- и многорядные с бородавчатой и гладкой поверхностью, нередко они имеют клетки со спавшимися стенками и могут быть обломаны. Вокруг волосков клетки эпидермиса часто образуют розетку. При опадении волосков хорошо заметны места их прикрепления. По краю листа волоски толстостенные и более короткие. Встречаются железистые волоски на многоклеточной, нередко двух-, трехрядной ножке с многоклеточной головкой.

Клетки эпидермиса стебля (Рисунки 29-32) слегка вытянутые по его длине с прямыми стенками, продольно складчатой кутикулой, устьицами аномоцитного типа. Встречаются волоски такого же строения как на листе.

Эпидермис листочка обвертки (Рисунки 33-35, 38) с внутренней стороны состоит из вытянутых клеток с прямыми и слабоизвилистыми стенками, с наружной стороны – из многоугольных клеток с прямыми стенками (в основании) и с прямыми и слабоизвилистыми стенками (в средней части). Устьица с обеих сторон аномоцитного типа. По жилкам встречаются железистые волоски с многоклеточной головкой на многоклеточной двух-, трехрядной ножке, нередко волоски обломаны. На верхушках зубцов и по краю листочка обвертки расположены 1-5-клеточные нитевидные и остроконусовидные 1-3-клеточные простые волоски и сосочковидные выросты.

При рассмотрении язычкового цветка (Рисунки 36, 37) видны вытянутые по длине клетки эпидермиса с прямыми, слабоизвилистыми (у основания) и извилистыми стенками и складчатостью кутикулы. На поверхности с обеих сторон многочисленные тонкостенные многоклеточные простые и головчатые волоски с одно-, реже двухрядным основанием, нередко со спавшимися стенками клеток; головчатые волоски с многоклеточной головкой. На верхушках зубцов расположены простые, головчатые волоски и сосочковидные выросты. Пыльца округлая, округло-трехгранная шиповатая трехпоровая (Рисунок 39).

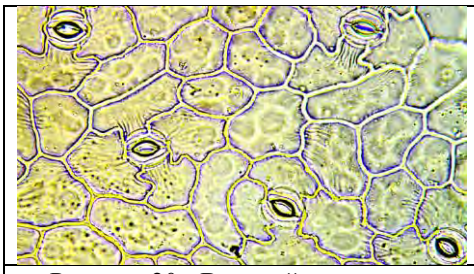


Рисунок 20 - Верхний эпидермис листа (ув. 400х)

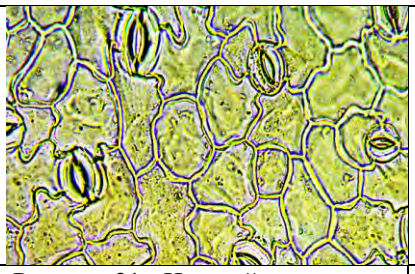


Рисунок 21 - Нижний эпидермис листа (ув. 400х)

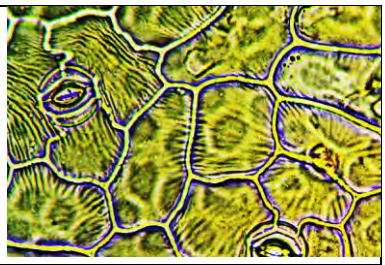


Рисунок 22 - Кутикула (ув. 400х)

Рисунок 23 - Простые многоклеточные волоски (ув. 400х)

Рисунок 24 - Простые многоклеточные волоски со спавшимися стенками клеток: а (ув. 200х)

Рисунок 25 - Железистые волоски (ув. 400х)

Рисунок 26 - Обломки волосков (ув. 400х)

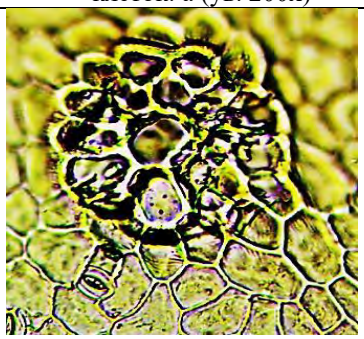


Рисунок 27 - Места прикрепления волосков (ув. 400х)

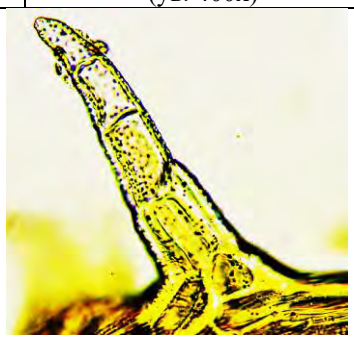


Рисунок 28 - Простые волоски по краю листа (ув. 400х)

Рисунок 29 - Эпидермис стебля (ув. 400х)

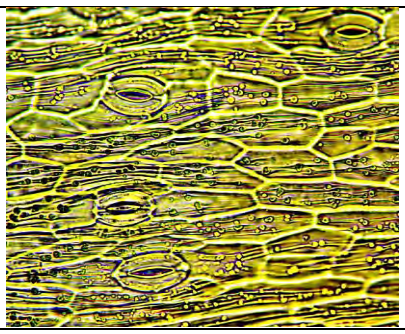


Рисунок 30 - Кутикула (ув. 400х)

Рисунок 31 - Железистые волоски: (ув. 200х)

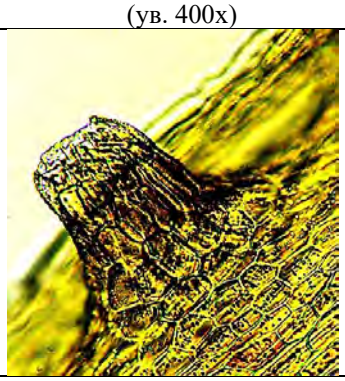


Рисунок 32 - Обломки волосков (ув. 200х)

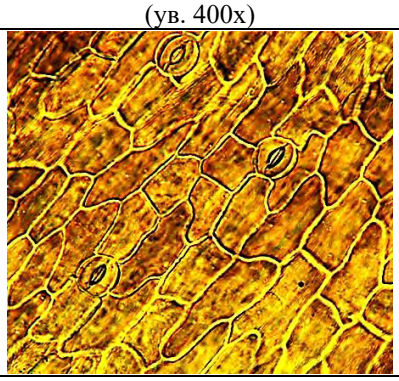


Рисунок 33 - Эпидермис внутренней стороны листочка обвертки (ув. 400х)

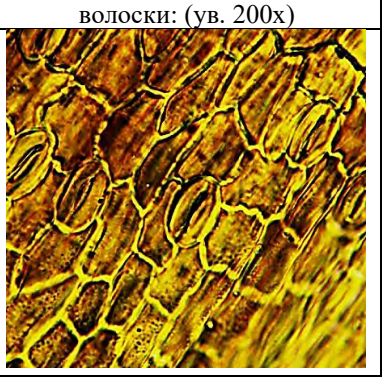


Рисунок 34 - Эпидермис наружной стороны листочка обвертки (ув. 400х)

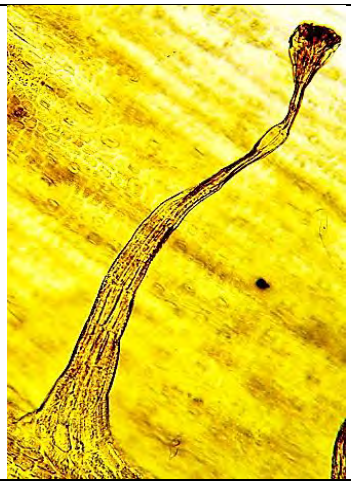


Рисунок 35 - Железистые волоски (ув. 200х)

Рисунок 36 - Головчатые волоски (ув. 400х)

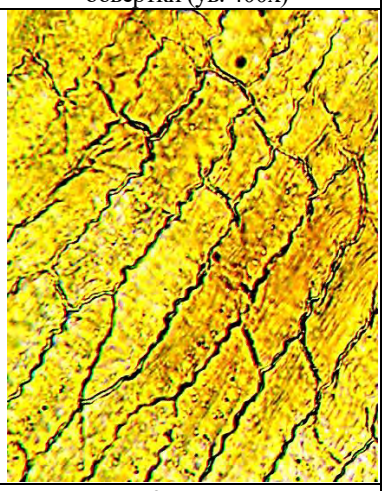
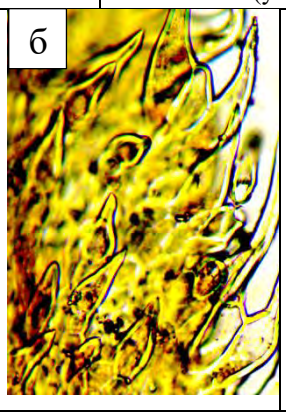


Рисунок 37 - Эпидермис язычкового цветка (ув. 400х)



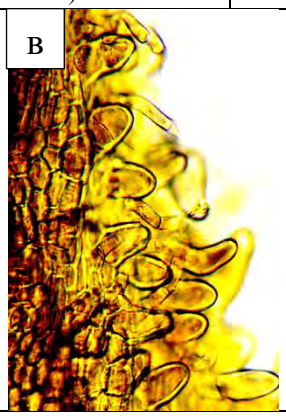




Рисунок 38 - Простые волоски на верхушке и по краю зубчика (ув. 200х): а – нитевидные (а), конусовидные (б) и сосочковидные выросты (в)

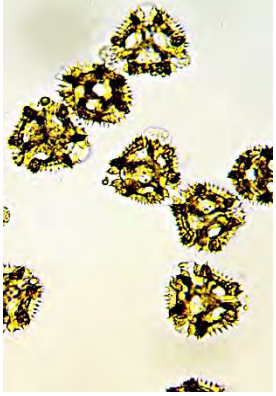


Рисунок 39 - Пыльца (ув. 400х

Цикорий обыкновенный и морфологически сходный с ним вид – одуванчик лекарственный имеют незначительные отличия в морфологических признаках листьев, которые не могут быть использованы для достоверной диагностики. В связи с этим, было проведено анатомическое изучение листа одуванчика лекарственного, как возможной примеси к траве цикория обыкновенного. При рассмотрении листа одуванчика лекарственного с поверхности установлено, что клетки верхнего эпидермиса имеют прямые и слабоизвилистые стенки, нижнего – извилистые. Устьица на обеих сторонах листа, аномоцитного типа, окружены 3-6 клетками эпидермиса (Рисунок 40), отмечено наличие устьиц разного размера. По жилкам листа расположены простые многоклеточные одно- и многорядные волоски. Однорядные волоски состоят из нескольких квадратных клеток в основании, затем более вытянутых тонкостенных, часто смятых клеток, и крупной конечной клетки, многорядные волоски длинные, могут иметь спавшиеся клетки и часто обламываются; при опадении волосков видны места прикрепления. Нередко вокруг оснований волосков заметна складчатость кутикулы. В мезофилле листа, вдоль жилок расположены млечники. В отличие от цикория обыкновенного, у одуванчика лекарственного на эпидермисе листа нет железистых волосков.

Также было проведено сравнительное изучение цветоноса одуванчика лекарственного и стебля цикория обыкновенного, анатомические особенности которых могут являться важным признаком в диагностике сырья. Эпидермис цветоноса/стебля у исследуемых видов представлен слегка вытянутыми по длине многоугольными клетками с прямыми стенками, устьицами аномоцитного типа. У одуванчика лекарственного на эпидермисе цветоноса волоски простые многоклеточные однорядные, часто встречаются обломки в виде оснований волосков.

У цикория обыкновенного на эпидермисе стебля, кроме простых многоклеточных волосков, имеются железистые волоски, аналогичного

строения, описанного ранее для листа, и характерные места прикрепления опавших волосков.

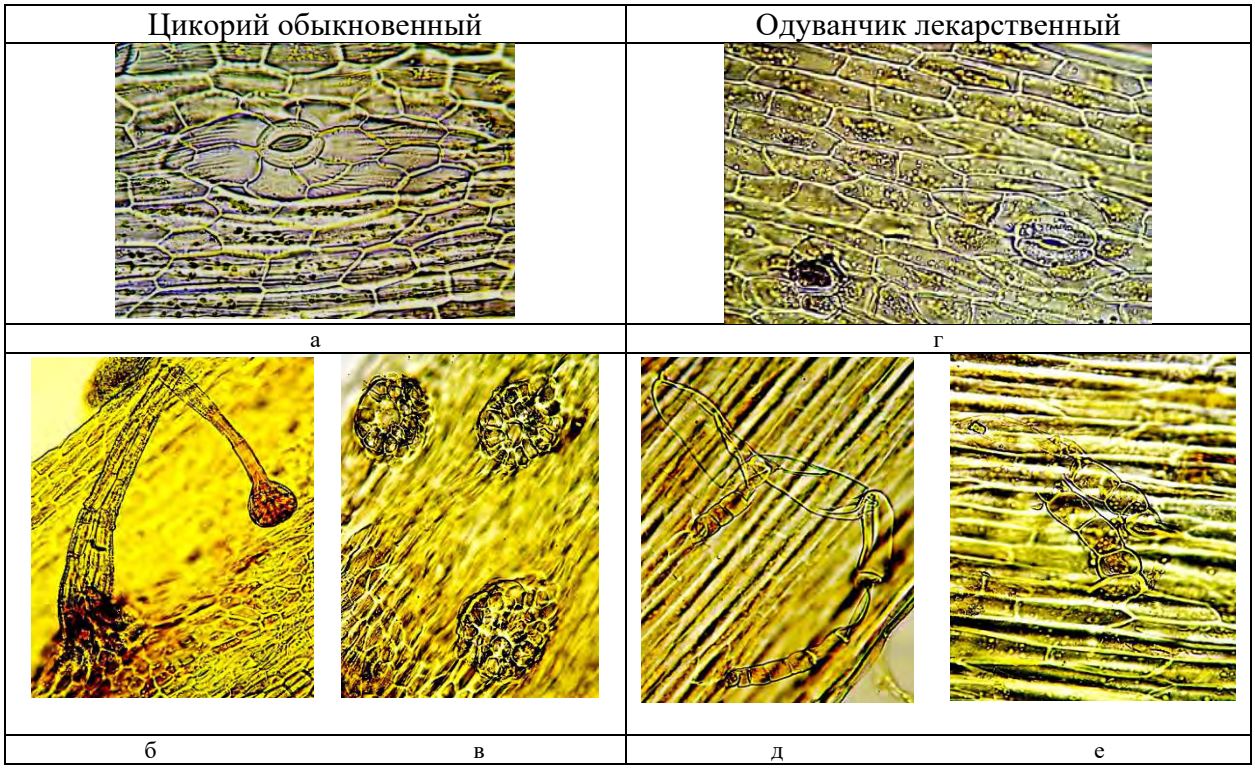



Рисунок 40 – Сравнительные анатомо-диагностические признаки стебля цикория обыкновенного и цветоноса одуванчика лекарственного: а – эпидермис стебля (х400); б – железистый волосок (х200); в – места прикрепления волосков (х200); г – эпидермис цветоноса (х400); д – простые многоклеточные однорядные волоски (х200); е – обломки простых волосков (х400)

***Внешние признаки листьев культивируемого растения***

Прикорневые розеточные листья струговидно перистораздельные или цельные, по краю зубчатые, к основанию постепенно суженные в крылатый черешок, с заостренной или притупленной верхушкой, с хорошо заметной с обеих сторон главной жилкой, вдавленной сверху и выступающей снизу, шершавые, ломкие, частично скрученные. Длина листа с черешком до 32 см, ширина до 7 см.

Цвет листьев зеленый, серовато-зеленый или коричневато-зеленый. Запах слабый. Вкус водного извлечения горьковатый (Рисунок 41).

Рисунок 41 – Листья цикория обыкновенного (культивируемого)

**Микроскопические признаки листьев культивируемого растения.**

При микроскопическом исследовании листа культивируемого цикория выявлено, что стенки клеток верхнего эпидермиса прямые и слабоизвилистые, нижнего – слабоизвилистые и извилистые, местами стенки клеток четко видно утолщены (Рисунки 42, 43). Кутикула продольно морщинистая, вокруг устьиц лучисто-морщинистая (Рисунок 44). Устьица с обеих сторон листа, овально-округлые, аномоцитного типа, окружены 3-6 клетками эпидермиса. На обеих сторонах листа, чаще по жилкам и по краю расположены простые многоклеточные, реже однорядные, в основном многорядные волоски, с бородавчатой и гладкой поверхностью, нередко волоски имеют клетки со спавшимися стенками и могут быть обломаны (Рисунок 45, 46, 48, 49). Вокруг волосков клетки эпидермиса часто образуют розетку, при опадении волосков хорошо заметны места их прикрепления (Рисунок 47). По краю листа волоски толстостенные и более короткие. Встречаются железистые волоски на многоклеточной, часто двух-, трехрядной ножке с многоклеточной головкой. В мезофилле листа, вблизи жилок видны млечники.

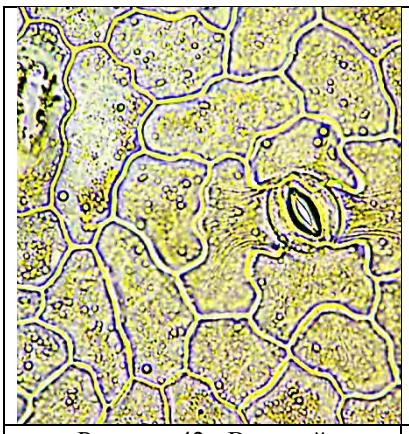


Рисунок 42 - Верхний эпидермис листа (ув. 400х)

Рисунок 43 - Нижний эпидермис листа (ув. 400х)

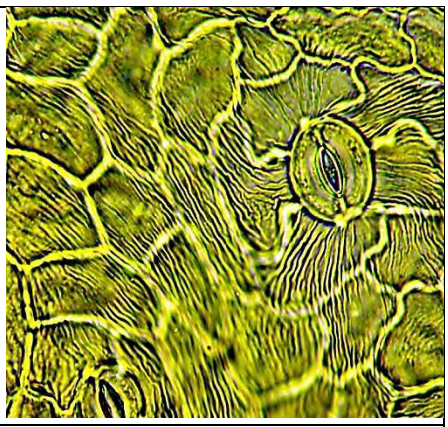


Рисунок 44 - Кутикула (ув. 400х)

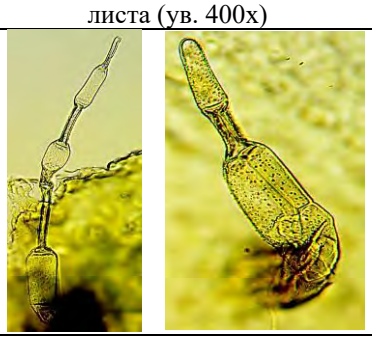


Рисунок 45 - Простые многоклеточные волоски с бородавчатой поверхностью (а), со спавшимися стенками клеток (б) (ув. 200х, 400х)

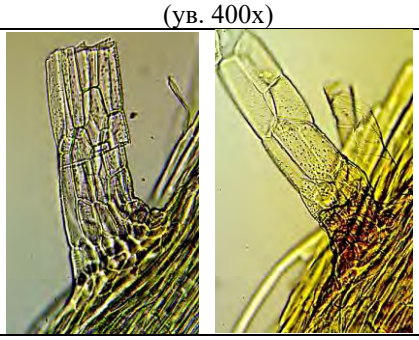


Рисунок 46 - Обломки волосков (ув. 400х)

Рисунок 47 - Места прикрепления волосков (ув. 400х)

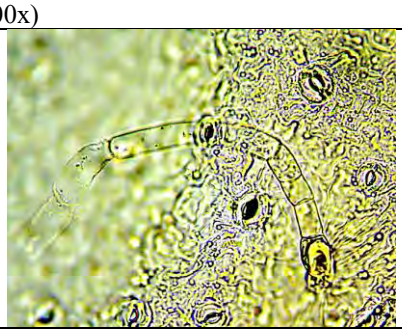


Рисунок 48 - Простые многоклеточные волоски с гладкой поверхностью (ув. 400х)

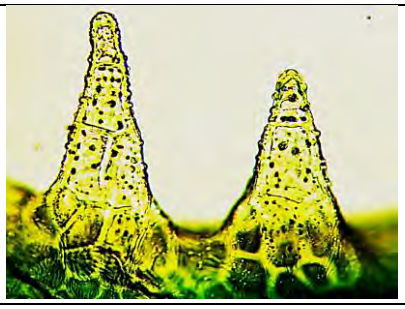


Рисунок 49 - Простые волоски по краю листа: (ув. 400х)

***Определение основных биологически активных веществ***

Для подтверждения подлинности надземной части цикория нами выбран метод хроматографии в тонком слое сорбента, наиболее широко представленный в фармакопейных статьях на лекарственное растительное сырьё в ГФ РФ XIV издания. В ходе исследования нами подобраны оптимальные условия анализа и предложена следующая методика. При этом для подтверждения подлинности травы дикорастущего растения использованы стандартные образцы цикориевой кислоты и эскулетина, тогда как для листьев культивируемого растения – только СО цикориевой кислоты.

*Методика проведения анализа:*

5,0 г измельченного сырья (травы дикорастущего или листьев культивируемого цикория обыкновенного) помещают в плоскодонную колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта этилового 70 %, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане 60 мин. Извлечение охлаждают до комнатной температуры, фильтруют через бумажный складчатый фильтр «белая лента» (Испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят в виде полосы шириной 1 см по 5 мкл испытуемого раствора, раствора СО цикориевой кислоты и раствора СО эскулетина (для травы дикорастущего цикория обыкновенного). Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 60 мин смесью растворителей *н*-бутанол, насыщенный водой – муравьиная кислота (100:1), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 9 см от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, обрабатывают 1 % раствором дифенилборной кислоты аминоэтилового эфира в спирте этиловом 96 % и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм (Рисунок 50).

На хроматограмме СО цикориевой кислоты должна обнаруживаться зона с Rf около 0,37 с желто-зеленой флуоресценцией, на хроматограмме СО эскулетина – зона с Rf около 0,46 с зеленовато-голубой флуоресценцией.

На хроматограмме испытуемого раствора травы цикория обыкновенного дикорастущего должна обнаруживаться не менее 5 зон адсорбции: с Rf около 0,14 желтой флуоресценцией, с Rf около 0,31 буро-желтой флуоресценцией, с Rf около 0,37 желто-зеленой флуоресценцией, соответствующая цикориевой кислоте, с Rf около 0,46 зеленовато-голубой флюоресценцией, соответствующей эскулетину, с Rf около 0,59 фиолетовой флюоресценцией. Допускается наличие других зон адсорбции.

На хроматограмме испытуемого раствора листьев цикория обыкновенного культивируемого должны обнаруживаться не менее 7 зон адсорбции: с Rf около 0,14 зеленой флуоресценцией, с Rf около 0,27 с желтой флуоресценцией, с Rf около 0,30 зеленой флуоресценцией, с Rf около 0,37 с желто-зеленой флуоресценцией, соответствующая цикориевой кислоте, с Rf около 0,46 желто-зеленой флуоресценцией и с Rf около 0,56 красно-оранжевой флюоресценцией.

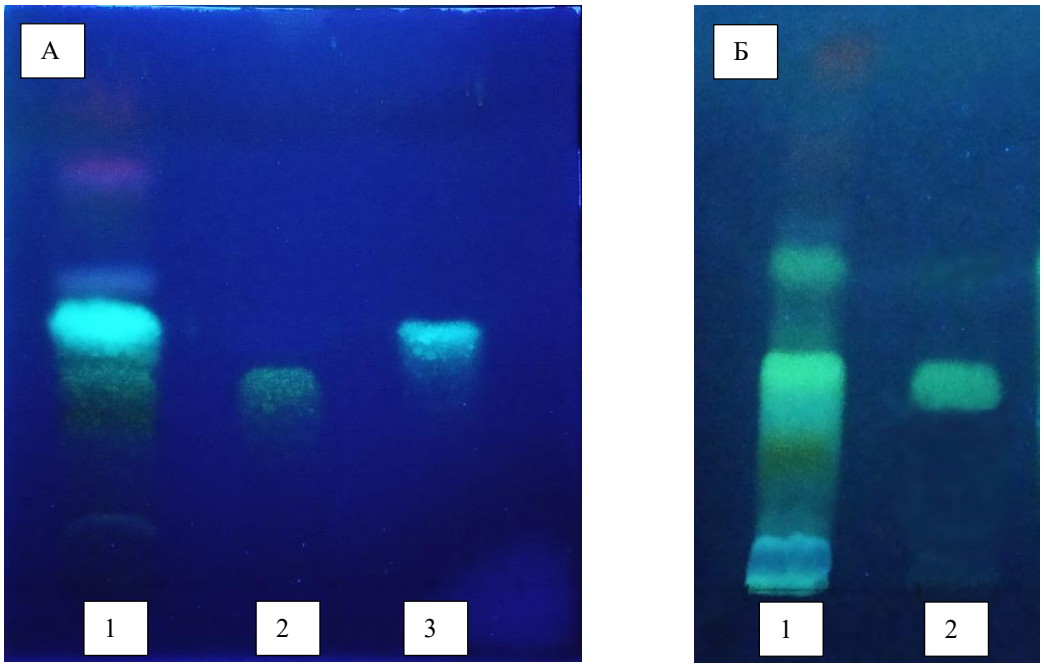



Рисунок 50 – ТСХ-хроматограмма (365 нм) после обработки 1 % спиртовым раствором дифенилборной кислоты аминоэтилого эфира спиртового извлечения из травы (А) и листьев (Б) цикория обыкновенного: 1 – испытуемый раствор, 2 – СО цикориевой кислоты, 3 – СО эскулетина

В соответствии с требованиями ГФ РФ и с учетом результатов анализа опытных партий сырья дикорастущего цикория обыкновенного предложена следующая номенклатура числовых показателей: влажность; зола общая; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте; сырьё, изменившее окраску (потемневшие, побуревшие); стебли; органическая примесь; минеральная примесь.

Результаты товароведческого анализа опытных партий представлены в Таблице 25.

Таблица 25 - Результаты изучения стабильности опытных партий цельной травы цикория обыкновенного «ангро» при хранении

| № п/п | Характеристика образцов сырья | Дата первичного анализа и переконтроля | Подлинность | Влажность, % | Содержание, % | | | | | | | Остаточные количества пестицидов | Содержание тяжелых металлов | Содержание радионуклидов, Бк/кг | Микробиологическая чистота | Продолжительность хранения |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | сумма фенольных соединений | зола общая | зола, нерастворимая в 10 % HCl | стебли (в том числе отделенные при анализе) | сырье, изменившее окраску (потемневшее и почерневшее) | примеси | | | | | | |
| | | | | | | | | | | органическая | минеральная | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 |
| 1. | Станица Васюринская Динского района Краснодарского края (около лесополос), фаза цветения (5,2 кг). Дата заготовки 19.07.2018 г. | 07.18 | Соотв. | 8,9 | 3,80 | 12,05 | 1,06 | 58,83 | 0,73 | 0,28 | 0,00 | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | - |
| | | 07.19 | -«- | 8,9 | 3,78 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 1 год |
| | | 07.20 | -«- | 9,2 | 3,79 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года |
| | | 10.20 | -«- | 9,0 | 3,74 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года 3 мес. |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2. | Станица Воронежская Усть-Лабинского района Краснодарского края (травянистые склоны вблизи реки Кубань), фаза цветения (7,5 кг). Дата заготовки 15.07.2018 г. | 07.18 | Соотв. | 8,9 | 4,49 | 12,09 | 1,08 | 62,63 | 0,55 | 0,09 | 0,00 | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | - |
| | | 07.19 | -«- | 9,1 | 4,41 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 1 год |
| | | 07.20 | -«- | 9,3 | 4,12 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года |
| | | 10.20 | -«- | 9,0 | 4,14 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года 3 мес. |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3. | Станица Васюринская Динского района Краснодарского края (обочины дорог), фаза цветения (8,3 кг). Дата заготовки 09.07.2018 г. | 07.18 | Соотв. | 8,6 | 3,86 | 12,58 | 1,08 | 64,80 | 0,49 | 2,07 | 0,00 | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | - |
| | | 07.19 | -«- | 8,7 | 3,84 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 1 год |
| | | 07.20 | -«- | 8,6 | 3,75 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года |
| | | 10.20 | -«- | 8,8 | 3,74 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года 3 мес. |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4. | Средне-Волжский филиал ФГБНУ ВИЛАР, п. Антоновка, II сбор (вблизи лесопосадок), фаза цветения (5,6 кг). Дата заготовки 02.08.2018 г. | 08.18 | Соотв. | 8,8 | 4,59 | 13,18 | 1,10 | 46,00 | 4,22 | 0,20 | 0,00 | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | - |
| | | 08.19 | -«- | 8,9 | 4,47 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 1 год |
| | | 08.20 | -«- | 8,7 | 4,31 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года |
| | | 11.20 | -«- | 8,9 | 4,15 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года 3 мес. |
| | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5. | Рязанская область, Рыбновский район, п. Раменки (луг), фаза цветения (7,2 кг). Дата заготовки 07.08.2018 г. | 08.18 | Соотв. | 8,9 | 3,16 | 13,10 | 1,12 | 64,42 | 3,95 | 0,43 | 0,24 | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | - |
| | | 08.19 | -«- | 8,8 | 3,04 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 1 год |
| | | 08.20 | -«- | 8,7 | 3,00 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года |
| | | 11.20 | -«- | 8,9 | 2,79 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года 3 мес. |

Влажность исследованных партий травы цикория обыкновенного находилась в пределах от 8,6 % до 9,3 %. Норму по этому показателю предложено установить не более 13 % по аналогии с требованиями по данному показателю для лекарственного растительного сырья, представленного травой [18].

Содержание золы общей в опытных партиях сырья не превышало 13,18 % (от 12,05 % до 13,18 %). Норму по этому показателю предложено установить не более 14 %.

Содержание золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, в исследованных партиях сырья составило от 1,06 % до 1,12 %. Норму по данному показателю предложено установить не более 2 %.

Для характеристики качества сырья цикория обыкновенного в раздел «Посторонние примеси» введен показатель «сырье, изменившее окраску (потемневшее и почерневшее)». Качественный и количественный анализ биологически активных веществ методом СФМ и ВЭЖХ-УФ показал, что в потемневшем и почерневшем сырье содержание суммы фенольных соединений ниже на 35 % по сравнению с сырьём, не изменившем окраску, при этом содержание основного метаболита данного сырья – цикориевой кислоты снижено в 5 раз (Таблица 26).

В исследованных партиях сырья содержание таких частей не превышает 4,22 %, норму по данному показателю предложено установить не более 5 %.

Таблица 26 – Сравнительный анализ сырья, изменившего и не изменившего окраску (на примере травы цикория обыкновенного, заготовленной в Рязанской области)

| Показатель | Сырьё, не изменившее окраску | Сырьё, изменившее окраску |
|---|---|---|
| Сумма фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту, % | 3,16±0,15 | 2,05±0,09 |
| Цикориевая кислота, % | 1,08±0,03 | 0,23±0,01 |

Необходимость ограничения содержания стеблей в сырье обусловлено низким содержанием суммы фенольных соединений и цикориевой кислоты (Таблица 27). Норму по этому показателю рекомендовано установить не более 65 % на основании анализа исследованных партий сырья - от 46,00 % до 64,80 % (Таблица 3), более высокое содержание их в сырье будет ухудшать его качество.

Таблица 27 – Содержание БАВ в стеблях (на примере травы цикория обыкновенного, заготовленного в Самарской области)

| Показатель | Трава | Стебли |
|---|---|---|
| Сумма фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту, % | 2,02±0,09 | 1,00±0,05 |
| Цикориевая кислота, % | 1,18±0,04 | 0,26±0,01 |

Содержание органической примеси в исследованных партиях травы цикория обыкновенного колебалось от 0,09 % до 2,07 %. Норму по этому показателю предложено установить не более 3 %.

Содержание минеральной примеси установлено только в одной из пяти исследованных партий сырья. Однако, учитывая, что анализировались небольшие опытные партии сырья, норму содержания минеральной примеси предложено установить аналогично видам лекарственного растительного сырья, представленного травой, не более 1 % [18].

Поскольку трава цикория обыкновенного используется для получения экстракта сухого, содержащего комплекс метаболитов, то в качестве методики количественного определения выбран метод спектрофотометрии, позволяющий оценивать содержание суммы биологически активных веществ в пересчете на одно из доминирующих соединений – цикориевую кислоту (Раздел 4.2). Норма содержания по этому показателю установлена – не менее 2 %.

Для надземной части (листьев) культивируемого растения предложена следующая номенклатура числовых показателей: влажность; зола общая; зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте; сырьё, изменившее

окраску (потемневшие, побуревшие); органическая примесь; минеральная примесь. Нормы по данным характеристикам качества заложены аналогичные таковым на траву дикорастущего цикория. Однако по показателю «Количественное определение» предложено установить не менее 4 % (Таблица 28).

По показателям безопасности, таким как «Тяжелые металлы и мышьяк», «Радионуклиды», «Остаточные количества пестицидов» и «Микробиологическая чистота» все опытные партии сырья дикорастущих и культивируемых растений отвечали требованиям соответствующих ОФС.

Упаковка, маркировка и транспортирование в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0019.15 «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов». Сырье упаковывают в мешки по ГОСТ 30090-93 не более 15 кг нетто или тюки не более 40 кг нетто, ткань по ГОСТ 30090-93.

Хранение в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0011.15 «Хранение лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов».

Срок годности - 2 года.

По результатам проведенных исследования разработаны проекты фармакопейных статей на «Цикория обыкновенного трава» и «Цикория обыкновенного листья».

Таблица 28 - Результаты изучения стабильности опытных партий цельных листьев цикория обыкновенного «англо» при хранении

| № п/п | Характеристика образцов сырья | Дата первичного анализа и переконтроля | Подлинность | Влажность, % | Содержание, % | | | | | | Остаточные количества пестицидов | Содержание тяжелых металлов | Содержание радионуклидов, Бк/кг | Микробиологическая чистота | Продолжительность хранения |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | сумма фенольных соединений | зола общая | зола, нерастворимая в 10 % HCl | сырье, изменившее окраску (потемневшее и почерневшее) | примеси | | | | | | |
| | | | | | | | | | органическая | минеральная | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 |
| 1. | Тульская область. Дата заготовки 19.09.2018 г. | 09.18 | Соотв. | 9,1 | 4,54 | 11,86 | 1,03 | 4,27 | 0,56 | 0,00 | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | - |
| | | 09.19 | -«- | 9,6 | 4,50 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 1 год |
| | | 09.20 | -«- | 9,5 | 4,52 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года |
| | | 12.20 | -«- | 9,0 | 4,45 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года 3 мес. |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2. | Липецкая область Дата заготовки 15.09.2019 г. | 09.19 | Соотв. | 8,7 | 4,29 | 12,06 | 1,14 | 3,97 | 0,41 | 0,00 | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | - |
| | | 09.20 | -«- | 8,9 | 4,26 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 1 год |
| | | 09.21 | -«- | 9,3 | 4,24 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года |
| | | 12.21 | -«- | 9,1 | 4,18 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года 3 мес. |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3. | Ботанический сад ФГБНУ ВИЛАР. Опытные делянки. Дата заготовки 09.09.2018 г. | 09.18 | Соотв. | 8,9 | 4,75 | 12,14 | 1,06 | 4,48 | 0,21 | 0,00 | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | - |
| | | 09.19 | -«- | 9,0 | 4,71 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 1 год |
| | | 09.20 | -«- | 8,8 | 4,69 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года |
| | | 12.20 | -«- | 8,9 | 4,63 | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | -«- | 2 года 3 мес. |
| | | | | | | | | | | | | | | | |

## 4.4. Сравнительное изучение химического состава корней дикорастущего и культивируемого растения

С использованием метода ВЭЖХ-УФ-МС/МС в экстракте корней дикорастущего растения определено наличие 21 вещества, из которых идентифицированы 14 (Рисунок 51). Среди метаболитов определены вещества, относящиеся к сесквитерпеновым лактонам и гидроксикоричным кислотам (Таблица 29).

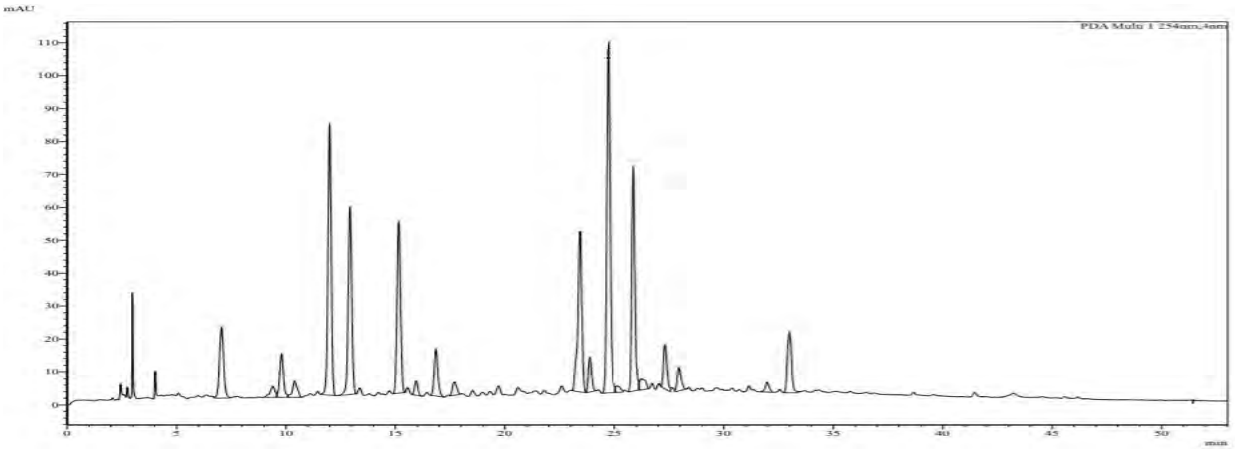



Рисунок 51 – ВЭЖХ-УФ-хроматограмма извлечения из корней дикорастущего цикория (254 нм)

Таблица 29 – БАВ, идентифицированные в корнях дикорастущего цикория обыкновенного

| | Время удерживания, мин | Вещество | Молекулярная масса, Da | Положительная ионизация, m/z фрагменты | Отрицательная ионизация, m/z фрагменты |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 10,42 | Цикориозид В (изомер 1) | 440 | 441 $[M+H]^-$<br>463 $[M+Na]^-$ | |
| 2 | 12,06 | Цикориозид В (изомер 2) | 440 | 279 агликон (-162)<br>441$[M+H]^-$<br>458 $[M+H_2O]^-$<br>463 $[M+Na]^-$ | 485 $[M+HCOOH]^-$ |
| 3 | 12,95 | Хлорогеновая кислота | 354 | 163 (кофейная $–H_2O$)<br>181 (кофейная)<br>355 $[M+H]^-$<br>372 $[M+H_2O]^-$<br>377 $[M+Na]^-$<br>731 $[2M+Na]^-$ | 191 (хинная)<br>353 $[M-H]^-$<br>707 $[2M-H]^-$ |
| 4 | 15,19 | Агликон цикориозида | 278 | 279 $[M+H]^-$<br>301 $[M+Na]^-$ | 277 $[M-H]^-$<br>323 $[M+HCOOH]^-$ |
| 5 | 15,95 | Цикориозид В (изомер 3) | 440 | 279 (агликон (-162))<br>441 $[M+H]^-$<br>458 $[M+H_2O]^-$<br>463 $[M+Na]^-$ | 485 $[M+HCOOH]^-$ |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 6 | 16,87 | Лактуцин | 276 | 277 $[M+H]^-$<br>294 $[M+H_2O]^-$<br>299 $[M+Na]^-$ | 275 $[M-H]^-$<br>321 $[M+HCOOH]^-$ |
| 7 | 16,88 | Цикориозид С | 428 | 446 $[M+H_2O]^-$<br>451 $[M+Na]^-$ | |
| 8 | 23,47 | Крепидиазид Б глюкозид/ галактозид | 424 | 263 (агликон (-162))<br>425 $[M+H]^-$<br>442 $[M+H_2O]^-$<br>447 $[M+Na]^-$ | 423 $[M-H]^-$<br>469 $[M+HCOOH]^-$ |
| 9 | 23,91 | Дикофеоилхинная кислота (изомер 1) | 516 | 163 (кофейная-$H_2O$)<br>181 (кофейная)<br>499 $[M-H_2O]^-$<br>517 $[M+H]^-$<br>534 $[M+H_2O]^-$<br>539 $[M+Na]^-$ | 515 $[M-H]^-$ |
| 10 | 24,77 | Дикофеоилхинная кислота (изомер 2) | 516 | 499 $[M-H_2O]^-$<br>517 $[M+H]^-$ | 353 (кофеоилхинная )<br>515 $[M-H]^-$ |
| 11 | 25,91 | Дикофеоилхинная кислота (изомер 3) | 516 | 163 (кофейная-$H_2O$)<br>181 (кофейная)<br>499 $[M-H_2O]^-$<br>517 $[M+H]^-$<br>539 $[M+Na]^-$ | 515 $[M-H]^-$ |
| 12 | 27,31 | Сончузид А (изомер 1) | 412 | 430 $[M+H_2O]^-$<br>435 $[M+Na]^-$<br>847 $[2M+Na]^-$ | 457 $[M+HCOOH]^-$ |
| 13 | 33,01 | Лактупикрин | 410 | 411 $[M+H]^-$<br>433 $[M+Na]^-$ | 409 $[M-H]^-$<br>455 $[M+HCOOH]^-$ |
| 14 | 33,03 | Сончузид А (изомер 1) | 412 | 413 $[M+H]^-$<br>435 $[M+Na]^-$ | 411 $[M-H]^-$<br>457 $[M+HCOOH]^-$ |

Изучение анализа извлечения культиивируемых корней проводили в аналогичных условия. Полученные данные представлены в таблице 30, рисунке 52.

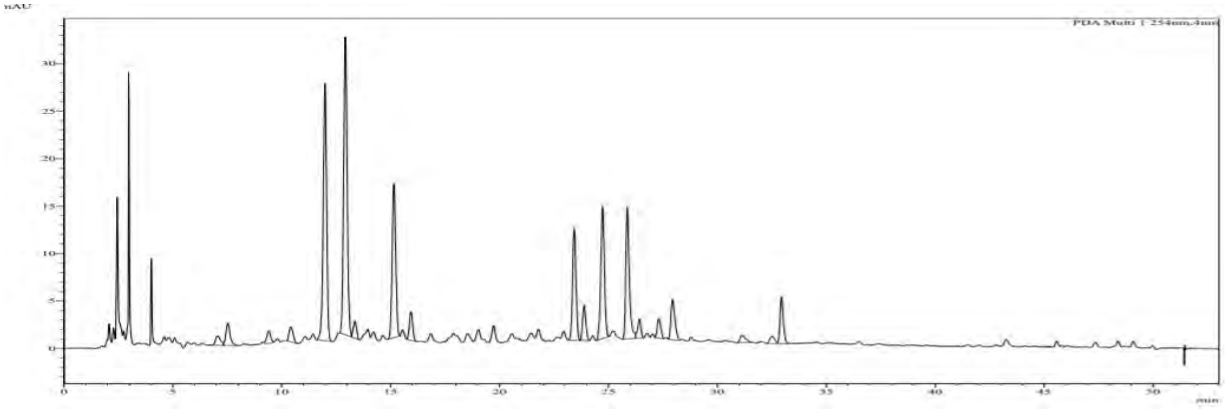



Рисунок 52 – ВЭЖХ-УФ-хроматограмма извлечения из корней культивируемого цикория (254 нм)

Таблица 30 – БАВ, идентифицированные в корнях культивируемого цикория обыкновенного

| | Время удерживания, мин | Вещество | Молекулярная масса, Da | Положительная ионизация, m/z фрагменты | Отрицательная ионизация, m/z фрагменты |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 10,47 | Цикориозид В (изомер 1) | 440 | 279 (агликон (-162))<br>441 $[M+H]^-$ | 485 $[M+HCOOH]^-$ |
| 2 | 12,06 | Цикориозид В (изомер 2) | 440 | 279 (агликон (-162))<br>441 $[M+H]^-$<br>458 $[M+H_2O]^-$<br>463 $[M+Na]^-$<br>903 $[2M+Na]^-$ | 485 $[M+HCOOH]^-$ |
| 3 | 12,95 | Хлорогеновая кислота | 354 | 163 (кофейная – $H_2O$)<br>181 (кофейная)<br>355 $[M+H]^-$<br>372 $[M+H_2O]^-$<br>377 $[M+Na]^-$<br>731 $[2M+Na]^-$ | 191 (хинная кислота)<br>353 $[M-H]^-$<br>707 $[2M-H]^-$ |
| 4 | 13,41 | Крипто/ неохлорогеновая кислота | 354 | 163 (кофейная-$H_2O$) 181 (кофейная)<br>355 $[M+H]^-$<br>377 $[M+Na]^-$ | 353 $[M-H]^-$ |
| 5 | 15,19 | Агликон Цикориозида В | 278 | 279 $[M+H]^-$<br>296 $[M+H_2O]^-$<br>301 +23 | 277 $[M-H]^-$<br>323 $[M+HCOOH]^-$ |
| 6 | 15,93 | Цикориозид В (изомер 3) | 440 | 279 (агликон (-162))<br>441 $[M+H]^-$<br>458 $[M+H_2O]^-$<br>463 $[M+Na]^-$ | 485 $[M+HCOOH]^-$ |
| 7 | 16,85 | Лактуцин | 276 | 277 $[M+H]^-$<br>294 $[M+H_2O]^-$<br>299 $[M+Na]^-$ | 275 $[M-H]^-$<br>321 $[M+HCOOH]^-$ |
| 8 | 23,46 | Крепидиазид Б глюкозид/ галактозид | 424 | 263 (агликон (-162))<br>425 $[M+H]^-$<br>442 $[M+H_2O]^-$<br>447 $[M+Na]^-$ | 423<br>469 $[M+HCOOH]^-$ |
| 9 | 23,93 | Дикофеоилхинная кислота (изомер 1) | 516 | 163 (кофейная кислота – $H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>499 $[M-H_2O]^-$<br>517 $[M+H]^-$<br>534 $[M+H_2O]^-$<br>539 $[M+Na]^-$ | 515 $[M-H]^-$ |
| 10 | 24,73 | Дикофеоилхинная кислота (изомер 2) | 516 | 499 $[M-H_2O]^-$<br>517 $[M+H]^-$<br>539 $[M+Na]^-$ | 353 (кофеоилхинная кислота)<br>515 $[M-H]^-$ |
| 11 | 25,90 | Дикофеоилхинная кислота (изомер 3) | 516 | 163 (кофейная кислота – $H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>499 $[M+H_2O]^-$<br>517 $[M+H]^-$<br>539 $[M+Na]^-$ | 515 $[M-H]^-$ |
| 12 | 26,48 | | 539 | 540 $[M+H]^-$<br>562 $[M+Na]^-$ | 538 $[M-H]^-$ |
| 13 | 27,43 | Сончузид А (изомер 1) | 412 | 430 $[M+H_2O]^-$<br>435 $[M+Na]^-$<br>847 $[2M+Na]^-$ | 411 $[M-H]^-$<br>457 $[M+HCOOH]^-$ |
| 14 | 32,65 | Сончузид А (изомер 2) | 412 | 413 $[M+H]^-$<br>430 | 411 $[M-H]^-$ |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 435 | |
| 15 | 33,01 | Лактупикрин | 410 | 411 $[M+H]^-$<br>433 $[M+Na]^-$ | 409 $[M-H]^-$<br>455 $[M+HCOOH]^-$ |
| 16 | 33,03 | Сончузид А<br>(изомер 3) | 412 | 413 $[M+H]^-$<br>435 $[M+Na]^-$ | 411 $[M-H]^-$<br>457 $[M+HCOOH]^-$ |

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод о схожести качественного состава метаболитов корней дикорастущего и культивируемого растения.

Результаты оценки содержания основных групп БАВ показали, что в корнях культивируемых растений преобладают фруктозаны, тогда как в сырье дикорастущих растений наблюдается большее содержание фенольных соединений (Таблица 31).

Таблица 31 – Содержание основных БАВ в корнях цикория обыкновенного

| Содержание в % в пересчете на абсолютно сухое сырьё | Корни дикорастущих растений | Корни культивируемых растений |
|---|---|---|
| Сумма фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту | 0,91±0,04 | 0,41±0,02 |
| Сумма фруктозанов в пересчете на инулин | 27,24±1,36 | 41,64±2,01 |

### 4.5. Определение основных БАВ и оценка их содержания в сырье

Для выявления основных групп БАВ, отвечающих за фармакологическое действие, нами было проведено фракционирование экстрактов корней культивируемых и дикорастущих растений.

Для этого водно-спиртовое извлечение, полученной трехкратной экстракцией спиртом этиловым 70 %, концентрировали до водного остатка и обрабатывали бутанолом, насыщенным водой (трижды в соотношении 1:3, 1:2 и 1:1 соответственно). Бутанольные извлечения объединяли, упаривали досуха (бутанольная фракция). Водный остаток (около 0,5 л) выливали при перемешивании в 2 л предварительного охлажденного спирта этилового 96 % и оставляли на 24 часа в холодильнике для полного осаждения. Образовавшийся

осадок отделяли и высушивали (водная фракция), надосадочные раствор концентрировали на роторном испарителе и высушивали в сушильном шкафу (спиртовая фракция) (Таблица 32).

Таблица 32 – Соотношение фракций в экстрактах корней культивируемых растений

| Корни | Массовая доля фракций в экстракте, % | | |
|---|---|---|---|
| | Бутанольная | Спиртовая | Водная |
| Дикорастущие растения | 32,46 | 13,64 | 53,90 |
| Культивируемые растения | 3,37 | 16,76 | 79,87 |

Полученные фракции исследовали в опытах *in vivo* на модели токсического гепатита. В результате проведенного изучения было установлено, что наибольшей активностью обладает бутанольная фракция. Анализ качественного состава данной фракции показал, что основными её компонентами являются производные гидроксикоричных кислот и сесквитерпеновые лактоны.

### 4.6. Определение показателей качества корней цикория обыкновенного

Фармакогностическое исследование корней, установление норм числовых показателей проводили на трёх опытных партиях сырья, заготовленных в Тульской (Опытная партия 1), Липецкой (Опытная партия 2) областях и опытном поле Ботанического сада ФГБНУ ВИЛАР (Опытная партия 3).

***Внешние признаки.*** *Цельное сырье.* Цельные корни различной длины, толщиной в верхней части до 1 см, ветвистые (дикорастущее сырье) и до 3 см, неразветвленные (культивируемое сырье), стержневые, снаружи продольно-морщинистые, иногда спирально-перекрученные, твердые, в изломе неровные. В центре корня видна желтоватая древесина, окруженная серовато-белой или белой корой, в которой (под лупой) заметны радиальные ряды млечников.

Цвет корней снаружи от светло-коричневого до темно-коричневого. Запах слабый. Вкус водного извлечения горьковатый.

*Резаное (культивируемое) сырье.* Кусочки корней, разрезанных поперек, толщиной до 0,7 см, с продольно-морщинистой наружной поверхностью,

частично скрученные, встречаются цилиндрические кусочки корней. В центре видна желтоватая древесина, окруженная серовато-белой или белой корой, в которой (под лупой) заметны радиальные ряды млечников.

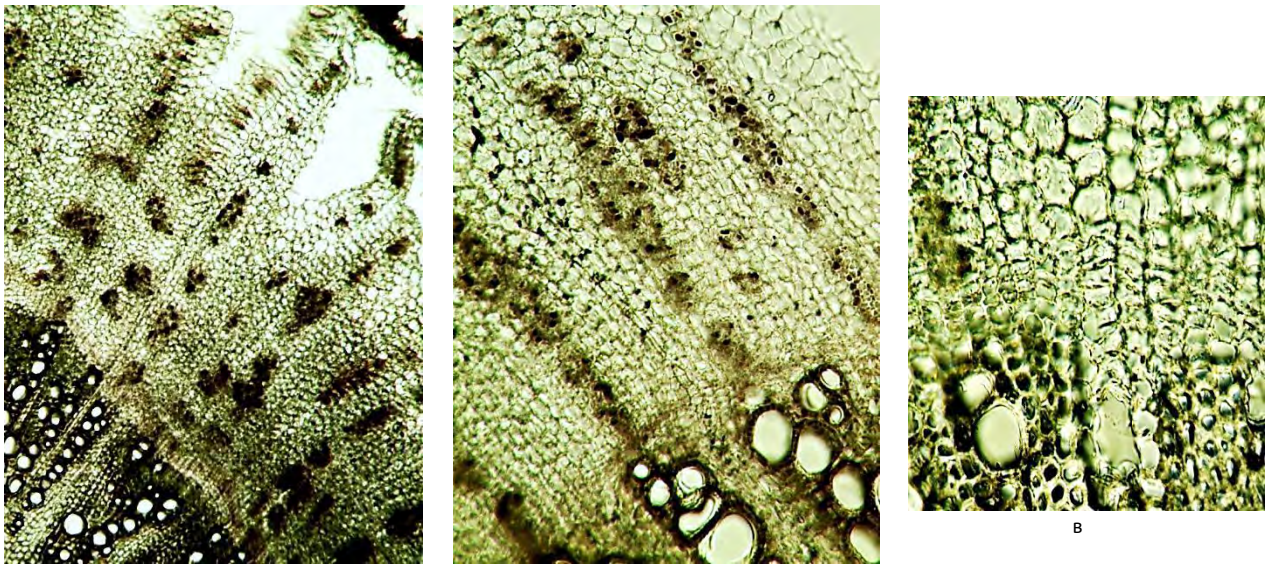
Цвет кусочков корней снаружи от светло-коричневого до темно-коричневого. Запах слабый. Вкус водного извлечения горьковатый (Рисунок 53).

Рисунок 53 – Корни цикория обыкновенного дикорастущего цельные (1), культивируемого резаные (2)

***Микроскопические признаки.*** При рассмотрении поперечного среза видно, что корень имеет вторичное строение. Поверхность корня покрыта многорядной пробкой коричневого цвета. Кора широкая, представлена овальными тонкостенными клетками паренхимы, в которой проходят многочисленные млечники, образующие вместе с группами проводящих элементов луба радиальные прерывистые ряды. Млечники заполнены желтовато-коричневым содержимым. Луб отделен от древесины линией камбия.

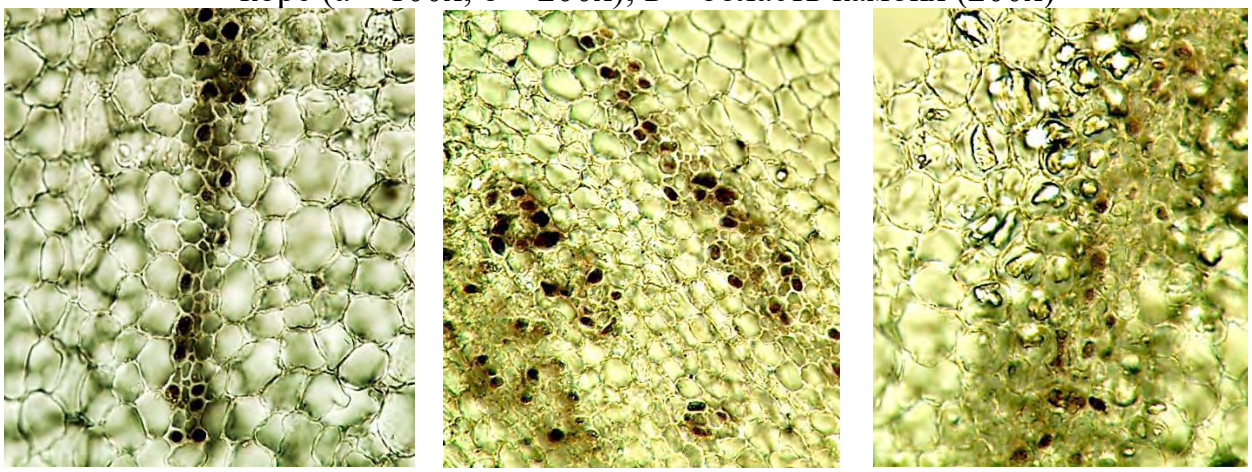
Древесина состоит из крупных сосудов, паренхимы, небольшого количества трахеид, волокон. Сосуды расположены преимущественно в радиальных группах, при рассмотрении в продольном сечении имеют простую перфорацию – лестничные, сетчатые, с окаймленными порами. В центре корня находится первичная ксилема. Сердцевинные лучи одно- и многорядные. В клетках коровой паренхимы и паренхимы древесины содержится инулин в виде

бесцветных комочков и глыбок. Корни культивируемых растений отличаются более мощным развитием паренхимы не только в коре, но и в древесине (Рисунок 55).



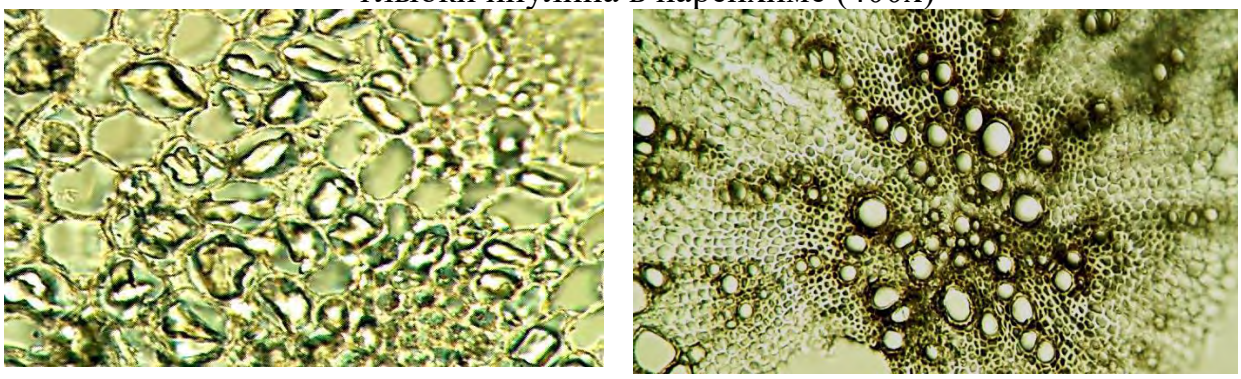
а б в

Рисунок 1 – Поперечный срез: а, б – радиальные ряды млечников во вторичной коре (а – 100х, б – 200х); в – область камбия (200х)



а б в

Рисунок 2 – Поперечный срез: а, б – млечники во флоэме (400х); в – млечники и глыбки инулина в паренхиме (400х)



а б

Рисунок 55 – Поперечный срез: а – инулин в клетках коровой паренхимы (400х); б – первичная ксилема в центре корня (200х)

По результатам товароведческого анализа сырья предложены нормы показателей (Таблица 33). Все опытные партии сырья соответствовали требования ГФ по показателям «Тяжелые металлы», «Остаточные количества пестицидов», «Радионуклиды».

Таблица 33 – Результаты анализа опытных партий корней цикория обыкновенного

| Наименование показателя | Опытная партия 1 | Опытная партия 2 | Опытная партия 3 | *Предлагаемая норма* |
|---|---|---|---|---|
| Сумма фенольных соединений, % | 0,43 | 0,52 | 0,48 | *Не менее 0,4* |
| Влажность, % | 8,57 | 8,69 | 8,42 | *Не более 14* |
| Зола общая, % | 4,65 | 4,66 | 4,61 | *Не более 8* |
| Зола, нерастворимая, % | 0,54 | 0,55 | 0,55 | *Не более 1* |
| Других частей растения, % | 0,34 | 0,24 | 0,84 | *Не более 5* |
| Органическая примесь, % | 0,00 | 0,00 | 0,00 | *Не более 1* |
| Минеральная примесь, % | 0,64 | 0,51 | 0,27 | *Не более 1* |

Для характеристики подлинности предложена качественная реакция на сесквитерпеновые лактоны (гидроксамовая проба) с раствором ванилина в серной кислоте.

Для оценки содержания фенольных соединений была использована методика, разработанная для анализа надземной части этого растения и адаптированная к условиям анализа корней.

В свою очередь, согласно требованиям ГФ РФ, заготовка корней рекомендована либо ранней весной, либо поздней осенью. Учитывая, биологические особенности и места произрастания дикорастущего цикория осуществить заготовку корней в промышленных масштабах не представляется возможным. Поскольку идентифицировать растение в данные периоды среди другого полевого разнотравия невозможно ввиду отсутствия характерных цветущих побегов.

В связи с этим, в качестве сырья предпочтительнее использование корней культивируемых растений, выращивание которых осуществляется на промышленных плантациях, в заготовка ведётся по средствам механизированной уборки в конце первого года вегетации растения.

## Выводы к главе 4

1. С использованием метода ВЭЖХ-УФ-МС/МС было уставлено, что основными группами БАВ травы дикорастущего цикория обыкновенного являются оксикумарины, гидроксикоричные кислоты и флавоноиды; листьев культивируемого растения – гидроксикоричные кислоты и флавоноиды.

2. В результате проведенного фракционирования и биологического скрининга установлено, что доминирующей группой БАВ, вносящей основной вклад в специфическое фармакологическое действие надземной части дикорастущего и культивируемого цикория являются фенольные соединения. В связи с этим, разработана и валидирована методика количественного определения суммы фенольных соединений в пересчете на доминирующее вещество – цикориевую кислоту.

3. Анализ 41 образца травы дикорастущего цикория обыкновенного различных мест произрастания и годов заготовки, показал, что содержание суммы фенольных соединений колеблется в пределах от 1,95 до 6,25 %. При этом хроматографический профиль характеризуется единообразием и наличием основных пиков веществ: эскулетина, цикориина, цикориевой, хлорогеновой и кафтаровой кислот; отличительными признаками является различное соотношение интенсивностей пиков данных веществ. Полученные результаты позволили регламентировать норму содержания фенольных соединений на уровне не менее 2 %.

4. На основании результатов изучения динамики накопления суммы фенольных соединений в зависимости от фазы вегетации установлено, что заготовку сырья рационально проводить в фазу бутонизации, массового цветения и конца вегетации, наряду с этим кумарины обнаруживаются начиная

со стадии бутонизации, что свидетельстует о накоплении данных соединений только в цветках растения.

5. Изучение распределение фенольных веществ в растении показало, что наибольшее их содержание наблюдается в стеблевых листьях, а оксикумарины обнаруживаются только в цветках.

6. В ходе изучения режима сушки сырья, показано, что оптимальным условием, позволяющим сохранить максимальное количество БАВ, является высушивание сырья в защищенных от попадания прямых солнечных лучей и хорошо проветриваемых помещениях при температуре не выше 40 ºС.

7. На основании анализа опытных партий сырья составлено описание внешних признаков травы дикорастущих и листьев культивируемых растений, выявлены диагностические признаки в анатомическом строении сырья, предложена номенклатура числовых показателей, критерии подлинности и установлены нормы содержания фенольных соединений. По результатам проведенных исследований оформлены проекты ФС «Цикория обыкновенного трава» и «Цикория обыкновенного листья».

8. В результате проведенного сравнительного фитохимического изучения корней дикорастущего и культивируемого растения с использованием метода ВЭЖХ-УФ-МС/МС показана схожесть качественного состава их метаболитов. При этом отмечено, что большая биомасса корней культивируемого растения обусловлено преобладанием углеводной фракции.

9. В результате фармакогностического изучения корней дикорастущих растений и сортовых культур составлено описание внешних признаков сырья, установлены диагностические характеристики анатомического строения, определены товароведческие нормы. С учетом биологических особенностей растения в качестве лекарственного растительного сырья наиболее рациональным является использование корней культивируемых сортов.

# ГЛАВА 5. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ И ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАВЫ ТОПИНАМБУРА

На основании данных литературы в рамках поставленных задач в качестве объекта исследования нами выбран топинамбур, вид семейства Астровых, имеющий общность биологических признаков с видом цикория обыкновенного.

Анализ имеющейся информации показал, что подземная часть данного растения (клубни) находит широкое применение в пищевой промышленности, главным образом, в качестве источника получения инулина, а также достаточно детально изучена в работах других исследователей. В свою очередь, надземная часть (трава), являющаяся отходом производства, имеет существенную биомассу. Сведения о химическом составе её метаболитов весьма ограничены. В связи с этим, наши исследования были направлены на изучение качественного состава и содержания БАВ и оценку возможности его использования в качестве источника получения лекарственных средств.

## 5.1. Фитохимическое исследование травы топинамбура

Исследование качественного состава фенольного комплекса травы топинамбура проводили методом ВЭЖХ-УФ-МС/МС (Рисунок 56).

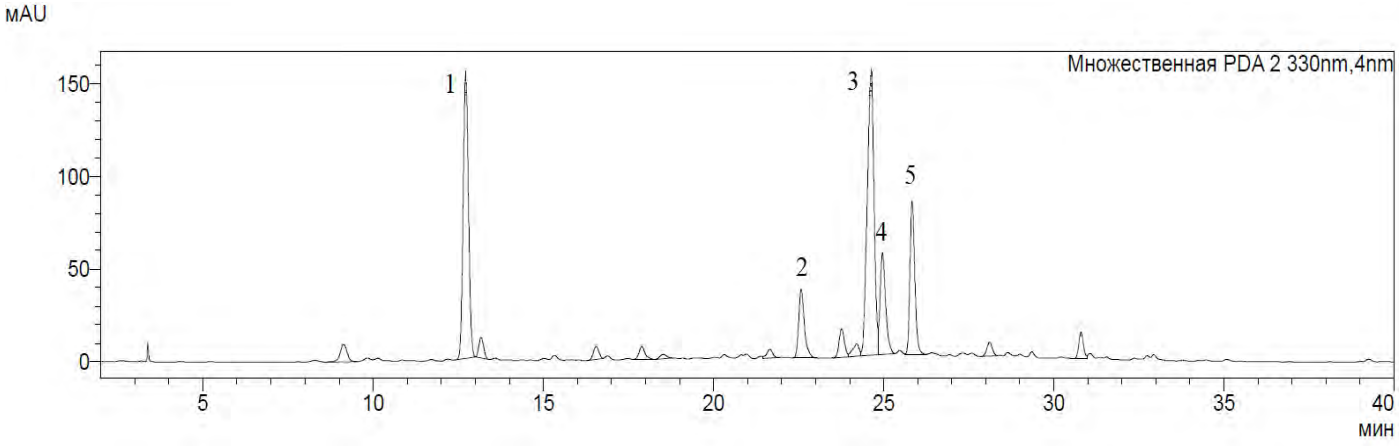



Рисунок 56 – ВЭЖХ-УФ-хроматограмма водно-спиртового извлечения из травы топинамбура (330 нм): 1 – хлорогеновая кислота, 2 – кверцетин-глюкуронид, 3 – изохлорогеновая А кислота, 4 – лютеолин/кемпферол-глюкуронид, 5 – изохлорогеновая С кислота.

В результате проведенного исследования установлено наличие 42 веществ, из которых идентифицировано 18 (Таблица 34). В составе извлечения установлено наличие гидроксикоричных кислот и флавоноидов.

Таблица 34 – Фенольные соединения, идентифицированные в надземной части топинамбура

| | Время удержива-ния, мин | Вещество | Молекулярная масса, Da | Положительная ионизация, m/z фрагменты | Отрицательная ионизация, m/z фрагменты |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 9,41 | Неохлорогеновая кислота (кофеоилхинная) | 354 | 163 (кофейная кислота - $H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>355 $[M+H]^-$<br>377 $[M+Na]^-$ | 353 $[M-H]^-$ |
| **2** | 12,92 | Хлорогеновая кислота (кофеоилхинная) | 354 | 163 (кофейная кислота-$H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>355 $[M+H]^-$<br>372 $[M+H_2O]^-$<br>377 $[M+Na]^-$<br>731 $[2M+Na]^-$ | 191 (хинная кислота)<br>353 $[M-H]^-$<br>707 $[2M-H]^-$ |
| 3 | 13,39 | Кофеоилхинная кислота (изомер 1) | 354 | 163 (кофейная-$H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>355 $[M+H]^-$<br>377 $[M+Na]^-$ | 353 $[M-H]^-$ |
| 4 | 15,23 | Кофеоилхинная кислота (изомер 2) | 354 | 163 (кофейная-$H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>355 $[M+H]^-$<br>372 $[M+H_2O]^-$<br>377 $[M+Na]^-$ | 353 $[M-H]^-$ |
| 5 | 15,55 | Кофейная кислота | 180 | 181 $[M+H]^-$<br>198 $[M+H_2O]^-$ | 179 $[M-H]^-$ |
| 6 | 16,79 | Кумароилхинная кислота (изомер 1) | 338 | 147 (хинная кислота)<br>339 $[M+H]^-$<br>356 $[M+H_2O]^-$<br>361 $[M+Na]^-$ | 337 $[M-H]^-$ |
| 7 | 18,35 | Ферулоилхинная кислота | 368 | 177 (феруловая кислота - $H_2O$)<br>195 (феруловая кислота)<br>369 $[M+H]^-$<br>386 $[M+H_2O]^-$<br>391 $[M+Na]^-$ | 367 $[M-H]^-$ |
| 8 | 18,68 | Кумароилхинная кислота (изомер 2) | 338 | 147 (хинная кислота)<br>339 $[M+H]^-$<br>356 $[M+H_2O]^-$<br>361 $[M+Na]^-$ | 337 $[M-H]^-$ |
| 9 | 20,48 | Рутин | 610 | 303 (кверцетин)<br>465<br>611 $[M+H]^-$<br>633 $[M+Na]^-$ | 609 $[M-H]^-$ |
| 10 | 21,86 | Изокверцетин (кверцетин-3-глюкозид) | 464 | 303 (кверцетин)<br>465 $[M+H]^-$<br>487 $[M+Na]^-$ | 463$[M-H]^-$ |
| **11** | **22,75** | Кверцетин-глюкуронид | 478 | 303 (кверцетин)<br>479 $[M+H]^-$<br>501 $[M+Na]^-$ | 477 $[M-H]^-$<br>955 $[2M-H]^-$ |
| 12 | 23,91 | Изохлорогеновая В кислота (дикофеоилхинная) | 516 | 499 $[M-H_2O]^-$<br>517 $[M+H]^-$<br>534 $[M+H_2O]^-$<br>539 $[M+Na]^-$ | 515 $[M-H]^-$ |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 13 | 24,33 | Лютеолин/кемпферол-глюкозид / галактозид | 448 | 287 (агликон)<br>449 $[M+H]^-$<br>471 $[M+Na]^-$<br>919 $[2M+Na]^-$ | 447 $[M-H]^-$<br>895 $[2M-H]^-$ |
| 14 | 24,69 | Изохлорогеновая А кислота (дикофеоилхинная) | 516 | 163 (кофейная кислота - $H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>499 $[M-H_2O]^-$<br>517 $[M+H]^-$<br>539 $[M+Na]^-$ | 353 (кофеоилхинная кислота)<br>515 $[M-H]^-$ |
| 15 | 25,06 | Лютеолин/кемпферол -глюкуронид | 462 | 287 (агликон)<br>463 $[M+H]^-$<br>485 $[M+Na]^-$<br>947 $[2M+Na]^-$ | 461 $[M-H]^-$<br>923 $[2M-H]^-$ |
| 16 | 25,53 | Изорамнетин – глюкуронид | 492 | 317 изорамнетин<br>493 $[M+H]^-$<br>515 +23 | 491 $[M-H]^-$ |
| 17 | 25,89 | Изохлорогеновая С кислота (дикофеоилхинная) | 516 | 163(кофейная кислота -$H_2O$)<br>181 (кофейная кислота)<br>499 $[M-H_2O]^-$<br>517 $[M+H]^-$<br>534 $[M+H_2O]^-$<br>539 $[M+Na]^-$ | 515 $[M-H]^-$ |
| 18 | 28,13 | Изохлорогеновая кислота (дикофеоилхинная) | 516 | 181 (кофейная кислота)<br>499 $[M-H_2O]^-$<br>517 $[M+H]^-$ | 515 $[M-H]^-$ |

При изучении УФ-спектра водно-спиртового извлечения из травы топинамбура было установлено, в диапазоне длин волн 200 – 400 нм наблюдается максимум при 327±2 нм (Рисунок 57).

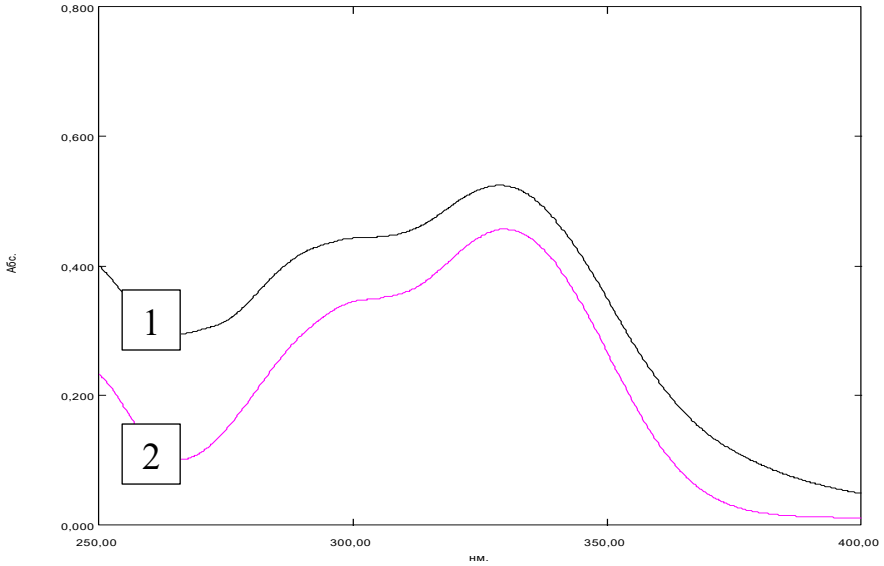



Рисунок 57 – УФ-спектр поглощения водно-спиртового извлечения из травы топинамбура (1) и хлорогеновой кислоты (2)

Характер спектральной кривой и положение максимума свидетельствует о доминировании гидроксикоричных кислот. В связи с этим, для

количественной оценки суммы фенольных соединений в данном сырье выбран метод прямой спектрофотометрии. В качестве стандартного образца использована хлорогеновая кислота, идентифицированная нами в траве топинамбура и являвшаяся одним из доминирующих её метаболитов.

В ходе дальнейших исследований по аналогии с травой цикория обыкновенного, были подобраны оптимальные условия анализа и разработана методика количественного определения.

*Методика проведения анализа:* аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстия 0,5 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в коническую колбу вместимостью 200 мл и добавляют 100 мл спирта этилового 70 %, колбу закрывают пробкой и взвешивают с точностью до ±0,01г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику, и нагревают на кипящей водяной бане в течение 60 минут с момента растворителя. Колбу охлаждают до комнатной температуры, доводят растворителем до первоначальной массы, перемешивают. Извлечение фильтруют через бумажный складчатый фильтр «синяя лента» (раствор А). В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1 мл раствора А и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 70%, перемешивают (Раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б измеряют на спектрофотометре при длине волны 327 ± 2 нм в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют спирт этиловый 70 %. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца (СО) хлорогеновой кислоты. Испытуемый и стандартный образец анализируют в двух повторностях. В расчетной формуле 1 используют среднюю навеску СО и среднюю оптическую плотность СО по результатам двух измерений.

Содержание суммы фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту и абсолютно сухое сырьё в процентах (Х) вычисляют по формуле 1:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot 100 \cdot P \cdot 50 \cdot 1 \cdot 100}{A_0 \cdot a \cdot 1 \cdot 50 \cdot 50 \cdot (100 - W)}, \quad (1)$$

где:
P – чистота стандартного образца хлорогеновой кислоты, %;
A – оптическая плотность испытуемого раствора;
$A_0$ – оптическая плотность СО хлорогеновой кислоты;
a – масса навески травы топинамбура, г;
$a_0$ – масса навески СО хлорогеновой кислоты, г;
$W$ – влажность, %

Проведенная валидация позволила охарактеризовать разработанную методику положительно по основным аналитическим параметрам (Таблица 35).

Таблица 35 – Валидационные параметры методики

| Наименование параметра | Критерий приемлемости |
|---|---|
| Контроль специфичности | Испытуемый раствор (3 опытных партий): 327, 325, 328 нм; Раствор СО хлорогеновой кислоты: 327 нм |
| Контроль линейности | Коэффициент корреляции не менее 0,993 |
| Контроль правильности | Диапазон процента восстановления – от 97,1 % до 103,2 %) |
| Контроль повторяемости | Относительное стандартное отклонение (RSD), % составляет 4,2 % |
| Контроль внутрилабораторной прецизионности | Совпадение результатов между двумя аналитиками 98 %. |
| Контроль аналитической области | Правильность, линейность и прецизионность должны быть установлены внутри аналитической области от 5 до 12 % |

Изучение накопления БАВ в образцах травы топинамбура, заготовленных в различных местах произрастания, показало, что содержание фенольных соединений составляет от 4,88 до 11,45 %, хлорогеновой кислоты – 0,68 до 2,37 %. При этом в образцах, заготовленных осенью содержание хлорогеновой кислоты повышается, тогда как значения суммы фенольных веществ в целом снижается (Таблица 36).

Таблица 36 – Накопление фенольных соединений в сырье различных мест произрастания

| Место произрастания | Сумма фенольных соединений, % | Хлорогеновая кислота, % |
|---|---|---|
| Московская обл., Чеховский район, 2021 г. (октябрь) | 4,88±0,22 | 1,67±0,05 |
| Московская обл., Пушкинский район, 2021, (сентябрь) | 7,47±0,35 | 2,37±0,08 |
| Башкортостан, г. Уфа, Балтаческий район, 2017 (июль) | 9,82±0,46 | 1,41±0,04 |
| Башкортостан, г. Уфа, Стерлишамокский район, 2017 (июль) | 11,18±0,55 | 0,68±0,03 |
| Тверская область, Скороспелка, листья 2018 (июль) | 11,45±0,54 | 1,93±0,06 |
| Тверская область, Скороспелка, трава 2018 (сентябрь) | 5,06±0,24 | 2,08±0,06 |

В результате исследования распределения фенольных соединений по органам надземной части растения установлено, что наибольшее количество веществ фенольной природы накапливается в листьях (Таблица 37, Рисунок 58,). Содержание в стеблях снижается по мере утолщения стебля, что служит основанием нормирования количества стеблей, диаметром более 5 мм в составе сырья. При этом черная окраска стеблей незначительно влияет на содержание фенольных веществ в целом не требует строго ограничения.

Таблица 37 – Содержание фенольных соединений в надземной части топинамбура

| Часть растения | Сумма фенольных соединений, % | Хлорогеновая кислота, % | Массовая доля в составе сырья, % |
|---|---|---|---|
| Стебли до 3 мм | 2,85±0,12 | 0,97±0,03 | 7,73 |
| Стебли 3-5 мм | 2,04±0,09 | 0,71±0,02 | 23,36 |
| Стебли более 5 мм | 1,57±0,07 | 0,43±0,01 | 35,40 |
| Стебли почерневшие | 2,15±0,09 | 0,79±0,24 | 8,33 |
| Листья | 10,07±0,31 | 2,65±0,08 | 23,60 |
| Цветки | 7,15±0,30 | 1,93±0,06 | 1,58 |
| *Трава* | *7,47±0,31* | *2,37±0,07* | *100* |

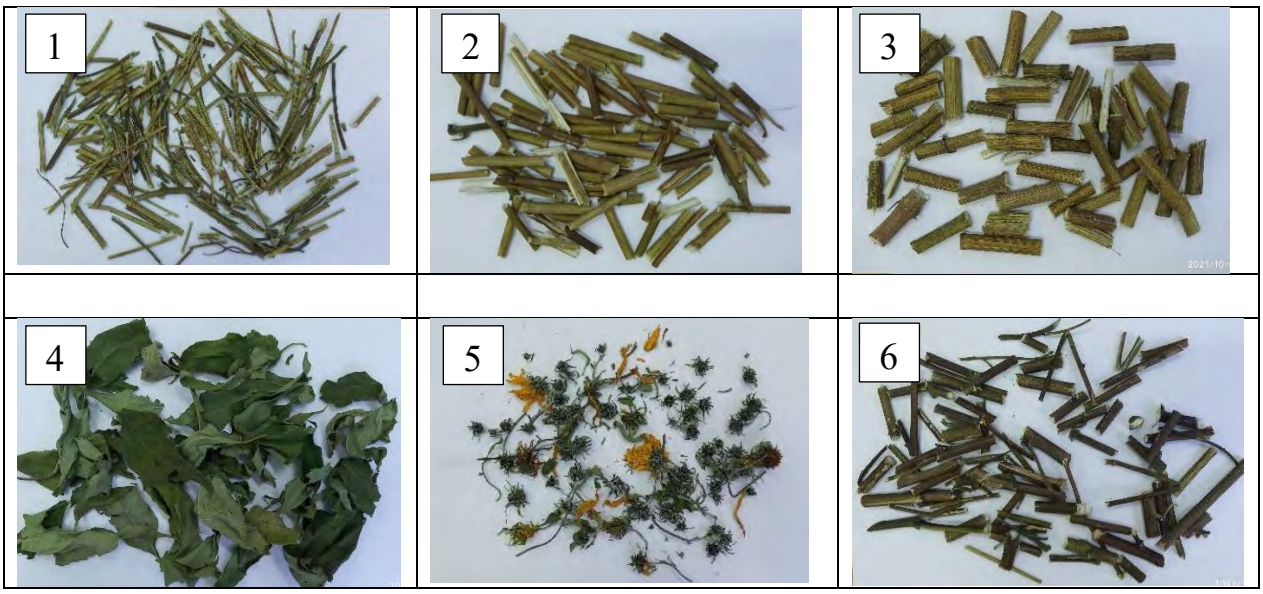



Рисунок 58 – Топинамбур: стебли до 3 мм (1), стебли 3-5 мм (2), стебли более 5 мм (3), листья (4), цветки (5), почерневшие стебли (6)

## 5.2. Фармакогностическое исследование травы топинамбура

Для проведения исследования травы топинамбура заготавливали осенью в фазу конца вегетации перед уборкой клубней (Рисунок 59).

Рисунок 59 – Внешний вид травы топинамбура

***Внешние признаки.*** Верхние части олиственных стеблей длиной до 50 см или их куски с листьями и цветками, отдельные листья, стебли, цветки. Стебли прямые, в верхней части ветвистые, округлые, продольно-бороздчатые, шершавые от коротких волосков. Листья супротивные, верхние очередные, черешковые, крупно пильчато-зубчатые, сердцевидно-яйцевидные, удлиненно-яйцевидные или ланцетные, с тремя продольными жилками, с обеих сторон

шершаво коротко волосистые. Корзинки относительно мелкие 2-5 см в диаметре (иногда больше); обвертка двухрядная, листочки обвертки ланцетные с отогнутой верхушкой, шероховатые или коротко волосистые; прицветники пленчатые трехзубчатые, на верхушке волосистые; краевые цветки язычковые, срединные – трубчатые обоеполые. Цвет стеблей светло-зеленый, иногда с фиолетовым и черным оттенком; листьев с верхней стороны зеленый, с нижней – более светлый; листочков обвертки зеленый; цветков желтый.

***Микроскопические признаки.*** При рассмотрении листа с поверхности (Рисунки 60-67) видны клетки верхнего эпидермиса со слабоизвилистыми и извилистыми стенками, нижнего эпидермиса с извилистыми и сильноизвилистыми стенками, стенки клеток имеют четковидные утолщения, кутикула продольно складчатая; клетки у верхушки и основания листа вытянуты и имеют более прямые стенки. Устьица с обеих сторон листа, овально-округлые, окружены 3-6 клетками эпидермиса (аномоцитный тип). По всей поверхности листа простые многоклеточные гусеницеобразные тонкостенные волоски, часто обломанные, простые 1-3 (5) клеточные волоски с тонкими стенками и заостренной конечной клеткой, особенно много вдоль жилок. По краю и жилкам листа расположены простые 1-3 клеточные толстостенные остроконусовидные волоски с бородавчатой поверхностью, у места их прикрепления клетки эпидермиса нередко образуют розетку; волоски часто обламываются, оставляя обломки оснований (с местами их прикрепления) или большие места прикрепления (особенно на крупных жилках). У оснований таких волосков лежат несколько клеток эпидермиса, слегка приподнимающихся над поверхностью листа. Волоски по краю листа и жилкам слегка прижаты к поверхности. На обеих сторонах листа встречаются эфирномасличные железки, состоящие из 8 (реже 6) выделительных клеток, расположенных в 2 ряда и 4 (реже 3) яруса, нередко деформированные. Вдоль жилок проходят секреторные ходы с красновато-коричневым содержимым.

Клетки эпидермиса стебля (Рисунок 68) вытянутые по его длине с прямыми четковидноутолщенными стенками и продольно-складчатой

кутикулой, редко встречаются устьица аномоцитного типа. Волоски такие же как на листе. Для стебля также характерны крупные простые многоклеточные волоски с сильноутолщенными стенками и очень большим основанием, чаще обломанные; после их опадения на поверхности остаются места прикрепления, нередко полуразрушенные и разрушенные.

Структура наружного листочка обвертки (Рисунок 69) похожа на таковую листа. Волоски такие же как на листе (простые гусеницеобразные и 1-3 клеточные толстостенные остроконусовидные с бородавчатой поверхностью). По краю густо расположены простые многоклеточные бородавчатые волоски, часто обломанные.

При рассмотрении прицветника (Рисунки 69, 70) с внутренней и наружной стороны видны клетки эпидермиса, стенки которых от основания до его верхушки изменяются от прямых до извилистых, с внутренней стороны клетки длинные вытянутые. Устьица аномоцитного типа встречаются с наружной стороны прицветника и сосредоточены главным образом в верхней его части. От основания к верхушке проходят секреторные ходы с красновато-коричневым содержимым. Простые многоклеточные волоски с заостренной конечной клеткой и гусеницеобразные волоски расположены на верхушке прицветника, а также по центральной (более толстой) его части с наружной стороны.

Эпидермис внутренней стороны трубчатого цветка (Рисунки 71-73) состоит из вытянутых клеток, стенки которых у основания почти прямые, от середины и до верхушки извилистые, у самой верхушки клетки образуют сосочковидные выросты; с наружной стороны стенки клеток более прямые, сосочковидные выросты наблюдаются только по краю верхушки, встречаются устьица аномоцитного типа; кутикула продольно складчатая. Волоски и железки такие же как на листе, наибольшее скопление волосков наблюдается у основания и ближе к верхушке трубчатого цветка. Вдоль жилок проходят секреторные ходы с красновато-коричневым содержимым. Пыльца округлая и округло-трех-, четырехгранная шиповатая трех-четырехпоровая.

При рассмотрении язычковых цветков с поверхности (Рисунки 74-76) видны с внутренней стороны сосочковидные выросты (особенно у верхушки лепестка), у основания клетки со слабоизвилистыми стенками, часто сосочковидные выросты содержат капли масла желтого цвета. С наружной стороны лепестка клетки вытянуты по длине, стенки их изменяются от основания к его верхушке от прямых до сильноизвилистых, кутикула продольно морщинистая, устьица аномоцитного типа. На поверхности лепестка встречаются простые многоклеточные, гусеницеобразные волоски и железки такие же как на листе. Особенно много волосков у основания лепестка. По краю лепестка и жилкам волоски грубее, слегка согнутые по направлению к поверхности. По краю лепестка и вдоль жилок проходят секреторные ходы с красновато-коричневым содержимым.

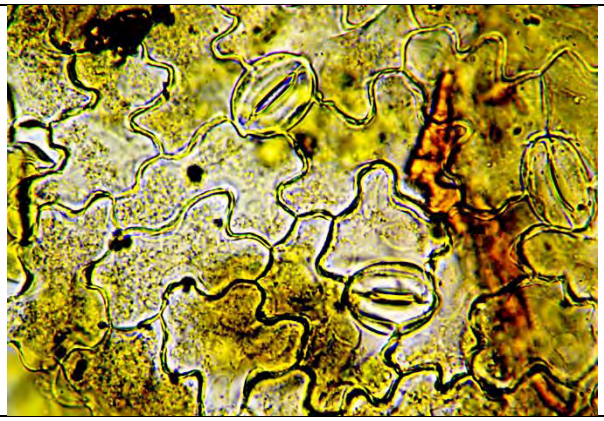


Рисунок 60 - Верхний эпидермис листа (ув. 400х)

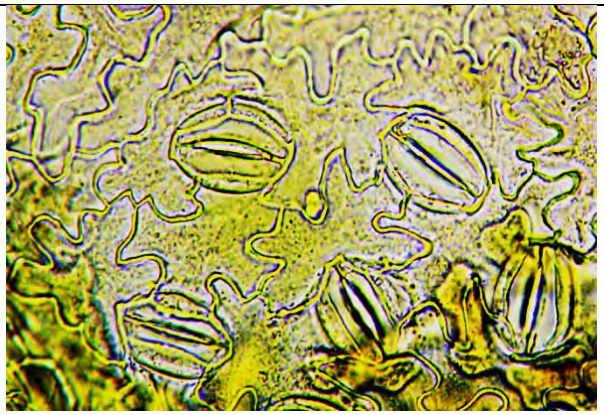


Рисунок 61 - Нижний эпидермис листа (ув. 400х)

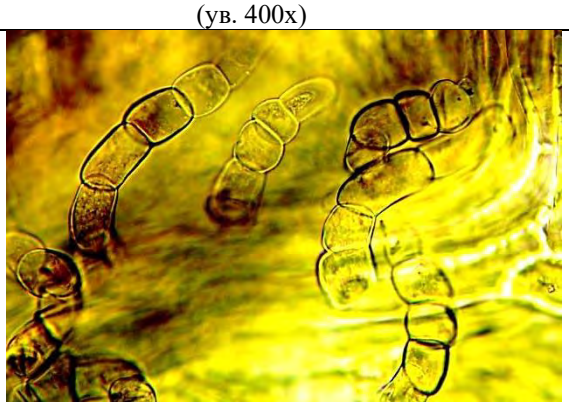


Рисунок.62 - Гусеницеобразные волоски (ув. 400х)

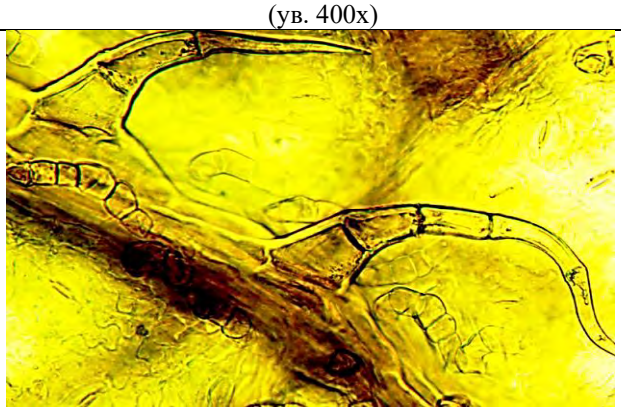


Рисунок 63 - Простые волоски с тонкими стенками и заостренной конечной клеткой (ув. 200х)

Рисунок 64 - Простые толстостенные остроконусовидные волоски (ув. 400х)

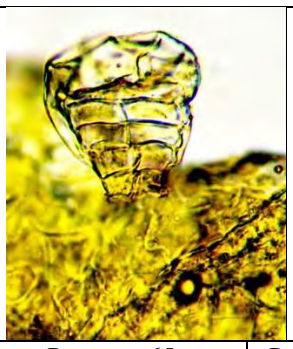


Рисунок 65 - Эфирномасличные железки (ув. 400х):

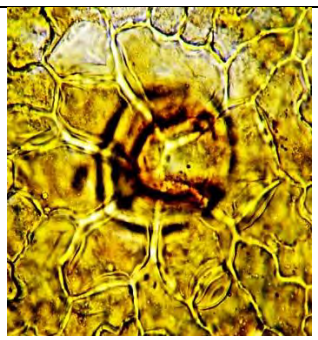


Рисунок 66 - Розетка (ув. 400х)

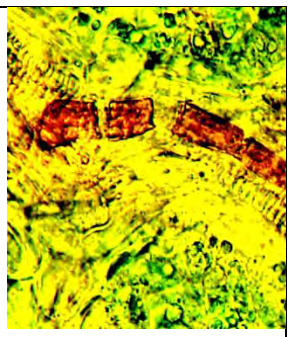
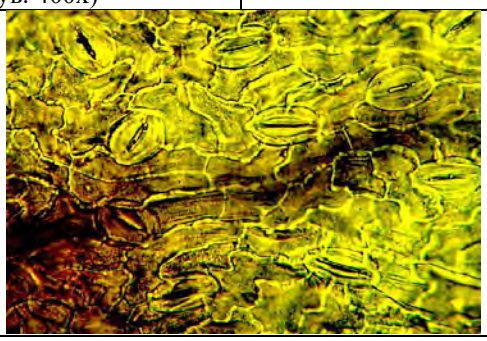
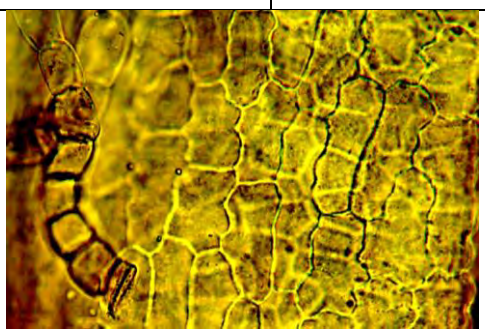


Рисунок 67 - Секреторные ходы (ув. 400х)



а



б

Рисунок 68 - Эпидермис наружного листочка обвертки (ув. 400х):
а – наружная сторона, б – внутренняя сторона

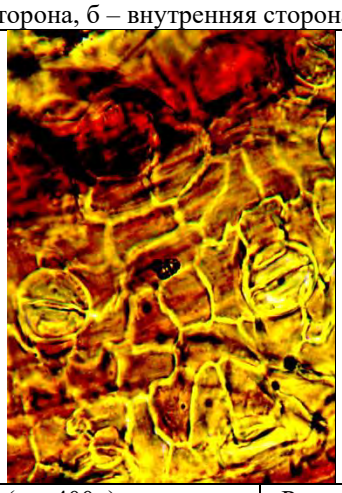


Рисунок 69 - Эпидермис прицветника (ув. 400х):
а – внутренняя сторона, б – наружная сторона

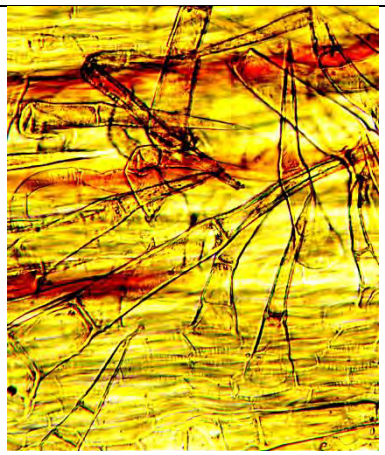


Рисунок 70 - Простые многоклеточные волоски по центральной части прицветника: (ув. 200х),

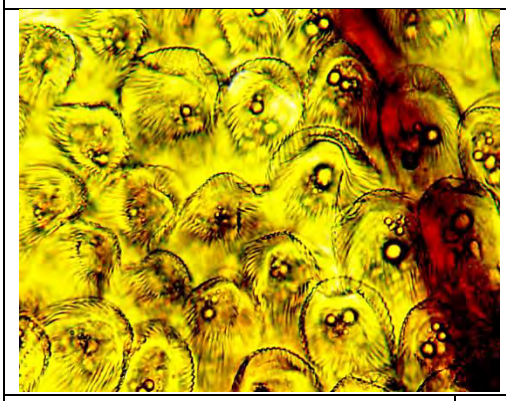


Рисунок 71 - Внутренний эпидермис венчика трубчатого цветка (ув. 400х)

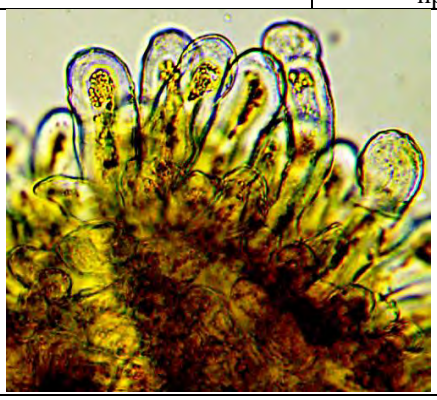
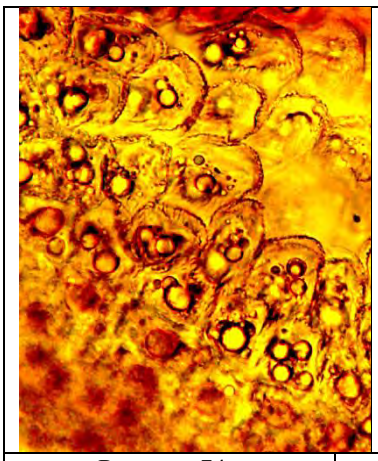
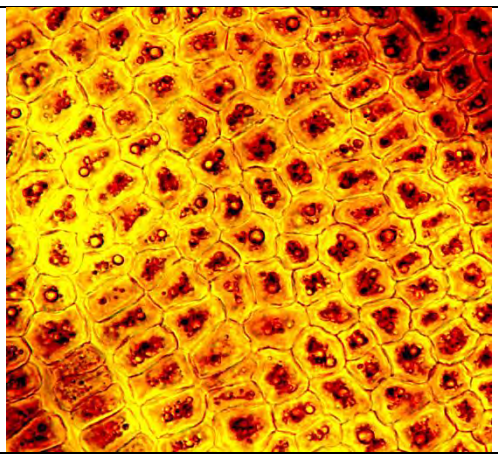
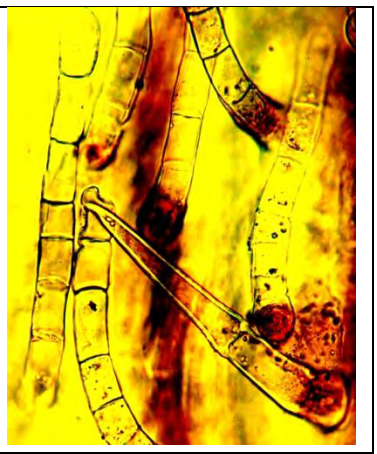


Рисунок 72 - Сосочковидные выросты по краю верхушки (ув. 400)

Рисунок 73 -Простые многоклеточные волоски (ув. 200х)

| | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| Рисунок 74 - Сосочковидные выросты (ув. 400х) | Рисунок 75 - Эпидермис наружной стороны (ув. 400х) | Рисунок 76 - Волоски на поверхности лепестка (ув. 400х) |

Для подтверждения подлинности травы топинамбура предложено использовать хроматографию в тонком слое сорбента со стандартным образцом хлорогеновой кислоты, как основного вторичного метаболита данного сырья.

*Методика проведения анализа:* 5,0 г измельченной травы топинамбура помещают в плоскодонную колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта этилового 70 %, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане 60 мин. Извлечение охлаждают до комнатной температуры, фильтруют через бумажный складчатый фильтр «белая лента» (Испытуемый раствор).

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят в виде полосы шириной 1 см по 5 мкл испытуемого раствора, раствора СО хлорогеновой кислоты. Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение не менее 60 мин смесью растворителей *н*-бутанол, насыщенный водой – муравьиная кислота (100:1), и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 9 см от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, затем выдерживают над парами аммиака в течение 2 минут и просматривают в УФ-свете при длине волны 365 нм (Рисунок 77).

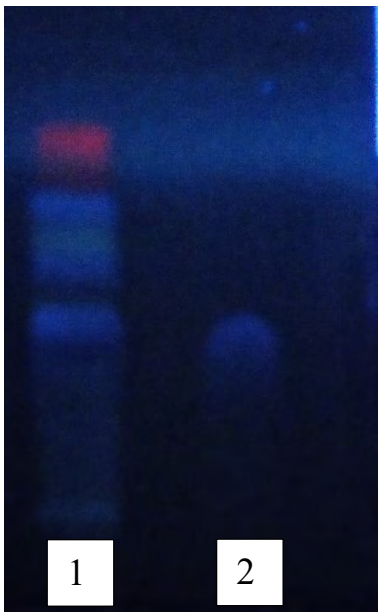



Рисунок 77 – ТСХ-хроматограмма (365 нм) после обработки парами аммиака: 1 – испытуемый раствор, 2 – СО хлорогеновой кислоты

На хроматограмме СО хлорогеновой кислоты должна обнаруживаться зона с Rf около 0,37 с зеленой флуоресценцией.

На хроматограмме испытуемого раствора травы топинамбура должна обнаруживаться не менее 7 зон адсорбции: с Rf около 0,37 зеленой флюоресценцией, соответствующая зоне адсорбции хлорогеновой кислоты; с Rf около 0,47 с синей флуоресценцией, с Rf около 0,52 желто-зеленой флуоресценцией, с Rf около 0,58 с синей флуоресценцией, с Rf около 0,63 желто-зеленой флуоресценцией; с Rf около 0,71 голубой флуоресценцией и с Rf около 0,76 красно-оранжевой флуоресценцией.

На основании анализа 3 опытных партий травы топинамбура установлены нормы показателей качества сырья. Для оценки содержания БАВ использована разработанная нами методика количественного определения суммы фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоты методом прямой спектрофотометрии. Учитывая, что траву топинамбура как вторичное сырьё предполагается заготавливать осенью в фазу конца вегетации, то норму по этому показателю предложено установить не менее 4 % (Таблица 38).

Таблица 38 – Результаты анализа опытных партий травы топинамбура

| Наименование показателя | Опытная партия 1 | Опытная партия 2 | Опытная партия 3 | *Предлагаемая норма* |
|---|---|---|---|---|
| Сумма фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту, % | 7,47 | 5,06 | 4,88 | *Не менее 4* |
| Влажность, % | 10,6 | 7,4 | 11,2 | *Не более 14* |
| Зола общая, % | 5,25 | 4,86 | 4,67 | *Не более 8* |
| Зола, нерастворимая, % | 0,68 | 0,52 | 0,57 | *Не более 1* |
| Стеблей, диаметром более 5 мм % | 35,4 | 38,2 | 34,7 | *Не более 40* |
| Органическая примесь, % | 0,00 | 0,00 | 0,00 | *Не более 1* |
| Минеральная примесь, % | 0,23 | 0,14 | 0,17 | *Не более 1* |

На основании проведенных исследований составлен проект фармакопейной статьи «Топинамбура трава».

## Выводы к главе 5

1. В результате фитохимического исследования травы топинамбура установлено наличие 42 веществ фенольного характера, из которых идентифицировано 18 соединений, представленных гидроксикоричными кислотами и флавоноидами. Доминирующими компонентами являются хлорогеновая, изохлорогеновая А, С кислоты, кверцетин-глюкуронид, лютеолин/кемпферол-глюкуронид.

2. Изучение распределения БАВ по органам растения показало, что наибольшее количество фенольных соединений содержится в листьях.

3. В результате исследования накопления БАВ в процессе онтогенеза установлено, что в образцах сырья, заготовленных в конце вегетации перед уборкой клубней, содержание хлорогеновой кислоты повышается, тогда как значения суммы фенольных веществ в целом снижается.

4. Анализ образцов сырья различных мест произрастания показал, что трава, заготовленная в период конца вегетации содержит от 4,88 до 7,47 % фенольных соединений и может служить источником получения субстанций целенаправленной фармакологической активности.

5. На основании анализа опытных партий сырья составлено описание внешних признаков травы топинамбура, обозначены диагностические признаки в анатомическом строении, установлены критерии качества и определена норма содержания фенольных соединений – не менее 4 %.

# ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ И УСТАНОВЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА СТАНДАРТНЫХ ОБРАЗЦОВ

Современные требования к качеству лекарственных средств обусловливают необходимость использования высокочувствительных физико-химических методов анализа с применением стандартных образцов (СО). Они используются на всех стадиях создания лекарственных средств, включая научно-исследовательские этапы.

При разработке новых лекарственных растительных препаратов, особое значение имеют исследования, направленные на выявление БАВ, ответственных за фармакологическое действие, что в дальнейшем обусловливает выбор СО и метода контроля качества.

Лекарственные средства растительного происхождения можно условно разделить на следующие группы: индивидуальные соединения или их смеси, используемые в качестве субстанций для изготовления лекарственных форм (сангвиритрин, эвкалимин, аммифурин и др.); лекарственные средства различной степени очистки из одного вида лекарственного растительного сырья (танацехол, эстифан, силимар, фламин, алантон и др.); комплексные препараты, состоящие из экстракта сбора лекарственного растительного сырья (ротокан) или нескольких экстрактов (сибектан, беллатамин и др.).

Наиболее распространенной формой применения лекарственных растений являются препараты, представляющие собой сухие очищенные экстракты в виде твердых или мягких лекарственных форм. Для подтверждения подлинности таких препаратов, как правило, применяются хроматографические методы с использованием в качестве СО веществ, являющихся специфичным для конкретного вида сырья из группы метаболитов, определяющих основную фармакологическую активность субстанции.

Выбор метода и разработка методики количественного определения БАВ суммарных растительных препаратов определяется установлением в ходе фитохимических исследований группы веществ, обусловливающих фармакологическое действие. Оценка содержания в этом случае

осуществляется в пересчете на доминирующее соединение данной группы или иное соединение (стандартный образец). Безусловно, стандартизация в этом случае носит условный характер, однако, для нетоксичных растений вполне допустима. На сегодняшний день такой принцип используется в фармакопейном анализе большинства видов лекарственного растительного сырья. Предпочтительным методом при этом является спектрофотометрия в УФ и видимой области спектра.

Вещества, используемые в качестве СО в контроле качества лекарственного растительного сырья и препаратов, как правило, выделяют из растений, содержащих данный метаболит в преобладающей количестве. Следует отметить, что получение веществ высокой степени чистоты (стандартных образцов), является трудоемким процессом, требующим больших научных и материальных затрат. Выделение индивидуальных соединений достигается путём использования методов избирательной жидкостной экстракции суммарного извлечения из растительного сырья в сочетании с колоночной хроматографией и принципов кристаллизацией. Выбор экстрагентов, сорбентов и элюирующей системы растворителей определяется химическими и физико-химическими свойствами выделяемого соединения. Идентификация полученного вещества осуществляется методом ЯМР-спектроскопии, являющегося «золотым стандартом» в установлении структуры индивидуальных соединений и подтверждения их подлинности, а также ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии.

Нормирование качества стандартных образцов растительного происхождения проводится, как правило, по показателям: описание, растворимость, влажность, температура плавления, удельный показатель поглощения и посторонние примеси. Данные показатели определяются для нескольких серий стандартного образца (не менее 5), обосновывается выбор упаковки и условий хранения, устанавливается срок годности. По результатам полученных данных определяются нормируемые значения, на основании

которых оформляется нормативный документ на стандартный образец (фармакопейная статья, технические условия).

В ходе фитохимического изучения надземной части травы цикория обыкновенного было установлено, что одними из основных БАВ, определяющими фармакологическую активность, являются фенольные соединения, среди которых доминирует цикориевая кислота. В связи с чем для подтверждения подлинности сырья использован метод ТСХ со стандартным образцом данного вещества, а также разработана методика количественного определения суммы фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту.

Для надлежащего осуществления контроля качества надземной части травы цикория обыкновенного вне зависимости от зарубежных поставщиков стандартов, в рамках импортозамещения нами разработан способ получения цикориевой кислоты – стандартного образца (СО).

Цикориевая кислота впервые была выделена именно из цикория обыкновенного, от чего и получила своё название. Её структура была подтверждена встречным синтезом [244].

Изучение динамики накопления БАВ в надземной части цикория обыкновенного показало, что наибольшее количество цикориевой кислоты накапливается в листьях, поэтому именно это сырье выбрано для её получения.

Предлагаемая нами технология получения СО цикориевой кислоты заключается в экстракции измельченных листьев спиртом этиловым 70 %, дальнейшим концентрированием извлечения до кубового остатка и последующей жидкостной экстракцией. Сначала кубовый остаток обрабатывали этилацетатом для удаления низкополярных примесей и пигментов, а затем целевое вещество исчерпывающе экстрагировали н-бутанолом. Полученное извлечение отгоняли и упаривали до сухого остатка. Далее бутанольную фракцию последовательно хроматографировали на колонке с полиамидом, а затем колонке с силикагелем. Целевые фракции, содержащие цикориевую кислоту и не содержащие примесей, объединяли и упаривали до

сухого остатка. Кристаллизацию целевого продукта проводили из водного раствора (Рисунок 78).

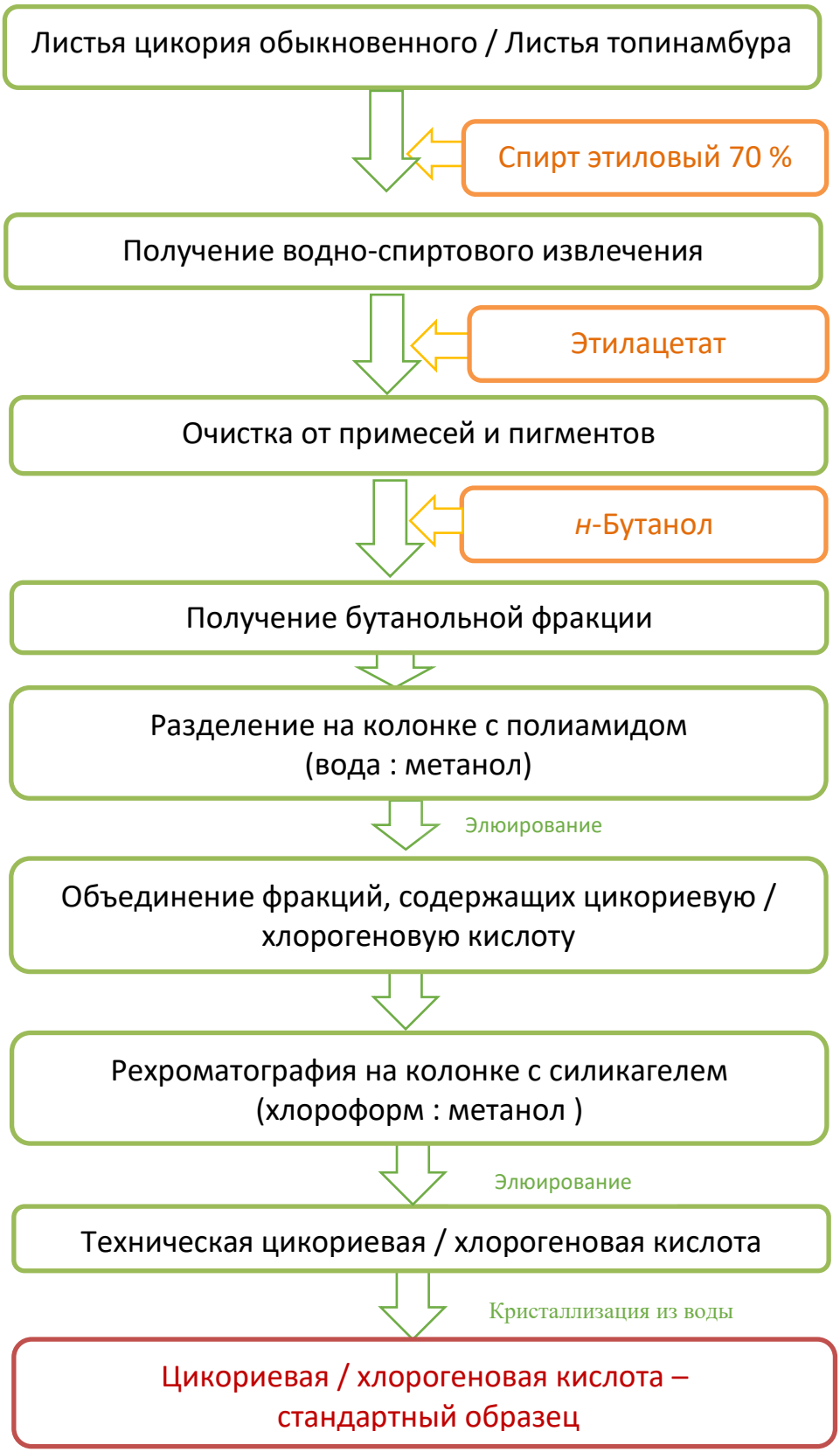



Рисунок 78 – Схема получения стандартных образцов цикориевой и хлорогеновой кислот

СО Цикориевой кислоты представляет собой белый кристаллический порошок с кремоватым оттенком. Для характеристики качества СО были определены такие показатели как растворимость, температура плавления, удельный показатель поглощения, потеря в массе при высушивании; получены УФ- и ЯМР-спектры; методом ВЭЖХ-УФ оценено содержание примесей. На основании анализа качества 5 опытных серий СО цикориевой кислоты, были определены критерии его качества (Таблица 39).

Таблица 39 – Показатели качества опытных серий СО цикориевой кислоты

| Наименование показателя | Нормируемое значение | Серия 1 | Серия 2 | Серия 3 | Серия 4 | Серия 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Описание | Белый с кремоватым оттенком порошок. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. |
| Растворимость | Растворима в спирте этиловом 96 %, спирте метиловом, этилацетате, практически не растворима в воде. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. |
| Подлинность | УФ-спектр 0,0008 % раствора (спирте этиловом 70 %) в области от 220 до 400 нм должен иметь максимумы поглощения при 245±2 и 329±2 нм | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. |
| | В спектре $^{1}$H ЯМР 1 % раствора в ДМСО-d6 должны присутствовать следующие интенсивные сигналы: 5,67 м.д. (2Н, сингл.); 6,35 (2Н, дубл.; 16 Гц); 6,77 (2Н; дубл.; 8Гц); 7,10 (2Н; дупл., 8Гц), 7,09 (2Н, ушир. сингл., 2 Гц); 7,55 (2Н, дубл.; 16 Гц); 9,18 (2Н, сингл.); 9,71 (2Н, сингл.) | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. |
| Удельный показатель поглощения | От 780 до 785 при 329±2 нм | 781 | 784 | 784 | 783 | 783 |
| Температура плавления, °С | 200-208 | 203 | 206 | 205 | 207 | 206 |
| Потеря в массе при высушивании, % | Не более 3 | 2,4 | 1,9 | 1,8 | 1,5 | 2,2 |
| Посторонние примеси, % | Не более 3 | 2,3 | 2,5 | 2,7 | 2,5 | 2,7 |
| Количественное определение | Метод баланса масс | 95,3 | 95,6 | 95,5 | 96,0 | 95,1 |

По результатам проведенных исследований оформлены и утверждены технические условия ТУ 72.19.30-001-04868244-2018 «Цикориевая кислота – стандартный образец». Срок годности 2 года в упаковке, предусмотренной техническими условиями.

Согласно предложенной схеме, была получена хлорогеновая кислота, при этом в качестве сырья использованы стеблевые листья топинамбура – часть травы, содержащая наибольшее количество целевого вещества (Таблица 40).

Таблица 40 – Показатели качества опытных серий СО хлорогеновой кислоты

| Наименование показателя | Нормируемое значение | Серия 1 | Серия 2 | Серия 3 | Серия 4 | Серия 5 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Описание | Белый с сероватым оттенком порошок. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. |
| Растворимость | Растворима в спирте этиловом 96 %, спирте метиловом, этилацетате, практически не растворима в воде. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. |
| Подлинность | УФ-спектр 0,0008 % раствора (спирте этиловом 70 %) в области от 220 до 400 нм должен иметь максимумы поглощения при 245±2 и 327±2 нм | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. |
| | В спектре $^{1}$H ЯМР 1 % раствора в ДМСО-d6 должны присутствовать следующие интенсивные сигналы: 6,37 (д;15,8), 7,54 м.д. (д: 15,8), 6,75 м.д. (Н-5, д; 8,1), 6,97 м.д. (Н-6, д уш; 8,1); 7,02 м.д. (Н-2, с уш); 9,15 м.д. (ОН-3); 9,59 (ОН-4). 1,7 -2,2 м.д., 4,77; 4,93; 5,05 м.д. 3,55; 3,91; 5,53 м.д..; 12,39 м.д. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. |
| Удельный показатель поглощения | От 504 до 508 при 329±2 нм | 504 | 506 | 507 | 504 | 508 |
| Температура плавления, °С | 200-208 | 203 | 206 | 205 | 207 | 206 |
| Потеря в массе при высушивании, % | Не более 3 | 1,9 | 2,1 | 1,8 | 1,6 | 1,9 |
| Посторонние примеси, % | Не более 3 | 2,7 | 2,5 | 2,4 | 2,2 | 2,4 |
| Количественное определение | Метод баланса масс | 95,4 | 95,4 | 95,8 | 96,2 | 95,7 |

По результатам проведенных исследований оформлены и утверждены технические условия ТУ 72.19.30-004-04868244-2021 «Хлорогеновая кислота –

стандартный образец». Срок годности 2 года в упаковке, предусмотренной техническими условиями.

## Выводы к главе 6

1. Разработана унифицированная рациональная схема, позволяющая получать из листьев цикория обыкновенного СО цикориевой кислоты, а из листьев топинамбура – СО хлорогеновой кислоты.

2. На основании анализа 5 серий СО цикориевой кислоты и СО хлорогеновой кислоты предложены критерии их качества.

3. Оформлены технические условия «Цикориевая кислота – стандартный образец», «Хлорогеновая кислота – стандартный образец», которые могут служить основой создания фармакопейной статьи на данные стандартные образцы, в случае придания им статуса «фармакопейного».

# ГЛАВА 7. РАЗРАБОТКА РЕСУРСОСБЕРЕГАЮЩИХ ТЕХНОЛОГИЙ КОМПЛЕКСНОЙ ПЕРЕРАБОТКИ ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО И ТОПИНАМБУРА

В результате проведенного фитохимического исследования, фракционирования и скрининга активности в опытах *in vitro* и *in vivo* было установлено, что фармакологическое действие экстрактов различных частей растений цикория обыкновенного и топинамбура обусловлено наличием комплекса биологически активных веществ. Фракционирование суммарных экстрактов показало, что наибольшей активностью обладают наиболее представительные по химическому составу фракции, при этом зачастую их действие незначительно превышает или сопоставимо с таковым суммарного экстракта.

Многолетний опыт использования суммарных экстрактов растений в качестве лечебных средств также подтверждает их эффективность, обусловленную комплексным воздействием метаболитов растений не только на патологический процесс, но и на компенсаторные, генетически заложенные механизмы адаптации, восстановления и сохранения здоровья [37]. Основные действующие вещества экстрактов активируют соответствующие пути воздействия с интеграцией их функциональных возможностей, а другие (сопутствующие) ингибируют активность отдельных центров, предоставляя возможность основным соединениям проявить в полной мере фармакологическую активность. Благодаря такому многостороннему взаимодействию суммарных растительных средств, содержащих комплекс БАВ в их естественном соотношении, с функциональными системами и регуляторными центрами достигается более выраженный фармакотерапевтический эффект, чем при использовании очищенных экстрактов или индивидуальных соединений, выделенных из растений [58, 38].

В связи с этим рациональным способом переработки исследуемых растений считаем получение сухих суммарных экстрактов надземной части и корней цикория обчыновенного, а также травы топинамбура.

Особенности химического состава шрота, получаемого после экстракции надземных частей растения, позволяют использовать его в качестве кормовой добавки, подземных частей – служить источником получения инулина. Предлагаемые технологические схемы обеспечат продуктивное использование природных ресурсов за счет переработки вторичного сырья (листьев цикория и травы топинамбура) и отходов производства (шрота) от получения фармацевтических субстанций, связав все технологии в единый процесс ресурсосберегающих технологий комплексного использования данных растений.

## 7.1. Технологии переработки цикория обыкновенного

### *7.1.1. Надземная часть (трава, листья)*

Согласно результатам фитохимического изучения травы цикория обыкновенного было установлено, что основной группой БАВ, являются фенольные соединения. В ходе разработки технологии получения экстракта сухого из травы цикория обыкновенного были подобраны оптимальные условия, позволяющие максимально извлекать данные вещества из сырья: тип экстрагента, температура, время, кратность экстракции, соотношение сырье-экстрагент.

При выборе экстрагента использовали воду и спирт этиловый различной концентрации. Результаты исследования представлены в таблице 41.

Таблица 41 – Влияние типа экстрагента на выход экстрактивных веществ и фенольных соединений

| Экстрагент | Экстрактивные вещества, % | Сумма фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту, % |
|---|---|---|
| Вода очищенная | 21,02±1,05 | 2,18±0,10 |
| 40 % спирт | 20,41±1,02 | 2,64±0,12 |
| 50 % спирт | 19,88±1,00 | 2,67±0,13 |
| 70 % спирт | 19,59±0,98 | 2,65±0,12 |

Из данных таблицы 1 следует, что выход суммы экстрактивных веществ выше при использовании воды очищенной, однако содержание фенольных соединений ниже, чем при использовании спирта этилового. Данный экстрагент

в используемых концентрациях 40, 50, 70 % позволяет извлекать сопоставимое количество БАВ. Однако, при использовании спирта этилового 70 % удается получить прозрачное извлечение, что будет упрощать последующий процесс фильтрации.

Измельченность сырья оказывает большое влияние на процесс экстракции. На основании полученных экспериментальных данных определено, что оптимальным степенью измельчения сырья является 3-5 мм (Таблица 42). Уменьшение размера частиц, несмотря на большее содержание БАВ, приводит к получению опалесцирующих извлечений и затруднению процесса фильтрования.

Таблица 42 – Влияние степени измельчения сырья на выход суммы экстрактивных веществ и суммы полифенольных соединений

| Степень измельчения, мм | Экстрактивные веществ, % | Сумма фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту, % |
|---|---|---|
| 1 | 24,10±1,20 | 2,65±0,12 |
| 2 | 20,07±1,00 | 2,54±0,12 |
| 3 | 20,03±1,02 | 2,36±0,11 |
| 5 | 19,57±0,98 | 2,01±0,09 |
| 7 | 18,70±0,93 | 1,87±0,09 |

Также экспериментально было показано, что увеличение температуры положительно влияет на эффективность процесса экстракции, увеличивая выход экстрактивных веществ и фенольных соединений (Таблица 43).

Таблица 43 – Влияние температуры экстракции на выход экстрактивных веществ и фенольных соединений

| Температура экстракции, ºС | Экстрактивные веществ, % | Сумма фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту, % |
|---|---|---|
| 25 | 12,64±0,63 | 1,34±0,062 |
| 40 | 16,26±0,81 | 2,17±0,10 |
| 60 | 19,51±0,98 | 2,36±0,11 |
| 80 | 20,05±1,00 | 2,65±0,12 |

Экстракцию сырья предложено проводить при температуре (60±5) ºС. Данный температурный режим обеспечивает высокий выход экстрактивных и фенольных соединений при минимальных затратах электроэнергии.

Также опытным путем установлено, что при однократном экстрагировании оптимальным соотношением фаз является 1:12 (сырье –

экстрагент). Ввиду особенности структуры сырья, меньшее соотношение не позволяет проводить равномерное перемешивание экстракционной массы в процессе экстракции и, тем самым, приводит к неэффективному извлечению БАВ (Таблица 44).

Таблица 44 - Зависимость выхода экстрактивных веществ и фенольных соединений от соотношения сырья и экстрагента при трёхкратной экстракции

| Соотношение сырье : экстрагент | Экстрактивные веществ, % | Сумма фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту, % |
|---|---|---|
| 1:8 | 18,74±0,94 | 1,98±0,09 |
| 1:10 | 19,16±0,96 | 2,36±0,11 |
| 1:12 | 20,78±1,04 | 2,58±0,12 |
| 1:15 | 20,81±1,04 | 2,64±0,12 |

В эксперименте при однократной экстракции было установлено, что в течение 2 часов в соотношении 1:12 достигается извлечение 58,6 % экстрактивных веществ, дальнейшее увеличение времени экстракции приводит к незначительному повышению их выхода и является нецелесообразным. Вторая экстракция при таком же режиме позволяет извлечь 24,1 %, а третья – 9,4 % экстрактивных веществ. Таким образом, при трёхкратной экстракции сырья происходит его истощение на 91,2 %.

С целью ускорения экстракционного процесса, экстракцию сырья следует вести при постоянном перемешивании, поскольку при этом происходит обновление поверхности контактирующих фаз, что приводит к увеличению движущей силы процесса извлечения БАВ.

Таким образом, оптимальным является проведение трехкратной экстракции по 2 ч сырья со степенью измельчения 5 мм в соотношении 1:12 при использовании в качестве экстрагента спирта этилового 70 % и нагревания до (60±5) ºС.

Для очистки экстракта от смолистых веществ, способных ухудшать технологические свойства и сокращать срок хранения, предложено использовать жидкостную экстракцию дихлорэтаном. Соотношение и кратность обработки определены экспериментальным путём.

На основании подобранных оптимальных параметров процесса экстракции и очистка предложена технологическая схема производства экстракта сухого, включающая следующие стадии (Рисунок 79):

ВР. 1. Подготовка персонала к работе

ВР. 2. Подготовка производственных помещений

ВР. 3. Подготовка оборудования

ВР. 4. Получение воды очищенной

ТП. 5. Просмотр и измельчение растительного материала

ТП. 6. Получение готового продукта

УМО. 7. Фасовка, маркировка, упаковка

Согласно предложенной схеме, были проведены экспериментальные загрузки и получены три опытные серии экстракта. Анализ готового продукта и отходов производства осуществляли по сумме фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту. Данные по лабораторным загрузкам приведены в таблице 45.

***Изложение технологического процесса***

*ВР.1 – ВР 4*

Стадии вспомогательных работ включают подготовку персонала к работе, помещений и необходимого оборудования, а также получение воды очищенной, соответствующей ФС.2.2.0020.18 «Вода очищенная».

*ТП. 5 Просмотр и измельчение растительного сырья*

Растительное сырье (травы цикория обыкновенного), заготовленное вручную в дикорастущих условиях и соответствующее требованиям проекта ФС «Цикория обыкновенного трава», измельчают до размера частиц не более 5 мм.

*ТП.6 Получение готового продукта*

*ТП.6.1 Приготовление спирта этилового 70 % и экстракция измельченного сырья*

В реактор помещают 2,45 л спирта этилового 96,5 % и 1,01 л воды очищенной, перемешивают в течение на 10-15 мин, затем и отбирают пробу

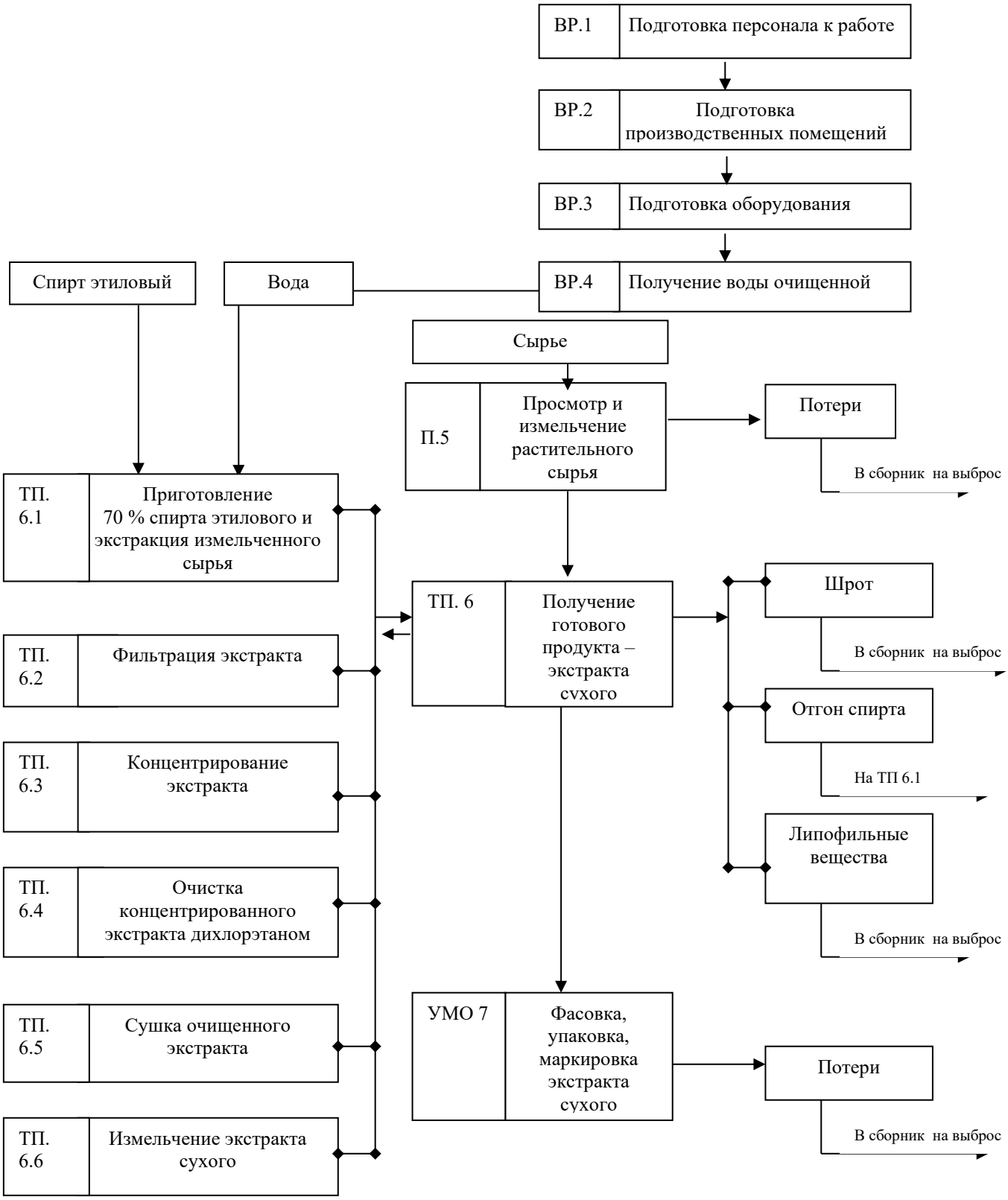



Рисунок 79 – Технологическая схема производства цикория обыкновенного травы экстракта сухого

Таблица 45 – Результаты лабораторных загрузок получения цикория обыкновенного травы экстракта сухого

| № п/п | СЫРЬЕ | | | | ГОТОВЫЙ ПРОДУКТ | | | | Выход экстракта сухого от содержания экстрактивных веществ в сырье, % | Выход суммы фенольных соединений от содержания в сырье, % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Масса воздушно-сухого сырья, г | Потеря в массе при высушивании, % | Содержание суммы экстрактивных веществ, % | Содержание суммы фенольных соединений, % | Получено готового продукта, г | Потеря в массе при высушивании, % | Техническая масса абсолютно сухого, г | Содержание суммы фенольных соединений, % | | |
| 1 | 300,00 | 7,50 | 20,78 | 2,33 | 45,34 | 2,81 | 44,07 | 8,10 | 72,9 | 55,23 |
| 2 | 300,00 | 7,50 | 20,78 | 2,33 | 47,76 | 2,84 | 46,37 | 8,36 | 76,71 | 59,91 |
| 3 | 300,00 | 7,50 | 20,78 | 2,33 | 46,55 | 2,87 | 45,21 | 8,00 | 74,79 | 55,90 |

полученного водного спирта для определения его крепости на анализ. Получают 3,36 л спирта этилового 70 % (плотность 0,880 г/см$^3$).

Для приготовления спирта этилового 70 % используют также отгон спирта, поступающий со стадии ТП 6.3 и отгон спирта из шрота.

При первоначальном ведении процесса экстракцию измельченного сырья проводят в колбе, вместимостью 5 л спиртом этиловым 70 %. При последующих загрузках на первую экстракцию подают третье извлечение предыдущей загрузки. В колбу помещают взвешенные 300,0 г измельченного сырья цикория обыкновенного, затем загружают третий водно-спиртовой экстракт предыдущей загрузки в количестве 2,62 л и добавляют 0,74 л спирта этилового 70 %. Общий объем экстрагента подаваемого на свежее сырье составляет 3,36 л.

Первую экстракцию из сырья проводят при температуре (60±5) ºС в течение 2 часов при постоянном перемешивании. После окончания экстракции первый водно-спиртовой экстракт в количестве 2,76 л сливают в колбу.

Аналогичным образом проводят еще две экстракции спиртом этиловым 70 %, заливая каждый раз сырьё количеством экстрагента, равным объему слитого извлечения. После второй экстракции получают 2,64 л второго извлечения. Первый и второй экстракты в количестве 5,40 л направляют на следующую операцию технологического процесса ТП. 6.2.

Третий экстракт используют для экстракции новой порции сырья следующей загрузки.

Шрот, оставшийся после трехкратной экстракции, содержит спирт этиловый 70 %, поэтому его регенерируют, а полученный отгон водного спирта 71 % используют для приготовления экстрагента. Шрот после отгонки подлежит утилизации.

*ТП. 6.2 Фильтрация экстракта*

После проведения экстракции первый и второй экстракты фильтруют через бязь на воронке Бюхнера под вакуумумом.

*ТП. 6.3 Концентрирование экстракта*

Объединенный экстракт в количестве 5,40 л после фильтрации порциями упаривают на роторном испарителе при температуре реакционной массы (60±5) ºС под вакуумом приблизительно до 1/15 первоначального объема.

В результате упаривания получают водный кубовой остаток (0,4 л) и отгон спирта этилового, который вновь используют для приготовления экстрагента.

*ТП 6.4 Очистка концентрированного экстракта*

Концентрированный экстракт подвергают очистке от балластных веществ путём трёхкратной обработки дихлорэтаном в соотношении (1:2) в делительной воронке. Дихлорэтановые извлечения объединяют и упаривают. Регенерированный дихлорэтан используют для очистки концентрированных извлечений следующих загрузок. Остаток смолистых веществ не используют. Полученный очищенный экстракт в количестве 0,29 л и передают на ТП 6.5.

*ТП 6.5. Сушка очищенного экстракта*

Очищенный экстракт сушат в вакуумном сушильном шкафу при температуре (60±5) ºС и остаточном давлении 0,7 кгс/см$^2$. Получают сухой твердый остаток, который передают на ТП 6.6.

*ТП 6.6. Измельчение экстракта сухого*

Полученный твердый остаток высушенного экстракта измельчают с помощью мельницы и получают готовый продукт – цикория обыкновенного травы экстракт сухой в количестве 46,37 г.

*УМО 7. Фасовка и упаковка экстракта сухого*

Цикория обыкновенного травы экстракт сухой после анализа на соответствие требований проекта ФС расфасовывают по 50 г в банки оранжевого стекла типа БВ-1000-63-ОС-1 или БВ-2000-90-ОС-1 по ОСТ 64-2-71-80 с навинчиваемыми пластмассовыми крышками типа 1.1-90 снабженными прокладками из картона с двусторонним полиэтиленовым покрытием. Крышку сверху обтягивают пергаментом, обвязывают нитками

хлопчатобумажными швейными, концы которых подводят под этикетку и заливают парафином по. Банки обертывают бумагой. На банку и бумагу наклеивают этикетку из бумаги этикеточной или писчей. Каждую банку помещают в пачку из картона марки АК или типа хром-эрзац.

Хранить цикория обыкновенного травы экстракт сухой необходимо в сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 20 ˚С.

На основании проведенных загрузок оформлен и утвержден лабораторный регламент на производство цикория обыкновенного травы экстракта сухого ЛР-02468244-04-2021. Новизна предлагаемого способа получения экстракта подтверждена патентом РФ № 2710270 «Средство, обладающее иммуномодулирующей активностью, и способ его получения».

Готовый продукт – цикория обыкновенного травы экстракт сухой представляет собой аморфный порошок желто-коричневого цвета со специфическим запахом, гигроскопичен, комкуется. Сыпучесть 2,23±0,02 г/с; угол естественного откоса 33±1° С; насыпная плотность при свободном падении 0,70±0,01 г/см$^3$, с уплотнением – 1,02±0,02 г/см$^3$. Показатели качества полученной субстанции приведены в таблице 46.

Исследование фармакологической активности в опытах *in vivo* на модели токсического гепатита, вызванного четырёххлористым углеродом, показало, что травы цикория обыкновенного экстракт сухой в дозе 100 и 500 мг/кг обладает выраженным антигепатотоксическим действием, сопоставимым с действием Силимара®.

При экспериментальном иммунодефиците, вызванном цитостатиком азатиоприном, цикория обыкновенного травы экстракт сухой в дозе 30 мг/кг проявил активность по отношению к реакциям клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа. Не изменяя показатели иммунитета интактных животных, цикория обыкновенного травы экстракт сухой способен ослаблять супрессивное действие азатиоприна на клеточно-опосредованную иммунную реакцию, антителогенез и фагоцитоз

макрофагов. Наряду с этим, установлена его антиоксидантная, противовоспалительная, гипохолестеринемическая, желчегонная активность.

Таблица 46 – Показатели качества цикория обыкновенного травы экстракта сухого

| Название показателя | Метод исследования | Нормируемое значение |
|---|---|---|
| Описание | Визуальный | Аморфный порошок желто-коричневого цвета со специфическим запахом, гигроскопичен, комкуется |
| Растворимость | ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0007.15 | Легко растворим в воде при нагревании, практически нерастворим в спирте |
| Подлинность | ТСХ | На хроматограмме испытуемого раствора должна наблюдаться зона адсорбции с Rf около 0,37 желто-зеленой флуоресценции, соответствующей аналогичной зоне СО цикориевой кислоты и с Rf около 0,46 зеленовато-голубой флуоресценцией соответствующей аналогичной зоне СО эскулетина |
| Влажность, % | ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0007.15 | Не более 5 |
| Тяжелые металлы и мышьяк, мг/кг:<br>свинец<br>кадмий<br>ртуть<br>мышьяк | ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0001.15 | <br>Не более 6,0<br>Не более 1,0<br>Не более 0,1<br>Не более 0,5 |
| Радионуклиды, Бк/кг:<br>цезий-137<br>стронций-90 | ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0001.15 | <br>Не более 400<br>Не более 200 |
| Остаточные пестициды, мг/кг:<br>α-гексахлорциклогексан и его изомеры)<br>ДДТ и его метаболиты<br>алдрин<br>гептахлор | ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0009.15 | <br>Не более 0,1<br>Не более 0,1<br>Не допускается<br>Не допускается |
| Остаточные органические растворители, % | ГФ РФ XIV ОФС.1.1.0008.15 | Не более 0,5 |
| Микробиологическая чистота | ГФ РФ XIV ОФС.1.2.4.0002.18 | Категория 3Б |
| Количественное определение | Спектрофотометрия | Суммы фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту не менее 8 % |
| Срок годности | | 2 года |

Таким образом, цикория травы обыкновенного экстракт сухой представляет собой стандартизованную фармацевтическую субстанцию и может быть использован для получения лекарственных форм.

На основании экспериментального подбора вспомогательных веществ была показана возможность получения твердой лекарственной формы в виде капсул следующего состава:

| | |
|---|---|
| Цикория обыкновенного травы экстракт сухой | 0,075 |
| Лактоза безводная SuperTab 24AN | 0,166 |
| Aerosil® 380 | 0,007 |
| Кальция стеарат растительный | 0,002 |
| *Масса капсулы* | *0,250* |

Рациональность предложенной технологической схемы была подтверждена при получении экстракта сухого листьев культивируемого цикория обыкновенного, являющихся отходом производства. По внешнему виду и технологическим характеристикам полученный экстракт не отличатся от экстракта, наработанного из травы дикорастущего растения. Однако норма содержания фенольных соединений установлена не менее 10 % ввиду более высокой нормы по этому показателю в листья по сравнению с травой цикория обыкновенного.

По данным фармакологического исследования экстракт листьев цикория обыкновенного также обладает иммуномодующей активностью в аналогичной дозе и оказывает своё действие на гуморальном, клеточном и макрофагальном уровне иммунного ответа, незначительно превосходя по активности экстракт травы цикория обыкновенного. Такие различия вероятно связаны с бóльшим содержанием фенольных соединений в сырье культивируемых растений.

### *7.1.2. Подземная часть (корни)*

На основании результатов фитохимического и фармакогностического исследования было показано, что в качестве лекарственного растительного сырья рационально использовать корни культивируемых растений.

Учитывая, высокое содержание углеводных компонентов и незначительный вклад в гепатопротекторное действие, нами предложена технология переработки данного сырья, позволяющая получить несколько продуктов (Рисунок 80).

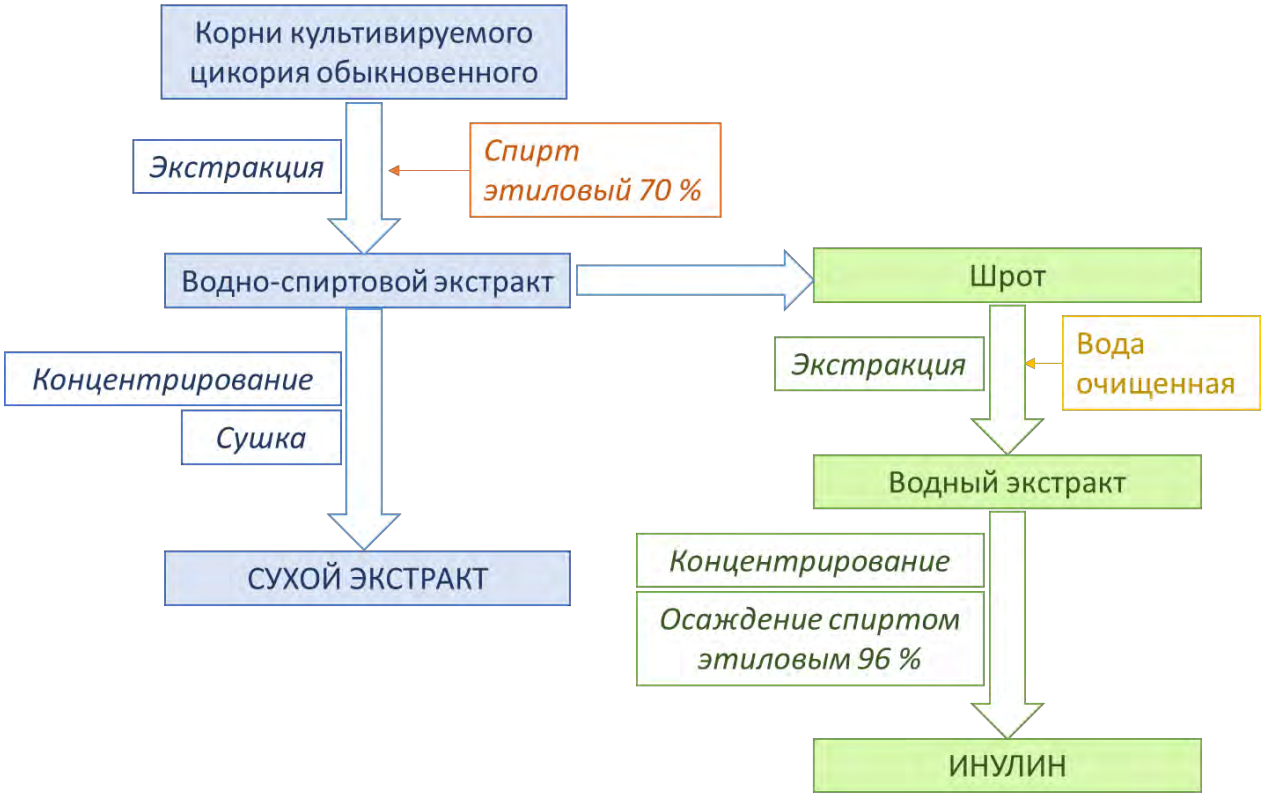



Рисунок 80 – Схема переработки корней цикория обыкновенного

Предложенная технология комплексного использования корней позволяет получить экстракт сухой, представляющий собой аморфный порошок светло-коричневого цвета, гигроскопичен. Сыпучесть (с вибрацией) 2,00±0,03 г/с; угол естественного откоса 29±1° С; насыпная плотность при свободном падении 0,69±0,01 г/см$^3$, с уплотнением – 0,88±0,02 г/см$^3$. Выход получения экстракта от сырья составляет 84,3 %.

По результатам фармакологического исследования в опытах *in vivo* полученный экстракт обладает желчегонным и гепатопротекторным действием.

Шрот, оставшийся после водно-спиртовой экстракции может служить сырьём для получения инулина.

Большинство известных способов получения инулина подразумевают водную экстракцию из корней цикория (или топинамбура) и последующую очистку посредством ионообменных смол и активированного угля. Предлагаемый нами способ комплексной переработки корней, позволяет получить экстракт сухой и инулин в одной технологической схеме. Экстракция спиртом позволяет извлечь низкомолекулярные соединения и, наряду с получением экстракта сухого, является стадией предварительной очистки сырья для выделения инулина.

Полученный согласно представленной схеме инулин представляет собой аморфный порошок белого с сероватым оттенком цвета. Выход от сырья составляет 32,6 % (от массы шрота). Химическая структура полученного вещества подтверждена методом ЯМР-спектроскопии (Рисунок 81).

Спектр $^{1}$H ЯМР раствора инулина в $D_2O$ состоит из спектра одной молекулы остатка глюкозы и n количества мономерных единиц фруктозы.

Сигнал протона H-1 (1H; 6,36, д;2,9) остатка глюкозы находится в области, отдельной от сигналов других протонов инулина (3,5-4,3 м.д.), в которой находятся сигналы всех остатков фруктозы и пять сигналов CH и $CH_2$ групп глюкозного фрагмента.

Для определения количества мономерных единиц фруктозы в полифруктозане производится интегрирование H-1 сигнала глюкозного фрагмента и сигналов протонов в области 3,5-4,3 м.д.

Учитывая, что вклад в интегральную интенсивность в этой области сигналов вносят семь протонов (два метиленовых и три метиновых протона) мономерной единицы фруктозы, то для нахождения протонной единицы фруктозного фрагмента полученное значение интеграла нужно разделить на 7. Согласно полученному спектру, количество мономерных единиц фруктозы для измеряемого образца равно 30. Согласно данным литературы количество остатков фруктозы колеблется в пределах 27-33.

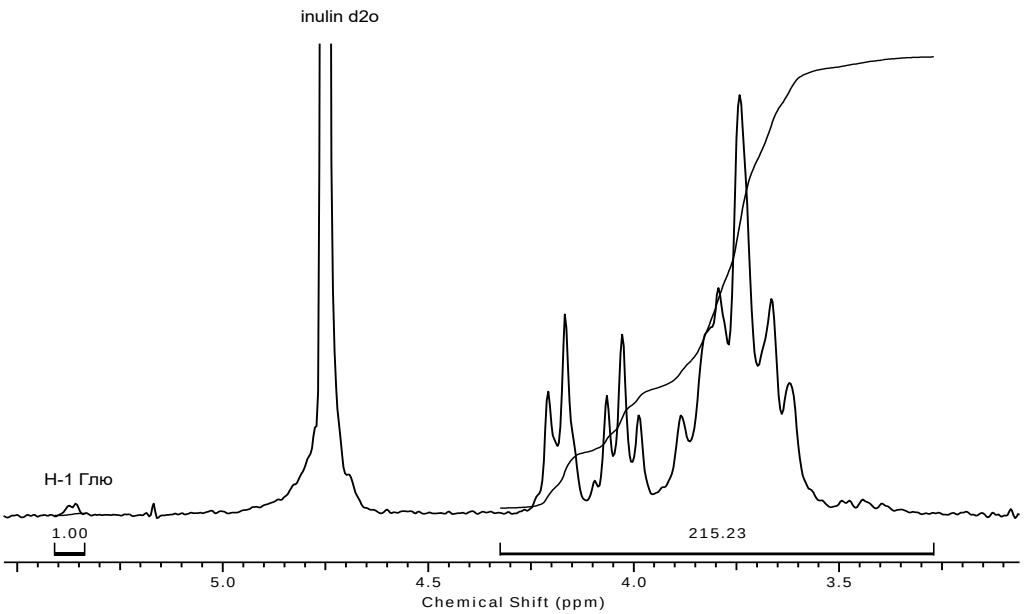



Рисунок 81 – $^{1}$H ЯМР-спектр инулина, выделенного из корней цикория обыкновенного

Таким образом, предложенная схема переработки корней культивируемого цикория позволяет получить экстракт сухой низкомолекулярных соединений для последующей разработки на его основе гепатопротекторного средства, а также инулин, который находит широкое применение в пищевой промышленности и в составе биологически активных добавок к пище.

## 7.2. Технология переработки травы топинамбура

Трава топинамбура, являющаяся отходом производства при выращивании клубней для пищевого применения, аналогично листьям культивируемого цикория, может служить источником получения БАВ.

Учитывая схожесть химического состава исследуемых видов растений, за основу была взята схема получения цикория обыкновенного травы экстракта сухого. В ходе проведенных исследований была подтверждена рациональность разработанной технологии, согласно которой в лабораторных условиях были проведены загрузки и получены три опытные серии экстракта сухого. В качестве сырья использована трава топинамбура, заготовленная в Тверской области в 2018 году с содержанием суммы

фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту 5,06 %. (влажность 7,4 %). Выход по экстрактивным веществам составил 83,3 %, по фенольным соединениям – 79,5 %. По результатам проведенных балансовых загрузок оформлен и утвержден лабораторный регламент ЛР-04868244-05-2021 на получение топинамбура травы экстракта сухого.

Готовый продукт представляет собой аморфный порошок коричневого с желтоватым оттенком цвета, гигроскопичен, комкуется. Сыпучесть 6,83±0,04 г/с; угол естественного откоса 23±1° С; насыпная плотность при свободном падении 0,50±0,01 г/см$^3$, с уплотнением – 0,60±0,02 г/см$^3$.

Показатели качества и нормируемые значения для топинамбура травы экстракта сухого приведены в таблице 46.

Таблица 46 – Показатели качества топинамбура травы экстракта сухого

| Название показателя | Метод исследования | Нормируемое значение |
|---|---|---|
| Описание | Визуальный | аморфный порошок коричневого с желтоватым оттенком цвета, гигроскопичен, комкуется |
| Растворимость | ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0007.15 | Легко растворим в воде и 70 % спирте, нерастворим в 96 % спирте. |
| Подлинность | ТСХ | На хроматограмме испытуемого раствора должна наблюдаться зона адсорбции с Rf около зона с Rf около 0,37 зеленой флуоресценции, соответствующая аналогичной зоне СО хлорогеновой кислоты |
| Влажность, % | ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0007.15 | Не более 5 |
| Тяжелые металлы и мышьяк, мг/кг:<br>свинец<br>кадмий<br>ртуть<br>мышьяк | ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0001.15 | <br><br>Не более 6,0<br>Не более 1,0<br>Не более 0,1<br>Не более 0,5 |
| Радионуклиды, Бк/кг:<br>цезий-137<br>стронций-90 | ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0001.15 | <br>Не более 400<br>Не более 200 |
| Остаточные пестициды, мг/кг:<br>α-гексахлорциклогексан и его изомеры)<br>ДДТ и его метаболиты | ГФ РФ XIV ОФС.1.5.3.0009.15 | <br><br>Не более 0,1<br>Не более 0,1<br>Не допускается<br>Не допускается |

| | | |
|---|---|---|
| алдрин<br>гептахлор | | |
| Остаточные органические растворители, % | ГФ РФ XIV ОФС.1.1.0008.15 | Не более 0,5 |
| Микробиологическая чистота | ГФ РФ XIV ОФС.1.2.4.0002.18 | Категория 3Б |
| Количественное определение | Спектрофотометрия | Суммы фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту не менее 5 % |
| Срок годности | | 2 года |

Полученный экстракт травы топинамбура является потенциальной фармацевтической субстанцией иммуномодулирующего и гепатопротекторного действия и может служить основой создания лекарственных форм перорального применения.

### 7.3. Использование шрота цикория обыкновенного

Лекарственное растительное сырьё содержит большое разнообразие групп БАВ в своем составе. Процесс разработки технологии получения субстанций растительного происхождения направлен на определение оптимальных параметров максимального извлечения целевых соединений, при этом в шроте остаются сопутствующие вещества, которые также могут быть использованы.

В связи с этим, нами исследована возможность использования шрота надземной и подземной части цикория обыкновенного в качестве кормовой добавки для жвачных животных. Для этого был, определено содержание общего белка, общего азота (по содержанию азота), аминного азота содержание суммы аминокислот, исследован аминокислотный состав. Результаты представлены в таблице 47.

Согласно ГОСТ 31674-2012 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения общей токсичности» проведено исследование шрота на мышах-самцах линии *BALB/c*. При одно- и двукратном введении водных извлечений из шрота в желудок мышам-самцам в объемах 0,5 и 1,0 мг на 20 г массы тела животного не отмечено признаков острой интоксикации. На

протяжении всего периода наблюдения (14 дней) гибели животных не зарегистрировано, в связи с чем, не были установлены средне-смертельные дозы. Исследуемые образцы шрота в соответствии с модифицированной классификацией OECD 420 отнесены к малотоксичным веществам.

Таблица 47– Результаты исследования шрота цикория обыкновенного

| Наименование показателя | ШРОТ | | |
|---|---|---|---|
| | листьев цикория обыкновенного | травы цикория обыкновенного | корней цикория обыкновенного |
| Общий азот, % | 3,39 | 2,14 | 0,94 |
| Общий белок, % | 21,19 | 13,38 | 5,88 |
| Аминный азот, % | 0,26 | 0,24 | 0,15 |
| Сумма аминокислот в пересчете на глутаминовую кислоту, % | 0,38 | 0,35 | 0,41 |
| Содержание аминокислот (г/100 г продукта): | | | |
| Аспарагиновая кислота | 1,18 | 1,45 | 0,41 |
| Глутаминовая кислота | 2,34 | 2,71 | 2,81 |
| Серин | 0,80 | 0,18 | 0,15 |
| Гистидин | 0,77 | 0,71 | 0,09 |
| Глицин | 1,04 | 0,45 | 0,76 |
| Треонин | 0,70 | 0,49 | 0,46 |
| Аргинин | 1,82 | 0,99 | 0,21 |
| Аланин | 1,66 | 0,34 | 0,80 |
| Тирозин | 1,64 | 0,77 | 0,27 |
| Цистин | 0,30 | 0,65 | 0,18 |
| Валин | 1,06 | 0,53 | 0,32 |
| Метионин | 0,66 | 0,24 | 0,11 |
| Фенилаланин | 0,82 | 0,47 | 0,27 |
| Изолейцин | 0,98 | 0,44 | 0,31 |
| Лейцин | 1,65 | 0,82 | 0,22 |
| Лизин | 2,15 | 0,84 | 0,99 |
| Пролин | 1,17 | 0,97 | 1,24 |
| *Всего* | *20,74* | *13,05* | *9,61* |

В результате проведенного исследования было установлено, что шрот после получения экстрактов сухих может быть использован в пищевом

рационе жвачных животных в качестве дополнительного источника белковых веществ.

## Выводы к главе 7

1. Подобраны оптимальные условия извлечения фенольных соединений из травы цикория обыкновенного, позволяющие разработать способ получения экстракта сухого, представляющей собой стандартизованную фармацевтическую субстанцию гепатопротекторного и иммуномодулирующего действия. Оформлен лабораторный регламент. Установлены критерии качества субстанции, показана возможность получения на её основе твердой лекарственной формы в виде капсул.

2. Согласно предложенной схеме получен цикория обыкновенного листьев экстракт сухой, тем самым подтверждена целесообразность использования данного сырья в качестве дополнительного источника фенольных соединений, обладающих фармакологической активностью.

3. Предложена технология комплексной переработки корней культивируемого цикория обыкновенного и экспериментально подтверждена возможность получения экстракта сухого и инулина в одном технологическом процессе.

4. Определено, что схема получения экстракта травы цикория обыкновенного может быть использована и для производства топинамбура травы экстракта сухого. Установлены показатели качества субстанции, оформлен лабораторный регламент.

5. Показана возможность использования шрота травы, листьев и корней цикория обыкновенного для обогащения пищевого рациона жвачных животных веществами белковой природы.

# ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время, расширение номенклатуры лекарственных средств, применяемых при различных заболеваниях, а том числе характеризующихся хроническим течением, за счет разработки новых препаратов растительного происхождения остается актуальным направлением фармацевтической науки в рамках импортозамещения.

Комплексная переработка растений позволяет разрабатывать рациональные экономически целесообразные технологии, обеспечивающие получение фармацевтических субстанций и создание на их основе современных лекарственных форм, а также функциональных пищевых продуктов. За счет применения ресурсосберегающих подходов достигается получение профилактических и лечебных средств, доступных широким слоям населения Российской Федерации.

Информационно-аналитические исследования позволили обосновать выбор перспективных видов растений семейства Астровых. В ходе фитохимических исследований и биологического скрининга была подтверждена целесообразность комплексного использования данных растений.

В результате проведенных исследований детально охарактеризован качественный состав травы цикория обыкновенного, установлены закономерности накопления и распределения БАВ в растении. На основании анализа опытных партий сырья предложены критерии его качества. Разработана и валидирована методика количественного определения фенольных соединений, являющаяся инструментом оценки их содержания в сырье, а также при постадийном контроле производства экстрактов сухих.

На основании полученных данных показана возможность использования листьев кулитивируесых сортов цикория обыкновенного в качестве дополнительного источника получения БАВ фенольного характера.

Наряду с этим, экспериментально подтверждена перспективность применения корней данного растения для получения фармацевтических субстанции и инулина, а также шрота – в качестве кормовой добавки.

При исследовании травы топинамбура установлена возможность её использования для получения лечебных средств целенаправленной фармакологической активности. Фитохимический анализ показал схожесть качественного состава листьев цикория обыкновенного и травы топинамбура, что позволило использовать единые подходы к разработке методик контроля качества и технологий их переработки.

Для унификации приёмов качественного и количественного анализа сырья предложено использование стандартных образцов веществ, являющихся их доминирующими компонентами. Разработана единая схема получения стандартных образцов, определены критерии их качества.

Таким образом, в результате комплексной переработки цикория обыкновенного получены фармацевтические субстанции гепатопротекторного и иммуномодулирующего действия, продукты пищевого назначения, а также кормовые добавки для животных. Показана возможность получения субстанции иммуномодулирующего действия из травы топинамбура. Разработана сопроводительная нормативно-техническая документация.

Обобщая полученные данные, можно сделать заключение, что предложенная концептуальная схема на основе комплексной переработки растений может служить алгоритмом действий, позволяющим проводить разработку новых эффективных лекарственных средств целенаправленного фармакологического действия с использованием отечественных растительных ресурсов.

## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Предложена концептуальная схема создания новых лекарственных средств и функциональных продуктов, заключающаяся в комплексном использований растений и позоляющая разрабатывать ресурсосберегающие технологии получения фармацевтических субстанций и пищевых добвок со стабильными показателями качества.

2. В траве дикорастущего цикория методом ВЭЖХ-УФ-МС/МС идентифицированны соединения фенольного характера, предствленные оксикумаринами (эскулетином и цикориином), гидроксикоричными кислотами (сложными эфирами кофейной, феруловой, кумаровой кислот с винной и хинной кислотами в различных сочетаниях) и флавоноидами (гликозидами кверцетина, кемпферола и лютеолина). Определены морфолого-анатомические признаки исследуемого сырья, установлены критерии его качества и нормы содержания фенольных соединений.

3. Установлена схожесть химического состава травы дикорастущих и листьев культивируемых растений, что подтверждает возможность использования сырья культивируемых сортов для расширения сырьевой базы дикорастущих видов.

4. Выявлены особенности распределения БАВ и их накопление в зависимости от места произрастания и сроков заготовки; определен оптимальный режим сушки сырья; разработана и валидирована методика количественного определения суммы фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту в траве и листьях цикория обыкновенного.

5. Обоснована целесообразность применения в качестве лекарственного растительного сырья корней культивируемых сортов, имеющих схожий состав БАВ с сырьём дикорастущих растений. Установлены показатели качества данного сырья.

6. Охарактеризован фенольный комплекс травы топинамбура, представленный гидроксикоричными кислотами и флавоноидами; изучены закономерности их накопления в растении; определены критерии качества

сырья, разработана и валидирована методика количественного определения суммы фенольных соединений в пересчете на хлорогеновую кислоту.

7. Предложен способ получения стандартных образцов цикориевой кислоты из листьев цикория обыкновенного и хлорогеновой кислоты - из листьев топинамбура, которые могут быть использованы в методиках контроля качества данного сырья, лекарственных средств и продуктов пищевого назначения.

8. Разработана рациональная технология получения фармацевтических субстанций; предложен способ переработки корней культивируемого цикория, позволяющий получить экстракт сухой и инулин в рамках единой технологической схемы; утверждены лабораторные регламенты на производство фармацевтических субстанций из травы цикория обыкновенного и травы топинамбура.

9. Оформлены проекты фармакопейных статей на новые виды лекарственного растительного сырья «Цикория обыкновенного трава», «Цикория обыкновенного листья», «Топинамбура трава», а также технические условия «Цикориевая кислота – стандартный образец», «Хлорогеновая кислота – стандартный образец».

# СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

| | |
|---|---|
| БАВ | Биологически активные вещества |
| АЛТ | Аланинаминотрансфераза |
| АСТ | Аспартатаминотрансфераза |
| АХЭ | Ацетилхолинэстераза |
| ВЭЖХ-УФ | Высокоэффективнаяжидкостная хроматография с УФ-детектированием |
| ВЭЖХ-УФ-МС/МС | Высокоэффективная жидкостная хромато-масс-спектрометрия |
| ГФ РФ | Государственная фармакопея Российской Федерации |
| МДА | Малоновый альдегид |
| СО | Стандартный образец |
| СФМ | Спектрофотометрия |
| ФС | Фармакопейная статья |
| ЩФ | Щелочная фосфатаза |
| ЯМР | Ядерный магнитный резонанс |
| ЭА | Этилацетатная фракция |
| БУ | Бутанольная фракция |
| СП | Спиртовая фракция |
| ВО | Водная фракция |
| м.д. | Миллионные доли |
| хс | Химический сдвиг |
| д. | Дуплет |
| с. | Синглет |

# СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ


1. Агроэкологический атлас Росси и сопредельных стран: экологически значимые растения их болезни, вредители и сорные растения. [Электронный ресурс]. – URL: http://www.agroatlas.ru/ru/content/related/Cichorium_intybus/map/

2. Апаева А.В. Исследование экстракции флавоноидов из плодовых оболочек гречихи в различных условиях / А.В.Апаева, Э.Т.Ямансарова, О.С. Куковинец // Вестник Башкирского университета. – 2015. – 20 (4). – С. 1223-1226.

3. Аскаров И.Р. Химический состав отходов лекарственных трав Aconitum L. и Thermopsis alterniflora / И.Р.Аскаров, М.Х.Мамарахмонов, Ш.У.Йулдашев // Universum: химия и биология: электроный научный журнал. – 2019. – № 8 (62). [Электронный ресурс]. – URL: https://7universum.com/ru/nature/archive/item/7693

4. Белоусова А.Л. Лечебные и профилактические средства на основе топинамбура / А.Л. Белоусова // Молодые ученые – медицине: Тезисы докладов Всероссийской конференции. – Самара, 2003. – С. 59-60.

5. Белоусова А.Л. Фотохимическое исследование травы топинамбура / А.Л.Белоусова, С.А. Саенко, Н.С. Зяблицева // Региональная конф. по фармации, фармакологи и подготовке кадров: Материалы. – Пятигорск, 2001. – С. 12-13.

6. Бибикова Н.Е. Комплексная технология переработки корня солодки / Бибикова Наталья Евгеньевна. Автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.01 - фармацевтическая химия, фармакогнозия. – Москва, 1999. – 24 с.

7. Биологически активные вещества гомеопатического лекарственного сырья / Патудин А.В., Терешина Н.С., Мищенко В.С., Ильенко Л.И.. – Москва, 2009. – С.122-123.

8. Богатырева О.А. Биоресурсы цикория обыкновенного в условиях пойменных земель Кабардино-Балкарии и его хозяйственное использование:

/ Богатырева Ольга Александровна. Дисс…канд. биол. наук: 03.02.14: биологические ресурсы. – Владикавказ, 2010. – 154 с.

9. Булушева М.К. Разработка способа получения субстанции антимикробного действия на основе ройлеанонов из корней шалфея лекарственного / Булушева Мария Константиновна. Автореф. дисс….канд фарм. наук: 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. – Москва, 2018. – 24 с.

10. Вильчик В.А. Цикорий: рекомендации по выращиванию, уборке, переработки и использованию / В.А.Вильчик. – Ярославль, 1982. – 80 с.

11. Влияние экстракта корня цикория на морфофункциональное состояние печени у крыс с токсическим гепатитом / С.Г.Крылова, Ефимова Л.А., Вымятнина З.К., Зуева Е.П. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2006. – том. 69. - №6. – С.34-36.

12. Волкова Н.Н. Применение препарата ЛИВ.52 в симптоматической терапии острого вирусного гепатита с позиций доказательной медицины / Н.Н.Волкова // Русский медицинский журнал. – 2008. – №16. – С.1098

13. Воронова Н. С. Исследование химического состава и функциональных свойств белковых изолятов, полученных из подсолнечных семян и жмыха / Н.С. Воронова, А.Н. Бердина, Е.С. Кудлаева //Вестник НГИЭИ. – 2012. – № 8. – С. 37-45.

14. Вьютнова О.М. Селекция корневого цикория на урожайность и качество / Вьютнова Ольга Михайловна. Автореф. дисс…канд с-х. наук: 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений. – Москва. – 2011. – 19 с.

15. Вьютнова О.М. Химический состав корнеплодов цикория / О.М.Вьютнова, И.А. Новикова // Овощи России. – 2019. – №1. – С. 83-85. DOI:10.18619/2072-9146-2019-1-83-85

16. Гепатозащитные свойства густого экстракта клубней топинамбура «Интерес» (ГЭКТИ) и «Сарват» (ГЭКТС), культивируемых в

республике Таджикистан при токсическом гепатите / Шахсуфбекова О.М. [и др.]. // Universum: Медицина и фармакология: электрон. научн. журн. – 2016. –№ 8. – т. 30 [Электронный ресурс]. – URL: http://7universum.com/ru/med/archive/item/3525

17. ГОСТ Р 55512-2013 Цикорий натуральный растворимый

18. Государственная фармакопея РФ XIV издания. Федеральная электронная медицинская библиотека Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Москва 2018. – [Электронный ресурс]. – URL: http://femb.ru/feml

19. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т.1. «Сорта растений» (официальное издание). – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2019. – 516 с. [Электронный ресурс]. – URL: https://gossortrf.ru/wp-content/uploads/2019/07/REESTR_2019-3.pdf

20. Вайнштейн В. А. Двухфазная экстракция в получении лекарственных и косметических средств. / В. А. Вайнштейн, И. Е. Каухова. – СПб.: Проспект Науки, 2018. – 104 с.

21. Дул В.Н. Фармакогностическое изучение и стандартизация винограда культурного (*Vitis vinifera* L..) листьев красных и сухого экстракта на их основе / Дул Вячеслав Николаевич. Автореф дис…канд. фарм.наук: 14.04.02 – фармацевтическая фихимия, фармакогнозия. – Москва, 2014. – 24 с.

22. Еремина А.В. Фитохимическое изучение и стандартизация лекарственных средств и биологически активных добавок из продуктов переработки винограда культурного (*Vitis vinifera* L.) / Еремина Анастасия Викторовна. Автореф дисс…канд фарм. наук: 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. – Москва, 2005. – 24 с.

23. Зеленков В.Н. Изучение иммуномодулирующей активности препарата Топикс в экспериментах «*in vitro*» / В.Н.Зеленков, С.В. Богидаев // Проблемы возделывания топинамбура и топинсолнечника. Тезисы докладов

4 Международной научно-производственной конференции. – Воронеж, 1992. – С.9-10.

24. Зеленков В.Н. Иммунобиологическая активность препарата ТОПИКС в экспериментах «in vivo» / В.Н.Зеленков, В.СюКожевников, Е.Ю.Ермолович, О.П.Колесникова [и др.] // Топинамбур и топинсолнечник – проблемы возделывания и использования. Тезисы докладов 5 Международной межотраслевая конференция. – Тверь, 1993. – С.47-48.

25. Зеленков В.Н. Топинамбур: агробиологический портрет и перспективы инновационного применения. Монография – Москва, 2012. – 161 с.

26. Зилфикаров И.Н. Обработка лекарственного растительного сырья сжиженными газами и сверхкритическими флюидами / И.Н. Зилфикаров, В.А. Челомбитько, А.М. Алиев. Под редакцией В.А. Челомбитько. – Пятигорск, 2007. – 244 с.

27. Ивлеев В.А. Количественная спектроскопия ЯМР в идентификации и контроле качества лекарственных препаратов и растительных биологических активных композиций / В.А. Ивлеев, А.С. Прокопьев, Г.А. Калабин // Вестник РУДН, серия Экология и безопасность жизнедеятельности. – 2015. – №1. – С.5-14.

28. Изучение вопросов безотходной переработки сырья видов рода тополь / Браславский В.Б., Куркин В.А., Рыжов В.М., Храмова К.О. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – том 14. - №1(9). – С. 2181-2183.

29. Изучение состава фенольного компонента метаболома растений методом ЯМР / Шейченко В.И., Шейченко О.П., Ануфриева В.В., Толкачев О.Н., Дюмаев К.М., Сокольская Т.А. // Химико-фармацевтический журнал. – 2016. – т. 50. – № 2. – С. 16-22. DOI: 10.30906/0023-1134-2016-50-2-16-22

30. Карпов Д. Н. Медоносные растения в сообществах на засоленных почвах Республики Башкортостан / Д. Н. Карпов // Проблемы и перспективы

изучения естественных и антропогенных экосистем Урала и прилегающих регионов. – 2019. – С. 30-34.

31. Каухова И.Е. Новая методика получения растительных препаратов / И.Е. Каухова // Фармация. – 2006. – № 1. – С.37-39

32. Кваско Е.Ю. Растения цикория и эндивия как биофабрики для синтеза интерферона / Е.Ю. Кваско, Н.А.Матвеева, А.М.Шаховский // XII молодежная научно-практическая конференция «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии». – Москва, 2012. – С. 37-39.

33. Кривова Л. П. Виноградные выжимки как источник фенольных соединений Л.П. Кривова, А.Ю. Рыжкова // JSRP. – 2016. – №6 (38). [Электронный ресурс]. – URL: https://cyberleninka.ru/article/n/vinogradnye-vyzhimki-kak-istochnik-fenolnyh-soedineniy

34. Крутов П.В. Изучение возможности использования плодов амми большой для получения лекарственных субстанций фотосенсебилизирующего и противогрибкового действия / Крутов П.В., Громакова А.И. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – №12. – С.21-24.

35. Мельникова Г. В. Комплексное использование лекарственно-растительного сырья — шиповника / Г. В. Мельникова, Д. А. Куштель, О. И. Никифорова // Молодой ученый. – 2015. – № 13 (93). – С. 340-342. – URL: https://moluch.ru/archive/93/20524/

36. Мухамеджанова Д. М. Исследование комплекса биологически активных веществ различных видов шиповника и создание лекарственных препаратов на основе безотходной технологии / Мухамеджанова Дилбар Махмудовна. Автореф…докт. фарм. наук: 15.00.01 - технология лекарств и организация фармацевтического дела 15.00.02 - фармацевтическая химия и фармакогнозия. Москва. – 1996. – 46 с.

37. Николаев С. М. Системная фитофармакология основа рациональной фитофармакотерапии и фитофармакопрофилактики

заболеваний / С.М. Николаев // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. – 2011. – № 12. – С. 3-5.

38. Николаев С.М. Фитофармакотерапия и фитофармакопрофилактика заболеваний / С. М. Николаев. – Улан-Удэ: Изд-во БГУ, 2012. – 286 с.

39. Реестр изобретений Российской Федерации [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www1.fips.ru/registers-web/action?acName=clickRegister&regName=RUPAT

40. Патен 2099076 Российской Федерации. Способ комплексной переработки плодов расторопши пятнистой / В.А. Быков, В.И. Глызин Г.И. Климахин, Н.В. Тареева, Т.А. Сокольска, Т.А. Сокольская, В.Н. Давыдова, А.И. Громакова, В.К. Колхир, А.И. Багинска, А.И. Багинская, С.А. Вичканова, К.С. Пименов, В.В. Вандышев, Н.Д. Лужнов, Ю.А. Гладышев, А.И. Малахов, В.В. Семикин, Л.П. Коржова, Н.В. Кузнецова. – № 9696107828, заявл. 16.04.1996, опубл. 20.12.1997.

41. Патент 2105563 Российской Федерации. Способ получения лечебно-профилактического средства из топинамбура, обладающего антистрессорной, адаптогенной, иммуностимулирующей, антиоксидантно активности / В.Н.Зеленков, В.Б. Казимирова – № 93010045/14, заявл. 26.02.1993, опубл. 27.02.1998.

42. Патент 2142239 Российской Федерации. Концентрат топинамбура сушеный / Зеленков В.Н. – № 96110166/13, заявл. 21.05.1996, опубл. 10.12.1999.

43. Патент 2118369 Российской Федерации. Способ получения фруктозосодержащего продукта из топинамбура / И.И. Самокиш, Н.С. Зяблицева, В.А. Компанцев. – № 97101188/13, заявл. 27.01.1997, опубл. 27.08.1998.

44. Патент 2131252 Российской Федерации. Способ получения инулина из клубней топинамбура для медицинских и пищевых целей

(варианты) / И.И. Самокиш, Н.С. Зяблицева, В.А. Компанцев. – № 96114938, заявл. 23.07.1996, опубл. 10.06.1999.

45. Патент 2138247 Российской Федерации. Средство лечебной косметики, содержащее экстракты топинамбура / Зеленков В.Н. – № 97121056/14, заявл. 02.12.1997, опубл. 27.09.1999.

46. Патент 2144827 Российской Федерации. Способ получения инулин-пектинового концентрата в порошке для медицинских и пищевых целей из свежего сырья / И.И. Самокиш, Н.С. Зяблицева, В.А. Компанцев. – № 97107958/14, заявл. 06.05.1997, опубл. 27.01.2000.

47. Патент 2261881 Российской Федерации. Способ комплексной переработки древесины лиственницы / Васильева Н.А. – № 2003137882/04, заявл. 29.12.2003, опубл. 10.10.2005.

48. Первышина Г. Г. Эколого-биотехнологическое обоснование комплексного использования травы душицы обыкновенной и корня аира обыкновенного, произрастающих на территории Красноярского края / Г. Г. Первышина, Е. К. Первышина, О. В. Гоголева // Региональная молодежная научно-практическая школа-конференция, посвященная Всемирному дню охраны окружающей среды. Сборник материалов. – [Электронный ресурс]. – URL: http://conf.sfu-kras.ru/conf/eco2008/report?memb_id=394

49. Разработка состава и технологии получения капсул с сухим экстрактом клубней топинамбура /Рамазони Ш.С., Халифаев Д.Р., Демина Н.Д. и др.// Вклад медицинской науки в оздоровление семьи. Материалы 63 научно-практической конференции с междунар. участием. – Душанбе, 2015. – С.128-129.

50. Рамазони Ш.С. Получение и стандартизация настойки гомеопатической матричной из свежих клубней топинамбура / Ш.С.Рамазони, Д.Р.Халифаев, Д.М. Попов // Современные аспекты использования растительного сырья и сырья природного происхождения в медицине. Тезисы докладов III научно-практической конференции. Первый МГМУ им.Сеченова. – Москва, 2015. – С.70-71.

51. Регенерация трансгенных растений из «бородатых» корней цикория *Cichorium intybus* L. Var.Foliosum Hegl / Матвеева Н.А., Кищенко Е.М., Шаховский А.М. и др. // Цитология и генетика. – 2011. – № 5. – С.11-16.

52. Современные подходы к разработке стандартных образцов лекарственных средств / Щепочкина О.Ю., Гегечкори В.И., Прокофьева В.И. и др. // Химико-фармацевтический журнал. – 2020. – т.54. – №7. – С.49-54.

53. Современные проблемы стандартных образцов лекарственных средств в Российской Федерации / Волкова Р.А., Фадейкина О.В., Устинникова О.Б. и др. / Фармация. – 2020. – т.69. – №2. – С.5-11.

54. Создание ресурсосберегающих технологий переработки лекарственного растительного сырья / Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Авдеева Е.В. и др. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук, - 2010. – т. 12. – №1(3). – С.737-740.

55. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Тараховский Ю. С., Ким Ю. А., Абдрасилов Б. С. и др. / отв. ред. Е.И. Маевский. Пущино: Synchrobook, 2013. – 310 с.

56. Туева И.А. Фитохимическое исследование отходов переработки крупяных и масличных культур и получение на их основе биологически активных комплексов / Туева Ирина Александровна. Автореф.дис… канд фарм. наук: 15.00.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Томск, 2006. – 24 с.

57. Филиппова Е.В. Использование топинамбура для создания функциональных мучных кондитерских изделий / Е.В. Филиппова, И.Б. Красина, Б.О. Хашпакянц // Материалы Межд. научно-техн. интернет-конференции «Современные достижения в исследовании натуральных пищевых добавок». – Краснодар, 2014. – С.72-75.

58. Фитофармакотерапия заболеваний на основе системного подхода / Николаев С.М., Чимедрагчаа Ч..., Чукаев С.А., и др. // Acta Biomedica Scientifica. – 2012. – № 4(1). – С. 159-161.

59. Флора Европейской части СССР, том VIII. Отв.ред. Н.Н. Цвелев. –Л: Наука, 1989 г. – С.17.

60. Переработка шрота корня солодки. II. Тритерпеноидные и флавоноидные вещества этанольных экстрактов / Хабибрахманова В. Р., Халед Ш. М., Габдрахманова А. Р. и др. // Химия растительного сырья. – 2016. - №2. – С. 97-102. DOI: 10.14258/jcprm.2016021121

61. Халед Ш.М. Состав и свойства биологически активных веществ шрота *Glycyrrhizae radices* / Халед Шади Мунир. Автореф.дис… канд фарм.наук: 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. - Казань, 2017. – 20 с.

62. Хахулина М.А. Разработка и стандартизация гелей на основе сухих экстрактов растительного сырья винограда культурного (*Vitis vinifera* L) / Хахулина Марина Александровна. Автореф.дис… канд фарм.наук: 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. – Москва, 2010. – 24 с.

63. Шахсуфбекова О.М. Изучение сахароснижающих свойства Диатопа и водно-спиртового экстракта клубней топинамбура Сарват (ВСЭКТС) на фоне толерантности к глюкозе (ТТГ) / О.М.Шахсуфбекова, Д.А. Азонов // Universum: Медицина и фармакология: электрон. научн. журн. – 2016. – № 12(34). [Электронный ресурс]. – URL: http://7universum.com/ru/med/archive/item/4032

64. Шеметова И. С., Романова Е. С., Кутаев Е. М. Особенности основных приемов агротехники цикория обыкновенного в условиях Предбайкалья / И. С.Шеметова, Е. С.Романова, Е. М. Кутаев //Научные междисциплинарные исследования. – 2020. – №. 3-1. – С. 83-90.

65. Эффективная агробактериальная трансформация растений цикория (*Cichorium intybus* L.) вектором с геном туберкулезного антигена ESAT6 / Матвеева Н.А., Василенко М.Ю., Шаховский А.М., и др. // Цитология и генетика. – 2011. – № 1. - С.11-17.

66. Ярошевич М.И. Топинамбур (*Helianthus tuberosus L.*) – перспективная культура многоцелевого использования/ М. И. Ярошевич,

Н.Н. Вечер // Труды БГУ, 2010. – т. 4. – вып. 2. – [Электронный ресурс]. – URL: http://www.bio.bsu.by/proceedings/articles/2009-4-2-198-208.pdf

67. (+)-Germacrene A biosynthesis. The committed step in the biosynthesis of bitter sesquiterpene lactones in chicory / de Kraker J.W., Franssen M.C., de Groot A., Konig W.A., Bouwmeester H. // J. Plant Physiol. – 1998 – v. 117(4). – P. 1381-92. DOI: 10.1104/pp.117.4.1381.

68. A method for the simultaneous determination of chlorogenic acid and sesquiterpene lactone content in industrial chicory root foodstuffs / Willeman H, Hance P, Fertin A. [et al.] // Scientific World Journal. – 2014. – v. 2014. – P.583180. DOI: 10.1155/2014/583180.

69. A. Identification of phenolic constituents in Cichorium endivia var. crispum and var. latifolium salads by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ioniziation tandem mass spectrometry / Mascherpa D., Carazzone C., Marrubini G. [et al.] // J Agric Food Chem. – 2012. – v. 60(49). – P.12142-50. DOI: 10.1021/jf3034754.

70. Abu-Dahab R. Antiproliferative activity of selected medicinal plants of Jordan against a breast adenocarcinoma cell line (MCF7) / Abu-Dahab R., Afifi F. // Scientia Pharmaceutica. - 2007; - v. 75(3). – P.121-146. DOI: 10.3797/scipharm.2007.75.121.

71. Ahmed B. Antihepatotoxic activity of seeds of *Cichorium intybus* / Ahmed B., Al-Howiriny T. A., Siddiqui A. B. // Journal of Ethnopharmacology. – 2003. - v. 87(2-3). – P. 237–240

72. Al-Malki A. L. Hepatoprotective efficacy of chicory alone or combined with dandelion leaves against induced liver damage / Al-Malki A. L., Abo-Golayel M. K. // Life Science Journal. – 2013. – v. 10(4). – P. 140-157.

73. alpha-Glucosidase inhibitory activity of triterpenoids from Cichorium intybus / Atta-ur-Rahman, Zareen S., Choudhary M.I. [et al.] // J. Nat Prod. – 2008. – v. 71(5). – P.10-3. DOI: 10.1021/np800001v.

74. Al-Snafi A. E. Medical importance of Cichorium intybus – A review / Al-Snafi A. E. // IOSR Journal of Pharmacy – 2016 – v. 6 (3). - P. 41-56/

75. Amelioration by chicory seed extract of diabetes- and oleic acid-induced non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)/non-alcoholic steatohepatitis (NASH) via modulation of PPARα and SREBP-1. // Ziamajidi N., Khaghani S., Hassanzadeh G. [et al.] // Food Chem Toxicol. 2013. – v. 58. – P. 198-209. DOI: 10.1016/j.fct.2013.04.018.

76. Amirghofran Z. Evaluation of the immunomodulatory effects of five herbal plants / Amirghofran Z., Azadbakht M., Karimi M.H. // J. Ethnopharmacol. – 2000. – v.72(1-2). – P.67-72. DOI: 10.1016/s0378-8741(00)00234-8.

77. An ethnobotanical study on the usage of wild medicinal herbs from Kopaonik Mountain (Central Serbia). Jari´c S., Popovi´c Z., Maˇcukanovi´c-Joci´c M. [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2007. - v. 111(1). – P. 160–175.

78. Analgesic and sedative activities of lactucin and some lactucin-like guaianolides in mice // Wesołowska A., Nikiforuk A., Michalska K. [et al.] // J. Ethnopharmacol. – 2006. – v.107(2). – P.:254-8. DOI: 10.1016/j.jep.2006.03.003.

79. Analysis of Essential Oil in Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Leaves and Tubers by Gas Chromatography-Mass Spectrometry / Helmi Z., Al Azzam K. M., Tsymbalista Y. [et al.] // Adv Pharm Bul l. –2014. – v.4(2). – P. 521–526. DOI: 10.5681/apb.2014.077.

80. Analysis of Phenolic Acids of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Responding to Salt-Stress by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry / Fujia Chen, Xiaohua Long, Zhaopu Liu [et al.] // ScientificWorldJournal. – 2014. – v. 2014. – P. 568043. DOI: 10.1155/2014/568043

81. Anthelmintic and metabolomic analyses of chicory (Cichorium intybus) identify an industrial by-product with potent in vitro antinematodal activity / Peña-Espinoza M. [et al.] // Veterinary parasitology. – 2020. – T. 280. – C. 109088. DOI: 10.1016/j.vetpar.2020.109088

82. Antibacterial activity of Cichorium intybus / Petrovic J., Stanojkovic A., Comic Lj. [et al.] // Fitoterapia. – 2004. – v.75(7-8). – P.737-9. DOI: 10.1016/j.fitote.2004.05.001.

83. Anti-cancer activity of methanol extracts of Cichorium intybus on human breast cancer SKBR3 cell line. / Rahimipour A., Dehghan Nayeri N., Mehrandish R. [et al.] // *Razavi International Journal of Medicine*. – 2017. – v. 5(1). DOI: 10.5812/rijm.38369

84. Anticancer activity of n-hexane extract of Cichorium intybus on lymphoblastic leukemia cells (Jurkat cells) / Saleem M., Abbas K., Naseer F. [et al.] // African Journal of plant science. – 2014. – v. 8(6). – P. 315-319. DOI:10.5897/AJPS2013.1021.

85. Anti-diabetic effect of Cichorium intybus leaves and Plantago ovate seeds in high fat diet-streptozotocin induced diabetic rats / Emam A. Abdel-Rahim, Mohamed M. Rashed, Zeinab M. El-Hawary, [et al.] // Journal of Food and Nutrition Research. – 2016. – v. 4(5). – P. 276-281. DOI: 10.12691/jfnr-4-5-2.

86. Anti-diabetic effects of *Cichorium intybus* in streptozotocin-induced diabetic rats / Pushparaj P. N., Low H. K., Manikandan J. [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2007. – v. 11 (20). – P. 430–434.

87. Antidiabetic, toxicological, and metabolomic profiling of aqueous extract of Cichorium intybus seeds / Chandra K, Khan W, Jetley S, Anti-diabetic effects of Cichorium intybus in streptozotocin-induced diabetic rats / Pushparaj P. N., Low H. K., Manikandan J. [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2018. – v. 111(2). – P. 430–434 // Phcog Mag. – 2018. – v.14. – P. 377-83.

88. Anti-hepatotoxic activity of cichotyboside, a sesquiterpene glycoside from the seeds of Cichorium intybus / Ahmed B., Khan S., Masood M.H., [et al.] // J. Asian Nat Prod Res. – 2008. – v.10 (3-4). – P. 223-31. DOI: 10.1080/10286020701590764.

89. Antihyperglycemic effect of a natural chicoric acid extract of chicory (*Cichorium intybus* L.): a comparative in vitro study with the effects of caffeic and ferulic acids / Azay-Milhau J., Ferrare K., Leroy J. [et al.] // J. Ethnopharmacol. – 2013. – v.150(2). – P. 755-60. DOI: 10.1016/j.jep.2013.09.046.

90. Anti-inflammatory activity of roots of Cichorium intybus due to its inhibitory effect on various cytokines and antioxidant activity / Rizvi W.,

Fayazuddin M., Shariq S. // Anc Sci Life. – 2014. – v.34(1). – P. 44-9. DOI: 10.4103/0257-7941.150780.

91. Anti-inflammatory effects of a sesquiterpene lactone extract from Chicory (*Cichorium intybus* L.) roots / Ripoll C., Schmidt B.M., Ilic N. [et al.] // Natural Product Communications. - 2007. DOI:10.1177/1934578X0700200702

92. Antimalarial activity of lactucin and lactucopicrin: sesquiterpene lactones isolated from *Cichorium intybus* L. / Bischoff T.A., Kelley C.J., Karchesy Y., [et al.] // J. Ethnopharmacol. – 2004. – v. 95(2-3). – P. 455-7. DOI: 10.1016/j.jep.2004.06.031.

93. Antimalarial activity of lactucin and lactucopicrin: sesquiterpene lactones isolated from *Cichorium intybus* L. / Bischoff, Theodore A. [et al] // Journal of Ethnopharmacology. – 2004. – v. 95 (2-3). – P. 455-7.

94. Antioxidant and antimicrobial activity of gamma-irradiated chicory (*Cichorium intybus* L.) leaves and roots / Khalaf A. H., El-Saadani R. M., El-Desouky A. I., [et al] // J. of Food Measurement and Characterization. – 2008. – v. 12(3). – P.1843–1851. DOI: 10.1007/s11694-018-9798-0

95. Antioxidant potential of *Cichorium intybus* and *Lentinus edodes* ameloriates carbontetrachloride-induced liver toxicity / Bukhari S., Ali M., Anwar H. [et al] // Pakistan Journal of Botany. – 2015. – v. 46(5). – P.1725-1729.

96. Antioxidant, antimicrobial and phytochemical analysis of Cichorium intybus seeds extract and various organic fractions / Mehmood N., Zubaır M., Rızwan K., [et al] // Iran J Pharm Res. – 2012. – v.11(4). – P.1145-51.

97. Antiparasitic activity of chicory (Cichorium intybus) and its natural bioactive compounds in livestock: a review / Peña-Espinoza M, Valente AH, Thamsborg SM, [et al] // Parasit Vectors. – 2018. – 11(1). – P.475. DOI: 10.1186/s13071-018-3012-4.

98. Antiproliferative activity against human tumor cell lines and toxicity test on Mediterranean dietary plants / Conforti F., Ioele G., Statti G.A., [et al] // Food Chem Toxicol. – 2008. – v. 46(10). – P.3325-32. DOI: 10.1016/j.fct.2008.08.004.

99. Anti-protozoal activity of extracts from chicory (*Cichorium intybus*) against Cryptosporidium Parvum in Cell Culture / Woolsey I.D., Valente A.H., Williams A.R. // Sci. Rep. – 2019. – v. 9. – P. 20414. DOI: 10.1038/s41598-019-56619-0

100. Antiviral Effect Assay of Twenty Five Species of Various Medicinal Plants Families in Iran / Ziai S., Hamkar R., Monavari H. [et al] // J. Med. Plants. – 2007. – v. 6 (S3). – P.1-9.

101. Application of the in combo screening approach for the discovery of non-alkaloid acetylcholinesterase inhibitors from Cichorium intybus / Rollinger J.M., Mocka P., Zidorn C. [et al] // Curr Drug Discov Technol. – 2005. – v. 2(3). – P.185-93. DOI: 10.2174/1570163054866855.

102. Azwanida N. N. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. / Azwanida N. N. // Med Aromat Plants. –2015. – v.4(196). – P. 2167-0412. DOI: 10.4172/2167-0412.1000196.

103. Bahramsoltani R, Rahimi R. An Evaluation of Traditional Persian Medicine for the Management of SARS-CoV-2 //Front Pharmacol. – 2020. – v. 25. (11). – P.571434. DOI: 10.3389/fphar.2020.571434.

104. Balunas M. J., Kinghorn A. D. Drug discovery from medicinal plants // Life sciences. – 2005. – v. 78 (5). – P. 431-441. DOI: 10.1016/j.lfs.2005.09.012.

105. Barszcz Marcin Dried Jerusalem artichoke tubers modified the microbiota ecology in the large intestine of young pigs / Marcin Barszcz, Marcin Taciak, Jacek Skomiał // Arch Anim Nutr. – 2016. – v.70(4). – P.278-92.

106. Biochemical effects of Cichorium intybus and Sonchus oleraceus infusions and esculetin on streptozotocin-induced diabetic albino rats / Ahmed O. M., Hozayen, W. G. M., Bastawy M. [et al.] // Journal of American Science. – 2011. – v. 7(12). – P.1124-1137].

107. Bitter sesquiterpene lactones from chicory roots / Teris A. Van Beek, Paul Maas [et al.] / Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 1990. – v. 38 (4). – P. 1035-1038 DOI: 10.1021/jf00094a026

108. Bruhn, J. G. Molecular pharmacognosy: an explanatory model / Bruhn, J. G., Bohlin, L. // Drug Discovery Today. – 1992. – v.(6). – P. 243–246. DOI:10.1016/s1359-6446(97)01048-9

109. Caffeic acid derivatives (CAFDs) as inhibitors of SARS-CoV-2: CAFDs-based functional foods as a potential alternative approach to combat COVID-19. Adem Ş., Eyupoglu V., Sarfraz I. [et al.] // Phytomedicine. – 2020. – v. 22. – P.153310. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153310.

110. Cellulosic bioethanol production from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) using hydrogen peroxide-acetic acid (HPAC) pretreatment / Song Y., Wi S.G., Kim H.M. [et al] // Bioresour echnol. – 2016. – v.214. – P. 30-6. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.04.065.

111. Chandra K., Jain S.K. Therapeutic potential of Cichorium intybus in lifestyle disorders: a review //Asian J Pharm Clin Res. – 2016. – v. 9 (3). – P.20-25.

112. Characterization and quantification of health beneficial anthocyanins in leaf chicory (*Cichorium intybus*) varieties / Mulabagal V., Wang H., Ngouajio M. [et al.] // European Food Research and Technology. – 2009. – v. 230. – P. 47-53. DOI: 10.1007/s00217-009-1144-7

113. Characterization by LC-MS n of four new classes of p-coumaric acid-containing diacyl chlorogenic acids in green coffee beans / Clifford M. N., Marks S., Knight S. [et al] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2006. – v.54(12). – P. 4095-4101. DOI:10.1021/jf060536p

114. Chemical and biological studies on *Cichorium intybus* L. / Satmbekova D., Srivedavyasasri R., Orazbekov Y., [et al.] // Nat Prod Res. – 2018. – v.32(11). – P.1343-1347. DOI: 10.1080/14786419.2017.1343319.

115. Chemical composition and nutritive potential of Cichorium intybus L. leaves from Montenegro / Jančić D., Todorović V., Basić Z., [et al.] // J. Serb. Chem. Soc. – 2016. – v. 81 (10). – P. 1141-1149.

116. Chemical composition of essential oil of aerial parts of *Cichorium Intybus* L. from Iran / Haghi G., Arshi R., Ghazian F. [et al.] // J. Essent. Oil Bear. Plants. – 2012. – v.15. – P. 213–216. DOI:10.1080/0972060X.2012.10644038

117. Chemical constituents of *Cichorium intybus* and their inhibitory effects against urease and alpha-chymotrypsin enzymes / Saied S, Shah S, Ali Z. [et al.] // Nat Prod Commun. – 2011. – v. 6(8). – P.1117-20.

118. Chemical evaluation of weed seeds mixed with wheat grains at harvest. / Abbas M.N. [et al.] // Journal of Animal and Plant Sciences, vol. 22, no. 2, 2012. URL: *Gale Academic OneFile* , link.gale.com/apps/doc/A295848612/AONE?u=anon~5992c726&sid=googleScholar&xid=93152c1f .

119. Chemo-profiling, antioxidant potential and ionomic analysis of *Cichorium intybus* L. / Malik B., Pirzadah T. B., Tahir I., [et al.] // Pharmacognosy Journal. – 2017. – v. 9(6). – P.917-928. DOXI:10.5530/pj.2017.6.144.

120. Chicoric acid is a potent anti-atherosclerotic ingredient by anti-oxidant action and anti-inflammation capacity / Tsai K.L., Kao C.. L, Hung C.H., [et al.] Oncotarget. – 2017. – v.8(18). – P.29600-29612. DOI: 10.18632/oncotarget.16768.

121. Chicoric acid supplementation prevents systemic inflammation-induced memory impairment and amyloidogenesis *via* inhibition of NF-κB / Liu Q, Chen Y, Shen C. [et al.] // FASEB J. – 2017. – v. 31(4). – P.1494-1507. DOI: 10.1096/fj.201601071R.

122. Chicoric acid, a new compound able to enhance insulin release and glucose uptake. Tousch D., Lajoix A.D., Hosy E. [et al.] // Biochem Biophys Res Commun. – 2008. – v. 5. - 377(1). – P.131-5. DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.09.088.

123. Chicory (*Cichorium intybus* L.) as a food ingredient - Nutritional composition, bioactivity, safety, and health claims: A review / Perović J, Tumbas Šaponjac V, Kojić J. [et al] // Food Chem. – 2021. – v. 30(336). – P. 127676. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.127676.

124. Chicory extracts from *Cichorium intybus* L. as potential antifungals. Mares D., Romagnoli C.., Tosi B, [et al.] // Mycopathologia. – 2005. – v. 160(1). – P.85-91. DOI: 10.1007/s11046-004-6635-2.

125. Choi R.-Y. Esculetin prevents non-alcoholic fatty liver in diabetic mice fed high-fat diet / Choi R.-Y., Ham J.R., Lee M.-K. // Chemico-Biological Interactions. - 2016. – v.260. - P. 13-21. DOI: 10.1016/j.cbi.2016.

126. Cichorins D-F: Three New Compounds from *Cichorium intybus* and Their Biological Effects. Khan M.F., Nasr F.A., Noman O.M. [et al.] // Molecules. – 2020. – v. 25(18). – P:4160. DOI: 10.3390/molecules25184160. PMID: 32932909;

127. Cichorium intybus attenuates streptozotocin induced diabetic cardiomyopathy via inhibition of oxidative stress and inflammatory response in rats / Sharma M., Afaque A., Dwivedi S. // Interdiscip Toxicol. – 2019. – v. 12(3). – P.111-119. DOI: 10.2478/intox-2019-0013.

128. *Cichorium intybus* L. // Плантариум. Растения и лишайники России и сопредельных стран: открытый онлайн атлас и определитель растений. 2007 - 2021. – URL: https://www.plantarium.ru/page/view/item/10463.html

129. Clifford M. Profiling the chlorogenic acids of aster by HPLC-MSn. / Clifford M., Zheng W., Kuhnert N. // Phytochemical analysis. – 2006. – v.17(6). – P.384–393. DOI: 10.1002/pca.935

130. Comparative evaluation of traditional prescriptions from *Cichorium intybus* L. forwound healing: stepwise isolationof an active component by in vivo bioassay and its mode of activity / S¨untar I., Akkola, H. Kelesb E. K. [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2012. - v. 143(1). – P. 299–309/

131. Components from seed of *Cichorium intybus* Linn. / Ahmad B., Siddiqui A.B., Alam T. [et al.] // Indian J Chem. – 2002. – v.41B(12). – P.2701-5.

132. Composition and properties of chicory extracts rich in fructans and polyphenols / Milala J., Grzelak K., Król B. [et al] // Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. – 2009. – v 59(1).

133. Composition of chicory root, peel, seed and leaf ethanol extracts and biological properties of their non-inulin fractions / Jurgoński A., Milala J., Jusbkiewicz J. [et al.] // Food Technology and Biotechnology. – 2011. – v. 49(1). – P.40–47

134. Composition of the essential oils of Anthemis Hyalina DC., *Achillea Nobilis* L and *Cichorium intybus* L. three *Asteraceae* herbs growing wild in Iran / Rustaiyan A., Masoudi S., Ezatpour L. [et al.] / Journal of Essential Oil Bearing Plants. – 2011. – v. 14(4). – P. 472– 80. DOI:10.1080/0972060X.2011.10643603

135. Contemporary Insights on Antibacterial and Pharmacological Importance of Cichorium intybus: A Compendious Review / Upadhayay V.K., Gohar Taj., Pandey D. [et al.] // Biomed J Sci & Tech Res. – 2021. - 35(2). - P.5662

136. Crude extracts of hepatoprotective plants, Solanum nigrum and Cichorium intybus inhibit free radical-mediated DNA damage / Sultana S., Perwaiz S., Iqbal M. [et al.] // J Ethnopharmacol. – 1995. – v. 45(3). – P.189-92. DOI: 10.1016/0378-8741(94)01214-k.

137. Cytotoxicity of *Cichorium intybus* L. metabolites (Review) / Imam KMSU, Xie Y., Liu Y. [et al.] // Oncol Rep. – 2019. – v. 42(6). – P. 2196-2212. DOI: 10.3892/or.2019.7336.

138. Dalara A. Cichorium intybus from Eastern Anatolia: Phenolic composition, antioxidant and enzyme inhibitory activities / Dalara A., Konczak I. // Industrial Crops and Products/ - 2014. – v. 60. – P. 79–85 DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.05.043

139. Determination of chlorogenic acid in coffee products according to din 10767 Edgar Naegele Agilent Technologies, Inc. Waldbronn, Germany. - URL: https://www.gimitec.com/file/5991-2852EN.pdf

140. Determination of some biochemicals, phytochemicals and atioxidant properties of different parts of *Cichorium intybus* L.: A comparative study / Shad M. A., Nawaz H., Rehman T., [et al.] // The Journal of Animal & Plant. Science. – 2013. – v.23(4). – P.1060–1066

141. Development of the method for standardization of the medicinal plant raw material of *Cichorium intybus* L. herb by the total amount of hydroxycinnamic acid derivatives / Proskurina K., Yevtifieieva O., Mala O., [et al.] // Pharmacia. – 2021. – v. 68(1). – P. 167–173. DOI:10.3897/pharmacia.68.e49273

142. Differentiation-inducing effect of magnolialide, a 1 beta-hydroxyeudesmanolide isolated from *Cichorium intybus*, on human leukemia cells / Lee K.T., Kim J.I., Park H.J., [et al.] // Biol Pharm Bull. – 2000. – v. 23(8). – P.1005-7. DOI: 10.1248/bpb.23.1005.

143. Dorostghoal M. *Cichorium intybus* L. extract ameliorates testicular oxidative stress induced by lead acetate in male rats / Dorostghoal M., Seyyednejad S.M., Nejad M.N.T. // Clin Exp Reprod Med. – 2020. – v. 47(3). – P.161-167. DOI: 10.5653/cerm.2019.03496.

144. Doughari J.H. Phytochemicals: Extraction methods, basic structures, and mode of action as potential chemotherapeutic agents, phytochemicals – a global perspective of their role in nutrition and health. In: Venketeshwer R, editor. A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health. InTech; 2012. DOI: 10.5772/26052 [Last accessed 2019 Jun. 10]. Available from: www.intechopen.com.

145. Effect of chicory seed extract on glucose tolerance test (GTT) and metabolic profile in early and late stage diabetic rats / Ghamarian A., Abdollahi M., Su X., [et al.] // Daru. – 2012. – v. 20(1). – P.:56. DOI: 10.1186/2008-2231-20-56.

146. Effect of *Cichorium intybus* L. on the expression of hepatic NF-κB and IKKβ and serum TNF-α in STZ− and STZ+ niacinamide-induced diabetes in rats / Rezagholizadeh L., Pourfarjam Y., Nowrouzi A., [et al.] // Diabetology & metabolic syndrome. - 2016. – v.8(1). – P. 1-11. DOI: 10.1186 / s13098-016-0128-6

147. Effect of *Cichorium intybus* seeds supplementation on the markers of glycemic control, oxidative stress, inflammation, and lipid profile in type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind placebo study / Chandra K., Jain V.,

Jabin A., [et al.] // Phytother. Res. – 2020. – v. 34. – P. 1609–1618. DOI: 10.1002/ptr.6624.

148. Effect of *Ziziphus jujuba* Mill., *Cichorium intybus* L. and *Silybum marianum* (L.) Gaertn. combination extract on non-alcoholic fatty liver disease in rats / Mohammadifar M., Taghizadeh M., Abed A. [et al.] // J. Med. Plants. – 2019. – v.8 (72). – P.133-142.

149. Effects of Chicory Inulin on Serum Metabolites of Uric Acid, Lipids, Glucose, and Abdominal Fat Deposition in Quails Induced by Purine-Rich Diets / Lin Z., Zhang Bing, Liu X., [et al.] // Journal of Medicinal Food. - 2014. – v. 17 (11). – P. 1214-1221. DOI: 10.1089/jmf.2013.2991.

150. Effects of the ethanol extract of *Cichorium intybus* on the immunotoxicity by ethanol in mice / Kim J.H., Mun Y.J., Woo W.H. [et al.] // Int Immunopharmacol. – 2002. - 2(6). – P. 733-44. DOI: 10.1016/s1567-5769(02)00008-5.

151. El-Hilaly J. Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (NorthernMorocco) / El-Hilaly J., Hmammouchi M., Lyoussi B. // Journal of Ethnopharmacology/ - 2003. - v. 86 (2-3). – P.149–158.

152. EMA/HMPC/113041/2010 Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) Assessment report on *Cichorium intybus* L., radix. 22 May 2012

153. Esmaeilbeig M. An investigation of the growth inhibitory capacity of several medicinal plants from iran on tumor cell lines / Esmaeilbeig M., Kouhpayeh S.A., Amirghofran Z. // Iran J Cancer Prev. – 2015. – v.8(5). – P. 4032. DOI:10.17795/ijcp-403

154. Ethnobotanical study on traditional use of medicinal plants in South-Western Serbia, Zlatibor district / ˇSavikinK., Zduni´ca G., Menkovi´c N. [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2013. – v.146(3). – P. 803–810.

155. Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez-

Boulemane) / Jouad H., Haloui M., Rhiouani H., [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2001. - v. 77(2-3). – P.175–182.

156. Ethnobotanical survey of traditionally used plants in human therapy of east, north and north-east Bosnia and Herzegovina / Sari´c-Kundali´c B., Dobeˇs, V. Klatte-Asselmeyer C., and Saukel // J. *Journal of Ethnopharmacology*. – 2011. - v. 133(3). – P.1051–1076.

157. Ethnopharmacy of the ethnic Albanians (Arb¨eresh¨e) of northern Basilicata, Italy / Pieroni A., Quave C., Nebel S., Heinrich M. // Fitoterapia. - 2002. - v. 73(3). – P.217–241.

158. European Medicines Agency, Assessment report on *Cichorium intybus* L., radix. EMA/HMPC/113041/2010, 2013.

159. Evaluation of anticancer properties of medicinal plants from the indian sub-continent / Nawab A., Yunus M., Mahdi A., Gupta S. // Molecular and Cellular Pharmacology. – 2011. – v. 3. – P. 21-29. DOI: 10.4255 / MCPHARMACOL.11.04

160. Evaluation of desorption isotherms, drying rates and inulin concentration of chicory roots (*Cichorium intybus* L.) with and without enzymatic inactivation / Figueira G. M., Jin K., Brod R. P. F., Honorío, S. L. // Journal of Food Engineering. - 2004. – v. 63. – P. 273–280. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2003.06.001.

161. Evaluation of hepatocyteprotective and anti-hepatitis B virus properties of Cichoric acid from *Cichorium intybus* leaves in cell culture / Zhang H.L., Dai L.H., Wu Y.H., [et al.] // J. Biol Pharm Bull. – 2014. – v. 37(7). – P.1214-20. DOI: 10.1248/bpb.b14-00137.

162. Extraction conditions of inulin from jerusalem artichoke tubers and its effects on blood glucose and lipid profile in diabetic rats /A. M. Gaafar; M. F. Serag El-Din; E. A. Boudy, H. H.El-Gazar // Journal of f American Science. – 2010. – v. 6(5). – P. 36-43

163. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts / Sasidharan S., Chen Y., Saravanan D. [et al.] // African

journal of traditional, complementary, and alternative medicines. – 2011. – v.8(1). – P.1–10.

164. Fermentation of purple Jerusalem artichoke extract to improve the α-glucosidase inhibitory effect *in vitro* and ameliorate blood glucose in *db/db* mice / Zhiqiang Wang, Seung Hwan Hwang, Sun Youb Lee, Soon Sung Lim // Nutr Res Pract. – 2016. – v. 10(3). – P. 282–287. DOI: 10.4162/nrp.2016.10.3.282.

165. Free radical scavenging and hepatoprotective activity of jigrine against galactosamine induced hepatopathy in rats / Najmi A.K., Pillai K.K., Pal S.N., Aqil M. // J Ethnopharmacol. – 2005. – v. 97(3). – P. 521-5. DOI: 10.1016/j.jep.2004.12.016.

166. Gadgoli C. Antihepatotoxic activity of Cichorium intybus. Gadgoli C., Mishra S.H. // J Ethnopharmacol. – 1997. – v.58(2). – P.131-4. DOI: 10.1016/s0378-8741(97)00090-1.

167. Gerothanassis I.P. LC-NMR coupling technology: recent advancements and applications in natural products analysis / Gerothanassis I.P., Albert K. Exarchou V. [et al.] // Vervoort J., Magn Reson Chem. – 2005. – v. 43(9). – P. 681-7. DOI: 10.1002/mrc.1632.

168. Gilani A.H. Esculetin prevents liver damage induced by paracetamol and $CCL_4$. / Gilani A.H., Janbaz K.H., Shah B.H. // Pharmacol Res. – 1998. – v. 37(1). – P.31-5. DOI: 10.1006/phrs.1997.0262.

169. Gilani A.H. Evaluation of the liver protective potential of Cichorium intybus seed extract on Acetaminophen and $CCl_4$-induced damage / Gilani A.H., Janbaz K.H. // Phytomedicine. – 1994. – v. 1(3). – P. :193-7. DOI: 10.1016/S0944-7113(11)80064-4.

170. Gobbo-Neto L, Lopes NP. Online identification of chlorogenic acids, sesquiterpene lactones, and flavonoids in the Brazilian arnica Lychnophora ericoides Mart. (Asteraceae) leaves by HPLC-DAD-MS and HPLC-DAD-MS/MS and a validated HPLC-DAD method for their simultaneous analysis // J Agric Food Chem. – 2008. – v.56(4). – P.1193-204. DOI: 10.1021/jf0728121.

171. Gol N. R. A comparative study of the chemical composition and antioxidant activities of roots, seeds and aerial parts of chicory (*Cichorium intybus* L.) / Gol N. R., Noghani R. Z., Chamsaz M. // International Journal of Biosciences. - 2014. – v. 5(12). – P. 250–257.

172. Guarrera P. M. Ethnobotanical and ethnomedicinal uses of plants in the district of Acquapendente (Latium, Central Italy) / Guarrera P. M., Forti G., Marignoli S. // Journal of Ethnopharmacology. – 2005. – v. 96 (3). – P.429–444.

173. Han-Sup Kim Hypoglycemic and hepatoprotective effects of jerusalem artichoke extracts on streptozotocin-induced diabetic rats / Han-Sup Kim, Gi Dong Han // Food Sci. Biotechnol. - 2013. – v.22(4). – P. 1121-1124. DOI: 10.1007/s10068-013-0192-8.

174. He X.G. On-line identification of phytochemical constituents in botanical extracts by combined high-performance liquid chromatographic-diode array detection-mass spectrometric techniques / He X.G. // J. Chromatogr A. – 2000. – v.880(1-2). – P.203-32. DOI: 10.1016/s0021-9673(00)00059-5.

175. Hepatoprotective activity of *Cichorium intybus* L. leaves extract against carbon tetrachloride induced toxicity / Jamshidzadeh A., Khoshnood M.J,. Dehghani Z., Niknahad H. // Iranian Journal of Pharmaceutical Research. – 2006. – v.1. – P. 41-46.

176. Hepatoprotective effect of *Cichorium intybus* L., a traditional Uighur medicine, against carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats / Li G.Y., Gao H.Y., Huang J. [et al.] // World J Gastroenterol. - 2014. – v.20(16). – P.4753-60. DOI: 10.3748/wjg.v20.i16.4753.

177. Hepatoprotective efficacy of *Cichorium intybus* L. extract against carbon tetrachloride-induced liver damage in rats / Elgengaihi S., Mossa A.T., Refaie A.A., Aboubaker D. // J Diet Suppl. – 2016. – v.13(5). – P. 570-84. DOI: 10.3109/19390211.2016.1144230.

178. Hypotensive effect of *Cichorium intybus* extract in rats / Sedighi M., Cheraghi M., Faghihi M. [et al.] // J. Herbmed Pharmacol. - 2021. DOI:10.34172 / jhp.2021.29

179. Identification of organic acids in *Cichorium intybus* inhibiting virulence-related properties of oral pathogenic bacteria / Papetti A., Mascherpa D., Carazzone C., [et al.] // Food Chem. – 2013. – v. 138(2-3). – P.1706-12. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.10.148.

180. Identification of phenolic constituents in red chicory salads (*Cichorium intybus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionisation tandem mass spectrometry / Carazzone C, Mascherpa D, Gazzani G, Papetti A. // Food Chem. – 2013. – v.138(2-3). – P.1062-71. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.11.060

181. Ilaiyaraja N. Evaluation of antioxidant and toxicological properties of chicory leaves / Ilaiyaraja N., Khanum F. //IJPBA. – 2010. – v. 1. – P 155-163.

182. Improvement of pyridoxine-induced peripheral neuropathy by Cichorium intybus hydroalcoholic extract through GABAergic system / Hasannejad F., Ansar M.M., Rostampour M. [et al.] // J Physiol Sci. – 2019. – v. 69. – P. 465–476. DOI: 10.1007/s12576-019-00659-8

183. In silico analysis and experimental validation of active compounds from *Cichorium intybus* L. ameliorating liver injury / Li G.Y., Zheng Y.X., Sun F.Z., [et al.] // Int. J. Mol Sci. – 2015. – v.16(9). – P. 22190-204. DOI: 10.3390/ijms160922190.

184. In vivo gastroprotective effects of five Turkish folk remedies against ethanol-induced lesions / Gürbüz I., Ustün O., Yeşilada E. [et al.] // Ethnopharmacol. – 2002. - 83(3). – P.241-4. DOI: 10.1016/s0378-8741(02)00248-9.

185. Increase in insulin sensitivity by the association of chicoric acid and chlorogenic acid contained in a natural chicoric acid extract (NCRAE) of chicory (*Cichorium intybus* L.) for an antidiabetic effect / Ferrare K., Bidel L.P.R., Awwad A., [et al.] // J. Ethnopharmacol. – 2018. – v. 215. – P. 241-248. DOI: 10.1016/j.jep.2017.12.035.

186. Influence of cultivation site on sesquiterpene lactone composition of forage chicory (*Cichorium intybus* L.) / Foster J.G., Clapham W.M., Belesky D.P.,

[et al.] // J. Agric Food Chem. – 2006. – v.54(5). – P.1772-8. DOI: 10.1021/jf052546g.

187. Inhibition of protein tyrosine phosphatase 1B and regulation of insulin signalling markers by caffeoyl derivatives of chicory (*Cichorium intybus*) salad leaves / Muthusamy V.S., Saravanababu C., Ramanathan M., [et al.] // Br J Nutr. – 2010. – v.104(6). – P.813-23. DOI: 10.1017/S0007114510001480.

188. Isolation of magnolialide and artesin from *Cichorium intybus*: revised structures of sesquiterpene lactones / Park H. J. [et al.] // Natural Product Sciences. – 2000. – v. 6(2). – P. 86-90.

189. Isolation of magnolialide and artesin from Cichorium intybus: revised structures of sesquiterpene lactones H.J. Park, S.H. Kwon, K.O. Yoo [et al.] // Nat. Prod. Sci. – 2000. – v.6. – P. 86-90.

190. Jaiswal R. Determination of the hydroxycinnamate profile of 12 members of the Asteraceae family / Jaiswal R., Kiprotich J., Kuhnert N. // Phytochemistry. 2011. – v.72(8). – P. 781–790. DOI:10.1016/j.phytochem.2011.02.027

191. Jaiswal R. Hierarchical scheme for liquid chromatography/ multi-stage spectrometric identification of 3,4,5-triacyl chlorogenic acids in green Robusta coffee beans / Jaiswal R., Kuhnert N. // Rapid Commun. Mass Spectrom. - 2010. - v.24. – P. 2283–2294. DOI: 10.1002/rcm.4639

192. Jan St. Pyrek Sesquiterpene lactones of Cichorium Autumnalis // Phytochemistry. – 1985. – v. 24(I). – P. 186-188.

193. Jangra S.S. Mineral and chemical composition of different parts of chicory (*Cichorium intybus* L.). / Jangra S.S., Madan V.K. // J. Pharmacogn. Phytochem. – 2018. – v. 7. – P. 3311–3315.

194. Jasim R.S. Antioxidant, Antimicrobial Activities and Phytochemical Constituents of Cichorium Intybus L. Aerial Parts / Jasim R.S. // Available online: https://scialert.net/fulltext/?doi=ijb.2018.24.29 DOI: 10.3923/ijb.2018.24.29

195. Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus L.*) a medicinal salt-resistant plant has high adaptability and multiple-use values // Journal of medicinal

plantresearch. – 2011. – 5(8). – P. 1272-1279. Published Online https://www.researchgate.net/publication/228464875_Jerusalem_artichoke_Helianthus_tuberosus_a_medicinal_salt-resistant_plant_has_high_adaptability_and_multiple-use_values

196. Jerusalem artichoke attenuates experimental hepatic fibrosis via modulation of apoptotic signaling and fibrogenic activity / Nabil Mohie, AbdelHamid, Maiiada Hassan Nazmy [et al.] // Biochemistry and Biotechnology Research. – 2015. – v.3(3). – P. 43-50.

197. Judzentiene A. Volatile constituents from aerial parts and roots of Cichorium intybus L. (chicory) grown in Lithuania / Judzentiene A., Badiene J.B. // Chemija. – 2008. – v.19(2). – P. 25–28.

198. Kam N. Chemical analysis and fatty acid composition of the chicory plant (*Cichorium Intybus* L.) by GC-MS / Kam N, Saydan Kanberoglu G. // Journal of Engineering Technology and Applied Sciences. – 2019. – v. (2). – P. 51-62 . DOI: 10.30931/jetas.588102

199. Kaufmann B. Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction / Kaufmann B., Christen P. // Phytochem Anal. – 2002. – v.13(2). – P.105-13. DOI: 10.1002/pca.631.

200. Kinghorn A. D. Pharmacognosy in the 21st century //Journal of pharmacy and pharmacology. – 2001. – v. 53(2). – P. 135-148. DOI: 10.1211/0022357011775334.

201. Kisiel W. Guaianolides from Cichorium intybus and structure revision of Cichorium sesquiterpene lactones / Kisiel W., Zielińska K. // Phytochemistry. – 2001.- v.57(4). – P. 523–527. DOI:10.1016/s0031-9422(01)00072-3

202. Krebsky E.O. Polyamines and steroids in Cichorium heads / Krebsky E.O., Geuns J.M., De-Proft M. // Phytochemistry. – 1999. – v. 50 (4). – P. 549-553 DOI: 10.1016/S0031-9422(98)00555-X

203. LC–NMR for Natural Product Analysis: A Journey from an Academic Curiosity to a Robust / Gebretsadik T., Linert W., Thomas M. [et al.] // Analytical Tool. Sci. – 2021. - v 3(1). – P.6. DOI: 10.3390/sci3010006

204. Lee J. Chicoric acid: chemistry, distribution, and production / Lee J., Scagel C.F. // Front Chem. – 2013. – v. 1. – P.40. DOI:10.3389/fchem.2013.00040

205. Leporatti M. L. Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy / Leporatti M. L., Ivancheva S. // Journal of Ethnopharmacology. – 2003. – v. 87(2-3). – P. 123–142.

206. Lin J.Y. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation / Lin J.Y, Tang C.Y. //Food Chemistry. – 2007. – v.101(1). – P.140-147. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.01.014.

207. Loi M. C.Ethnobotanical comparison between the villages of Escolca and Lotzorai (Sardinia, Italy) / Loi M. C., Maxia L., Maxia A. // Journal of Herbs, Spices&Medicinal Plants. – 2005. - v. 11(3). – P.67–84.

208. Luis J. Aleixandre-Tudo The Role of UV-Visible Spectroscopy for Phenolic Compounds Quantification in Winemaking / Luis J. Aleixandre-Tudo, W. du Toit // Frontiers and New Trends in the Science of Fermented Food and Beverages. – 2019. DOI: 10.5772/intechopen.79550.

209. Malarz J. Long-term cultured hairy roots of chicory-a rich source of hydroxycinnamates and 8-deoxylactucin glucoside / Malarz J, Stojakowska A, Kisiel W. // Appl Biochem Biotechnol. – 2013. – v. 171(7). – P.1589-601. DOI: 10.1007/s12010-013-0446-1.

210. Malarz J. Sesquiterpene lactones in a hairy root culture of Cichorium intybus / Malarz J, Stojakowska A, Kisiel W. // J Biosci. – 2002. – v.57(11-12). – P.994-7. DOI: 10.1515/znc-2002-11-1207

211. Miraldi E. Botanical drugs and preparations in the traditional medicine of West Azerbaijan (Iran) / E. Miraldi, S. Ferri, V. Mostaghimi // Journal of Ethnopharmacology. – 2001. – v. 75(2-3). – P. 77–87.

212. Miraldi E. Botanical drugs and preparations in the traditional medicine of West Azerbaijan (Iran) / Miraldi E., Ferri S., Mostaghimi V. // Journal of Ethnopharmacology. – 2001. - v. 75 (2-3). – P.77–87.

213. Nandagopal S. Phytochemical and antibacterial studies of Chicory (*Cichorium intybus* L.) - a multipurpose medicinal plant / Nandagopal S., Kumari B. D. R. //Advances in Biological Research. – 2007. – v. 1 (1-2). – P. 17-21.

214. Nørbæk R. Anthocyanins from flowers of *Cichorium intybus* / Nørbæk R., K. Nielsen, T. Kondo // Phytochemistr. – 2002. - v. 60 (4). – P. 357–359.

215. Nutritive value and animal selection of forage chicory cultivars grown in Central Appalachia / Foster J.G., Fedders J.M., Clapham W.M. [et al.] // Agronomy Journal. – 2002. – v. 94(5). – P. 034–1042.

216. Nwafor Ifeoma Chinyelu Chemical Composition and Nutritive Benefits of Chicory (*Cichorium intybus*) as an Ideal Complementary and/or Alternative Livestock Feed Supplement / Nwafor Ifeoma Chinyelu, Karabo Shale, Matthew Chilaka Achilonu // The Scientific World Journal. 2017. - v. 11. DOI 0.1155/2017/7343928

217. Obtaining of the transgenic *Helianthus tuberosus* L. plants, callus and «hairy» root cultures able to express the recombinant human interferon alpha-2b gene / Maistrenko O.M., Luchakivska Y.S., Zholobak N.M. [et al]// Tsitol Genet. – 2015. – v. 49(5). – P.38-44.

218. Optimization of the chromatographic determination of polyphenols in the aerial parts of *Cichorium intybus* L. / N. Mulinacci, M. Innocenti, S. Gallori [et al.] // Chromatographia. – 2001. – v.54 (7). – P. 455–461 DOI:10.1007/BF02491199

219. Pandey A., Tripathi S. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. J Pharmacogn Phytochem 2014;2(5):115-119.

220. Paseephol T. Probiotic stability of yoghurts containing Jerusalem artichoke inulins during refrigerated storage / Paseephol T., Sherkat F.// Journal of Functional Foods. – 2009. – v.1(3). – P. 311-318.

221. Pharmacopoeia of people's republic of China. – 2005. – P.125-126

222. Phase 1, placebo-controlled, dose escalation trial of chicory root extract in patients with osteoarthritis of the hip or knee / Olsen N.J., Branch V.K., Jonnala G., [et al.]// BMC Musculoskelet Disord. – 2010. – v.11. – P.156. DOI: 10.1186/1471-2474-11-156.

223. Phytochemical and biological evaluation of *Cichorium intybus* L. seed / Fathalla N., Bishr M., Singab A. N., Salama O. // Journal of Pharmacy and Biological Sciences. – 2015. – v.10(1). – P. 70–76. DOI:10.9790/3008-10137076.

224. Phytochemical compounds of Cichorium intybus by exploring its antioxidant and antidiabetic activities / Kanj D., Raafat K., El-Lakany A. [et al.] // Pharmacog J. – 2019. – v.11(2). – P.248-57. DOI: 10.5530/pj.2019.11.39

225. Phytochemical profile, antioxidant, cardioprotective and nephroprotective activity of romanian Chicory Extract / Epure A., Pârvu A.E., Vlase L. [et al.] // Plants. – 2021. – v.10. – P. 64. DOI: 10.3390/plants10010064

226. Phytochemicals: Extraction methods, identification and detection of bioactive compounds from plant extracts / Ingle K. P., Deshmukh A. G., Padole D. A., [et al.] // Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. – 2017. – v.6(1). – P. 32-36.

227. Pieroni A. Medicinal plants and food medicines in the folk traditions of the upper Lucca Province, Italy / Pieroni A. // Journal of Ethnopharmacology. – 2000. - v. 70(3). – P. 235–273.

228. Polyphenol content and antiradical activity of Cichorium intybus L. from biodynamic and conventional farming / Heimler, D., Isolani, L., Vignolini, P., Romani, A. // Food Chemistry. – 2009. – v. *114*(3). – P. 765–770. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.10.010

229. Potential of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) as a biorefinery crop / I.B. Gunnarssona, S.-E. Svenssonb, E.Johanssonc, D.

Karakasheva, I.Angelidakia // Industrial Crops and Products. – 2016. DOI: 10.1002/jsfa.7686.

230. Prabakaran D., Ashokkumar N. Protective effect of esculetin on hyperglycemia-mediated oxidative damage in the hepatic and renal tissues of experimental diabetic rats // Biochimie. - 2013. – v. V. 95(2). - P. 366-373. DOI: 10.1016/j.biochi.2012.10.008

231. Prebiotic effect of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) fructans on the growth performance of *Bifidobacterium bifidum* and *Escherichia coli* / Mansouri elaheh, Mohamadi Sani Ali, Milani Elnaz, Nourbakhsh Ladan //Asian Pacific Journal of Tropical Disease. – 2016. – v. 6 (5). – P. 385–389.

232. Prebiotic effectiveness of inulin extracted from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) / Elaheh Mansouri, Ali Mohamadi Sani, Elnaz Milani, Ladan Nourbakhsh // BioTechnology An Indian Journal BTAIJ. – 2015. – v.11(12). – P.476-482.

233. Preparation of Inulin Powder from Jerusalem Artichoke (Helianthus tuberosus L.) Tuber / Srinameb B.O., Nuchadomrong S., Jogloy S., Patanothai A., Srijaranai S. // Plant Foods Hum Nutr. – 2015. – v. 70(2). – P. 221-6. DOI: 10.1007/s11130-015-0480-y.

234. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes / Abubakar A. R., Haque M. // Journal of pharmacy & bioallied sciences. - 2020. – v. 12(1), - P. 1–10. DOI: 10.4103/jpbs.JPBS_175_19

235. Preventive effects of the aqueous extract of *Cichorium intybus* L. flower on ethylene glycol-induced renal calculi in rats / Avicenna Emamiyan M.Z., Vaezi G., Tehranipour M. [et al.] // J Phytomed. – 2018. – v.8(2). – P.170-178.

236. Process optimization for cichoric acid extraction from *Cichorium lntybus* L. Shoots / HUA. Chun, LI Jian-ling, ZHOU Feng, [et al.] // Food Science. - 2011. – v. 32(20). – P.126-129. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-201120026.

237. Profiling and characterization by LC-MS n of the chlorogenic acids and hydroxycinnamoylshikimate esters in mate (Ilex paraguariensis) / Jaiswal R.

[et al.] //Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2010. – v. 58(9). – P. 5471-5484. DOI:10.1021/jf904537z

238. Protective effect of esculetin against oxidative stress-induced cell damage via scavenging reactive oxygen species / Kim S.H., Kang K.A., Zhang R., [et al.] // Acta Pharmacol Sin. – 2008. – v. 29(11). – P.1319-26. DOI: 10.1111/j.1745-7254.2008.00878.x.

239. Quanzhen W. Perspectives and utilization technologies of chicory (Cichorium intybus L.): A review / Quanzhen W. Jian C. // African Journal of Biotechnology. – 2011. - v. 10(11). – P.1966-1977. DOI: 10.5897/AJB10.587

240. Radulescu V. Capillary gas chromatography-mass spectrometry of volatile and semi-volatile compounds of Salvia officinalis / Radulescu V., Chiliment S., Oprea, E. // Journal of Chromatography A. – 2004. – v.1027(1–2). – P. 121–126. DOI:10.1016/j.chroma.2003.11.046

241. Radulović N.S. Chemical composition of the tuber essential oil from *Helianthus tuberosus* L. (Asteraceae) / Radulović N.S., Đorđević M.R. // Chem Biodivers. – 2014. – v. 11(3). – P. 427-37. DOI: 10.1002/cbdv.201300323.

242. Rahimullah T.G. Phytochemical and Antibacterial Screening of Cichorium Intybus Seeds Use in Traditional Medicine Systems in Pakistan / Rahimullah T.G. // Int. J. Basic Med Sci. Pharm. (IJBMSP). – 2019. – v. 8. – P. 2049–4963.

243. Safety and quality parameters of ready-to-cook minced pork meat products supplemented with *Helianthus tuberosus* L. tubers fermented by BLIS producing lactic acid bacteria / Stimbirys A., Bartkiene E., Siugzdaite J., // J Food Sci Technol. – 2015. – v. 52(7). – P. 4306–4314.

244. Scarpati M. L. Chicoric acid (dicaffeyltartic acid): Its isolation from chicory (*Chicorium intybus*) and synthesis / Scarpati M. L., Oriente G.. // Tetrahedron. – 1958. - v. 4(1-2). – P. 43–48. DOI:10.1016/0040-4020(58)88005-9.

245. Screening of some Siberian medicinal plants for antimicrobial activity. Kokoska L., Polesny Z., Rada V. [et al.] //Journal of Ethnopharmacology. – 2002. - v. 82(1). – P. 51–53.

246. Sesquiterpene lactone containing extracts from two cultivars of forage chicory (*Cichorium intybus*) show distinctive chemical profiles and in vitro activity against Ostertagia ostertagi / Peña-Espinoza M. [et al.] //International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance. – 2015. – v. 5(3). – P. 191-200. 10.1016/j.ijpddr.2015.10.002

247. Sesquiterpene lactones from *Cichorium endivia* L. and *C. intybus* L. and cytotoxic activity / Seto M., Miyase T., Umehara K. [et al.] Chemical and pharmaceutical bulletin. – 1988. – v. 36(7). – P. 2423-2429. DOI: 10.1248/cpb.36.2423

248. Shaikh T. Antimicrobial Screening of Cichorium Intybus Seed Extracts. / Shaikh T., Rub R.A., Sasikumar S. // Arab. J. Chem. – 2016. – v. 9. – P.S1569–S1573. DOI:10.1016/j.arabjc.2012.04.012

249. Shawky E. Role of Medicinal Plants and Their Constituents in the Mitigation of SARS-CoV-2: Identifying Related Therapeutic Targets Using Network Pharmacology and Molecular Docking Analyses. Shawky E., Nada A.A., Ibrahim S.R. // SC Adv. – 2020. – v. 10. – P. 27961–27983 DOI:10.1039/D0RA05126H

250. Street R.A. Cichorium intybus: traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology / Street R.A., Sidana J, Prinsloo G. // Evid Based Complement Alternat Med. – 2013. – v. 2013. – P. 579319. DOI: 10.1155/2013/579319.

251. Supercritical $CO_2$ extraction as a tool to isolate anti-inflammatory sesquiterpene lactones from *Cichorium intybus* L. Roots / Baixinho J.P., Anastácio J.D., Ivasiv V. [et al.] // Molecules. 2021. – v.26(9). – P.2583. DOI: 10.3390/molecules26092583.

252. Tannins present in Cichorium intybus enhance glucose uptake and inhibit adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes through PTP1B inhibition / Muthusamy V.S., Anand S., Sangeetha K.N. [et al.] // Chem Biol Interact. – 2008. – v.174(1). – P.69-78. DOI: 10.1016/j.cbi.2008.04.016.

253. Terpenoids from *Cichorium intybus* / Zhou C.X., Zou L., Zhao Z.Z. [et al.] // Nat Prod Commun. – 2012. – v.7(8). – P.971-2.

254. Tetik F. Traditional uses of some medicinal plants in Malatya (Turkey), Tetik F., Civelek S., Cakilcioglu U. // Journal of Ethnopharmacology. – 2013. - v. 146(1). – P. 331–346.

255. The bioactive effects of chicoric acid as a functional food ingredient /Ye Peng, Quancai Sun, Yeonhwa Park // J Med Food. – 2018. – v.22(7). – P.645-652. DOI: 10.1089/jmf.2018.0211.

256. The Common Cichory (*Cichorium intybus* L.) as a Source of Extracts with Health-Promoting Properties-A Review / Janda K., Gutowska I., Geszke-Moritz M., Jakubczyk K. // Molecules. – 2021. – v.26(6). – P.1814. DOI: 10.3390/molecules26061814

257. The content of protein and of amino acids in Jerusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus* L.) of red variety Rote Zonenkugel / Cieślik E, Gębusia A., Florkiewicz A., Mickowska B. // Acta Sci Pol Technol Aliment. – 2011. – v.10(4). – P.433-41.

258. The effect of birdsfoot trefoil (Lotus corniculatus) and chicory (*Cichorium intybus*) on parasite intensities and performance of lambs naturally infected with helminth parasites / Marley C.L., Cook R., Keatinge R. [et al.] // Vet Parasitol. – 2003. – 112(1-2). – P.147-55. DOI: 10.1016/s0304-4017(02)00412-0

259. The effects of cichorium intybus extract on the maturation and activity of dendritic cells / Karimi M.H., Ebrahimnezhad S., Namayandeh M., Amirghofran Z. // Daru. – 2014. – v.22(1). – P.28. DOI:10.1186/2008-2231-22-28

260. The efficacy of Liv-52 on liver cirrhotic patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled first approach / Huseini H.F., Alavian S.M., Heshmat R., [et al.] // Phytomedicine. – 2005. – v. 12(9). – P.619-24. DOI: 10.1016/j.phymed.2004.10.003.

261. The herbal market of Thessaloniki (N Greece) and its relation to the ethnobotanical tradition / Hanlidou E., Karousou R., Kleftoyanni V., Kokkini S. // *Journal of Ethnopharmacolog. – 2004.* - v. 91(2-3). – P. 281–299.

262. *The Plant List* http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=Cichorium

263. The Protective Effect of Cichorium intybus L. Hydroalcoholic Extract Against Methotrexate-Induced Oxidative Stress in Rats / Asadi M., Mohammadi M., Mohammadian B. [et al.] // J. Nat Pharm Prod. – 2018. – v. 13(4). – P. e59556. DOI: 10.5812/jjnpp.59556.

264. Thota S.M. Natural Products as Home-Based Prophylactic and Symptom Management Agents in the Setting of COVID-19 / Thota S.M., Balan V. Sivaramakrishnan V. // Phytother Res. – 2020. – v.34. – P.3148–3167.

265. Toxicological evaluation of a chicory root extract / Schmidt B.M., Ilic N., Poulev A., Raskin I. // Food Chem Toxicol. – 2007. – v. 45(7). – P.1131-9. DOI: 10.1016/j.fct.2006.12.019.

266. Traditional herbal remedies used for the treatment of diabetes from district attock (Pakistan) / Ahmad M., Qureshi R., Arshad M. [et al.] // Pakistan Journal of Botany. – 2009. – v. 41(6). – P.2777–2782.

267. Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia /" Sezik E., Yes¸ilada E., Honda G. [et al.]. // *Journal of Ethnopharmacology. 2001.* - v. 75(2- 3). – P.95–115.

268. Tumour inhibitory activity of chicory root extract against Ehrlich ascites carcinoma in mice / Hazra B., Sarkar R., Bhattacharyya S., Roy P. // Fitoterapia. – 2002. – v.73(7-8). – P.730-3. DOI: 10.1016/s0367-326x(02)00232-0.

269. Turmeric and chicory seed have beneficial effects on obesity markers and lipid profile in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) / Ghaffari A, Rafraf M, Navekar R, [et al.] // Int J. Vitam Nutr Res. – 2019. – v. 89(5-6). – P,293-302. DOI: 10.1024/0300-9831/a000568.

270. van Wyk B. E. Medicinal Plants of South Africa / van Wyk B. E., van Oudtshoorn B., Gericke N. – Briza Publications, Pretoria, South Africa, 1997.

271. Vasorelaxant activity of caffeic acid derivatives from *Cichorium intybus* and *Equisetum arvense* / Sakurai N., Iizuka T., Nakayama S. [et al.] // Yakugaku Zasshi. – 2003. – v.123(7). – P.593-8. DOI: 10.1248/yakushi.123.593.

272. Watanabe N. Direct-Coupling of FT-NMR to High Performance Liquid Chromatography / Watanabe N., Niki E. // Proc. Jpn. Acad. Ser. B. – 1978. – v. 54. – P.194–199. DOI:10.2183/pjab.54.194.

273. Wedad M. Biological Studies on Bio-Yoghurt Fortified with Prebiotic Obtained from Jerusalem artichoke / Wedad M., El-Kholy, Hoda Mahrous // Food and Nutrition Sciences. – 2015. – v. 6. – P.1552-1564 [Published Online]. – URL: http://www.scirp.org/journal/fns http://dx.doi.org/10.4236/fns.2015.616160

274. Wen Ying, G. Chicory seeds: A potential source of nutrition for food and feed / Wen Ying, G., Jin Gui, L. // Journal of Animal & Plant Science. – 2012. – v. 13(2). – P.1736–1746.

275. Wilson R. G. Chicory root yield and carbohydrate composition is influenced by cultivar selection, planting, and harvest date / Wilson R. G., J. A. Smith, and C. D. Yonts // *Crop Science*. – 2004. - v. 44(3). – P.748–752.

276. Wolfender J.L. Phytochemistry in the microgram domain - a LC-NMR perspective. / Wolfender J.L., Queiroz E.F., Hostettmann K. // Magn Reson Chem. – 2005. – v.43(9). – P.697-709. DOI: 10.1002/mrc.1631.

277. Wolfender J.L. The potential of LC-NMR in phytochemical analysis / Wolfender J.L., Ndjoko K., Hostettmann K. // Phytochem Anal. – 2001. – v. 12(1). – P.2-22. DOI: 10.1002/1099-1565(200101/02)12:1<2::AID-PCA552>3.0.CO;2-K.

278. Zafar R. Anti-hepatotoxic effects of root and root callus extracts of *Cichorium intybus* L. / Zafar R., Mujahid Ali S. //J Ethnopharmacol. – 1998. – v.63(3). – P.227-31. DOI: 10.1016/s0378-8741(98)00087-7.

# ПРИЛОЖЕНИЯ

# ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

| | |
|---|---|
| **Цикория обыкновенного трава** | **ФС.** |
| ***Cichorii intybi herba*** | **Вводится впервые** |

Собранная в фазу цветения и высушенная трава многолетнего дикорастущего травянистого растения цикория обыкновенного – *Cichorium intybus* L. сем. астровых – *Asteraceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

***Внешние признаки.*** *Цельное сырье.* Цельные или разрезанные на куски различной длины олиственные и безлистные стебли с цветочными корзинками и без них, отдельные стебли, листья, цветочные корзинки и их части. Стебли разветвленные, округлые, ребристые, полые, опушенные или почти голые. Прикорневые листья струговидно перистораздельные или цельные, зубчатые по краю, у основания постепенно суженные в крылатый черешок. Стеблевые листья очередные, сидячие, стеблеобъемлющие с закругленными или стреловидными ушками, ланцетно-яйцевидные или ланцетные; верхние – цельнокрайние, нижние – острозубчатые. Все листья более или менее опушенные. Соцветия –корзинки одиночные или собраны по нескольку в пазухах листьев или на верхушках стеблей. Обвертка корзинки двухрядная, наружные листочки в 1,5-2 раза короче внутренних, неодинаковой формы, сверху опушенные железистыми волосками. Цветки язычковые, пятизубчатые, обоеполые, венчик длиной до 25 мм.

# ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

| | |
|---|---|
| **Цикория обыкновенного литья** | **ФС.** |
| ***Cichorii intybi folia*** | **Вводится впервые** |

Собранные в фазу конца первого года вегетации и высушенные листья культивируемого травянистого растения цикория обыкновенного – *Cichorium intybus* L. сем. астровых – *Asteraceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

***Внешние признаки.*** *Цельное сырье.* Цельные или разрезанные на куски прикорневые розеточные листья струговидно перистораздельные цельные, по краю зубчатые, к основанию постепенно суженные в крылатый черешок, с заостренной или притупленной верхушкой, с хорошо заметной с обеих сторон главной жилкой, вдавленной сверху и выступающей снизу, шершавые, ломкие, частично скрученные. Длина листа с черешком до 32 см, ширина до 7 см.

Цвет листьев зеленый, серовато-зеленый или коричневато-зеленый. Запах слабый. Вкус водного извлечения горьковатый (Рисунок 41).

***Микроскопические признаки.*** *Цельное сырье.* При микроскопическом исследовании листа культивируемого цикория выявлено, что стенки клеток верхнего эпидермиса прямые и слабоизвилистые, нижнего – слабоизвилистые и извилистые, местами стенки клеток четко видно утолщены (Рисунки 42, 43). Кутикула продольно морщинистая, вокруг

# ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

| | |
|---|---|
| **Топинамбура трава** | **ФС.** |
| ***Helianthi tuberosi herba*** | **Вводится впервые** |

Собранная в фазу конца вегетации (сентябрь-октябрь) и высушенная трава многолетнего культивируемого травянистого растения топинамбура – *Helianthus tuberosum* L. сем. астровых – *Asteraceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

***Внешние признаки.*** *Цельное сырье.* Разрезанные на куски верхние части олиственных стеблей длиной до 30 см с листьями и цветками, отдельные листья, стебли, цветки. Стебли прямые, в верхней части ветвистые, округлые, продольно-бороздчатые, шершавые от коротких волосков. Листья супротивные, верхние очередные, черешковые, крупно пильчато-зубчатые, сердцевидно-яйцевидные, удлиненно-яйцевидные или ланцетные, с тремя продольными жилками, с обеих сторон шершаво коротко волосистые. Корзинки относительно мелкие 2-5 см в диаметре (иногда больше); обвертка двухрядная, листочки обвертки ланцетные с отогнутой верхушкой, шероховатые или коротко волосистые; прицветники пленчатые трехзубчатые, на верхушке волосистые; краевые цветки язычковые, срединные – трубчатые обоеполые. Цвет стеблей светло-зеленый, иногда с фиолетовым и черным оттенком; листьев с верхней стороны зеленый, с нижней – более светлый; листочков обвертки зеленый; цветков желтый.

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЛЕКАРСТВЕННЫХ И АРОМАТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ»**

УТВЕРЖДАЮ
Директор
_____ Сидельников Н.И.
«17» августа 2021 г.

# МЕТОДИКА
## количественного определения суммы фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту в траве цикория обыкновенного
## (отчет о валидации)
## № М-04868244-92-2021



| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Согласовал: | Заместитель директора по научной работе, д.фарм.н., проф | Мизина П.Г. | | 16.08.21 |
| | *(Должность)* | *(Фамилия И.О.)* | *(Подпись)* | *(Дата)* |
| Выполнил(и): | Руководитель Центра химии и фарм. технологии, к.фарм.н. | Сайбель О.Л. | | 16.08.2021 |
| | *(Должность)* | *(Фамилия И.О.)* | *(Подпись)* | *(Дата)* |
| | Научный сотрудник лаборатории атомарно-молекулярной биорегуляции и селекции, к.фарм.н. | Адамов Г.В. | | 16.08.2021 |
| | *(Должность)* | *(Фамилия И.О.)* | *(Подпись)* | *(Дата)* |

Москва-2021

1

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

117216, Москва, ул. Грина, 7
Тел. (495) 388-55-09
Факс (495) 712-09-18
e-mail: vilarnii@mail.ru
www.vilarnii.ru
ИНН 7727062764

От 17.08.21 г. № 413314/139
на № _____ от _____

Исполняющей обязанности
генерального директора
ФГБУ «НЦЭСМП»,
кандидату фармацевтических
наук
Косенко В.В.

Глубокоуважаемая Валентина Владимировна!

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР) направляет Вам проект фармакопейной статьи «Цикория обыкновенного трава» для рассмотрения и включения в Государственную Фармакопею Российской Федерации.

Приложение:

1. Проект фармакопейной статьи «Цикория обыкновенного трава» с пояснительной запиской – 2 экз.
2. Отчет о валидации методики количественного определения суммы фенольных соединений в траве цикория обыкновенного – 2 экз.
3. Флеш-карта с электронной версией документов.

Директор,
академик РАН Сидельников Н.И.

Исполнитель: Сайбель О.Л.
8(495) 388-45-66

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ И АРОМАТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ»

ОКПД2 72.19.30

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора
по научной работе ФГБНУ ВИЛАР

_____Мизина П.Г.

«18» декабря 2018 г.

# ЦИКОРИЕВАЯ КИСЛОТА – СТАНДАРТНЫЙ ОБРАЗЕЦ

Технические условия

ТУ 72.19.30-001-04868244-2018

(Взамен ТУ 9369-180-04868244-2013)

Срок введения с «18» декабря 2018 г.
до «18» декабря 2023 г.

Москва 2018

| ИНВ. № ПОДЛ. | ПОДП. И ДАТА | ВЗАМ. ИНВ. № | ИНВ. № ДУБЛ. | ПОДП. И ДАТА |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ И АРОМАТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ»

ОКПД2 72.19.30

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель
директора по научной работе
ФГБНУ ВИЛАР

_____Мизина П.Г.
«17» декабря 2021 г.

# ХЛОРОГЕНОВАЯ КИСЛОТА – СТАНДАРТНЫЙ ОБРАЗЕЦ

Технические условия

ТУ 72.19.30-004-04868244-2021

Срок введения с «17» декабря 2021 г.
до «17» декабря 2026 г.

Москва 2021

| ИНВ. № ПОДЛ. | ПОДП. И ДАТА | ВЗАМ. ИНВ. № | ИНВ. № ДУБЛ. | ПОДП. И ДАТА |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФГБНУ ВИЛАР,
академик РАН

_____Сидельников Н.И.
«14» декабря 2021 г.

# ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ДОКЛИНИЧЕСКОМУ ИЗУЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ЦИКОРИЯ ОБЫКНОВЕННОГО ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО

В отделе токсикологии ФГБНУ ВИЛАР в период с 2019-2021 годы проведено доклиническое изучение безопасности цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) травы экстракта сухого, полученного в Центре химии и фармацевтической технологии. Исследуемый экстракт цикория стандартизован по сумме фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту, содержание которой составило 9,20±0,43%. Токсикологическое изучение цикория обыкновенного травы экстракта сухого включало исследование общетоксического действия и репродуктивной токсичности.

Исследование общетоксического действия цикория обыкновенного травы экстракта сухого проведено на половозрелых мышах линии BALB/c и крысах Wistar самцах и самках в условиях однократного и длительного введения.

Показано, что при однократном внутрибрюшинном введении цикория обыкновенного травы экстракта сухого мышам и крысам установлены следующие показатели $ЛД_{50}$ для мышей: 3415±171 мг/кг (самцы) и 3622±241 мг/кг (самки); для крыс 2493 ±442 мг/кг ( самцы) и 2719±404 мг/кг (самки).

При одно- и двукратном введении в желудок мышам и крысам цикория обыкновенного травы экстракта сухого, показатели $ЛД_{50}$ составили более 9000 мг/кг.

Не установлено статистически достоверных различий по показателям $ЛД_{50}$ в зависимости от вида и пола экспериментальных животных.

Согласно ГОСТ 12.1.007-76 цикория обыкновенного травы экстракт сухой относится к 4 классу токсичности (малотоксичным веществам).

90-дневное внутрижелудочное введение (хроническая токсичность) цикория обыкновенного травы экстракта сухого половозрелым крысам самцам и самкам в дозах 100 и 500 и 1000 мг/кг (соответственно, близкая к терапевтической, 5-ти и 10-ти кратные терапевтические) не вызывало у них изменений основных интегральных показателей (внешний вид, потребление сухого корма и воды, динамика массы тела) по сравнению с контролем. Процессы мочеотделения и дефекации протекали однотипно во всех экспериментальных группах. Начиная со второй недели и до окончания эксперимента, у самцов и самок II-IV групп наблюдали снижение двигательной активности, что свидетельствует о наличии седативной активности у

исследуемого экстракта, которое было подтверждено при исследовании функционального состояния центральной нервной системы крыс самцов и самок в тесте «открытое поле». На протяжении хронического эксперимента ни в одной из экспериментальных групп не отмечено гибели животных.

При исследовании гематологических показателей периферической крови крыс самцов и самок, получавших цикория обыкновенного экстракт сухой во всех испытанных дозах, в течение всего хронического эксперимента не установлено его влияния на количество эритроцитов, лейкоцитов, уровень гемоглобина, среднее содержание и концентрацию гемоглобина в эритроците, гематокрит, средний объем эритроцитов, распределение эритроцитов по объему, лейкограммы, по сравнению с контролем.

При исследовании системы плазменного гемостаза на 60-й день хронического эксперимента отмечено статистически достоверное увеличение протромбинового времени при введении в дозе 100 мг/кг до 14,4±0,1 сек, в контроле - 13,5±0,3 сек ($P<0,05$) и тромбинового времени в дозах 500 и 1000 мг/кг, соответственно: 25,9±0,5 и 26,4±0,5 сек по сравнению с контролем 23,1±0,4 сек ($P<0,05$). Длительное введение исследуемого экстракта в желудок крысам приводило к снижению содержания фибриногена и увеличению показателя АЧТВ (активированное частичное тромбопластиновое время). Полученные данные свидетельствуют об увеличении времени свертываемости крови крыс под действием цикория обыкновенного экстракта сухого при длительном введении в желудок, что может быть расценено как проявление антикоагулянтных свойств.

В условиях хронического эксперимента установлено дозозависимое гиполипидемическое действие цикория обыкновенного травы экстракт сухого при введении в желудок крысам самцам в испытанных дозах, которое характеризовалось снижением содержания общего холестерина, триглицеридов и липопротеидов низкой плотности сыворотки крови. У крыс самцов, получавших максимальную испытанную дозу экстракта, в конце хронического эксперимента отмечен гипогликемический эффект.

Сухой экстракт цикория не оказывал токсического действия на функцию печени, почек и поджелудочной железы крыс самцов по биохимическим показателям (содержание общего билирубина, мочевины, креатинина, ионов $K^+$, $Na^+$) и активности некоторых ферментов (аланин- и аспартатаминотрансферазы, щелочная фосфатаза, альфа-амилаза, гамма-глутамилтрансфераза, общая лактатдегидрогеназа) сыворотки крови.

Исследование функционального состояния почек экспериментальных животных в условиях 3% водной нагрузки показало, что под действием исследуемого экстракта во всех испытанных дозах отмечено его диуретическое действие, которое наблюдалось у крыс самцов на 90-й день, а у крыс самок – на 30-й день хронического опыта.

По результатам клинического анализа мочи крыс самцов и самок, получавших в желудок изучаемый экстракт в течение 90 дней, установлено, что все изученные параметры мочи (билирубин, уробилиноген, кетоны, белок, кровь,

нитриты, лейкоциты, pH, удельная плотность) соответствовали физиологической норме для животных данного вида и контролю.

По результатам электрокардиограмм, снятых во II-м стандартном отведении, не выявлено кардиотоксического действия цикория обыкновенного травы экстракта сухого у крыс самцов и самок.

При некропсии крыс самцов и самок установлено статистически достоверное увеличение коэффициента массы селезенки в группах животных, получавших максимально испытанную дозу, и наличие в ней крупных лимфоцитарных фолликул со светлыми центрами, склонных к слиянию. Полученные данные могут свидетельствовать об иммуностимулирующем действии исследуемого экстракта.

Патогистологические исследования внутренних органов крыс самцов и самок, получавших в течение 90-ти дней цикория обыкновенного экстракт сухой в дозах 100, 500 и 1000 мг/кг показали, что исследуемый экстракт не оказывал повреждающего действия на внутренние органы животных (головной мозг, гипофиз, щитовидная железа, сердце, легкие, печень, селезенка, почки, надпочечники, семенники, яичники, тимус, поджелудочная железа, желудок, тонкий и толстый кишечник, брыжеечные лимфатические узлы).

По результатам патогистологического исследования не установлено раздражающего действия цикория обыкновенного экстракта сухого во всех испытанных дозах на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта крыс самцов и самок во всех испытанных дозах.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о низкой токсичности исследуемого экстракта, как при однократном, так и при длительном введении в желудок крысам самцам и самкам в широком диапазоне доз. При длительном введении, в условиях хронического эксперимента, у сухого экстракта цикория выявлено гиполипидемическое, гипогликемическое, седативное, диуретическое и иммуностимулирующее действие.

При изучении влияния цикория обыкновенного травы экстракта сухого на генеративную функцию крыс-самцов установлено отсутствие его гонадотоксического действия и выявлено его стимулирующее действие на процесс сперматогенеза крыс при введении в желудок в дозах 100, 500 и 1000 мг/кг.

На основании полученных результатов можно рекомендовать дальнейшее изучение цикория обыкновенного травы экстракта сухого с целью создания на его основе лекарственного средства.

Заведующий отделом токсикологии
ФГБНУ ВИЛАР,
кандидат биологических наук Л.В. Крепкова

Подпись кандидата биологических наук Крепковой Л.В. заверяю
Ученый секретарь ФГБНУ ВИЛАР,
кандидат фармацевтических наук О.А. Семкина

3

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФГБНУ ВИЛАР,
академик РАН
_____Сидельников Н.И.
«09» ноября 2021 г.

**Заключение по фармакологической активности экстракта травы дикорастущего цикория обыкновенного**

В Центре доклинических исследований ФГБНУ ВИЛАР проведено изучение фармакологической активности экстракта травы дикорастущего цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) на моделях острого тетрахлорметанового гепатита крыс и острого токсического поражения печени крыс, вызванного однократным подкожным введением сулемы в сравнении с известным растительным лекарственным средством гепатопротекторного действия Силимар®.

Экспериментальная работа выполнена по Правилам лабораторной практики в Российской Федерации («Руководство по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов» (2019 г.) и «Правила надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств», «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012 г). Доклинические исследования согласованы биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР (протокол № 29 от 09.06.2020 г.) и проведены в соответствии с «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей».

Введение лабораторным животным изучаемого экстракта в дозах 100 мг/кг и 500 мг/кг в условиях экспериментальных моделей острого тетрахлорметанового гепатита и острой интоксикации сулемой крыс способствовало снижению уровня билирубина и активности ферментов

сыворотки крови-маркеров заболеваний печени (аланин- и аспартатаминотрансфераз, щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы) в крови, уменьшению дистрофических изменений по типу гиалиново-капельной дистрофии печени при патоморфологическом исследовании печени, а также улучшению общего самочувствия при острой интоксикации тетрахлорметаном и ртутью. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что по эффективности гепатопротекторного и антигепатотоксического действия на указанных моделях патологии печени сухой экстракт цикория обыкновенного в дозах 100 и 500 мг/кг соответствует препарату «Силимар».

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что курсовое введение *per os* изучаемого экстракта в экспериментально-терапевтических дозах 100 мг/кг и 500 мг/кг лабораторным животным, оказывает достоверно выраженное дозозависимое гепатопротекторное и антигепатотоксическое действие, сопоставимое с активностью препарата сравнения Силимар®.

Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что в опытах *in vivo* сухой экстракт травы дикорастущего цикория обыкновенного в дозах 100 мг/кг и 500 мг/кг проявляет гепатопротекторные свойства и является перспективным для создания на его основе лекарственных растительных средств для профилактики и лечения заболеваний печени.

Заведующий отделом экспериментальной фармакологии, доктор медицинских наук Е.В. Ферубко

Руководитель Центра доклинических исследований кандидат биологических наук И.А. Лупанова

Подписи доктора медицинских наук Ферубко Е.В. и кандидата биологических наук Лупановой И.А. заверяю

Ученый секретарь ФГБНУ ВИЛАР, канд. фарм. наук О.А. Семкина

2

**УТВЕРЖДАЮ**
Директор ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН
д.б.н., профессор
_____ Л.Л. Убугунов
"12" июля 2021 г.

# ОТЧЕТ
## о результатах исследования иммуномодулирующих свойств фракций, выделенных из цикория обыкновенного

Целью настоящего исследования явилось определение иммуномодулирующих свойств фракций (этилацетатной, бутанольной, спиртовой, водной, объединенной), выделенных из цикория обыкновенного, в отношении показателей клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа.

Эксперименты проведены на мышах-самцах линии $F_1$ (CBAxC57Bl/6) массой 18-20 г, полученных из питомника РАМН «Столбовая».

Действие исследуемого средства на показатели клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунитета было изучено на животных, находящихся в состоянии иммунодепрессии, вызванной цитостатиком циклофосфаном, который вводили контрольной группе животных в дозе 250 мг/кг однократно внутрибрюшинно.

Этилацетатную, бутанольную, спиртовую, водную и объединенную (бутанольная+, спиртовая+водная) фракции вводили опытным группам мышей на фоне циклофосфана в дозах 2, 7, 7, 14 и 28 мг/кг, соответственно, перорально 1 раз в сутки в течение 14 дней. Интактная и контрольная группы животных получали воду очищенную по аналогичной схеме. Исследования проводили на 15 день эксперимента.

Действие испытуемого средства на состояние клеточного звена иммунного ответа оценивали в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) согласно стандартной методике [1]. Мышей сенсибилизировали внутрибрюшинным введением 0,1% взвеси эритроцитов барана в физиологическом растворе. На 4 сутки под подошвенный апоневроз задней лапки вводили разрешающую дозу антигена – 50 мкл 50% взвеси эритроцитов барана (ЭБ). В контрлатеральную лапку инъецировали физиологический раствор в том же объеме. Оценку реакции ГЗТ проводили спустя 24 часа по разнице масс опытной и контрольной лап. Индекс реакции ГЗТ ($И_р$) рассчитывали по формуле: $И_р = [(М_{оп} – М_к) / М_к]\times100\%$, где $М_{оп}$ – масса опытной лапы, $М_к$ – масса контрольной лапы.

Состояние гуморального иммунитета оценивали по количеству антителообразующих клеток (АОК), определяемых методом локального гемолиза по A.J.Cunningham (1965). Мышей иммунизировали внутрибрюшинно ЭБ в дозе $2x10^8$ клеток на мышь. Реакцию ставили на 5-е сутки после иммунизации [2].

Состояние макрофагального звена иммунного ответа оценивали в реакции фагоцитоза перитонеальных макрофагов в отношении частиц коллоидной туши. Оптическую плотность лизата клеток перитонеального экссудата, отражающую количество туши, поглощенной перитонеальными макрофагами, определяли на спектрофотометре «CECIL-2011» при длине волны 620 нм [1].

Полученные результаты обработаны статистическим методом с помощью критерия t-Стьюдента.

При исследовании влияния указанных фракций на процессы антителообразования установлено, что данные соединения восстанавливают показатели гуморального иммунного ответа в условиях циклофосфановой иммуносупрессии. Введение циклофосфана приводило к снижению как абсолютного числа АОК, так и числа АОК на $10^6$ спленоцитов на 37% и

30%, соответственно, по сравнению с теми же показателями в интактной группе. При введении этилацетатной, бутанольной, спиртовой, водной и объединенной фракций на фоне иммуносупрессии наблюдали достоверное увеличение количества АОК как в абсолютных значениях, так и при расчете на $10^6$ спленоцитов; при этом первый показатель превышал уровень циклофосфановой супрессии в 1,8; 1,7; 1,6; 1,4 и 1,3 раза, соответственно, а второй - в 1,7; 1,5; 1,6; 1,5 и 1,4 раза, соответственно (Таблица 1).

Таблица 1 - Влияние фракций, выделенных из цикория обыкновенного, на антителообразование

| Группы животных | Абсолютное число АОК на селезенку | Число АОК на $10^6$ спленоцитов |
|---|---|---|
| Интактная, n=10 | 34765±1867 | 152±11 |
| Контрольная (циклофосфан), n=10 | 21901±1723* | 107±10* |
| Опытная 1 (циклофосфан + этилацетатная фракция), n=10 | 39422±2105** | 182±15** |
| Опытная 2 (циклофосфан + бутанольная фракция), n=10 | 37232±2514** | 161±13** |
| Опытная 3 (циклофосфан + спиртовая фракция), n=10 | 35042±2186** | 171±15** |
| Опытная 4 (циклофосфан + водная фракция), n=10 | 30661±2273** | 160±12** |
| Опытная 5 (циклофосфан + объединенная фракция), n=10 | 28471±1836** | 149±11** |

Примечание: различия достоверны по сравнению с данными: * – в интактной группе, ** – в контрольной группе при $p \leq 0,05$; n – количество животных в группе.

При исследовании влияния фракций цикория обыкновенного на клеточно-опосредованную реакцию ГЗТ установлено, что испытуемые соединения восстанавливают индекс данной реакции (ИР ГЗТ) в условиях циклофосфановой иммуносупрессии. Введение циклофосфана приводило к снижению ИР ГЗТ на 34% по сравнению с тем же показателем в интактной группе. При введении этилацетатной, бутанольной, спиртовой, водной и объединенной фракций на фоне иммунодепрессии наблюдали увеличение ИР ГЗТ в 1,7; 1,6; 1,7; 1,5 и 1,4 раза, соответственно, по сравнению с контролем (Таблица 2).

Таблица 2 - Влияние фракций, выделенных из цикория обыкновенного, на выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ)

| Группы животных | ИР ГЗТ, % |
|---|---|
| Интактная, n=10 | 34,55±2,17 |
| Контрольная (циклофосфан), n=10 | 22,80±1,64* |
| Опытная 1 (циклофосфан + этилацетатная фракция), n=10 | 38,76±2,21** |
| Опытная 2 (циклофосфан + бутанольная фракция), n=10 | 36,48± 2,38** |
| Опытная 3 (циклофосфан + спиртовая фракция), n=10 | 39,44±3,15** |
| Опытная 4 (циклофосфан + водная фракция), n=10 | 34,43±2,49** |
| Опытная 5 (циклофосфан + объединенная фракция), n=10 | 31,92±2,87** |

При исследовании влияния фракций цикория обыкновенного на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов в отношении частиц коллоидной туши установлено, что данные соединения восстанавливают фагоцитарный индекс по сравнению с данными в контрольной группе. Введение циклофосфана приводило к снижению фагоцитарного индекса на 38% по сравнению с тем же показателем в интактной группе. При введении

этилацетатной, бутанольной, спиртовой, водной и объединенной фракций животным с иммунодефицитом наблюдали увеличение фагоцитарного индекса в 1,7; 1,8; 1,6; 1,4 и 1,4 раза, соответственно, по сравнению с данными в контрольной группе (Таблица 3).

Таблица 3 - Влияние фракций, выделенных из цикория обыкновенного, на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов

| Группы животных | Фагоцитарный индекс, у.е. опт.пл. |
|---|---|
| Интактная, n=10 | 0,465±0,013 |
| Контрольная (циклофосфан), n=10 | 0,287±0,016* |
| Опытная 1 (циклофосфан + этилацетатная фракция), n=10 | 0,489±0,023** |
| Опытная 2 (циклофосфан + бутанольная фракция), n=10 | 0,517±0,029** |
| Опытная 3 (циклофосфан + спиртовая фракция), n=10 | 0,459±0,027** |
| Опытная 4 (циклофосфан + водная фракция), n=10 | 0,407±0,031** |
| Опытная 5 (циклофосфан + объединенная фракция), n=10 | 0,402±0,024** |

Таким образом, исследование иммуномодулирующих свойств фракций (этилацетатной, бутанольной, спиртовой, водной, объединенной), выделенных из цикория обыкновенного, выявило их эффективность по отношению к реакциям клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа при экспериментальном иммунодефиците, вызванном цитостатиком циклофосфаном. Фракции способны ослаблять супрессивное действие циклофосфана на клеточно-опосредованную иммунную реакцию, антителогенез и фагоцитоз макрофагов. Наиболее выраженный эффект отмечен при использовании этилацетатной, бутанольной и спиртовой фракций.

Литература

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова, Н.Д. Бунятяна – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
2. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells // Nature. - 1965. - Vol.207. - № 5001. - P.1106-1107.

Исполнители:
Заведующий лабораторией
экспериментальной фармакологии ФГБУН
«Институт общей и экспериментальной
биологии» СО РАН
д.б.н., доцент — В.Б. Хобракова

**УТВЕРЖДАЮ**
Директор ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН
д.б.н., профессор
_____ Л.Л. Убугунов
"02" июня 2017 г.

# ОТЧЕТ
## о результатах исследования иммуномодулирующих свойств экстракта сухого цикория обыкновенного

Целью настоящего исследования явилось определение иммуномодулирующих свойств экстракта сухого цикория обыкновенного в отношении показателей клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа.

Эксперименты проведены на мышах-самцах линии $F_1$ (CBAxC57Bl/6) массой 18-20 г, полученных из питомника РАМН «Столбовая».

Действие исследуемого средства на показатели клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунитета было изучено на интактных животных, а также животных, находящихся в состоянии иммунодепрессии, вызванной цитостатиком азатиоприном, который вводили контрольной группе животных в дозе 50 мг/кг перорально 1 раз в сутки в течение 5 дней [1].

Экстракт сухой цикория обыкновенного вводили 1-ой опытной группе мышей на фоне азатиоприна и 3-ой опытной группе интактных мышей в дозе 30 мг/кг перорально 1 раз в сутки в течение 14 дней. Экспериментально-терапевтическая доза экстракта сухого цикория, равная 30 мг/кг, определена опытным путем в предварительных испытаниях на 30 мышах. В качестве препарата сравнения использовали «Иммунал» («Lec Pharma», Словения), представляющий собой сок травы эхинацеи пурпурной, предварительно деалкоголизированный. «Иммунал» вводили 2-ой опытной группе мышей на фоне азатиоприна и 4-ой опытной группе интактных мышей в изоэффективной дозе 5 мл/кг перорально 1 раз в сутки в течение 14 дней. Интактная и контрольная группы животных получали воду очищенную по аналогичной схеме. Исследования проводили на 20 день эксперимента.

Действие испытуемого средства на состояние клеточного звена иммунного ответа оценивали в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) согласно стандартной методике [2]. Мышей сенсибилизировали внутрибрюшинным введением 0,1% взвеси эритроцитов барана в физиологическом растворе. На 4 сутки под подошвенный апоневроз задней лапки вводили разрешающую дозу антигена – 50

мкл 50% взвеси эритроцитов барана (ЭБ). В контрлатеральную лапку инъецировали физиологический раствор в том же объеме. Оценку реакции ГЗТ проводили спустя 24 часа по разнице масс опытной и контрольной лап. Индекс реакции ГЗТ ($И_р$) рассчитывали по формуле: $И_р = [(М_{оп} – М_к) / М_к]×100\%$, где $М_{оп}$ – масса опытной лапы, $М_к$ – масса контрольной лапы.

Состояние гуморального иммунитета оценивали по количеству антителообразующих клеток (АОК), определяемых методом локального гемолиза по A.J.Cunningham (1965). Мышей иммунизировали внутрибрюшинно ЭБ в дозе $2x10^8$ клеток на мышь. Реакцию ставили на 5-е сутки после иммунизации [3].

Состояние макрофагального звена иммунного ответа оценивали в реакции фагоцитоза перитонеальных макрофагов в отношении частиц коллоидной туши. Оптическую плотность лизата клеток перитонеального экссудата, отражающую количество туши, поглощенной перитонеальными макрофагами, определяли на спектрофотометре «CECIL-2011» при длине волны 620 нм [2].

Полученные результаты обработаны статистическим методом с помощью критерия t-Стьюдента.

При исследовании влияния экстракта сухого цикория обыкновенного в дозе 30 мг/кг на процессы антителообразования установлено, что данное средство восстанавливает показатели гуморального иммунного ответа в условиях азатиоприновой иммуносупрессии. Введение азатиоприна приводило к снижению как абсолютного числа АОК, так и числа АОК на $10^6$ спленоцитов на 37% и 40%, соответственно, по сравнению с теми же показателями в интактной группе. При введении исследуемого средства на фоне иммуносупрессии наблюдали достоверное увеличение количества АОК как в абсолютных значениях, так и при расчете на $10^6$ спленоцитов; при этом первый показатель превышал уровень азатиоприновой супрессии в 1,4 раза, а второй - в 1,6. При введении препарата сравнения «Иммунал» достоверно возросло абсолютное и относительное числа АОК в 1,4 и 1,3 раза соответственно по сравнению с данными в контрольной группе. При введении экстракта сухого цикория обыкновенного и препарата «Иммунал» интактным животным установлено, что данные средства не изменяют показатели гуморального иммунитета у интактных животных (Таблица 1).

Таблица 1 - Влияние экстракта сухого цикория обыкновенного на антителообразование

| Группы животных | Абсолютное число АОК на селезенку | Число АОК на $10^6$ спленоцитов |
|---|---|---|
| Интактная, n=10 | 46199±2203 | 272±22 |
| Контрольная (азатиоприн), n=10 | 29328±2368* | 163±10* |
| Опытная 1 (азатиоприн + экстракт цикория), n=10 | 42022±3629** | 252±12** |
| Опытная 2 (азатиоприн + «Иммунал»), n=10 | 41059±2763** | 212±13** |
| Опытная 3 (экстракт цикория), n=10 | 40655±3821 | 244±18 |
| Опытная 4 («Иммунал»), n=10 | 39842±2546 | 237±21 |

Примечание: различия достоверны по сравнению с данными: * – в интактной группе, ** – в контрольной группе при $p \leq 0,05$; n – количество животных в группе.

При исследовании влияния экстракта сухого цикория обыкновенного на клеточно-опосредованную реакцию ГЗТ установлено, что испытуемое средство восстанавливает индекс данной реакции (ИР ГЗТ) в условиях азатиоприновой иммуносупрессии. Введение азатиоприна приводило к снижению ИР ГЗТ на 38% по сравнению с тем же показателем в интактной группе. При введении испытуемого средства и препарата сравнения «Иммунал» на фоне иммунодепрессии наблюдали увеличение ИР ГЗТ в 1,5 и 1,3 раза соответственно по сравнению с контролем, тогда как у интактных животных при использовании указанных средств не отмечали существенного изменения данного показателя по сравнению с данными в интактной группе (Таблица 2).

Таблица 2 - Влияние экстракта сухого цикория обыкновенного на выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ)

| Группы животных | ИР ГЗТ, % |
|---|---|
| Интактная, n=10 | 37,4±2,56 |
| Контрольная (азатиоприн), n=10 | 23,3±1,84* |
| Опытная 1 (азатиоприн + экстракт цикория), n=10 | 35,5±2,27** |
| Опытная 2 (азатиоприн + «Иммунал»), n=10 | 30,7 ± 2,14** |
| Опытная 3 (экстракт цикория), n=10 | 33,9±2,46 |
| Опытная 4 («Иммунал»), n=10 | 32,5±2,46 |

При исследовании влияния экстракта сухого цикория обыкновенного и препарата «Иммунал» на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов интактных мышей в отношении частиц коллоидной туши установлено, что данные средства не вызывают значимого изменения фагоцитарного индекса по сравнению с данными в интактной группе. Введение азатиоприна приводило к снижению фагоцитарного индекса на 51% по сравнению с тем же показателем в интактной группе. При введении исследуемого средства и препарата «Иммунал» животным с иммунодефицитом наблюдали увеличение фагоцитарного индекса в 1,9 и 1,5 раза соответственно по сравнению с данными в контрольной группе (Таблица 3).

Таблица 3 - Влияние экстракта сухого цикория обыкновенного на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов

| Группы животных | Фагоцитарный индекс, у.е. опт.пл. |
|---|---|
| Интактная, n=10 | 0,680±0,043 |
| Контрольная (азатиоприн), n=10 | 0,332±0,026* |
| Опытная 1 (азатиоприн + экстракт цикория), n=10 | 0,623±0,038** |
| Опытная 2 (азатиоприн + «Иммунал»), n=10 | 0,498±0,025** |
| Опытная 3 (экстракт цикория), n=10 | 0,597±0,024 |
| Опытная 4 («Иммунал»), n=10 | 0,584±0,037 |

Таким образом, исследование иммуномодулирующих свойств экстракта сухого цикория обыкновенного выявило его эффективность по отношению к реакциям клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа при экспериментальном иммунодефиците, вызванном цитостатиком азатиоприном.

Экстракт сухой цикория обыкновенного в дозе 30 мг/кг способен ослаблять супрессивное действие азатиоприна на клеточно-опосредованную иммунную реакцию, антителогенез и фагоцитоз макрофагов. Исследуемое средство не изменяет показатели иммунитета интактных животных. Это свойство присуще лишь истинным иммуномодуляторам, обладающим активностью только в условиях повреждения иммунитета. Эффективность экстракта сухого цикория обыкновенного сопоставима с действием препарата сравнения - «Иммунал».

Полученные данные позволяют заключить, что экстракт сухой цикория обыкновенного является эффективным иммунокорригирующим средством, что позволяет рекомендовать его для дальнейшего изучения и использования в целях профилактики и лечения заболеваний, обусловленных расстройством функций иммунной системы организма.

Литература

1. Лазарева Д.Н., Алехин Е.К. Стимуляторы иммунитета. – М.,1985.- 256 с.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова, Н.Д. Бунятяна – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
3. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells // Nature. - 1965. - Vol.207. - № 5001. - P.1106-1107.

Исполнители:
Заведующий лабораторией
экспериментальной фармакологии
ФГБУН «Институт общей и экспериментальной
биологии» СО РАН
д.м.н. А.Г. Мондодоев

с.н.с. лаборатории
экспериментальной фармакологии ФГБУН
«Институт общей и экспериментальной
биологии» СО РАН
д.б.н., доцент В.Б. Хобракова

08.06.2017 г.

УТВЕРЖДАЮ
Зам. директора по научной работе
Пятигорского медико-
фармацевтического института – филиала
ФГБОУ ВО Волгоградский
государственный медицинский
университет МЗ РФ,
профессор, д.фарм.н.,
_____ Д.А. Коновалов
«16» июня 2021г.

**АКТ ВНЕДРЕНИЯ**

**Результатов диссертационной работы Сайбель Ольги Леонидовны на тему: «Комплексное использование растений при разработке лекарственных средств и продуктов пищевого назначения», представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2. – фармацевтическая химия, фармакогнозия в учебный процесс и научную работу кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет МЗ РФ**

Комиссия в составе: председатель – заведующий кафедрой фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, профессор, д.фарм.н, Д.А. Коновалов, члены комиссии: профессор кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, д.фарм.н,, Ж.В. Дайронас; доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, доцент, к.фарм.н,, Ф.Л. Серебряная, составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Сайбель Ольги Леонидовны на тему «Комплексное использование растений при разработке лекарственных средств и продуктов пищевого назначения» внедрены в учебный процесс и научную работу кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет МЗ РФ и применяются при проведении фармакогностического и фитохимического анализа лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов растительного происхождения на практических занятиях у студентов 3 и 4 курса фармацевтического факультета, а также производственной практике по научно-исследовательской работе студентов и аспирантов, в частости по обоснованию принципа комплексного использования растительного сырья при разработке лекарственных средств.

Председатель комиссии Д.А. Коновалов
Члены комиссии

Ж.В. Дайронас

Ф.К.Серебряная

УТВЕРЖДАЮ
Директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», академик РАН

_____Сидельников Н.И.

«30» сентября 2021 г

УТВЕРЖДАЮ
И.о. проректора по научной работе и инновационному развитию Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор

_____Липатов В.А.

«30» сентября 2021 г.

**АКТ**
**о внедрении результатов научно – исследовательской работы в учебный процесс**

**Автор внедрения:** кандидат фармацевтических наук, руководитель Центра химии и фармацевтической технологии ФГБНУ ВИЛАР Сайбель Ольга Леонидовна

**Источник предложения:** результаты диссертационной работы Сайбель Ольги Леонидовны «Комплексное использование растений при разработке лекарственных средств и продуктов пищевого назначения» на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2 – фармацевтическая химия, фармакогнозия.

**Название объекта внедрения:** цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.). Результаты фармакогностического и фитохимического изучения надземной и подземной части растения.

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

**Дата начала отсчета внедрения:** используется с января 2021 года в учебном процессе (курс лекций и практических занятий) и научно-исследовательской работе кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России.

**Заключение об эффективности внедрения:** предоставленная информация используется в лекционном курсе дисциплины фармакогнозии и ботаники, что позволяет расширить знания студентов и аспирантов по диагностическим морфолого-анатомических признакам и химическому составу новых перспективных видов лекарственного растительного сырья – цикория обыкновенного трава и цикория обыкновенного корни.

Руководитель Центра химии
и фармацевтической технологии ФГБНУ ВИЛАР,
кандидат фармацевтических наук — Сайбель О.Л.

Заместитель директора
по научной работе ФГБНУ ВИЛАР,
доктор фармацевтических наук, профессор — Мизина П.Г

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «Травы Башкирии»

_____А.А.Иванов

«22» марта 2021г.

**А К Т**

**о промышленном выпуске опытной партии чайных напитков «Цикория обыкновенного трава», «Цикория обыкновенного корни»**

Комиссия в составе главного технолога Н.Е. Елёминой, представителей разработчиков Сайбель О.Л., Даргаевой Т.Д. провели промышленный выпуск опытной партии сырья «Цикория обыкновенного трава», «Цикория обыкновенного корни» в количестве по 100 упаковок (100,0 г), предназначенных для приготовления чайных напитков.

Комиссия отмечает, что опытная партия по рецептуре и показателям качества соответствует представленным разработчиками нормативным документам (проекты ФС «Цикория обыкновенного трава», «Цикория обыкновенного корни», инструктивные письма).

Опытная партия поставлена в фитобары ЛПУ РБ.

Главный технолог

ООО «Травы Башкирии» Н.Е. Елёмина

Разработчики:

Руководитель Центра химии и фармацевтической технологии ФГБНУ ВИЛАР, к.фарм.н Сайбель О.Л.

Главный научный сотрудник отдела химии природных соединений ФГБНУ ВИЛАР, д.фарм. н., проф. Даргаева Т.Д.

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «Травы Башкирии»

_____А.А.Иванов

«05» апреля 2021г.

**А К Т**

**о промышленном выпуске опытной партии чайных напитков «Топинамбура трава», «Топинамбура корни»**

Комиссия в составе главного технолога Н.Е.Елеминой, представителей разработчиков Сайбель О.Л., Даргаевой Т.Д. провели промышленный выпуск опытной партии сырья «Топинамбура трава», «Топинамбура клубни» в количестве по 100 упаковок (100,0 г), предназначенных для приготовления чайных напитков.

Комиссия отмечает, что опытная партия по рецептуре и показателям качества соответствует представленным разработчиками нормативным документам (проекты ФС ««Топинамбура трава», «Топинамбура клубни», инструктивные письма).

Опытная партия поставлена в фитобары ЛПУ РБ.

Главный технолог

ООО «Травы Башкирии» Н.Е. Елёмина

Разработчики:

Руководитель Центра химии и фармацевтической технологии ФГБНУ ВИЛАР, к.фарм.н Сайбель О.Л.

Главный научный сотрудник отдела химии природных соединений ФГБНУ ВИЛАР, д.фарм. н., проф. Даргаева Т.Д.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БУРЯТИЯ
Государственное предприятие Республики Бурятия
**Бурят-Фармация**
(ГП РБ «Бурят-Фармация»)

БУРЯАД УЛАСАЙ
ЭЛЭГЭЛИЙН ХАМГААЛГЫН ЯАМАН
Буряад Улэсэй гурэнэй эмхи
**Буряад-Фармаци**
(БУ ГЭ «Буряад-Фармаци»)

670047, Российская Федерация,
Республика Бурятия, г. Улан-Удэ,
ул. Дальневосточная, 7

тел. (3012) 33-58-08, 41-42-44, 33-44-92
факс (3012) 33-58-20
www.burfarm.ru; e-mail: office@bcfarm.ru

670047, Орэдой Хэлбэгэй Улас,
Буряад Улас, Улаан-Удэ хото,
Дальневосточная гудамжа, 7

ИНН 0323102270
КПП 032301001
ОКПО 05957571
ОГРН 1020300886594

24.05.2021 № 782

На № _____ от _____

В диссертационной работе Сайбель Ольги Леонидовны «Комплексное использование растений при разработке лекарственных средств и продуктов пищевого назначения», представленной на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 3.4.2 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, по результатам фитохимических исследований установлено, что основными биологически активными веществами надземной части цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) являются фенольные соединения (производные гидроксикоричной кислоты, оксикумарины, флавоноиды).

В рамках выполнения диссертационной работы Сайбель О.Л. разработан способ получения из данного сырья субстанции, обладающей гепатопротекторным и иммуномодулирующим действием.

В Республике Бурятия принят республиканский закон от 08.12.2017 N 2742-V «О развитии биофармацевтического производства в Республике Бурятия и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Республики Бурятия». Перед организациями и предприятиями республики поставлена задача расширения имеющегося производства и открытие новых площадок для производства лечебных средств природного происхождения.

Исследования Сайбель О.Л. представляют большой интерес для фармацевтического рынка, в том числе Республики Бурятия. Результаты диссертационной работы позволят внедрить в производство лечебные средства на основе отечественного растительного сырья и ограничить импорт аналогов из-за рубежа. Внедрение в практическую медицину лекарственных средств на основе сухого экстракта травы цикория обыкновенного позволит повысить эффективность профилактики и лечения нарушений иммунной и гепатобилиарной системы.

Генеральный директор Б.Д.Цыренов

## ЕВРАЗИЙСКИЙ ЭКОНОМИЧЕСКИЙ СОЮЗ
## ДЕКЛАРАЦИЯ О СООТВЕТСТВИИ

**Заявитель** ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Место нахождения и адрес места осуществления деятельности: 670047, Россия, Республика Бурятия, город Улан-Удэ, улица Сахьяновой, дом 6, основной государственный регистрационный номер 1020300902511

Телефон: +73012434211 Адрес электронной почты: ioeb@biol.bscnet.ru

в лице директора Убугунова Леонида Лазаревича

**заявляет, что** Напитки сухие чайные «Цикорий», «Топинамбур» с маркировкой "ФГБУН ИОЭБ СО РАН", упаковка: пакеты из бумаги, полимерных и комбинированных материалов, массой нетто от 30 грамм до 250 грамм с последующей укладкой в картонную коробку или тубу; в фильтр-пакеты, изготовленные из термосвариваемой пористой неразмокаемой бумаги массой нетто от 1 грамм до 5 грамм, и помещаемые в пакет из бумаги или ламинированной бумаги, или фольги, или полимерный пакет с нанесением этикетки непосредственно на пакет, или картонную коробку.

Изготовитель ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Место нахождения и адрес места осуществления деятельности: 670047, Россия, Республика Бурятия, город Улан-Удэ, улица Сахьяновой, дом 6

Продукция изготовлена в соответствии с ТУ 10.89.19-003-03533369-2021.

Код (коды) ТН ВЭД ЕАЭС: 2106909809

Серийный выпуск

**соответствует требованиям**

ТР ТС 021/2011 "О безопасности пищевой продукции"

ТР ТС 022/2011 "Пищевая продукция в части ее маркировки"

ТР ТС 029/2012 "Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств"

**Декларация о соответствии принята на основании**

Протокола испытаний № 985/21 от 08.06.2021, выданного Испытательной лабораторией ФБУ «Государственный региональный центр стандартизации, метрологии и испытаний в республике Бурятии», аттестат аккредитации № RA.RU.21АЯ24 и протокола испытаний № 1171 от 03.06.2021 г., выданного аккредитованным Испытательным центром Бюджетное учреждение ветеринарии «Бурятская республиканская научно-производственная ветеринарная лаборатория», аттестат аккредитации № RA.RU.21ПМ27.

Схема декларирования соответствия: 3д

**Дополнительная информация**

Срок годности 2 года, условия хранения: хранить при температуре не выше +25$^0$ С и относительной влажности воздуха не более 75%.

**Декларация о соответствии действительна с даты регистрации по 24.06.2024 включительно**

_____ М.П. Убугунов Леонид Лазаревич

подпись (Ф.И.О. заявителя)

**Регистрационный номер декларации о соответствии: ЕАЭС N RU Д-RU.PA01.B.55681/21**

**Дата регистрации декларации о соответствии: 28.06.2021**