

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ»

На правах рукописи



Нассер Раудас Абдул Хаким

**Фармакогностическое исследование портулака огородного
(*Portulaca Oleracea* L.)**

14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
доктор фармацевтических наук
Потанина Ольга Георгиевна

Москва – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.	15
1.1. Исторические предпосылки использования и ботанико- фармакогностическая характеристика травы <i>Portulaca oleracea</i> L.	15
1.1.1 История применения, распространение и места обитания <i>Portulaca</i> <i>oleracea</i> L.	15
1.1.2. Морфологические особенности <i>Portulaca oleracea</i> L.	17
1.1.3. Микроскопическая характеристика <i>Portulaca oleracea</i> L.	18
1.1.4. Химический состав <i>Portulaca oleracea</i> L.	19
1.1.5. Применение в медицине и фармакологическая активность <i>Portulaca</i> <i>oleracea</i> L.	24
1.1.5.1. Применение в научной и народной медицине.	24
1.1.5.2. Фармакологические свойства травы <i>Portulaca oleracea</i> L.	27
1.2. Характеристика действующих веществ и их стандартизация в ЛРС <i>Portulaca oleracea</i> L.	34
1.2.1. Фенольные соединения.	34
1.2.2. Полисахариды	35
1.2.3. Органические кислоты	36
1.2.4. Стандартизация травы <i>Portulaca oleracea</i> L.	37
Выводы главы 1	38
ГЛАВА 2. МЕТОДЫ И ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	40
2.1. Материалы исследования.	40
2.1.1. Объекты исследования	40
2.1.2. Стандартные образцы и реактивы	40
2.1.3. Оборудование.	41
2.2. Методы, использованные при проведении исследования	43
2.2.1. Морфолого-анатомическое изучение травы <i>Portulaca oleracea</i> L.	43

2.2.2. Определение подлинности и числовых показателей травы <i>Portulaca oleracea L.</i>	44
2.2.3. Исследование химического состава травы <i>Portulaca oleracea L.</i>	48
2.2.4. Определение количественного содержания биологически активных веществ в траве <i>Portulaca oleracea L.</i>	51
2.2.5. Сроки годности.	64
ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТРАВЫ <i>PORTULACA OLERACEA L.</i>	66
3.1. Изучение внешних диагностических признаков травы <i>Portulaca oleracea L.</i>	66
3.2. Изучение анатомо-диагностических признаков травы <i>Portulaca oleracea L.</i>	69
Выводы главы 3	75
ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТРАВЫ <i>PORTULACA OLERACEA L.</i>	76
4.1. Изучение состава БАВ сырья <i>Portulaca oleracea L.</i> с помощью качественных реакций	76
4.2. Изучение химического состава БАВ <i>Portulaca oleracea L.</i> методом ТСХ.	77
4.3. Определение числовых показателей травы <i>Portulaca oleracea L.</i>	80
4.3.1. Определение влажности сырья травы <i>Portulaca oleracea L.</i>	81
4.3.2. Определение содержания экстрактивных веществ в траве <i>Portulaca oleracea L.</i>	81
4.3.3. Определение содержания золы общей в траве <i>Portulaca oleracea L.</i>	81
4.3.4. Определение содержания золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте в траве <i>Portulaca oleracea L.</i>	82
4.3.5. Определение измельченности и содержания примесей в траве <i>Portulaca oleracea L.</i>	82
4.3.6. Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в траве <i>Portulaca oleracea L.</i>	83

4.3.6.1. Методы основанные на образовании окрашенных сульфидов	83
4.3.6.2. Метод атомно-абсорбционной спектрометрии	84
4.4. Изучение химического состава травы <i>Portulaca oleracea L.</i>	87
4.4.1. Определение содержания макро- и микроэлементов в траве <i>Portulaca oleracea L.</i>	87
4.4.2. Определение содержания состава липидного комплекса травы <i>Portulaca oleracea L.</i>	88
4.4.3. Определение содержания <i>Acidum ascorbinicum</i> в траве <i>Portulaca oleracea L.</i>	94
4.4.4. Определение содержания фенольных соединений в траве <i>Portulaca oleracea L.</i>	96
4.4.5. Определение содержания окисляемых веществ в траве <i>Portulaca oleracea L.</i>	99
Выводы главы 4	100
ГЛАВА 5. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ	
ОТДЕЛЬНЫХ ГРУПП БАВ ТРАВЫ <i>PORTULACA OLERACEA L.</i>	102
5.1. Разработка методики определения суммы восстанавливающих сахаров в траве <i>Portulaca oleracea L.</i> и ее валидация.	102
5.1.1. Подбор условий и разработка методики определения содержания суммы восстанавливающих сахаров	102
5.1.2. Валидационная характеристика разработанной методики	104
5.1.3. Сравнительное исследование содержания суммы восстанавливающих сахаров различными методами.	109
5.2. Подбор условий и разработка методики определения содержания органических кислот в траве <i>Portulaca oleracea L.</i> и ее валидация	110
5.2.1. Валидационная характеристика разработанной методики	113
5.3. Изучение содержания флавоноидов в траве <i>Portulaca oleracea L.</i>	114
5.3.1. Подбор условий и разработка методики определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в траве <i>Portulaca oleracea L.</i>	115

5.3.1.1. Метод дифференциальной спектрофотометрии с алюминия хлоридом в спиртовой среде.	115
5.3.1.2. Метод дифференциальной спектрофотометрии с алюминия хлоридом в среде: водный раствор натрия нитрита – раствор натрия гидроксида.	122
5.3.3. Сравнительный анализ определения содержания флавоноидов с использованием разработанных методик	129
Выводы главы 5	130
ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА ПРОЕКТА ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬИ	132
Вывод главы 6	135
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	136
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	139
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	140
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	141
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	142
Приложение А. БАД, содержащие <i>Portulaca oleracea L.</i>	166
Приложение Б. Данные по стабильности травы в естественных условиях в течение двух лет	170
Приложение В. ФС «Трава портулака огородного» (« <i>Herba Portulacae oleracea L.</i> »)	179
Приложение Г. Доклинические исследования противовоспалительного действия водного извлечения (настоя, полученного согласно ГФ XIV) портулака (<i>Portulaca oleracea L.</i>)	190
Приложение Д. Акт внедрения.	210
Приложение Е. Акт внедрения.	211

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

В соответствии с Указом Президента Российской Федерации В.В. Путина от 7 мая 2018 г. №204 «О Национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года», одной из первостепенных задач развития фармацевтической отрасли является обеспечение фармацевтического производства отечественным сырьем, в том числе растительного происхождения с целью создания и производства отечественных лекарственных средств. Значительный интерес исследователей привлекают лекарственные растения, применяемые в народной медицине. Зачастую, к такому сырью относятся растительные объекты, не только обладающие фармакологическим действием, но и применяемые в пищу, что позволяет предположить безопасность их применения. Одним из таких видов сырья является *Portulaca oleracea*L., который распространен по всему миру и применяется уже не одно тысячелетие в качестве пищевого и лекарственного сырья. *Portulaca oleracea* L. используется в народной медицине во многих странах мира как жаропонижающее, антисептическое, глистогонное средство и включен в ГФ КНР. В последние годы в научной литературе появилось значительное количество работ, посвященных как изучению состава биологически активных веществ (БАВ) надземной части *Portulaca oleracea*L., так и их разнообразному фармакологическому действию. Было установлено наличие в сырье разнообразных веществ флавоноидной природы, полисахаридов, витаминов, органических кислот, микроэлементов [1].

Показано наличие у экстрактов травы *Portulaca oleracea* L. антиоксидантной, противовоспалительной, противомикробной, антигиперлипидемической, противоартритной, антидиабетической, нейротропной, тонизирующей, гепатопротекторной, нефропротекторной активности, способность снижения окислительного стресса. Однако, несмотря на широкий спектр фармакологического действия, достаточную обеспеченность

дикорастущим сырьем, возможность широкого введения в культуру, *Portulaca oleracea* L. [2]. не признан лекарственным растением и не включен в Государственную Фармакопею, что можно объяснить несистематизированностью данных по изучению фитохимического состава, и, как следствие, отсутствием чувствительных и воспроизводимых методик качественного и количественного анализа данного сырья, то есть отсутствием методов стандартизации.

Комплексное фармакогностическое изучение травы *Portulaca oleracea* L. позволит обосновать возможность использования данного перспективного сырья в медицинской практике, тем самым, расширяя ассортимент лекарственного растительного сырья (ЛРС), что является решением актуальной проблемы современной фармации.

Степень разработанности темы исследования

Трава *Portulaca Oleracea* L. широко применяется в пищу, поэтому до сих пор большинство работ посвящено изучению пищевой ценности портулака. Однако применение его в народной медицине и данные о химическом составе все больше стали привлекать внимание исследователей к портулаку с точки зрения его перспективности использования в качестве лекарственного средства. Было определено, что химический состав портулака огородного включает флавоноиды, тритерпеновые спирты (ситостерол (72%), кампестерол (14%) и стигмастерол (14%)) другие тритерпеноиды (β -амирин, бутироспермол, паркеол, циклоартенол, 24-метилен-24-дигидропаркеол и 24-метиленциклоартенолы), углеводороды составляют 18% неомыляемых веществ и другие биологически активные вещества. Установлено, что *Portulaca Oleracea* L. обладает фармакологическими свойствами: антибиотическим, антиоксидантным, противовоспалительным и иммуномодулирующим, противоартритным, антидиабетическим, нейропротекторным, гепатопротекторным антигиперлипидемическим, нефропротекторным и др. Трава портулака огородного включена в ГФ КНР.

Несмотря на то, что *Portulaca oleracea* L. используется в научной и традиционной китайской медицине, в народной медицине Африки, Южной Америки и Сирийской Арабской Республики (САР), трава *Portulaca oleracea* L. не является официальным лекарственным растительным сырьём из-за недостаточной изученности химического состава и фармакологических свойств, отсутствия нормативных документов.

Цель и задачи исследования

Целью исследования является фармакогностическое изучение нового лекарственного растительного сырья – травы портулака огородного (*Portulaca oleracea* L.), разработка нормативной документации на данный вид лекарственного растительного сырья для последующего внедрения в фармацевтическую практику.

Для реализации поставленной цели необходимо было решить следующие основные задачи:

1. Повести морфолого-анатомическое исследование травы портулака огородного, выделить основные морфолого- и анатомо-диагностические признаки.
2. Провести стандартизацию сырья портулака огородного по основным числовым показателям, установить норму показателей для цельного, измельченного сырья и порошка.
3. С помощью различных физико-химических методов исследовать химический состав биологически активных веществ в траве портулака огородного.
4. Разработать методики анализа основных действующих веществ, содержащихся в сырье *Portulaca oleracea* L., провести валидацию разработанных методик, установить нормы определённых биологически активных веществ.

5. Провести доклинические исследования травы портулака огородного. Подготовить проект Фармакопейной статьи для ГФ РФ на траву портулака огородного (*Herba Portulacae oleraceae* L.).

Научная новизна

В ходе макро- и микроскопического исследования получены новые данные о внешних и анатомических признаках травы *Portulaca oleracea* L., выделены диагностические признаки определения подлинности для включения в разрабатываемый проект ФС для ГФ РФ.

С применением целого ряда современных инструментальных физико-химических методов (титриметрии, спектрофотометрии, ТСХ, ВЭЖХ-УФ, ГХ/МС, ГХ ПИД, ЯМР, АЭС-ИСП, ЭТААС и др.) проведено изучение качественного состава и определено содержание следующих БАВ: флавоноидов, органических кислот, полисахаридов, аскорбиновой кислоты, микро- и макроэлементов, тяжелых металлов и состава липидного комплекса.

Проведен подбор условий и разработаны методики количественного определения основных действующих веществ (флавоноидов, органических кислот, полисахаридов, аскорбиновой кислоты), доказана возможность использования разработанных методик посредством их валидации.

Результаты доклинического исследования на модели «формалинового» отека лапы крыс подтвердили противовоспалительную активность травы портулака огородного, изучение острой токсичности свидетельствовало о безопасности его применения.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Полученные результаты проведенных экспериментальных исследований позволяют значительно расширить представления о химическом составе, морфолого-анатомических признаках и биологической активности нового вида ЛРС – травы *Portulaca oleracea* L. Научно обоснованы характеристики подлинности и показатели качества фармацевтической субстанции

растительного происхождения - травы *Portulaca oleracea*L. Предложены методики качественного и количественного анализа основных БАВ в новом виде ЛРС - траве *Portulaca oleracea*L., которые включены в проект НД.

Проведенные исследования позволили получить новые сведения о химическом составе травы *Portulaca oleracea*L., провести ее стандартизацию с целью дальнейшего внедрения в медицинскую практику. На основании полученных данных разработан проект ФС для ГФ РФ «Трава портулака огородного (*Herba Portulacae oleracea* L.)».

Основные положения, выносимые на защиту

-Данные по морфолого-анатомическому изучению сырья *Portulaca oleracea*L.;

-Установленные числовые показатели травы портулака огородного, их нормы для цельного, измельченного сырья и порошка;

-Результаты изучения химического состава биологически активных веществ в траве *Portulaca oleracea* L. различными физико-химическими методами;

-Методики количественного определения основных действующих веществ травы *Portulaca Oleracea* L. (органических кислот, флавоноидов, полисахаридов), их валидационная оценка;

-Разработанный проект Фармакопейной статьи на траву *Portulaca oleracea*L.

Методология и методы исследования

Методология исследования основана на проведении информационно-аналитического поиска данных научной литературы, охватывающих фармакогностическое и фармакологическое изучение травы *Portulaca oleracea* L., характеристику изученности и актуальности темы, совокупность применяемых методов фармакогностического анализа, которые могут быть положены в основу

разрабатываемой нормативной документации на новый вид сырья – травы портулака огородного (*Portulaca oleracea* L.).

В работе использован комплекс методов, среди которых: тонкослойная хроматография, титриметрия, спектрофотометрия, гравиметрия, ВЭЖХ, ГХ/МС, ГХ/ПИД, ЯМР, АЭС-ИСП, ЭТААС, макро- и микроскопический анализ, и другие. Выполнение работы основано на рекомендациях ГФ РФ XIV изд. Статистическую обработку результатов проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV изд. с применением программного обеспечения «Microsoft Excel 2010».

Степень достоверности полученных положений и выводов

В работе исследован максимально доступный объём литературных научных источников, как зарубежных, так и отечественных авторов. Достоверность полученных результатов фармакогностического анализа травы *Portulaca oleracea* L. подтверждена проведением достаточного количества экспериментальных исследований с использованием традиционных и современных аналитических методов. Исследование физико-химическими методами травы портулака огородного проводилось на поверенном оборудовании приборного парка ЦКП (НОЦ) РУДН. Полученные результаты были статистически обработаны, методики валидированы согласно ГФ РФ XIV. Достоверность первичных материалов подтверждена экспертной оценкой.

Апробация результатов исследования

Основные положения диссертации доложены на II Международной научной конференции «Роль метаболомики в совершенствовании биотехнологических средств производства», 6-7 июня 2019 г, Москва; Седьмой научной конференции с международным участием «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения» Сб. науч. трудов, М., ВИЛАР, 2019 г. Москва; XXIII Международной научной конференции ФИТОФАРМ 2019, Санкт-Петербург, Россия, 1-3 июля 2019г.; II Международной научно-

практической конференции «Гармонизация подходов к фармацевтической разработке» Москва, Россия, 14-17 ноября 2019 г.; III Международной научно-практической конференции «Гармонизация подходов к фармацевтической разработке» Москва, Россия, 25 ноября 2020 г.; Современная парадигма научного знания: актуальность и перспективы. Москва, 4 апреля 2018 Международной научной конференции молодых учёных, Москва, Россия, 17–18 декабря ФГБНУ ВИЛАР 2020 г. Апробация работы проведена на заседании кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии ЦКП (НОЦ) РУДН 20.04.2021 г.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Научные положения диссертационной работы соответствуют пунктам 2, 3, 5, 6 и 7 паспорта специальности 14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Объем и структура диссертации

Работа изложена на 211 страницах компьютерного текста, содержит 59 таблиц (из них 10 таблиц в Приложениях) и 41 рисунка; состоит из введения, обзора научной литературы, 6 глав собственных исследований, списка литературы из 211 источника, из которых 155 на иностранных языках, приложения 6.

Во введении раскрыты задачи и цель исследования, актуальность темы, сформулированы практическая значимость работы и научная новизна.

Первая глава посвящена ботаническому описанию *Portulaca oleracea* L., известным данным по химическому составу и методам анализа, фармакологическим свойствам и применению в народной медицине; представленные данные базируются на основе отечественных и зарубежных литературных источников.

Во Второй главе предложена информация о материалах и методах исследования, представлена характеристика исследуемых объектов.

Третья глава демонстрирует результаты морфолого-анатомического изучения травы *Portulaca oleracea* L. Среди основных анатомо-диагностических признаков отмечены: характер эпидермиса листа; парацитные устьица с обеих сторон листа, наличие друз и клеток со слизью в паренхиме листа, стебля и других морфологических частей; пыльца округлая шероховатая многобороздная и другие. Учтены количественные характеристики анатомо-диагностических признаков, частота их встречаемости. Основные анатомо-диагностические признаки сопровождаются фотографиями.

В четвертой главе обобщены результаты изучения качественного состава БАВ травы *Portulaca oleracea* L. Определены макро и микроэлементы, состав липидного комплекса, аскорбиновая кислота, содержания фенольных соединений и окисляемых веществ. Установлены числовые показатели: экстрактивных веществ, примесей, золы общей, содержание влажности, золы нерастворимой в хлористоводородной кислоте.

Пятая глава включает экспериментальные данные по изучению количественного содержания основных групп БАВ в траве *Portulaca oleracea* L. Представлены результаты разработки и валидации методики определения суммы восстанавливающих сахаров в траве *Portulaca oleracea* L., методики определения содержания органических кислот в траве *Portulaca oleracea* L., содержания флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L.

В шестой главе рассмотрены результаты по разработке проекта фармакопейной статьи «Трава *Portulaca oleracea* L.». Приведены данные фармакологической активности травы *Portulaca oleracea* L.

В заключение было устроено практические рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы.

Результаты проведенных исследований представлены на 41 рисунках и в 59 таблиц (из них 10 таблиц в Приложениях), обработаны статистически. В приложение вынесены данные по БАД, содержащие *Portulaca oleracea* L

(приложение А), стабильности (приложение Б), проект фармакопейной статьи (приложение В), отчет о доклиническом исследовании противовоспалительного действия и острой токсичности травы портулака огородного (*portulaca oleracea* L.) (приложение Г) и акты внедрения полученных результатов (приложение Д-Е).

Личный вклад автора

Автор диссертационного исследования принимал участие в выборе объектов и заготовке материалов для исследования, постановке целей и формулировке задач. Вклад автора является определяющим на всех этапах фармакогностического исследования. В работах, проведенных с соавторами, автор принимал непосредственное участие в выполнении экспериментальной части, в научном аргументировании и резюмировании полученных результатов.

Публикации

По результатам исследования автором опубликовано 12 работ, в том числе научных статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук – 1 ; статей в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus – 4; публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций – 7.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Исторические предпосылки использования и ботанико-фармакогностическая характеристика травы *Portulaca oleracea* L

1.1.1. История применения, распространение и места обитания *Portulaca oleracea* L

С древних времен трава *Portulaca oleracea* L. использовалась в пищу, в сыром виде в салатах. Все растение съедобно. Считается ценным салатно-шпинатным овощем в большей части Европы и Азии, во многих частях США, для населения развивающихся стран. С течением времени было выведено несколько различных сортов портулака. Отмечалось, что кормление листьями *Portulaca oleracea* L. домашних животных и птиц полезно для их иммунной системы и в качестве профилактики диареи [3].

Трава портулака недорогая, высокоурожайная и доступна. Рекомендуется ежедневное потребление листовых овощей не менее 116 г. для сбалансированного питания, особенно темно-зеленых листовых овощей, которые содержат бета-каротин или провитамин А. Одним из таких листовых овощей является *Portulaca oleracea* L. [4-5] Это обыкновенный сорняк [6-7], произрастающий во многих частях света. Для его ликвидации даже применялись растительные пестициды, [8-9] из-за недостаточных знаний о его ценности.

Портулак широко распространён и известен по всему миру, в разных народах употребляются разные названия *Portulaca oleracea* L. (Таблица 1).

Таблица 1- Используемые названия *Portulaca oleracea* L. в разных странах [10]

Название	Страна	Название	Страна
Amloniya	Fiji	Makabling	West Indies
Baldroegas	Madeira	Mutunu	Tanzania
Baraloniya	Fiji	Olasiman	West Indies
Barbin	Qatar	Pappukura	India
Bacla	Syria	Pigweed	Fiji
Beldroega	Brazil	Portulaca	Italy
Beldroegas	Madeira	Posely	Nicaragua
Bredo de porco	Brazil	Pourpier	Dominica
Buklut-ul-hakima	India	Pourpier	West Indies
Burra-lonia	India	Purchiacchella	Italy
Common purslane	Madeira	Purslane	Dominica
Common purslane	USA	Purslane	Europe
Coupie	Dominica	Purslane	Jamaica
Coupie	West Indies	Purslane	Netherlands
Croupier	French Guiana	Purslane	USA
Demze	Guinea	Purslane	West Indies
Dorcellana	Italy	Pusley	Europe
Erba vasciulella	Italy	Pusley	Guyana
Farfena	Oman	Pusley	Virgin Islands
Goni	India	Pussley	West Indies
Khurfa	India	Pussly	Jamaica
Khursa	Fiji	Pussly	West Indies
Khutura	India	Rigia	Qatar
Koolfa	India	Rigla	Egypt
Koupye	Haiti	Shoi-bee-reum	Egypt
Kulfa	India	Small purslain	India
Kupye	West Indies	Suvandacheera	India
Kurfa	India	Tarbari	India
Langiruh	Brunei	Tokmakan	Turkey
Lonika	India	Tukhm khurfa	Pakistan
Loonia	India	Verdolaga	Brazil
Lulimilwasenga	Tanzania	Verdolaga	Canary Islands
Machixian	China	Verdolaga	Cuba
Verdolaga	Nicaragua	Verdolaga	Spain
Verdolaga	Peru	Verdulaga	Spain
Verdolaga	Puerto Rico	Portulac ogorodnii	Russia

Впервые *Portulaca oleracea* L. был обнаружен в Соединенных Штатах в 1672 году в штате Массачусетс. Считается, что название *Portulaca* происходит от латинского слова «*portu*», означающего «нести», и «*las*», означающего молоко, поскольку растение содержит молочный сок [11]; *oleracea* с латыни означает «относящийся к огородам», имея в виду его использование в качестве овоща. Применение этого растения в качестве овоща, пряности и лекарственного средства известно со времен древних египтян. Растение выращивалось в Индии и на Ближнем Востоке, было популярным в Европе со времен средневековья [12].

Portulaca oleracea L. низкорослое растение, образует плотные коврики. Портулак огородный - *Portulaca oleracea* L., принадлежит к семейству портулаковые – *Portulacaceae*, к роду – портулак - *portulacae* L. [13].

Portulaca oleracea L. произрастает на песчаных местах: железнодорожных насыпях, прибрежных отмелях, в населённых пунктах, на пустырях, в садах, на полях, распространён по всему миру, широко распространён в тропиках и субтропиках, травянистое однолетнее растение, родом из Европы, встречается в большей части Европы и Азии, во многих частях США, Индии, Китае, Японии. В России распространён в южной половине европейской части, на Северном Кавказе, на юге Дальнего Востока. Широко культивируется [14]. Это сорняк, произрастающий в огородах, и декоративное растение, распространенное на газонах с низкими эксплуатационными расходами. *Portulaca oleracea* L. хорошо приспособлен к тёплым и влажным условиям [15]. Благодаря своей способности производить большое количество семян, *Portulaca oleracea* L. может быстро заселить любой теплый и влажный участок. Для хорошего роста требуются влага и свет, богатая хорошо дренированная почва в солнечном месте [15-16]. Требуется от шести до восьми недель, чтобы собрать урожай из семян, и затем их можно собирать по принципу «срезать и снова собирать», обеспечивая съедобными листьями большую часть лета [15].

1.1.2. Морфологические особенности *Portulaca oleracea* L

Растение (Рисунок 1) имеет круглый, гладкий, лежачий, сочный стебель, высотой 15-24 см, с небольшими, темно-зелеными, клиновидными, продолговатыми толстыми листьями, собранными вместе. Листья сидячие, гладкие, сочные и блестящие, длиной от 1 до 5 см, очередные, верхние почти супротивные. Имеются листья с очень короткими черешками длиной около 1–1,5 мм и толщиной 0,5 мм с зеленоватой верхней поверхностью и красноватые снизу, они могут встречаться попеременно вдоль стебля, особенно возле основания. Цветки (диаметр 6–7 мм) мелкие желтые, с 5 лепестками, собранные

по 2–3 или по одному в пазухах листьев или разветвлениях стебля; период цветения - июнь-июль. Цветки раскрываются только на солнце, лишь на короткое время к полудню. Красноватые стебли разветвленные, чаще прижатые к земле или приподнимающиеся. Стебли длиной обычно до 30 см. Стебель сочный, диффузно разветвленный и очень скользкий из-за присутствия слизи при раздавливании. Имеет около 2 мм в диаметре, а междоузлия имеют 1,5–3,5 см в длину [17-18–19]

Плод - яйцевидная или шаровидная коробочка, раскрывающаяся поперечной трещиной (крыночка). Семена красновато-коричневые до черных, овальные и крошечные (около 0,05–0,07 см). Одно растение *Portulaca oleracea* L. может дать 240 000 семян, которые могут прорасти даже через 5–40 лет. В конце лета плоские маты зрелого *Portulaca oleracea* L. можно перевернуть, чтобы обнаружить тысячи семян на поверхности почвы [18-19].



Рисунок 1- *Portulaca oleracea* L [10]

1.1.3. Микроскопическая характеристика *Portulaca oleracea* L

Сведений об анатомическом строении *Portulaca oleracea* L. практически не встречается. Тем не менее, было найдено сравнительное описание микроскопической структуры листьев *Portulaca oleracea* L. и *Portulaca quadrifida* L.

В поперечном сечении микроскопическая структура пластинки листа *Portulaca oleracea* L. во многом напоминает структуру портулака четырехлистного. Весь мезофилл состоит почти исключительно из паренхимной ткани; сосудистые пучки окружены палисадными клетками. Встречаются призматические кристаллы и кристаллы в виде розеток оксалата кальция (друз) разных размеров у обоих видов. Лист растения амфистоматичен (с обеих сторон листа устьица расположены) в отличие от портулака четырехлистного, где он эпистоматичен. Количество устьиц на адаксиальной поверхности (верхняя сторона листа, если стебель прямостоячий) выше, чем на абаксиальной (нижняя сторона листа, если стебель прямостоячий). В поперечном разрезе черешка видно, что нижняя поверхность сравнительно сильно выпуклая, а верхняя - слегка вдавленная. Одноярусный эпидермис состоит из тангенциально удлиненных трубчатых паренхимных клеток. Антиклинальная стенка нижних эпидермальных клеток изогнута, в клетках содержится темный пигмент. Под эпидермисом расположено 4–6 слоев тонкостенных округлых паренхимных клеток, имеющих сквозные межклеточные пространства. Коллатеральные закрытые сосудисто-волокнистые пучки по 2–4 расположены более или менее центрально в виде дуги, которая открывается в направлении к аксиальной стороне. Трахеиды имеют спиральное и сетчатое утолщения, проводящие пучки сопровождаются волокнами [18-19].

1.1.4. Химический состав *Portulaca oleracea* L

Интерес к исследованию химического состава *Portulaca oleracea* L. обусловлен тем, что растение находит широкое применение в пище и народной медицине. Химический состав *Portulaca oleracea* L., как пищевого продукта представлен в таблицы 2.

Таблица 2- Пищевая ценность на 100 г [20-21–22]

Составляющие		Содержание
Белок		2,2 г.
Влажность		92 г.
Жир		0,5 г.
Углеводы		3,2 г.
Волокно		1,3 г.
Энергия		84 кДж (20ккал)
Ca		111 мг.
Fe		14,8 мг.
Mg		120 мг.
K		716 мг.
P		45 мг.
Na		67,2 мг.
Cu		0,9 мг.
S		63 мг.
Cl		73 мг.
Zn		0,17 мг.
Mn		0,303 мг.
Тиамин (вит. В1)		0,1 мг.
Рибофлавин (вит. В2)		0,2 мг.
Ниацин (вит. В3)		0,7 мг.
Витамин В6		0,073 мг.
Фолат (вит. В9)		12 мг.
Аскорбиновая кислота (вит. С)		29 мг.
Каротин		2292 мг.
а-токоферол		1,71 мг.
Бета-Каротин		30 мг.
А-Криптоксантин		0,6 мг.
Лютеин + Виолаксантин		4 мг.
Зеаксантин		0,7 мг.
Неоксантин		9 мг.
Аминокислот	Лизин	0,45 г.
	Триптофан	0,03 г.
	Фенилаланин	0,09 г.
	Метионин	0,02 г.
	Треонин	0,12 г.
	Лейцин	0,29 г.
	Изолейцин	0,35 г.
	Валин	0,28 г.

По другим данным в химическом составе *Portulaca oleracea* L. присутствует железо на уровне 3,6 мг%, из которых только 30,6% - доступное железо [23]. *Portulaca oleracea* L. содержит около 1679 мг щавелевой кислоты на 100 г съедобного материала и накапливает нитраты. Данные получены на основании исследований урожая портулака, выращенного в коммерческих целях в Египте и Судане [21-24–25].

Белок в листьях *Portulaca oleracea* L. составляет около 29% в пересчете на сухую массу, в дополнение к свободным аминокислотам, таким как

фенилаланин, валин, аланин, тирозин и аспарат, и преобладанию глутамата [26]. Аминокислотный состав листьев *Portulaca oleracea* L. приведен в таблице 2.

Растение *Portulaca oleracea* L. содержит 3,5% липидов в пересчете на сухую массу, из которых 25% составляют свободные жирные кислоты. Это растение использовалось в народе на протяжении всей истории как лекарственное, во многом это объясняется наличием большого количества полиненасыщенных жирных кислот ω -3 [27-28]. *Portulaca oleracea* L. является одним из самых богатых источников полиненасыщенных жирных кислот ω -3 [29] при уровне 4 мг / г сырой массы [30]. При изучении атеросклероза было сделано предложение использовать *Portulaca oleracea* L. в качестве альтернативы рыбьему жиру в отношении жирных кислот ω -3. Тем не менее, это было оспорено [31-32]. Исследования, опубликованные Артемисом П. Симопулосом, показали, что в *Portulaca oleracea* L. содержится 0,01 мг / г эйкозапентаеновой кислоты. Это необычный факт - содержание эйкозапентаеновой кислоты для наземного овощного источника. Эйкозапентаеновая кислота - ω -3 жирная кислота, содержащаяся, в основном, в рыбе, некоторых водорослях и семенах льна. [33] Портулак оказывает пользу для здоровья, связанную с небольшим увеличением содержания в рационе линолевой кислоты, повышает свертываемость крови и снижает артериальное давление [34]. Куры, питающиеся растениями *Portulaca oleracea* L., дают яйца с высоким содержанием ω -3 жирных кислот (17,66 против 1,73 мг / г яичного желтка) [35]. Содержание жирных кислот в целом растении, стеблях и листьях разных возрастов показано в таблице 3. Наличие ω -6 18: 2 и ω -9 18: 1 по сравнению с другими овощными культурами дополнительно подчеркивает потенциальную пользу *Portulaca oleracea* L. для человека и в качестве корма для животных и рыб. Отношение жирных кислот ω -3 к другим основным семействам жирных кислот является критическим показателем статуса незаменимых жирных кислот. Было обнаружено, что они содержатся в небольшом количестве в стеблях и в целом растении, самое низкое их содержание отмечается в листьях [27]. Гамма-линолейновая кислота обнаружена в масле семян 9,9 % [35].

По другим данным портулак содержит питательные вещества в высоких процентах рекомендуемого диетического потребления: альфа-линоленовую кислоту, бета-каротин, токоферол, магний и калий [36-37].

Найденный состав жирных кислот представлен в таблице 3.

Таблица 3- Состав выбранных жирных кислот в различных частях *Portulaca oleracea*L., собранных в разное время вегетационного периода [26]

Жирная кислота (мг / кг сырой массы)	30 дней			49 дней			59 дней		
	Лист	Стебель	Цельного растения	Лист	Стебель	Цельного растения	Лист	Стебель	Цельного растения
16:0	66,89	27,50	38,36	24,46	12,38	12,14	52,08	43,12	73,48
18:0	4,64	0,03	3,65	2,75	0,02	1,94	10,42	0,05	8,26
18:1 omega9	5,96	0,03	3,65	3,98	0,02	4,13	10,42	0,04	13,91
18:2 omega6	54,97	4,42	17,35	14,68	5,24	8,98	32,64	4,13	18,45
18:3 omega3	290,73	2,50	60,73	97,25	3,02	18,45	120,83	1,83	72,83
20:5 omega3	7,28	7,88	16,89	1,22	6,51	13,83	36,80	27,06	13,04
22:5 omega3	5,96	следы	1,37	4,89	Tr	1,94	9,72	Tr	2,61
22:6 omega3	1,32	следы	0,91	7,95	Tr	3,61	18,75	Tr	2,61

Следы= <0,02 мг / кг влажный вес *Portulaca oleracea* L.

К стеролам, составляющим 19% от общего количества липидов, относятся ситостерол (72%), кампестерол (14%) и стигмастерол (14%) [38]. Помимо тритерпеновых спиртов, включая б-амирин, бутироспермол, паркеол, циклоартенол, 24-метилен-24-дигидропаркеол и 24-метиленциклоартенолы, в листьях *Portulaca oleracea* L. были идентифицированы другие линейные спирты C28-C30. Они составляют около 23% от общего количества неомыляемых веществ. Углеводороды составляют 18% неомыляемых веществ [39]. Фенольные компоненты, а именно скополетин, бергаптен, изопимпинеллин, лонхокарпиновая кислота, лончокарпенин, робустин и генистеин, обладающие антимикробной активностью, были выделены из *Portulaca oleracea* L. [40].

Каротиноиды присутствуют в количестве 89 мг /г. Бета-каротин содержится в значительных количествах, но теряется до 43% из-за неправильных методов обработки [41-42]. В таблице 2 приведены концентрации каротиноидов листьев *Portulaca oleracea* L. Уровень а-токоферола в листьях *Portulaca oleracea* L. в семь раз выше, чем в шпинате (1,71 мг/100г) [43].

Филлохонин или витамин К1 присутствует в количестве 381 мг / 100 г и довольно устойчив к приготовлению пищи [44]. Также сообщается о глутатионе, который содержится в количестве 14,8 мг / 100 г свежих листьев *Portulaca oleracea*L. [45].

Полисахаридный комплекс в форме прозрачной и вязкой слизи, имеющий физико-химические свойства, подходящие для промышленного использования в качестве пищевых наполнителей и загустителей, был извлечен из листьев *Portulaca oleracea* L. Предварительно установлено, что это нейтральный арабиногалактан и полидисперсный пектиноподобный полисахарид [45]. Также в составе отмечают яблочную и лимонную кислоты, кумарины, флавоноиды, алкалоиды, сапонины [46-47]. Сообщается, что содержание оксалатов в сухих кормах *Portulaca oleracea* L. из Мексики составляет от 21,48 до 41,59% [48-49–50].

Аскорбиновая кислота присутствует в количестве 46,8 мг / 100 г свежего сырья; однако она очень нестабильна и почти полностью разрушается во время обработки [35-51]. Предполагается наличие биофлавоноидного ликвиритина в листьях *Portulaca oleracea* L. [52].

Водорастворимые пищевые красители желтого цвета получали из желтых цветков *Portulaca grandiflora* [53]. Они относятся к бетаксантину и гумиксантину [54].

Преобладающей фенольной кислотой указана хлорогеновая кислота для всех фракций. Рутин был найден основным флавоноидом листьев, а содержание мирицетина было самым высоким в цветках и стеблях [55]. Оба этих флавоноида являются мощными антиоксидантами и, как было установлено, обладают антимуtagenными свойствами в лабораторных исследованиях [56].

Было доказано, что декоративный *Portulaca oleracea* L. обладает более богатыми антиоксидантными свойствами, тогда как дикий *Portulaca oleracea* L. обладает более высоким содержанием минеральных веществ, чем декоративный [57].

Таким образом, данные литературы показывают некоторую изученность химического состава *Portulaca oleracea* L., но в большей степени, как ценного пищевого продукта.

1.1.5. Применение в медицине и фармакологическая активность *Portulaca oleracea* L

1.1.5.1. Применение в научной и народной медицине

Листья и побеги *Portulaca oleracea* L. готовят как овощи [58-59]. Молодые листья - очень приемлемое дополнение к салатам, более старые листья используются как зелень. Семена измельчают в порошок и смешивают с крупами для использования в каши, хлеб, блины. Листья могут быть собраны в любое время до цветения растения; они используются свежими или сушеными [60-61-62-63-64-65-66-67-68-69]. Сорняк *Portulaca oleracea* L. издавна использовался в качестве корма для животных [53]. Листья используются наружно от ушибов, при рожистом воспалении, лечении ожогов и применяются местно при опухолях [65-70-71]. Как листья, так и растительный сок особенно эффективны при лечении кожных заболеваний и укусов насекомых [61]. Горячие водные экстракты высушенных семян и высушенных стеблей принимаются перорально в качестве противоядия [72-73]. *Portulaca oleracea* L. используют в качестве инсектицида, выливая его сок на муравейники [74-75]. Горячий водный экстракт высушенных надземных частей принимается внутрь при мигрени и зубной боли [65-76-77]. Настой семян используется в качестве глистогонного средства для детей, чтобы изгнать круглых червей; в высоких дозах в качестве рвотного средства [74-78-79-80-81-82-83-84-85]. Водный экстракт листьев принимают внутрь при артрите [86]. Водный экстракт из цельного растения принимается при энтеритах и запорах, а также для регулирования моторики кишечника [87-88-89-90]. Используют смеси из *Portulaca oleracea* L., смешивая с солью в воде, местно от геморроя. [89]. Высушенные листья и стебли принимают

внутри при болях в животе и параличе [91]. Листья используются в качестве пластыря, чтобы облегчить боль при менструации [92-93-94]. Горячий водный экстракт надземных частей принимается внутрь, чтобы спровоцировать менструацию [75]. Настой высушенных листьев принимают перорально с пальмовым маслом в качестве abortивного средства [95]. Отваром горячего водного экстракта всего растения промывают грудь в качестве лактогонного средства [96]. *Portulaca oleracea* L. вместе с другими ингредиентами принимается для развития плода у беременных женщин [84-97]. Горячий водный экстракт листьев при приеме внутрь используют как желчегонное средство [98]. Отвар из высушенных листьев рекомендуют при астении [99-100]. Горячий водный экстракт свежего целого растения используют как успокаивающее и общеукрепляющее средство [101]. Свежий сок применяют при лечении удушья, кашля и воспаления [62-63-64-102]. Водный экстракт растения пьют при астме [103-104]. Растение обладает антибактериальным, противогрибковым, кровоочищающим, мочегонным и жаропонижающим действием. Найденные данные об использовании *Portulaca oleracea* L. в народной медицине обобщены и представлены в таблице 4.

Таблица 4- Использование *Portulaca oleracea* L. в народной медицине

Показания		Используемая часть растения и лекарственная форма	Страны	Литературный источник
Дыхательная система	Удушье	Горячий водный экстракт всего высушенного растения	Малайзия	[62-63-64-102-103-104]
	Кашель		Гавайи	
	Воспаления			
	Астма			
Наружное использование	Ожоги	Сок листьев	Нигерия, Индонезия	[61-65-71-73-74-75]
	Ушибы			
	Рожистое воспаление			
	Опухоли			
	Кожные заболевания			
	Укусы насекомых			
	В качестве инсектицида			
Желудочно-кишечный тракт и печень	Боли в животе	Водный экстракт листьев	Фиджи	[74-78-79-80-81-82-83-84-85-87-88-89-90-91-98]
	Как глистогонное средство	Семена	Индия, Ямайка Виргинские острова, Индонезия, Перу	

Продолжение Таблицы 4

	Дизентерия	Водный экстракт всего растения	Страны Африки, Индонезия, Перу	
	Диарея	Водный экстракт всего растения	Страны Африки, Индонезия	
	Геморрой	Водно-соляной раствор целого растения		
	Энтерорагия (кишечное кровотечение)	Водный экстракт всего растения	Страны Африки	
	Зубная боль			
Абсцессы				
Желудочно-кишечный тракт и печень	Как рвотное средство	Семена	Страны Африки, Иран	[74-78-79-80-81-82-83-84-85-87-88-89-90-91-98]
	Расстройства желудочно-кишечного тракта	Горячий водный экстракт надземных частей	Китай, Иран	
	Энтериты	Водный экстракт всего растения	Китай, Индонезия	
	Запоры			
	Как желчегонное средство	Горячий водный экстракт надземных частей	Французская Гвиана, Иран, Перу	
	Заболевания печени	Горячий водный экстракт высушенных листьев	Индия, Иран	
	Аппендицит	Водный экстракт всего растения	Индонезия	
Калькулезный холецистит	Надземных частей	Канарские острова		
Нервная система	Головные боли	Горячий водный экстракт листьев и стеблей	Китай	[65-76-77-101]
	Мигрени	Надземные части	Канарские острова	
	Как успокаивающее средство	Семена	Страны Африки, Новая Каледония	
Мочевыделительная система	Как мочегонное средство	Семена, отвар из высушенных листьев	Страны Африки, Италия, Палестина, Канарские острова, Индия	[74-78-79-80-81-82-83-84]
Мочевыделительная система	Проблемы в мочеиспускательном канале	Горячий водный экстракт листьев и стеблей	Китай	[74-78-79-80-81-82-83-84]
Гинекология	Развитие плода у беременных женщин	Водный экстракт всего растения	Бенин	[75-84-92-93-94-96-97-98]
	Менструальные боли	Водный экстракт листьев	Доминика	
	Нарушение и отсутствие менструации	Горячий водный экстракт надземных частей	Индокитай, Вест-Индия, Бразилия, Новая Каледония, Перу	
	Как abortивное средство	Настой высушенных листьев принимают перорально с пальмовым маслом	Сьерра-Леоне	

Продолжение Таблицы 4

	В качестве лактогонного средства	Отваром горячего водного экстракта всего растения промывают грудь	Танзания	[75-84-92-93-94-96-97-98]
	Воспаление молочных желез	Водный экстракт всего растения	Индонезия	
Опорно-двигательная система	Артриты	Горячий водный экстракт листьев и стеблей	Китай	[72-86-99-100-101]
	При мышечных болях			
Другое	Астения	Отвар из высушенных листьев	Гаити	[72-86-99-100-101]
	Общеукрепляющее средство	Горячий водный экстракт свежего целого растения	Новая Каледония	
	Лихорадка	Горячий водный экстракт свежих листьев и стеблей	Нигерия	
	Противоядие	Горячие водные экстракты высушенных семян и высушенных стеблей	Перу	
	Тонизирующее средство	Листья, семена (перорально)	Хорватия, Италия (Базиликата), Мексика, Таиланд	
	Противовоспалительное средство	Водный экстракт всего растения	Страны Африки	
	Противодиабетическое средство			

Трава *Portulaca oleracea* L. используется официально только в Китае, в качестве лекарственного средства, где включен в Государственную Фармакопею [105]. Кроме того, трава *Portulaca oleracea* L. согласно Единому реестру свидетельств о государственной регистрации евразийская экономическая комиссия (ЕЭК) входит в состав многих БАД, используемых в основном как источники флавоноидов, полисахаридов и органических кислот [106] (Приложение А).

1.1.5.2. Фармакологические свойства травы *Portulaca oleracea* L

Антибиотическая, противогрибковая активность

Имеются сведения, что растительный экстракт из *Portulaca oleracea* L. проявляет антимикробное действие при лечении инфекционных заболеваний

[107]. Другое исследование посвящено изучению влияния экстрактов *Portulaca oleracea* L. на показатели роста микробных популяций слепой кишки бройлеров. Результаты показали, что экстракты *Portulaca oleracea* L. значительно изменило сообщество бактерий слепой кишки, не влияя на pH кишечника [108]. Экстракты *Portulaca oleracea* L. и их химические вещества, вероятно, являются перспективными лекарственными средствами для использования человеком против *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, мультирезистентных *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella B*, *Salmonella typhi*, *Sarcina lutea*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Serratia marcescens* и *Shigella flexneri* [109-110-111-112-113], *Portulaca oleracea* L. проявляет противогрибковую активность при лечении красного плоского лишая [114-115].

Антиоксидантная активность

Водный экстракт *Portulaca oleracea* L. является перспективным лекарственным средством для профилактики сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и других хронических заболеваний, вызванных окислительным стрессом [114-115]. Это связано с присутствием омега-жирных кислот (таких как альфа-линоленовая кислота), флавоноидов, кумаринов, алкалоидов, 3-монотерпенов и беталаина [116-117].

Противовоспалительная и иммуномодулирующая активность

Найденные в литературе результаты исследований показали, что *Portulaca oleracea* L. оказывает противовоспалительное и иммуномодулирующее действие, ослабляет зуд, сыпь, может назначаться при угревой сыпи [118-119–120].

Присутствие компонентов ω -3 и ω -6 в *Portulaca oleracea* L. приводит к значительному снижению показателей липидов и значительному улучшению уровней IgG и IgM, что оказывает благоприятное влияние на снижение токсикологических эффектов, вызванных остатками инсектицидов фенитроина [121-122], имеет потенциальное терапевтическое действие,

ингибируя процесс воспаления сосудов при сосудистых заболеваниях, таких как атеросклероз [123-124].

Противоартритная активность

Представлены результаты исследования антиартритной активности водного экстракта *Portulaca oleracea* L. на модели адьювантного артрита Фрюнда у самцов крыс линии Вистар. Это исследование выявило антиартритную активность водного экстракта *Portulaca oleracea* L. [65].

Антигиперлипидемическая активность

В ряде исследований изучалось влияние водно-спиртового экстракта листьев *portulaca oleracea* L. Было установлено, что распределение холестерина между липопротеинами было изменено, холестерин липопротеинов низкой плотности значительно снизился, произошло снижение триглицеридов. Эти данные показывают, что данное растение может быть полезным для лечения гиперхолестеринемии [125-126], для снижения уровня липидов при гиперхолестеринемической болезни, для предотвращения развития сердечно-сосудистых заболеваний [127] и может играть важную роль в снижении уровня холестерина, подобно применению аторвастатина [128-129].

Кровоостанавливающее действие

Аномальное маточное кровотечение является частой причиной обращения в гинекологическую клинику. *Portulaca oleracea* L. используется в иранской народной медицине для лечения аномального маточного кровотечения. В связи с чем было проведено исследование, которое показало, что при применении порошка семян *Portulaca oleracea* L. продолжительность и объем кровотечений сократились, а характер их периодов нормализовался, что означает, что семена *Portulaca oleracea*L. могут быть эффективными и безопасными при лечении аномального маточного кровотечения [130].

Антидиабетическая активность

Найдены данные, что водный экстракт *Portulaca oleracea* снижает уровень глюкозы в крови, триглицеридов в плазме, уровень холестерина в плазме и систолическое артериальное давление. Кроме того, *Portulaca oleracea* L.

значительно повышает уровень холестерина и уровень инсулина в плазме. Таким образом, *Portulaca oleracea* L. подавляет гипергликемию и диабетическое сосудистое воспаление и предотвращает развитие диабетической эндотелиальной дисфункции для развития диабета и его сосудистых осложнений [131-132–133].

Гепатопротекторная активность

Водный экстракт *Portulaca oleracea* L. имеет профилактическое и лечебное значение при фиброзе печени, вызванном холестазом, благодаря ингибированию окислительного стресса, снижению экспрессии профиброгенных цитокинов, коллагенолитической активности и активации звездчатых клеток печени [134-135].

По результатам проведенного исследования установлено, что *Portulaca oleracea* L. проявлял защитное действие на гепатоцеллюлярные карциномы, возможно, благодаря противовоспалительным и антиоксидантным свойствам [136-137].

Нефропротекторная активность

Сообщалось о нефропротекторном действии водного и этанольного экстракта *Portulaca oleracea* L. на почечную токсичность. Исследование показало, что водный экстракт *Portulaca oleracea* L. обладает выраженной нефропротективной активностью и может играть многообещающую роль в лечении острого повреждения почек, вызванного нефротоксинами [138]. Было обнаружено, что совместное введение водного экстракта *Portulaca oleracea* L. и рыбьего жира улучшает неблагоприятные изменения в функциях почек с увеличением активности антиоксидантов и уменьшением перекисного окисления. [108-139]. Также водный экстракт *Portulaca oleracea* L. ослабляет диабетическую нефропатию посредством ингибирования почечного фиброза и воспаления [140-141].

Нейропротекторная активность

Исследована нейропротекторная активность *Portulaca oleracea* L. Использование данного растения вызвало значительное снижение концентрации

кальция в коре головного мозга. Дофамин, норэпинефрин и серотонин были значительно изменены в исследуемых областях мозга. Ацетилхолинэстераза была увеличена во всех областях мозга, кроме мозжечка. Результаты предполагают потенциальную роль опосредованных *Portulaca oleracea* L. изменений в нейрональных тканях. Потенциальная роль *Portulaca oleracea* L. для нейротрансмиттеров является перспективной для лечения многих нейродегенеративных заболеваний [142-143]. По другим данным установлено увеличение нейропротекторной активности при пероральном введении экстракта *Portulaca oleracea* L., степень воспаления головного мозга была ниже при введении экстракта *Portulaca oleracea* L [144].

Антиноцицептивное и противовоспалительное свойства

Антиноцицептивное и противовоспалительное свойства экстракта петролейного эфира *Portulaca oleracea* L. показали значительное ингибирование корчи, вызванной уксусной кислотой, значительно сократили время реакции на лапки в формалиновом тесте и увеличили время ожидания отмены, что означает, что петролейный экстракт *Portulaca oleracea* L. обладает потенциальной антиноцицептивной и противовоспалительной активностью [145]. *Portulaca oleracea* L. оказывает защитное действие при колите; эффект, по-видимому, связан с уменьшением воспалительной реакции и восстановлением поражений [146]. Водно-спиртовой экстракт семян, листьев и стеблей *Portulaca oleracea* L. обладает анти-стабилизирующей активностью в отношении стабильности мембраны эритроцитов, повышает болевой порог. Это указывает на то, что соответствующие дозы экстракта семян, листьев и стеблей *Portulaca oleracea* L. оказывают обезболивающее действие [147-148].

Снижение окислительного стресса и усталости

Portulaca oleracea L. тысячелетиями использовался в Китае в качестве пищевого и лекарственного растения. Данные показали, что *Portulaca oleracea* L. снижает уровни молочной кислоты и азота мочевины в крови, а также увеличивает содержание гликогена в печени и мышцах. Эти результаты показали, что это растение обладает тонизирующим действием, может улучшить

выносливость при физической нагрузке и уменьшить окислительный стресс [149-150] и токсическая действия отсутствуют [70].

Найденные в литературных источниках результаты исследования различных видов фармакологической активности *Portulaca oleracea* L. систематизированы и обобщены в таблице 5

Таблица 5- Фармакологическое действие извлечений из *Portulaca oleracea* L [107-150]

Активность	Лекарственная форма	Показания и примечания (результат применения)	Литературные источники
Антибиотическая активность и притивогрибковая активность	Этанольный экстракт	Против Грибковые микроорганизмы албиканс, Стафилококк альбус, Золотистый стафилококк, Синегнойная палочка, Кишечная палочка, Мультирезистентных А, Бауманний, Клебсиелла пневмонии, Сальмонелла тифа, Сальмонелла В, Сарцина желтая, Серрация марсесценс и Шигелла флекснери.	[107-108-109-110-111-112-113-114-115]
	Водный экстракт	Против Синегнойная палочка, Серрация Против марсесцен, Шигелла флекснерская, Сальмонелла В, Сальмонелла тифа, Кишечная палочка и Золотистый стафилококк.	
	Ацетоновый экстракт сухих листьев и высушенных стеблей	Против Синегнойная палочка, Сальмонелла В, Сальмонелла тифа, Серрация марсесценс и Стафилококк альбус.	
	Метанольный экстракт надземных частей	Против Стрептококки.	
	Высушенное растение	При лечении красного плоского лишая Перенести в притивогрибковую активность	
Антиоксидантная активность	Водный экстракт	Профилактика сердечно-сосудистых, нейродегенеративных заболеваний	[114-115-116-117]
Противовоспалительная и иммуномодулирующая активность	Водный экстракт	Сосудистые заболевания, такие как атеросклероз. Оказывает потенциальное терапевтическое действие, ингибируя процесс воспаления сосудов при сосудистых заболеваниях	[118-119-120-121-122-123-124]
	Семена	Приводит к значительному снижению показателей липидов и значительному улучшению уровней IgG и IgM	
Противоартритная активность	Водный экстракт	Артрит	[65]
Антидиабетическая активность	Водный экстракт	Снижение уровня глюкозы в крови, триглицеридов в плазме, уровня холестерина в плазме и систолического артериального давления	[131-132-133]

Продолжение таблицы 5

Активность	Лекарственная форма	Показания и примечания (результат применения)	Литературные источники
Антиоцицептивная и нейропротекторная активность	Водный экстракт	Ацетилхолинэстераза увеличена во всех областях мозга, кроме мозжечка. Воспаления головного мозга, нейродегенеративные заболевания	[142-143-144]
Гепатопротекторная активность	Водный экстракт надземных частей	Ингибирование окислительного стресса, снижение экспрессии профиброгенных цитокинов, коллагенолитической активности и активации звездчатых клеток печени	[134-135-136-137]
Снижение окислительного стресса и усталости	Хлороформ-метанол экстракт; водно-этанольный экстракт семян, листьев и стеблей	Мышечная усталость. Снижение уровня молочной кислоты и азота мочевины в крови, а также увеличение содержания гликогена в печени и мышцах. Повышение болевого порога.	[149-150]
Антигиперлипидемическая активность	Водно-этанольный экстракт листьев <i>Portulaca oleracea</i> L.	Повышенное содержание холестерина низкой плотности. Снижение триглицеридов и холестерина липопротеинов низкой плотности.	[125-126-127-128-129]
Нефропротекторная активность	Водно-этанольный экстракт	Ингибирование, почечный фиброз и воспаление	[108-138-139-140-141]
Противовоспалительная активности	Экстракт петролейного эфира	Воспаления. Уменьшение воспалительной реакции и восстановление поражений	[145-146-147-148]
Кровоостанавливающее действие	Семена	Аномального маточного кровотечения. Сокращение продолжительности и объема кровотечений, и нормализация характера их периодов	[130]

Данные литературы по исследованию фармакологической активности *Portulaca oleracea* L. и его применения в медицинской практике показали, что изучаемый вид лекарственного растительного сырья широко используется в народной медицине при различных заболеваниях (желудочно-кишечные заболевания, заболевания верхних дыхательных путей и легких, кожные заболевания, гинекология и др.). Научными исследованиями подтверждено, что данное растение проявляет целый ряд фармакологической активности, в том числе антиоксидантную, противовоспалительную, антимикробную, гиполипидемическую, антидиабетическую и другие. То есть, изучаемый вид лекарственного растительного сырья является перспективным лекарственным растительным средством.

1.2. Характеристика действующих веществ и их стандартизация в ЛРС *Portulaca oleracea* L

Несмотря на то, что *Portulaca oleracea* L. популярен в народной медицине, проявляет целый ряд фармакологической активности, содержит различные группы БАВ, однако его стандартизации как лекарственного средства до сих пор не было проведено.

1.2.1. Фенольные соединения

Фенольные соединения имеют важное значение в различных физиологических процессах растения, таких как: рост, дыхание, адаптация, фотосинтез. Соединения, содержащие ароматическое кольцо, присоединенное к (ОН) группе и производные от него, называются фенольными соединениями. Разница в связи с бензольным кольцом и разница в структуре углерода в зависимости от разных молекул дали фенольным соединениям большое разнообразие, насчитывающее более 8000 видов [151] и фенольной группы, что обуславливает разнообразие, в том числе флавоноидов и фенольных алкалоидов, характерных для травы порьюлака огородного.

Фенольные алкалоиды представляют собой сравнительно новую группу органических молекул. Как фенольные соединения, они являются сильными антиоксидантами и хелаторами металлов. Для исследования используют разнообразные хроматографические методы [152-153].

Флавоноиды представляют собой группу органических молекул, повсеместно распространенных в сосудистых растениях. Около 2000 отдельных соединений флавоноидов были описаны. Флавоноиды различаются по химической природе: собственно флавоноиды - гидроксипроизводные флавона, флаваноны – производные 2,3-дигидрофлавона, изофлавоноиды - производные изофлавона, неофлавоноиды – производные 4-фенилкумарина, флавонолы - флавоны с восстановленной карбонильной группой, халконы, дигидрохалконы и

ауруны - другие соединения С6-С3-С6, в которых имеются два бензольных ядра, соединённых друг с другом трёхуглеродным фрагментом ряда. Как фенольные соединения, они являются сильными антиоксидантами и хелаторами металлов. [154-114–116] Для количественного и качественного анализа флавоноидов используются различные методы, такие как электрохимические, электрофоретические, хроматографические [155,156,157,158]. Спектрофотометрия, применяемая для количественного содержания флавоноидов - простой и быстрый метод [155]. Используются следующие качественные реакции: реакция с алюминия хлоридом, реакция Вильсона [158] и ТСХ с алюминия хлоридом в качестве детектора [2].

Данные литературы свидетельствуют, что *Portulaca oleracea* L. содержит флавоноиды, однако методики для их количественного определения до сих пор разработаны не были.

1.2.2. Полисахариды

Полисахариды являются важным классом биологических полимеров. В последнее время биоактивность полисахаридов из растений и грибов привлекает все больше внимания в биохимии и медицине [159-160]. Имеются данные, что полисахариды из *Portulaca oleracea* L. проявляют сильные антиоксидантные, противоопухолевые, антимикробные, антидиабетические и противовоспалительные свойства [161].

Одним из наиболее широко распространенных методов определения полисахаридов в растительном сырье является гравиметрия [162]. Однако данный метод трудоемок, недостаточно специфичен, вследствие возможного соосаждения матричных компонентов.

Одним из современных инструментальных методов, включенных в Государственную Фармакопею Российской Федерации (ГФ), является УФ-спектрофотометрия [162]. Для определения полисахаридов в ГФ XIV

используются антроновый или орциновый реактивы, а также пикриновая кислота. Однако эти методы обладают рядом недостатков.

М. Dubois с сотрудниками показали, что фенол в среде концентрированной серной кислоты способен образовывать с сахарами стабильные соединения, окрашенные в оранжево-красный цвет. Достоинствами этого метода являются относительная простота, отсутствие стадии нагревания, что положительно сказывается на метрологических характеристиках методик. Данный подход был успешно положен в основу методики определения суммы восстанавливающих сахаров в субстанциях природного происхождения [163].

Для определения полинности используется реакция Фелинга [164] и ТСХ с анилин-фталевой кислотой в качестве детектора [2]

Результатов по исследованию полисахаридов в траве *Portulaca oleracea* L. нами не найдено.

1.2.3. Органические кислоты

Соединения, которые содержат одну или несколько СООН связей в живых организмах, называются органическими кислотами. Часто органические кислоты, используют в качестве пищевых консервантов (уксусную, лимонную, муравьиную, молочную, пропионовую, сорбиновую и бензойную кислоты). Механизм инактивации микроорганизмов этими кислотами заключается в способности недиссоциированной формы проникать через клеточную мембрану, диссоциировать внутри клетки, что приводит к снижению внутриклеточного значения рН, что важно для контроля роста клеток [165]. Для определения содержания органических кислот используют объемные методы, ферментативные методы, колориметрические методы, спектрофотометрические методы, микрофлуориметрические методы, полярографические методы и хроматографические методы [166].

Одним из известных методов определения органических кислот, описанных в ГФ, является титрование [167].

Для определения подлинности используется ТСХ и детекцию производится при длине волны 365 нм. [2]

Органические кислоты входят в химический состав травы *Portulaca oleracea*L., однако работ посвященных их качественному и количественному определению не было обнаружено.

1.2.4 Стандартизация травы *Portulaca oleracea* L

В настоящее время на траву *Portulaca Oleracea* L. не разработана нормативная документация, поскольку данный вид ЛРС не признан в России официальным.

В настоящее время гармонизация подходов к оценке качества ЛРС в разных странах является неотъемлемой частью требований к нормативной документации, что побуждает проводить сравнительный анализ фармакопейных требований, предъявляемых в различных странах [168-169].

Информации о *Portulaca oleracea* L. не было найдено в различных зарубежных фармакопеях, за исключением Китая, где в Государственной Фармакопее представлены требования к качеству *Portulaca oleracea* L.

Монография Китайской фармакопеи на *Portulaca oleracea* L. содержит следующее: для цельного и измельченного сырья внешние признаки, описание анатомического строения цельных надземных частей (микроскопия), упаковка, хранение, краткие требования для первичной обработки сырья, показания к применению, дозы, фармакологическое действие и препараты.

В монографии Китайской Фармакопеи дано описание внешних признаков надземных частей *Portulaca oleracea* L., содержатся микроскопические характеристики только для порошка надземных частей *Portulaca oleracea* L., и они включены в раздел «Идентификация». Подлинность надземной части *Portulaca oleracea* L. определяется по наличию аминокислот методом ТСХ (подвижная фаза – смесь н-бутанол - ледяная уксусная кислота - вода (4: 1: 1) детектор – 0,2% раствор нингидрина в этаноле и пластинки с силикагелем).

Государственная Фармакопея Китая не включает нормирование примесей: органической, минеральной и другие виды, а также виды золы; однако содержание влажности сырья в ней предусмотрено и составляет не более 12% [106-170].

Названные отличия в содержании китайской ГФ, в основном, обусловлены национальными требованиями и особенностями применения ЛРС в китайской медицине. В соответствии с требованиями РФ к стандартизации лекарственного растительного сырья необходимо провести разработку показателей подлинности (морфолого-анатомическое описание для лекарственного растительного сырья различной степени измельченности, качественные реакции, ТСХ и пр.) и доброкачественности (количественное содержание действующих веществ *Portulaca oleracea* L.; нормы числовых показателей, включая содержание видов золы, органических и минеральных примесей и др.); установить условия и сроки хранения, - все это оформить в виде нормативной документации на траву *Portulaca oleracea* L. [171-172-173].

Выводы главы 1

1. Проведен литературный поиск с целью оценки фармакогностической изученности: внешних и анатомических признаков, химического состава, фармакологических свойств и перспектив использования в качестве лекарственного растительного сырья *Portulaca oleracea* L.

2. Систематическое и организованное исследование показало, что трава *Portulaca oleracea* L. включает комплекс биологически активных веществ, а именно флавоноиды, полисахариды, органические кислоты, жирные кислоты, витамины, минеральные соединения и другие.

3 Надземная часть *Portulaca oleracea* L. давно и широко используется в народной медицине. Экспериментальными исследованиями подтверждено, что трава *Portulaca oleracea* L. проявляет различные виды активности, в том числе

противовоспалительную, противомикробную, гипохолестеринемическую, антиоксидантную, антитоксическую и другие.

4. В настоящее время в РФ отсутствует нормативная документация на *Portulaca oleracea* L., методы определения подлинности и доброкачественности травы *Portulaca oleracea* L. не разработаны. Принимая во внимание сведения о фармакологических свойствах, опыт применения ЛРС в народной медицине, требуется провести фармакогностический анализ травы *Portulaca oleracea* L. с целью разработки показателей качества для включения в нормативную документацию и последующего внедрения данного вида лекарственного растительного сырья в медицинскую практику, что будет способствовать расширению сырьевой базы растительного сырья.

ГЛАВА 2. МЕТОДЫ И ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

2.1.1. Объекты исследования

Образцы травы *Portulaca oleracea* L. были собраны в Воронежской области РФ и Сирийской Арабской Республике (в 2017-2018-2019 г.).

Заготовку сырья осуществляли срезанием верхней части растения не более 20 см. Сушку сырья осуществляли воздушно-теневым способом, раскладывая сырьё в один слой. Для лучшего высыхания сырьё резали на кусочки до 4–7 см, поскольку побеги и листья толстые, содержат слизь и поэтому трудно высыхают. Помещение для хранения периодически проветривалось, было сухим, без попадания солнечных лучей, температура помещения комнатная, зараженность амбарными вредителями отсутствовала. Для выделения средней пробы сухое сырьё измельчали, просеивали и методом квартования выделяли пробу, из которой методом квартования получали аналитические пробы для проведения анализов.

Водные и спиртоводные извлечения из сырья травы *Portulaca oleracea* L., приготовленные в соответствии с требованиями ГФ XIV. Способ приготовления приведен в следующем подразделе.

2.1.2. Стандартные образцы и реактивы

В процессе исследований использовались реактивы квалификацией не ниже «чистые для анализа» («ч.д.а.»).

Следующие стандартные образцы (СО) использовались в процессе экспериментальных исследований (все стандартные образцы были приобретены ЦКП(НОЦ) РУДН):

Рутин (Quercetin-3-rutinoside hydrate, Vitamin P hydrate; CAS Number: 207671-50-9, Sigma-Aldrich);

Гиперозид (3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavone 3-D-galactoside, Hyperin, Hyperoside, Quercetin 3-D-galactoside; CAS Number: 482-36-0, Sigma-Aldrich);

Глюкоза (декстроза; CAS Number 50-99-7, USP);

Аскорбиновая кислота (L-Threoascorbic acid, Antiscorbutic factor, Vitamin C; CAS Number: 50-81-7, Sigma-Aldrich);

Лимонная кислота (CAS Number: 77-92-9, Sigma-Aldrich);

Щавелевая кислота (CAS Number: 144-62-7, Sigma-Aldrich);

Silver ICP standard (CAS Number: 4600005968, CertiPUR-MERCK);

Lead ICP standard (CAS Number: 4600005968, CertiPUR-MERCK);

Cadmium ICP standard (CAS Number: 4600005968, CertiPUR-MERCK);

Arsenic ICP standard (CAS Number: 4600005968, CertiPUR-MERCK);

ICP multi-element standard solution IV (CAS Number: 4600005968, CertiPUR-MERCK).

2.1.3. Оборудование

Анализ и экстракция действующих веществ из травы *Portulaca oleracea* L. проводились с помощью приборной базы ЦКП (НОЦ) РУДН. Для исследования были использованы:

- Сита с размером пор (7-5-3-2-1-0,5).

- Аналитические весы.
- Ротационный вакуумный испаритель (BUCHI, ROTOVAPOR, MOD.R-210/215).
- Аппарат Сокслета (SOXHLET BOROSIL GLASS WORKS Ltd_.
- Водяная баня (LOIP LB- 162).
- Автотитратор (TITRINO PLUS 848)
- Хромато-масс-спектрометр JMS GCMate II (Япония, ионизация электронами, энергия ионизации 70 эВ, диапазон измеряемых масс 40–600 Да, 2 скан/сек, JEOL). Газовый хроматограф Agilent 6890N
- ГХ-ПИД Исследования проводили на хроматографе Agilent 7890A.
- Хроматограф ВЭЖХ VARIAN PROSTAR SERIES 500 (США) WITH AUTO SIMPLE MODEL 500 с фотометрическим детектором на диодной матрице (ПДА)
- Спектрофотометр CARY-100 VARIAN (США) (кюветы кварцевые с толщиной поглощающего слоя 10 мм).
- Бюретки Simax.
- Спектры ЯМР ¹H были зарегистрированы на спектрометре JNM ECA-600 (JEOL, Япония), с рабочей частотой 600 МГц для протонов, в количественных условиях (32К точек на спектр, 16 накоплений, 90° импульс, 40 с задержкой между импульсами); обработка спектров производилась с использованием программы Delta (JEOL), которая позволяет проводить управление прибором, сбор и анализ данных.
- Микроволновую систему (МВ-печь/система) с контролем температуры (Milestone Ethos) применяли для разложения.
- Метод атомно-абсорбционной спектроскопии с пламенной и электротермической атомизацией (ЭТААС) и метод атомно-эмиссионной

спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП) использовали при определении содержания макро- и микроэлементов в сырье *Portulaca oleracea* L. Благодаря устройствам АЭС-ИСП (Varian 720-ES, аксиальный обзор плазмы) и ЭТААС (Varian AA 240, GTA 120) анализировали образцы.

2.2. Методы, использованные при проведении исследования

2.2.1. Морфолого-анатомическое изучение травы *Portulaca oleracea* L

Изучение внешних признаков травы *Portulaca oleracea* L. проводили посредством осмотра травы в аналитических пробах с использованием лупы (10х) и визуально в соответствии со статьей ГФ XIV «Травы» [174].

Микроскопические признаки анализировали согласно статьям ГФ XIV «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» и «Травы» [175].

Готовые микропрепараты изучали под микроскопом МБИ-3 (при увеличении x40, x75, x100; x150; x200; x250; x300; x400).

Результаты фиксировали в виде микрофотографий, полученных с помощью фотонасадки МФН-12 и цифрового фотоаппарата Canon AOS 350D.

В ходе микроскопического анализа проводили количественную оценку анатомо-диагностических признаков и их частоты встречаемости согласно ГФ XIV [176].

2.2.2. Определение подлинности и числовых показателей травы *Portulaca oleracea* L

- Изучение состава БАВ травы *Portulaca oleracea* L. с помощью качественных реакций

Пробоподготовка

При проведении анализа использовали водные и спиртовые извлечения из *Portulaca oleracea* L. Извлечения получали:

5 г измельченного сырья до размера частиц, проходящих через сито с отверстиями 1 мм помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл экстрагента (H_2O , 90% спирта, 50% спирта) или 45 мл H_2O и 5 мл HCl . Для анализа аскорбиновой кислоты к обратному холодильнику присоединяли круглодонную колбу и нагревали на водяной бане при температуре не более $40^{\circ}C$ в течение 60 мин.

Методика

- С $AlCl_3$: 5 мл извлечения помещали в пробирку, прибавляли 3 капли 2% этанольного раствора $AlCl_3$ (флавоноиды) [158].

- Реакция Вильсона (реакция с $V(OH)_3 \cdot C_6H_8O_7$): 5 мл извлечения помещали в пробирку и добавляли 2 мл $V(OH)_3$ в присутствии $C_6H_8O_7$ или $H_2C_2O_4$ кислоты (флавоноиды) [158].

- Качественные реакции с раствором аммиака: в пробирку помещали 5 мл извлечения и добавляли 2 мл раствора NH_3 ; наблюдали изменение окраски раствора, который становился желтым. При просмотре в УФ свете наблюдали желто-зеленую флуоресценцию [158].

- Качественные реакции с раствором железоммониевых квасцов: от 1 до 2 мл 1 % раствора железоммониевых квасцов добавляли к 5 мл водного

извлечения в пробирке и наблюдали изменения раствора, в котором образуется осадок [164].

-Тест на сапонины: 2 мл извлечения взбалтывают. Добавление 1 капли HCl 2 N [164].

- Аскорбиновая кислота легко вступает в окислительно-восстановительные реакции. Порядок выполнения работы: к 5 мл извлечения прибавляют 1 мл раствора $K_3Fe(CN)_6$ и 0,5 см³ раствора хлорида железа (III) ($FeCl_3$) [164].

- Реакция Фелинга. В пробирку вносят к 1 мл экстракта и 1 мл реактива Фелинга. Смесь перемешивают и нагревают в пламени горелки до кипения [164].

- Реакция Майер. 20 мл экстракта выпаривали досуха. Добавляли в экстракт 5 мл 10% HCl, Добавит 25% NH_3 , чтобы получить рН 8. Раствор затем экстрагировали в делительной воронке с $CHCl_3$. $CHCl_3$ извлечение выпаривали досуха. Остаток растворяли в 5 мл HCl 2N . Добавит от 2 капель реагента Майера [164].

- Изучение химического состава БАВ *Portulaca oleracea* L. методом ТСХ

Пробоподготовка

Извлеченные получали: 5 г измельченного сырья до размера частиц, проходящих через сито с отверстиями 1 мм, помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл экстрагента (H_2O или 90% этанол). К обратному холодильнику присоединяли круглодонную колбу и нагревали на водяной бане при кипении в течение часа, для смывания частиц сырья со стенок периодически перемешивали содержимое колбы. После охлаждения извлечения до комнатной температуры его фильтровали через вату и складчатый бумажный фильтр.

Методика

В анализе использовали пластинки «Сорбфил ПТСХ АФ-УФ» на которые наносили по 10 мкл каждого извлечения и 0,1 % имеющихся стандартов.

Хроматографирование проводили восходящим способом в системе растворителей по каждой группе БАВ (флавоноиды: н-бутанол–этилацетат–вода (4:5:2) \ органические кислоты: этилацетат–уксусная кислота–муравьиная кислота–вода (100:11:11:25) \ свободные сахара: н-бутанол–уксусная кислота–вода (4:1:5)). После хроматографирования пластинку вынимали из камеры, сушили на воздухе в течение 5 мин и обрабатывали соответствующим детектирующим реагентом и прогревали при 105–110 °с и детекцию производили при длине волны 365 нм для органических кислот. В качестве стандартных образцов использовали растворы рутина, гиперозида, лимонной кислоты, щавелевой кислоты, глюкозы [2-176-177-178-179].

Для каждой группы БАВ проводили ТСХ восходящим способом в системе растворителей (органические кислоты: этилацетат–уксусная кислота–муравьиная кислота–вода (100:11:11:25) \ свободные сахара: н-бутанол–уксусная кислота–вода (4:1:5) \ флавоноиды: н-бутанол–этилацетат–вода (4:5:2)). По 10 мкл каждого извлечения и 0,1 % раствора имеющихся СО использовали для анализа на пластинках «Сорбфил ПТСХ АФ-УФ». Вынимали пластинку из камеры, когда подвижная фаза достигала 90% пластинки и сушили на воздухе до исчезновения всех следов подвижной фазы; пластинку опрыскивали соответствующим детектирующим реагентом и нагревали при 110 °С (для органических кислот детектировали при длине волны 365 нм). В качестве СО использовали растворы рутина ($C_{27}H_{30}O_{16}$), гиперозида ($C_{21}H_{20}O_{12}$), лимонной кислоты ($C_6H_8O_7$), щавелевой кислоты ($C_2H_2O_4$), глюкозы ($C_6H_{12}O_6$) [2-176-177-178-179].

- Определение числовых показателей травы *Portulaca oleracea* L.

Определение влажности, экстрактивных веществ, общей золы, измельченности и содержания примесей объектов исследования проводили согласно ГФ XIV.

* Определение влажности сырья надземные части *Portulaca oleracea* L.

В соответствии с методикой ОФС ГФ 14 «Определение влажности лекарственного растительного сырья» определяли влажность в объектах исследования [180].

* Определение содержания экстрактивных веществ в траве *Portulaca oleracea* L.

Сумму экстрактивных веществ, извлекаемых H_2O и смесью 70% H_2O -этанол из травы *Portulaca oleracea* L., определяли по методике ОФС ГФ 14 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье». По содержанию экстрактивных веществ характеризуют всю сумму БАВ ЛРС, способных извлекаться соответствующим экстрагентом. [181].

* Определение содержания золы общей в траве *Portulaca oleracea* L.

Определение Зола общей в траве *Portulaca oleracea* L. проводили в соответствии с методикой ОФС ГФ 14 «Зола общая» [182].

* Определение содержания золы, нерастворимой в 10% HCl в траве *Portulaca oleracea* L.

По методике ОФС ГФ 14 «Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте» определяли золу, нерастворимую в 10% HCl в траве *Portulaca oleracea* L. [183].

* Определение измельченности и содержания примесей в траве *Portulaca oleracea* L.

По методике ОФС ГФ 14 «Определение подлинности, измельченности и содержания примесей в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» определяли содержание примесей в траве *Portulaca oleracea* L [184].

* Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в траве *Portulaca oleracea* L.

Согласно методике ОФС ГФ 14 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка» определяли тяжелые металлов в траве *Portulaca oleracea* L [185-186–187].

- Метод основан на образовании окрашенных сульфидов:

Тяжелые металлы (Pb, Hg, Bi, Sb, Sn, Cd, Ag, Cu, Mo, V, Ru, Pt, Pd) обнаруживаются с помощью методов, в основе которых лежит образование окрашенных сульфидов [185].

- Метод атомно-абсорбционной спектрометрии [186-187]:

Выбор метода количественного определения Cd, Pb, As, Ag зависит от прибора ЭТААС. За основу была взята методика, описанная в литературе (Никулин А. В.) [186].

Содержание любого из элементов X (ppm) рассчитывали по формуле:

$$x = \frac{C \cdot 50}{a \cdot 1000}$$

где,

C - концентрация элемента в испытуемом растворе, мкг/мл

a - масса навески образца, г.

2.2.3. Исследование химического состава травы *Portulaca oleracea* L.

* Определение содержания макро- и микроэлементов в траве *Portulaca oleracea* L.

Полноценный многоэлементный анализ лекарственного растительного сырья в концентрациях аналитов от ppb до ppm целесообразно проводить сочетанием методов АЭС-ИСП и ЭТААС. [186].

Содержание любого элементов (которые анализируются методами АЭС-ИСП) X (ppm) рассчитывали по формуле:

$$x = \frac{C \cdot 50}{a}$$

где,

C - концентрация элемента в испытуемом растворе, мкг/мл

a - масса навески образца, г.

* Определение содержания состава липидного комплекса травы *Portulaca oleracea* L.

Согласно ОФС ГФ 14 «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса, Газовая хроматография, Масс-спектрометрия» определено содержания компонентного состава липидного комплекса в траве *Portulaca oleracea* L. [188-189-190-191].

За основу была взята методика, описанная в литературе (Горяинов С. В.) [191].

* Определение содержания *Acidum ascorbinicum* в траве *Portulaca oleracea* L.

Согласно ОФС ГФ 14 «Высокоэффективная жидкостная хроматография» определено содержание *Acidum ascorbinicum* в объектах исследования [192]. Определение проводили по методике, описание которой представлено в литературе (Пирогов А. В.) [193].

Условия хроматографирования [193].

Температура колонки	30 °С;
Скорость потока	0,8 мл/мин;
Объем пробы	5 мкл;
Детектор	спектрофотометрический, 243 нм;
Колонка	Luna CN100 A0 (10 μm/ 4,6*250 mm)
Подвижные фазы	А – CH ₃ COOH (pH 2.9); В - AcCN

Градиент	Время, мин	A%	B%
	0-4,6	100	0
	10-17,8	82	18
	18,4-19	40	60
	19,6-28	100	0

Содержание Acidum ascorbinicum (X, %) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S \cdot a_0 \cdot 0,25 \cdot 100 \cdot P \cdot 100}{S_0 \cdot 10 \cdot 10 \cdot a \cdot 100 \cdot (100 - W)} \cdot 100\% = \frac{S \cdot a_0 \cdot 25 \cdot P}{S_0 \cdot a \cdot (100 - W)}$$

где,

S – площадь пика Acidum ascorbinicum на хроматограмме испытуемого раствора;

S₀ – площадь пика Acidum ascorbinicum на хроматограмме стандартного раствора;

a – масса навески сырья, г;

a₀ – масса навески стандартного образца Acidum ascorbinicum, г;

W – влажность сырья, %;

P – содержание основного вещества в стандартном образце Acidum ascorbinicum, %

* Определение содержания фенольных соединений в траве *Portulaca oleracea*L.

В соответствии с ОФС ГФ 14 «Высокоэффективная жидкостная хроматография-Масс-спектрометрия» определено содержание фенольных соединений в траве *Portulaca oleracea* L. [189-192]. Также методика описана в литературе (Yulian Voynikov) [194].

Условия хроматографирования [194].

Температура колонки	30 °С;
Детектор	QQQ, DAD 340 нм
Объем пробы	10 мкл;
Скорость потока	0,25 мл/мин;

Способ элюирования	Изократический		
Колонка	Brownlee SPP C18 (2,7 μm/ 2,1*150 mm)		
Подвижные фазы	(А): муравьиная кислота- 0.1%,(В): ацетонитрил		
Градиент	Время, мин	А%	В%
	0	95	5
	5	95	5
	30	70	30
	40	30	70
	45	10	90
	47	95	5
	50	95	5

* Определение содержания окисляемых веществ в траве *Portulaca oleracea* L. (Метод 1. Определение суммы дубильных веществ в пересчете на танин)

Согласно методике ОФС ГФ 14 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» определено содержание окисляемых веществ в траве *Portulaca oleracea* L. [195].

2.2.4. Определение количественного содержания биологически активных веществ в траве *Portulaca oleracea* L

Определение проводили в соответствии с методикой, описанной в литературе и сравнивали с методом M. Dubois [158-159]. Подбор условий проведения анализа был проведен опытным путем и представлен в главе 5. Наибольшая полнота извлечения суммы восстанавливающих сахаров может быть достигнута двукратной экстракцией подкисленной водой очищенной за 120 мин при степени измельчения сырья 1 мм и соотношении сырье: экстрагент 1:200.

Поскольку среди исследованных групп БАВ было отмечено значительное содержание полисахаридов физико-химическими методами, а также микроскопией, вероятно, отхаркивающая активность травы *Portulaca oleracea* L. во многом обусловлена именно полисахаридами, в связи с чем, было необходимо разработать методику количественного содержания восстанавливающей суммы

сахаров, которая складывается из суммы полисахаридов и свободных сахаров в траве *Portulaca oleracea* L.

Государственная фармакопея 14 издания (ГФ XIV) для контроля качества растительного сырья регламентирует применение метода УФ/ВИД-спектрофотометрии (с пикриновой кислотой) и метода гравиметрии для определения полисахаридов или суммы восстанавливающих сахаров [196]. В предлагаемой работе использована менее трудоемкая УФ-спектрофотометрическая методика с целью определения восстанавливающей суммы сахаров (с фенолом) [163].

Материалы и методы

Объектом исследования служили образцы надземной части *Portulaca oleracea* L., заготовленные в разных районах Воронежской области в период с июля по сентябрь и в Сирии (Латакия).

В качестве экстрагента для выделения полисахаридов из растительного материала использовали воду. Гидролиз полисахаридов осуществляли с помощью кислоты хлористоводородной концентрированной, которую добавляли непосредственно при экстракции. Для проведения аналитической реакции перед УФ-определением применяли раствор 5% фенола.

Валидацию методики проводили в соответствии с установленными требованиями на образцах сырья *Portulaca oleracea* L. В ходе работы рассматривались валидационные характеристики, такие как линейность, специфичность, повторяемость и правильность в соответствии с правилами и рекомендациями. Статистический анализ экспериментальных данных выполняли с применением программы Microsoft Office Excel 2010.

Приготовление стандартного раствора (СО) образца глюкозы

0,1 г (точная навеска) стандартного образца глюкозы (декстрозы) помещают в МК объемом 100 мл, прибавляют 60 мл H₂O очищенной и перемешивают до полного растворения навески. Объем раствора доводят тем же растворителем до метки (раствор А).

1 мл полученного раствора А помещают в МК объемом 25 мл. Объем раствора А доводят до метки водой очищенной (раствор Б).

Методика проведения анализа:

Около 0,5 г (точная навеска) сырья, измельченного до размера частиц, проходящих через сито с отверстиями 1 мм, помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 40 мл H_2O и 7 мл кислоты хлористоводородной концентрированной, помещают на кипящую водяную баню с обратным холодильником. Экстракцию проводят в течение 120 мин. Колбу охлаждают до комнатной температуры. Полученное извлечение фильтруют через пять слоев марли в МК вместимостью 100 мл. Остатки сырья в колбе промывают 10 мл H_2O . Марлю с сырьем снова помещают в ту же коническую колбу и экстракцию повторяют еще раз. Полученное извлечение фильтруют через пять слоев марли в ту же МК, объем раствора доводят до метки водой очищенной. Полученное извлечение пропускают через фильтровальную бумагу марки «Синяя лента» (раствор В). Холостой опыт проводится аналогично, но без анализируемого образца.

Далее 1 мл полученного фильтрата раствора В помещают в МК вместимостью 25 мл, объем раствора доводят H_2O очищенной до метки (раствор Г).

Раствор сравнения готовят аналогично испытуемому раствору из раствора, полученного в холостом опыте. При проведении количественного определения суммы восстанавливающих сахаров используют три пробирки (1, 2, 3) вместимостью 15 мл. В первую пробирку прибавляют 1 мл раствора Б, во вторую – 1 мл раствора Г, в третью – 1 мл разбавленного раствора сравнения. Во все пробирки прибавляют по 1 мл 5% раствора фенола, аккуратно встряхивают, добавляют по 5 мл кислоты серной концентрированной. Пробирки с содержимым охлаждают, перемешивают и оставляют на 30 мин для развития окрашивания. Регистрируют оптическую плотность стандартного и испытуемого растворов при длине волны 487 нм. В качестве раствора сравнения используют содержимое третьей пробирки.

Содержание суммы свободных сахаров и полисахаридов (X, %) рассчитывают по формуле:

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

где,

A – оптическая плотность испытуемого раствора;

A₀ – оптическая плотность СО глюкозы;

a – масса навески сырья, г;

a₀ – масса навески СО глюкозы, г;

W – влажность сырья, %;

P – содержание основного вещества в стандартном образце глюкозы, %

* Результаты определения параметров валидации

Валидация методики проведена в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» по параметрам: специфичность, линейность, правильность, повторяемость [197].

Валидацию методики проводили на образцах сырья *Portulaca oleracea* L. Статистический анализ экспериментальных данных выполняли с применением программы Microsoft Office Excel 2010.

Специфичность

Для подтверждения специфичности разработанной методики получают спектры УФ СО, ИР и плацебо в диапазоне от 350 до 550 нм.

Линейность

Для подтверждения линейности разработанной методики были приготовлены серии СО растворов в пределах диапазона методики от 25 до 250 % (с шагом 25 %), по окончании анализа проводили определение коэффициента корреляции (r).

0,1 г (точная навеска) стандартного образца глюкозы (декстрозы) помещают в МК вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл Н₂О очищенной и перемешивают до полного растворения навески. Объем раствора доводят тем же растворителем до метки (раствор А).

Раствор А разводят водой в мерных колбах вместимостью 25 мл до концентрации в анализируемом растворе 10, 20, 40, 80, 100 мкг/мл, перемешивают.

Правильность

Для подтверждения правильности разработанной методики использовали метод добавок, путем прибавления точного количества стандартного образца глюкозы. Проводили по три параллельных определения для каждой добавки, прибавляя к раствору плацебо стандартный раствор глюкозы в диапазоне концентраций 25–250 % (9 измерений, 3 концентрации внутри определяемого диапазона).

0,1 г (точная навеска) стандартного образца глюкозы (декстрозы) помещают в МК вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл H₂O очищенной и перемешивают до полного растворения навески. Объем раствора доводят тем же растворителем до метки (раствор А).

1 мл испытуемого раствора и раствор А разводят водой в мерных колбах вместимостью 25 мл до концентрации в анализируемом растворе 20, 40, 80, мкг/мл.

Повторяемость

Для подтверждения повторяемости этого количественного метода было расчетно коэффициент вариации для СО и ИР использование тех же растворов, что и в количественном анализе 6 разов.

* Метод, основанный на реакции с тринитрофенолом, для определения суммы восстанавливающих сахаров [198-199].

Анализ проводили, используя методику, описанную в ОФС.1.2.3.0019.15 «Определение сахаров спектрофотометрическим методом» [198].

Содержание суммы свободных сахаров и полисахаридов (X, %) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_0 \cdot P \cdot 100 \cdot 100 \cdot 5 \cdot 50}{A_0 \cdot a \cdot (100 - W) \cdot 250 \cdot 5 \cdot 50 \cdot 100} \cdot 100\% = \frac{A \cdot a_0 \cdot P}{A_0 \cdot a \cdot (100 - W) \cdot 2,5} \cdot 100\%$$

где,

A – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность СО глюкозы;

a – масса навески сырья, г;

a_0 – масса навески СО глюкозы, г;

W – влажность сырья, %;

P – содержание основного вещества в стандартном образце глюкозы, %

- Определение содержания в траве *Portulaca oleracea* L. органических кислот

Органические кислоты в *Portulaca oleracea* L. были определены с использованием фармакопейной методики определения суммы органических кислот в плодах калины [167].

Условия проведения анализа были подобраны экспериментально, описание проведенного исследования представлено в главе 5. Наибольшая полнота извлечения органических кислот может быть достигнута одной экстракцией водой очищенной за 120 мин при степени измельчения сырья 2 мм и соотношении сырье: экстрагент 1:80.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. 2,5 г измельченных сырье помещают в колбу вместимостью 250 мл, заливают 200 мл H_2O и выдерживают в течение 2 ч на кипящей водяной бане, затем охлаждают, количественно переносят в МК вместимостью 250 мл, После охлаждения до комнатной температуры фильтруют через бумажный фильтр «красная лента», доводят объем извлечения водой до метки и перемешивают. Отбирают 10 мл извлечения, помещают в колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 40–50 мл свежeproкипяченной H_2O , 0,2 мл 1% этанолного $C_{20}H_{14}O_4$ (фенолфталеина), 0,4 мл 0,1% $C_{16}H_{18}ClN_3S$ (метиленового синего) и титруют $NaOH$ 0,1 Н до окрашивания пены в лилово – красный цвет.

Содержание свободных органических кислот в пересчете на яблочную кислоту в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{v \cdot 0,0067 \cdot 250 \cdot 100}{m \cdot 10 \cdot (100 - W)} \cdot 100 = \frac{v \cdot 1675}{m \cdot (100 - W)}$$

где,

0,0067 - количество яблочной кислоты, соответствующее 1 мл раствора натра едкого (0,1 моль/л), в граммах;

v - объем раствора натра едкого (0,1 моль/л), пошедшего на титрование, в миллилитрах;

m - масса сырья в граммах;

W - потеря в массе при высушивании сырья в процентах [167].

* Результаты определения параметров валидации

Проведена верификация методики, поскольку за основу взята фармакопейная методика. Определение валидационных характеристик методики проведено в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» по параметрам: специфичность и повторяемость [197].

Верификацию методики проводили на образцах сырья *Portulaca oleracea* L. Статистический анализ экспериментальных данных выполняли с применением программы Microsoft Office Excel 2010.

Специфичность

Окраска испытуемого раствора соответствовала окраске стандартного раствора, который указан в методике стандартного образца после титрования раствором натра едкого (0,1 моль/л) при достижении конечной точки титрования. Окраска раствора плацебо свидетельствовала об отсутствии влияния плацебо на результаты определения количественного содержания органических кислот в точке титрования, соответствующей изменению окраски после добавления одной капли раствора натра едкого (0,1 моль/л).

Повторяемость

Для подтверждения повторяемости разработанной методики был рассчитан коэффициент вариации для ИР, для которых проведено определение в шести повторностях.

- Определение содержания флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L.

Определение проводили в соответствии со спектрофотометрической методикой, описанной в литературе с использованием этанольного раствора AlCl_3 [200], далее полученные результаты сравнивали с методикой спектрофотометрии в системе $\text{NaNO}_2 - \text{AlCl}_3 - \text{NaOH}$ [66].

* Методом дифференциальной спектрофотометрии с алюминия хлоридом в спиртовой среде [200]

В качестве экстрагента для выделения флавоноидов из растительного материала использовали 90% раствор спирта. Для проведения аналитической реакции перед УФ-определением применяли 2 % раствор алюминия хлорида в этаноле и 1 каплю 30 % CH_3COOH .

Исследование проводили методом спектрофотометрии на спектрофотометре (кварцевые кюветы с толщиной поглощающего слоя 10 мм). Условия проведения анализа были подобраны экспериментально, описание проведенного исследования представлено в главе 5. Наибольшая полнота извлечения суммы флавоноидов может быть достигнута двукратной экстракцией 90% этанолом за 60 мин при степени измельчения сырья 1 мм и соотношении сырье: экстрагент 1:100.

Способ приготовления стандартного раствора (СО) был взят согласно описанной в литературе методики дифференциальной спектрофотометрии с алюминия хлоридом в спиртовой среде [200].

Методика проведения анализа:

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, приливают 40 мл спирта 90%. Колбу с содержимым присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение 1 ч. После охлаждения до комнатной температуры фильтруют через 5 слоев марли в МК вместимостью 100 мл. Остатки сырья в колбе промывают 10 мл спирт 90%. Марлю с сырьем снова помещают в ту же коническую колбу и экстракцию

повторяют еще раз. После охлаждения до комнатной температуры полученное извлечение фильтруют через пять слоев марли в туже ММ, объем раствора доводят до метки спиртом 90%. (Раствор А испытуемого раствора).

10 мл раствора А испытуемого раствора помещают в МК вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл алюминия хлорида раствора 2 % в спирте 96 % и 1 каплю уксусной кислоты разведенной 30 %, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора). Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют через 40 мин на спектрофотометре при длине волны 411 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А испытуемого раствора, 1 капли уксусной кислоты разведенной 30 %, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А СО рутина, 1 капли уксусной кислоты разведенной 30 %, доведенный спиртом 96% до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

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

$$X(\%) = \frac{A \cdot a_0 \cdot P \cdot 100 \cdot 25 \cdot 1}{A_0 \cdot a \cdot (100 - W) \cdot 100 \cdot 10 \cdot 50 \cdot 25} \cdot 100 = \frac{A \cdot a_0 \cdot P \cdot 20}{A_0 \cdot a \cdot (100 - W)}$$

где,

A – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

A₀ – оптическая плотность раствора Б СО рутина;

a – навеска сырья, г;

a₀ – навеска СО рутина, г;

P – содержание основного вещества в СО рутина, %;

W – влажность сырья, %.

Валидация методики проведена в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» по параметрам: специфичность, линейность, правильность, повторяемость. [197].

Валидацию методики проводили на образцах сырья *Portulaca oleracea* L. Статистический анализ экспериментальных данных выполняли с применением программы Microsoft Office Excel 2010.

Результаты определения параметров валидации

Специфичность

Для подтверждения специфичности разработанной методики получали спектры УФ СО, ИР и плацебо, которые были получены в диапазоне от 300 до 600 нм.

Линейность

Для подтверждения линейности разработанной методики были приготовлены серии СО растворов в пределах диапазона методики от 0,5 до 100 %, на основании полученных результатов проводили расчет коэффициента корреляции (r^2)

Способ приготовления стандартного раствора (СО) был взят согласно описанной в литературе методики дифференциальной спектрофотометрии с алюминия хлоридом в спиртовой среде [200].

Необходимое количество раствора А СО рутина помещают в МК вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл $AlCl_3$ 2 % в этаноле и 1 каплю 30 % CH_3COOH , этанолом разводят до метки (раствор Б СО рутина) до концентрации в анализируемом растворе 0,1, 0,2, 2, 5, 10, 20 мкг/мл.

Правильность

Для подтверждения правильности разработанной методики использовали метод добавок, путем прибавления точного количества СО рутина. Проводили по три параллельных определения для каждой добавки, прибавляя к раствору плацебо стандартный раствор рутина в диапазоне концентраций 0,1–100% (9 измерений, 3 концентрации внутри определяемого диапазона).

Способ приготовления стандартного раствора (СО) – см. выше.

10 мл ИО и необходимое количество раствора А СО рутина помещают в мерные колбы вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл $AlCl_3$ 2 % в этаноле и 1

каплю 30 % CH_3COOH , этанолеом разводят до метки (раствор Б СО рутина) до концентрации в анализируемом растворе 5, 10, 20 мкг/мл.

Повторяемость

Для подтверждения повторяемости разработанной методики был определен коэффициент вариации для СО и ИР с использованием тех же растворов, что и в количественном анализе в шести повторностях.

* Метод дифференциальной спектрофотометрии сравнивали с методикой спектрофотометрии с системой $\text{NaNO}_2 - \text{AlCl}_3 - \text{NaOH}$ [66]

В качестве экстрагента для выделения флавоноидов из растительного материала использовали 70% раствор спирта. Для проведения аналитической реакции перед УФ-определением применяли 2 % раствор алюминия хлорида в воде, 5% раствор NaNO_2 в воде и 4,3% раствор NaOH в воде. Подбор условий проведения анализа был проведен опытным путем и представлен в главе 5. Условиях анализа наибольшая полнота извлечения суммы флавоноидов может быть достигнута двукратной экстракцией 70% этанолом за 60 мин при степени измельчения сырья 1 мм и соотношении сырье: экстрагент 1:200.

Исследование проводили методом спектрофотометрии на спектрофотометре (кварцевые кюветы с толщиной поглощающего слоя 10 мм)

Приготовление стандартного раствора (СО) образца рутина

100 мг СО рутина (точная навеска), предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 100–105°C помещают в МК вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл этанол 70% при нагревании на водяной бане. После охлаждения до комнатной температуры содержимое колбы доводят этанолом 70 % до метки (раствор А СО рутина). 2,0 мл раствора А СО рутина помещают в МК вместимостью 25 мл, содержимое колбы доводят этанолом 70 % до метки (раствор Б СО рутина).

2,0 мл раствора Б СО рутина помещают в МК вместимостью 10 мл, прибавляют 0,6 мл 5% раствор NaNO_2 в H_2O встряхивают и затем выдерживают в течение 6 мин. Прибавляют 0,5 мл 2% AlCl_3 в H_2O встряхивают и затем

выдерживают в течение 6 мин. Прибавляют 3 мл 4,3% раствор NaOH в H₂O встряхивают доводят объем раствора H₂O до метки (раствор Г СО рутина).

Методика проведения анализа:

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 1 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, приливают 80 мл этанол 70%. Колбу с содержимым присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение 1 ч. После охлаждения до комнатной температуры фильтруют через 5 слоев марли в МК вместимостью 200 мл. Остатки сырья в колбе промывают 10 мл этанол 70%. Марлю с сырьем снова помещают в ту же коническую колбу и экстракцию повторяют еще раз. После охлаждения до комнатной температуры полученное извлечение фильтруют через пять слоев марли в ту же МК, объем раствора доводят до метки этанолом 70% (раствор А испытуемого раствора).

2,0 мл раствор А испытуемого раствора помещают в МК вместимостью 10 мл, прибавляют 0,6 мл 5% раствор NaNO₂ в H₂O встряхивают и затем выдерживают в течение 6 мин. Прибавляют 0,5 мл 2% AlCl₃ в H₂O встряхивают и затем выдерживают в течение 6 мин. Прибавляют 3 мл 4,3% раствор NaOH в H₂O встряхивают доводят объем раствора H₂O до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора).

Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют через 15 мин на спектрофотометре при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл раствора Б испытуемого раствора, доведенный водой до метки в мерной колбе вместимостью 10 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл раствора Б СО рутина доведенный водой до метки в мерной колбе вместимостью 10 мл.

Содержание сумма флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X(\%) = \frac{A \cdot a_0 \cdot P \cdot 200 \cdot 2 \cdot 100 \cdot 2 \cdot 10}{A_0 \cdot a \cdot (100 - W) \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 2 \cdot 10} \cdot 100 = \frac{A \cdot a_0 \cdot P \cdot 32}{A_0 \cdot a \cdot (100 - W)}$$

где,

A – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

A₀ – оптическая плотность раствора Б СО рутина;

a – навеска сырья, г;

a₀ – навеска СО рутина, г;

P – содержание основного вещества в СО рутина, %;

W – влажность сырья, %.

Валидацию методики проводили в соответствии с установленными требованиями на образцах сырья *Portulaca oleracea* L. [197]. В ходе работы проведено исследование таких валидационных характеристик, как специфичность, линейность, повторяемость и правильность в соответствии с правилами и рекомендациями. Статистический анализ экспериментальных данных выполняли с применением программы Microsoft Office Excel 2010.

Результаты определения параметров валидации

Специфичность

Для подтверждения специфичности разработанной методики получали спектры УФ СО, ИР и плацебо в диапазоне от 400 до 600 нм.

Линейность

Для подтверждения линейности разработанной методики были приготовлены серии СО растворов в пределах диапазона методики от 6,25 до 100 % и определен коэффициент корреляции (r^2).

Около 100 мг СО рутина (точная навеска), предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 100–105°C СО рутина помещают в МК вместимостью 100 мл, растворяют в 60 мл этанол 70% при нагревании на водяной бане. После охлаждения до комнатной температуры содержимое колбы доводят этанолом 70 % до метки и перемешивают (раствор А СО рутина).

Необходимое количество раствора А СО рутина помещают в МК вместимостью 10 мл, 0,6 мл 5% раствор NaNO_2 в H_2O , 5 мл 2% AlCl_3 в H_2O , 3 мл 4,3% раствор NaOH доведенный H_2O до метки. (Раствор Б СО рутина) до концентрации в анализируемом растворе 3,75–7,5–15–30–60 мкг/мл.

Правильность

Для подтверждения правильности этого количественного метода было доказательно методом добавок, путем прибавления точного количества СО рутина. Проводили по три параллельных определения для каждой добавки, прибавляя к раствору плацебо стандартный раствор рутина в диапазоне концентраций 6,25–100 % (9 измерений, 3 концентрации внутри определяемого диапазона).

Около 100 мг СО рутина (точная навеска), предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 100–105°C СО рутина помещают в МК вместимостью 100 мл, растворяют в 60 мл этанол 70% при нагревании на водяной бане. После охлаждения до комнатной температуры содержимое колбы доводят этанолом 70 % до метки и перемешивают (раствор А СО рутина).

Необходимое количество раствора А СО рутина помещают в МК вместимостью 10 мл, 0,6 мл 5% раствор NaNO_2 в H_2O , 5 мл 2% AlCl_3 в H_2O , 3 мл 4,3% раствор NaOH доведенный H_2O до метки (раствор Б СО рутина) до концентрации в анализируемом растворе 30- 15- 7,8 мкг/мл.

Повторяемость

Для подтверждения повторяемости этого количественного метода было рассчитано коэффициент вариации для СО и ИР использование тех же растворов, что и в количественном анализе 6 разов.

2.2.5. Сроки годности

На основании экспериментального изучения стабильности образцов травы *Portulaca oleracea* L. в различных видах упаковки в соответствии с рекомендациями НД (картонные пачки, бумажные пакеты, тканевые мешки) и в

соответствии с ГФ XIV издания сроки годности травы *Portulaca oleracea* L. был установлен [201-202]. Стабильность сырья в разных условиях хранения и в различных видах упаковки изучали систематически и периодически контролируя показатели качества.

ГЛАВА 3. МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТРАВЫ *PORTULACA OLERACEA* L

3.1. Изучение внешних диагностических признаков травы *Portulaca oleracea* L

Характеристика внешних признаков сырья *Portulaca oleracea* L. подготовлена в соответствии с ОФС «Травы» ГФ XIV [174].

Цельная трава.

Цельная трава *Portulaca oleracea* L. представлена смесью различных кусочков (Рисунок 2): облиственных стеблей, стеблей с цветками и семенами различной степени зрелости, листьев измельченных или цельных и цветков.

Округлые стебли с продольно-бороздчатой поверхностью (Рисунок 3), длиной до 25 см, опушение отсутствует, с бесчерешковыми (сидячими) очередными небольшими (длиной до 2 см, шириной до 1,5 см), продолговатыми и клиновидными цельнокрайними с округлой вершиной листьями, собранными вместе (Рисунок 4), без опушения; имеются листья с очень короткими черешками (длиной около 1-1,5 мм и толщиной 0,5 мм).

Цветки мелкие (6–7 мм в диаметре) одиночные или собранные по два-три в разветвлениях стебля или пазухах листьев (Рисунок 5). Околоцветник простой чашечковидный, чашечка и венчик правильные с пятью лепестками. Плод - яйцевидная или шаровидная коробочка, раскрывающаяся поперечной трещиной (крыночка). Семена (Рисунок 6) овальные и крошечные (около 0,05–0,07 см). Цвет стеблей от светло- до темно-коричневого, листьев – от темно-зеленого до коричневатого-зеленого; цветков – коричневатого-желтый; плоды – темно-коричневые, семена - черные.

Сырье отличается специфическим запахом. Водное извлечение имеет слабокислый и слизистый вкус.



Рисунок 2 - Цельная трава портулака огородного



Рисунок 3 - Цельная трава *Portulaca oleracea* L. (стебли)



Рисунок 4 - Цельная трава *Portulaca oleracea* L. (листья)

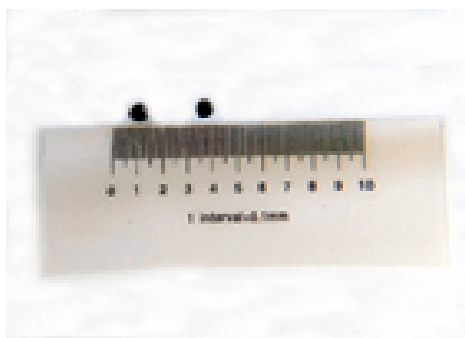


Рисунок 5 - Цельная трава *Portulaca oleracea* L. (плоды)



Рисунок 6 - Цельная трава *Portulaca oleracea* L. (цветки и плоды)

Измельченная трава

Измельченная трава *Portulaca oleracea* L. представлена смесью (Рисунок 7) различных кусочков: стеблей, окрашенных различной интенсивности коричневого цвета (от светло- до темно-коричневого цвета), листьев,

окрашенных различной степени интенсивности зеленого и коричневого цвета (от темно-зеленого до коричневато-зеленого цвета), цветков, имеющих сочетание коричневого и желтого цветов (коричневато-желтого цвета), плодов и семян (черного цвета); все частицы проходят сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.

Сырье отличается специфическим запахом. Водное извлечение имеет слабокислый и слизистый вкус.



Рисунок 7 - Измельченная трава портулака огородного

Порошок

Порошок травы *Portulaca oleracea* L. представлен смесью (Рисунок 8) различных кусочков: стеблей, листьев, цветков и семян; смесь частиц проходит через сито с отверстиями размером 2 мм. Цвет смеси частиц порошка - зеленовато-коричневый.

Сырье отличается специфическим запахом. Водное извлечение имеет слабокислый и слизистый вкус.



Рисунок 8 - Порошок травы портулака огородного

3.2. Изучение анатомо-диагностических признаков травы *Portulaca oleracea* L

Цельная трава. При рассмотрении верхней (Рисунок 9А) и нижней стороны (Рисунок 9В) листа с поверхности (Рисунок 9) обнаруживаются клетки эпидермиса со стенками слабоизвилистыми и извилистыми. Клетки верхнего и нижнего эпидермиса практически одинаковы: длиной 77–335 мкм, шириной 51–104 мкм. Кутикула ровная. С обеих сторон листа встречаются устьица (длиной 20–30 мкм, шириной 12–18 мкм) с одинаковой частотой (8–59 на 1 мм²). Устьица парацитного типа, три околоустьичные клетки расположены параллельно замыкающим клеткам устьица: с одной стороны одна клетка, с другой - две, при этом самая маленькая околоустьичная клетка прилегает с одной стороны устьица, с другой стороны – околоустьичная клетка в 2-3 раза больше первой, а третья околоустьичная клетка расположена рядом с первой и параллельно устьичной щели по размерам в 3-5 раз больше второй околоустьичной клетки. Устьица расположены на одном уровне с эпидермисом или могут быть немного приподняты над эпидермисом. В клетках мезофилла листа обильно встречаются друзы диаметром 4–56 мкм (Рисунок 10А) и клетки со слизью (идиобласты). Нередко друзы погружены в идиобласты. На поперечном срезе виден гомогенный мезофил. На поперечном срезе через главную жилку наблюдается

2–3 ряда паренхимных клеток под эпидермисом, далее располагается цепь закрытых коллатеральных сосудисто-волокнистых пучков, под которыми нередко обнаруживаются клетки со слизью. Трахеиды проводящих пучков имеют спиральное утолщение (Рисунок 10А, 10В).

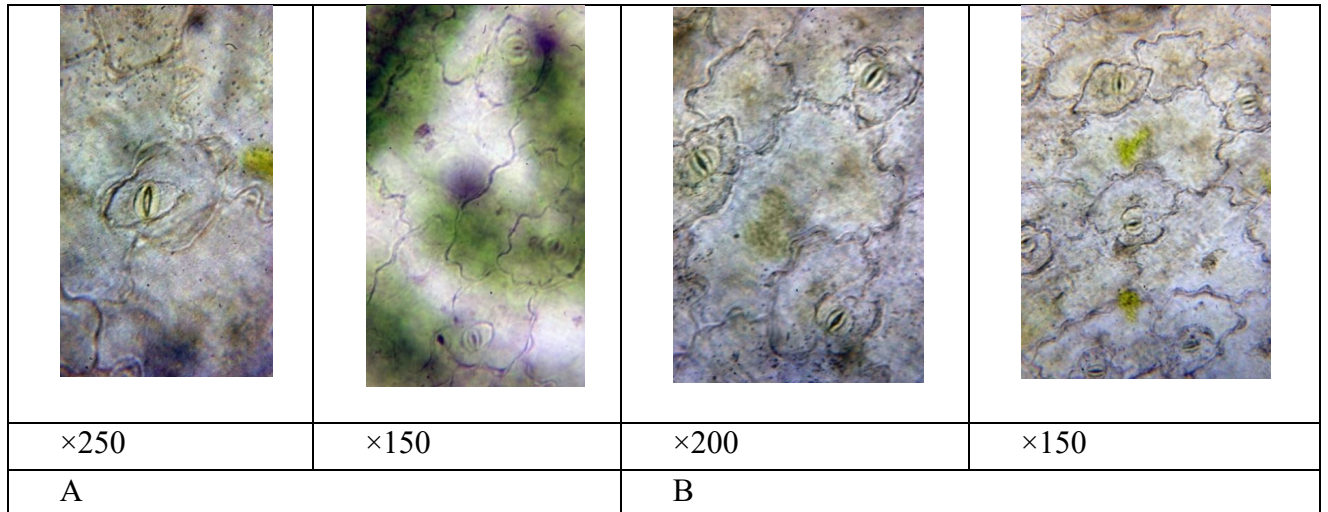


Рисунок 9 - Микропрепараты эпидермиса листа. Устьица парацитного типа. А - Верхний эпидермис. В – Нижний эпидермис

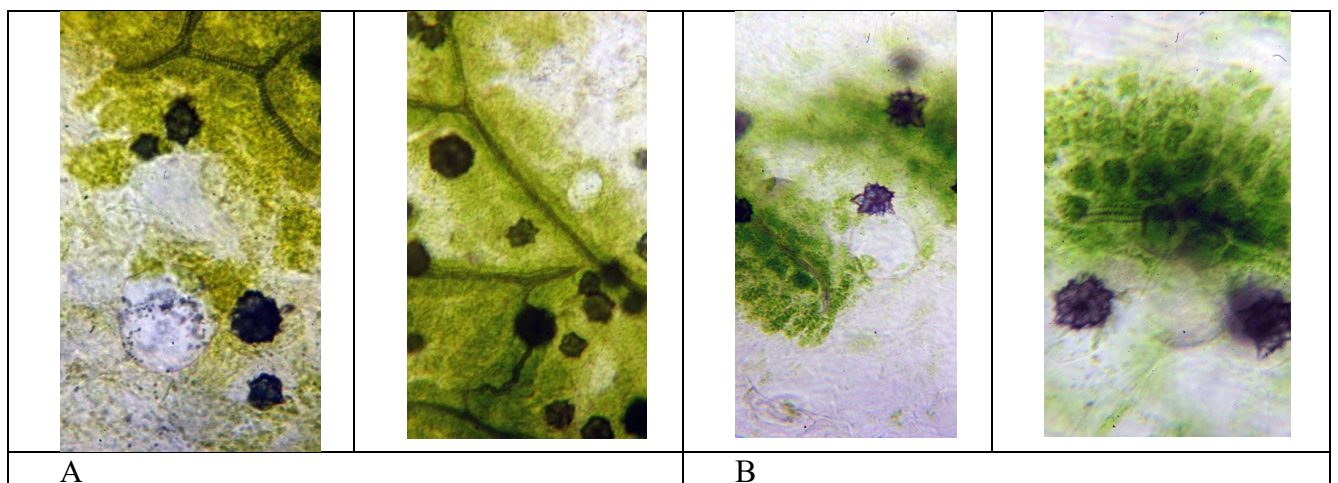


Рисунок 10 - Микропрепараты листа: А - Давленный препарат листа. Друзы, клетки со слизью, спиральные трахеиды, (Ув.х 200).; В - Поперечный срез листа. Проводящие пучки в продольном сечении, друзы и клетки со слизью (Ув.х 250)

Рассматривая эпидермис стебля (Рисунок 11А), обнаруживаются клетки (длиной 21-340 мкм, шириной 56-113 мкм) с прямыми стенками прямоугольной и прямоугольно-веретеновидной формы, вытянутые по длине стебля. Кутикула ровная. Устьица парацитного типа (окружены 3-4 околоустьичными клетками, расположенными параллельно замыкающим клеткам устьица); околоустьичные

клетки, также как на листе, отличаются размерами, увеличиваясь по мере отдаления от устьица. Длина устьиц 25-30 мкм, ширина устьиц 12-20 мкм, на поверхности эпидермиса устьица встречаются с частотой 0-5 на 1 мм². В паренхиме стебля наблюдаются клетки со слизью и друзы оксалата кальция нередко идиобласты со слизью включают друзы (Рисунок 11В). На поперечном срезе стебля (Рисунок 12А) под эпидермисом расположено несколько рядов паренхимы, далее видно кольцо открытых коллатеральных сосудисто-волоконистых пучков, где сосуды и трахеиды имеют кольчатое, спиральное и сетчатое утолщение (Рисунок 12В). В центре располагается паренхима сердцевины, представленная крупными рыхлыми клетками.

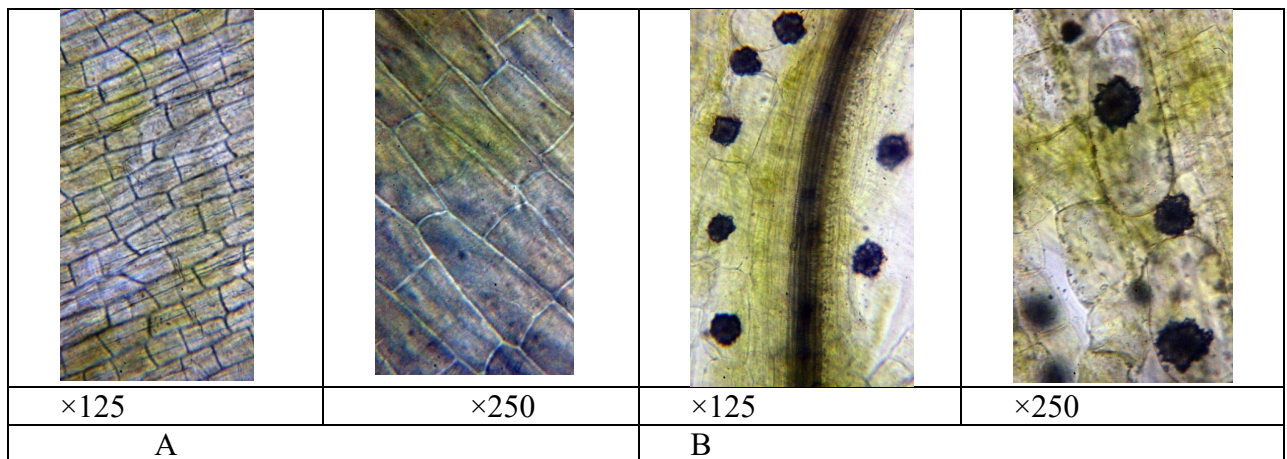


Рисунок.11 - микропрепараты стебля: А - Эпидермис стебля; В - Давленный препарат стебля. Идиобласты, содержащие слизь и друзы оксалата кальция, сосуды

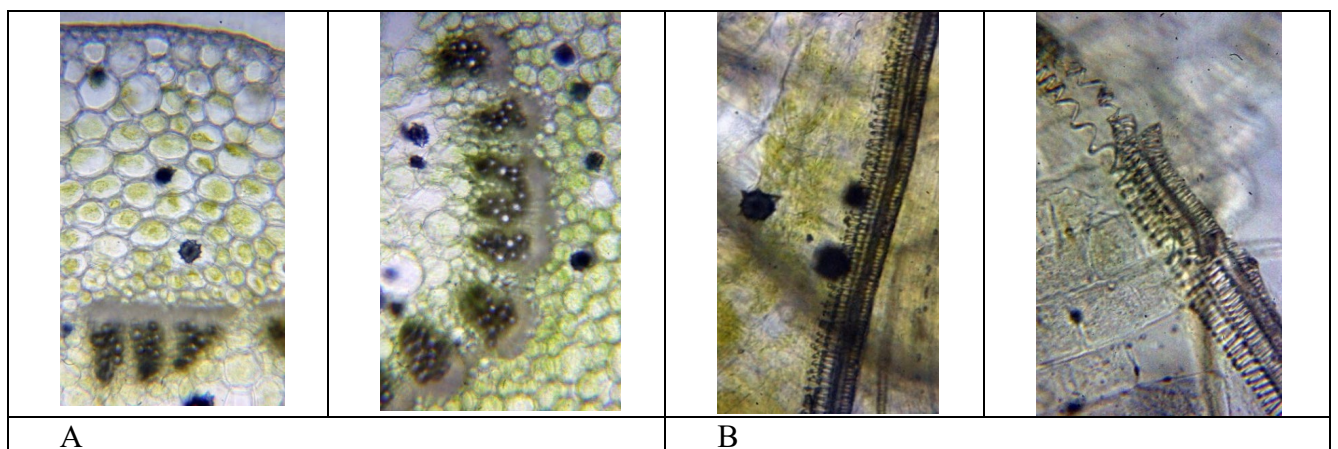


Рисунок 12 - Микропрепараты стебля: А - Поперечный срез стебля. сосудисто-волоконистые пучки, друзы и клетки со слизью в паренхиме (Ув.х250 –справа, х125 - слева); В - Давленный препарат стебля. Друзы, спиральные сосуды (Ув.х125 – слева; х250– справа)

Эпидермис чашелистика с верхней и нижней стороны представлен клетками (Рисунок 13А) с прямыми, слабоволнистыми, волнистыми и сильноволнистыми стенками с обеих сторон. Клетки верхнего и нижнего эпидермиса практически одинаковы: длиной 83-171 мкм, шириной 17-51 мкм. Устьица парацитного и анизоцитного типа, окружены тремя околоустьичными клетками разных размеров, расположенными параллельно замыкающим клеткам устьица, как на листе, и вокруг устьица, в том числе и в перпендикулярном направлении относительно устьичной щели. Устьица длиной 17-22 мкм, шириной устьиц 10-15 мкм, встречаются на поверхности эпидермиса с частотой 0-86 на 1 мм². Кутикула ровная. В мезофилле наблюдается много друз и клеток со слизью.

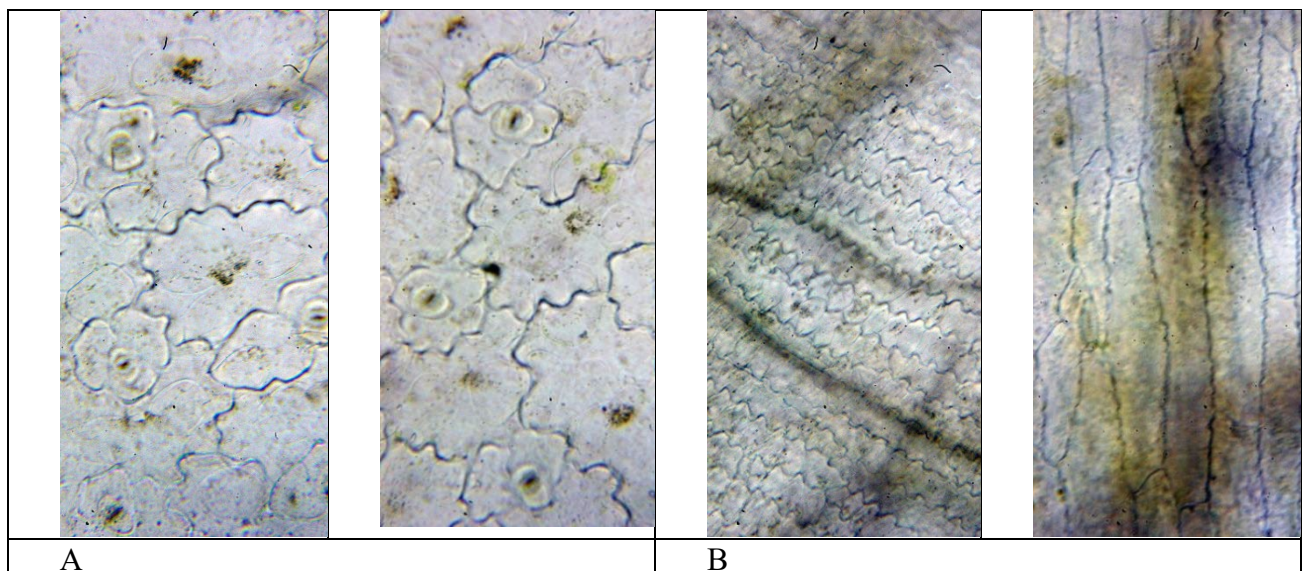


Рисунок 13 - Микропрепараты цветка: А - Эпидермис чашелистика. Парацитные и анизацитные устьица (Ув.х 200); В Эпидермис лепестка. Парацитные и анизацитные устьица. Волнистые стенки клеток. (Ув.х 200)

При рассмотрении верхнего и нижнего эпидермиса лепестка (Рисунок 13В) можно отметить вытянутые клетки прямоугольно и прямоугольно-веретеновидной формы; у основания лепестка клетки с прямыми и слабоволнистыми стенками, далее к верхушке лепестка стенки клеток становятся еще более извилистыми - волнистыми и сильноволнистыми. Длина клеток верхнего и нижнего эпидермиса 169–374 мкм, ширина - 33–114 мкм. Устьица

анизоцитного и парацитного типа (шириной 12–20 мкм, длиной 25–35 мкм) встречаются на эпидермисе лепестка с частотой встречаемости 0-3 на 1 мм². Кутикула эпидермиса лепестка ровная. У основания тычиночных нитей наблюдаются спиральные трахеиды (Рисунок 14А) а также сосочковидные выросты (Рисунок 14В).

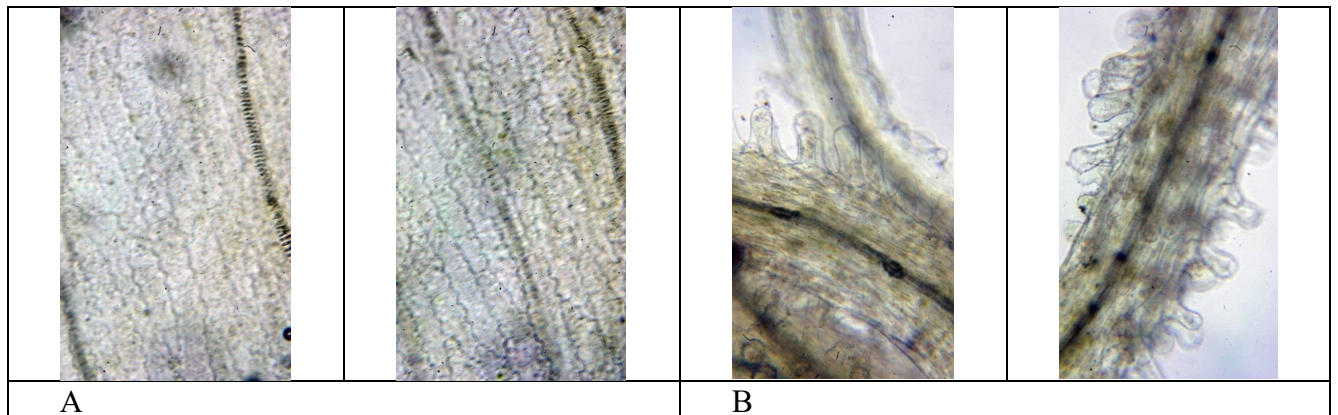


Рисунок 14 - Микропрепараты цветка: А - Эпидермис лепестка. Слабоволнистые стенки клеток, спиральные трахеиды. (Ув.х 200.); В - Сосочковидные выросты у основания тычиночных нитей (Ув.х 200)

В мезофилле лепестка имеются клетки со слизью и друзы. Паренхима всех морфологических частей цветка содержит друзы и клетки со слизью (Рисунок 15А). Пыльца округлая шероховатая многобороздная (диаметром 34–56 мкм) (Рисунок 15В).

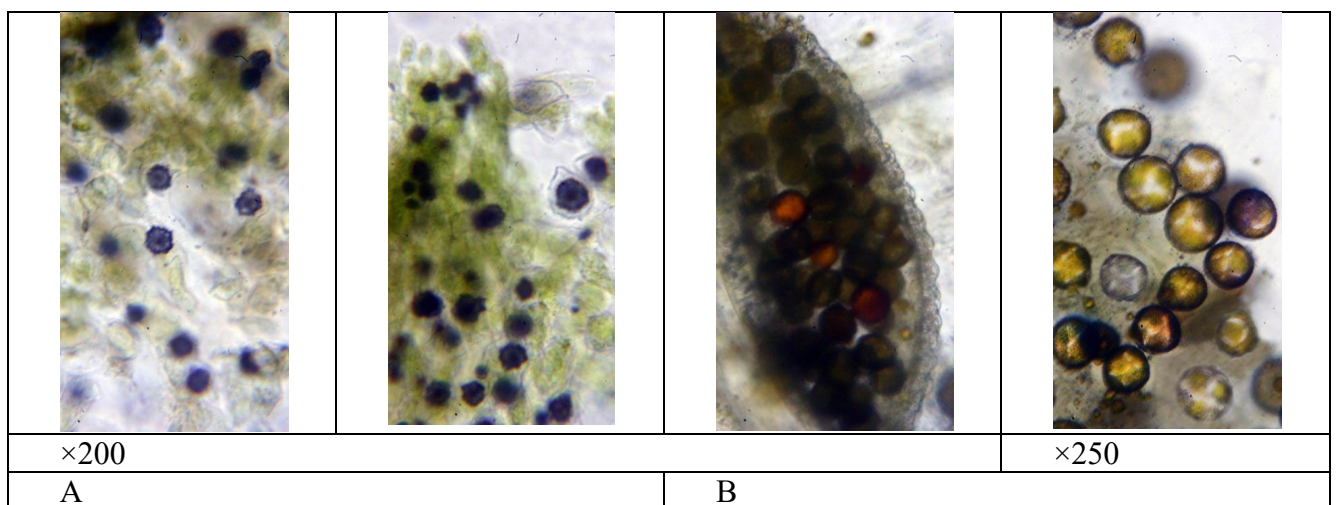


Рисунок 15 - Микропрепараты цветка: А - Давленный препарат цветка. Друзы в различных морфологических частях цветка; В - Слева: пыльца в пыльнике, справа : пыльца.

Измельченная трава. При рассмотрении микропрепаратов из крупных кусочков травы наблюдают анатомо-диагностические признаки аналогичные признакам цельного сырья. Анатомо-диагностические признаки, характерные для порошка отмечают при рассмотрении микропрепаратов порошка, отсеянного из измельченной травы *Portulaca oleracea* L.

Порошок. Под микроскопом в порошке, представляющего собой смесь из различных частиц, наблюдают:

- обрывки верхнего и нижнего эпидермиса листа, представленного клетками с извилистыми и слабоизвилистыми стенками, могут встречаться устьица парацитного типа;

- обрывки листа с просвечивающим мезофиллом, в котором имеются друзы и/или клетки со слизью;

- обрывки эпидермиса стебля с клетками с прямыми стенками, устьицами парацитного типа (и без них);

- обрывки паренхимы стебля, в которой имеются друзы и/или клетки со слизью;

- обрывки паренхимы и сосудисто-волокнистых пучков стебля, включающие обрывки кольчатых и спиральных сосудов и трахеид, нередко сопровождающиеся друзами и/или клетками со слизью (и без них);

- обрывки эпидермиса чашелистика с клетками с прямыми, слабоволнистыми, волнистыми и сильноволнистыми стенками, устьицами парацитного и анизоцитного типа (и без них);

- обрывки чашелистика, имеющего мезофилл, содержащий друзы CaC_2O_4 и/или клетки со слизью;

- обрывки лепестка, представленные клетками эпидермиса с прямыми, слабоволнистыми, волнистыми и сильноволнистыми стенками и встречающимися устьицами парацитного типа (и без них);

- отдельно и на обрывках травы встречается округлая шероховатая многобороздная пыльца.

Выводы главы 3

1. Было установлено признаки анатомо- и морфолого-диагностические на основании проведенных анатомических морфолого- исследований травы *Portulaca oleracea* L.

2. Представлено описание внешних диагностических признаков цельной травы, измельченной травы и порошка травы *Portulaca oleracea* L. Приведенное описание может быть включено в Нормативную документацию для характеристики подлинности травы *Portulaca oleracea* L.

3. Охарактеризованы анатомо-диагностические признаки цельной травы, измельченной травы и порошка травы *Portulaca oleracea* L., проведена количественная оценка анатомо-диагностических признаков и установлена частота их встречаемости. Все анатомо-диагностические признаки сопровождаются микрофотографиями. Полученные данные могут быть включены в Нормативную документацию с целью характеристики подлинности исследуемой травы.

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧИСЛОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТРАВЫ *PORTULACA OLERACEA L*

Было проведено изучение химического состава данного вида ЛРС с использованием качественных реакций, метода ТСХ, а также методами ВЭЖХ, АЭС-ИСП и ЭТААС, совокупностью методов хромато-масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР ^1H [203-204].

4.1. Изучение состава БАВ травы *Portulaca oleracea L.* с помощью качественных реакций

Фитохимический скрининг проводили с целью определения присутствия следующих соединений: флавоноидов, восстанавливающих сахаров, сапонинов, фитостеринов и фенолов. Фитохимический анализ водного и спиртового извлечений *Portulaca oleracea L.* показал наличие флавоноидов, фенольных веществ и *Acidum ascorbinicum*, дубильных веществ, сапонинов, восстанавливающих сахаров и алкалоидов фенольной природы. Результаты проведенных качественных реакций представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Результаты качественных реакций *Portulaca oleracea L*

Группа БАВ	Реактив	Водное извлечение	Спиртовое извлечение
Флавоноиды	2% спиртовой раствор AlCl_3	+	+
	Реактив Вильсона (борная и лимонная кислоты в б/в спирте этиловом)	+	+
	Раствор аммиака	+	+

Продолжение Таблицы 6

Группа БАВ	Реактив	Водное извлечение	Спиртовое извлечение
Дубильные вещества	1% раствор железоммониевых квасцов	+	-
Сапонины	Реакция пенообразования	+	-
Восстанавливающие сахара	Реактив Фелинга	+	-
Аскорбиновая кислота	$K_4Fe(CN)_6$	+	-
Алкалоиды	Реактив Майера	+	+

4.2. Изучение химического состава БАВ *Portulaca oleracea* L. методом ТСХ

Для подтверждения наличия основных классов БАВ проводили хроматографическое исследование методом ТСХ в извлечениях, полученных из травы *Portulaca oleracea* L. было. Были использованы фармакопейные методики и методики, приведенные в научной литературе. Методом ТСХ обнаруживали флавоноиды, органические кислоты, свободные сахара. Использовали водные и спиртовые извлечения из *Portulaca oleracea* L.

Определение флавоноидов. Схема хроматограммы представлена на рисунок 16.



Рисунок 16 - Схема хроматограммы определения флавоноидов: 1 СО рутин, $R_f = 0,34$, 2 СО гиперозида, $R_f = 0,6$, 3–4 спиртовое извлечение, 5–6 водное извлечение

Таким образом, установлено, что трава портулака огородного содержит флавоноиды.

Определение органических кислот. Схема хроматограммы приведена на Рисунок 17.

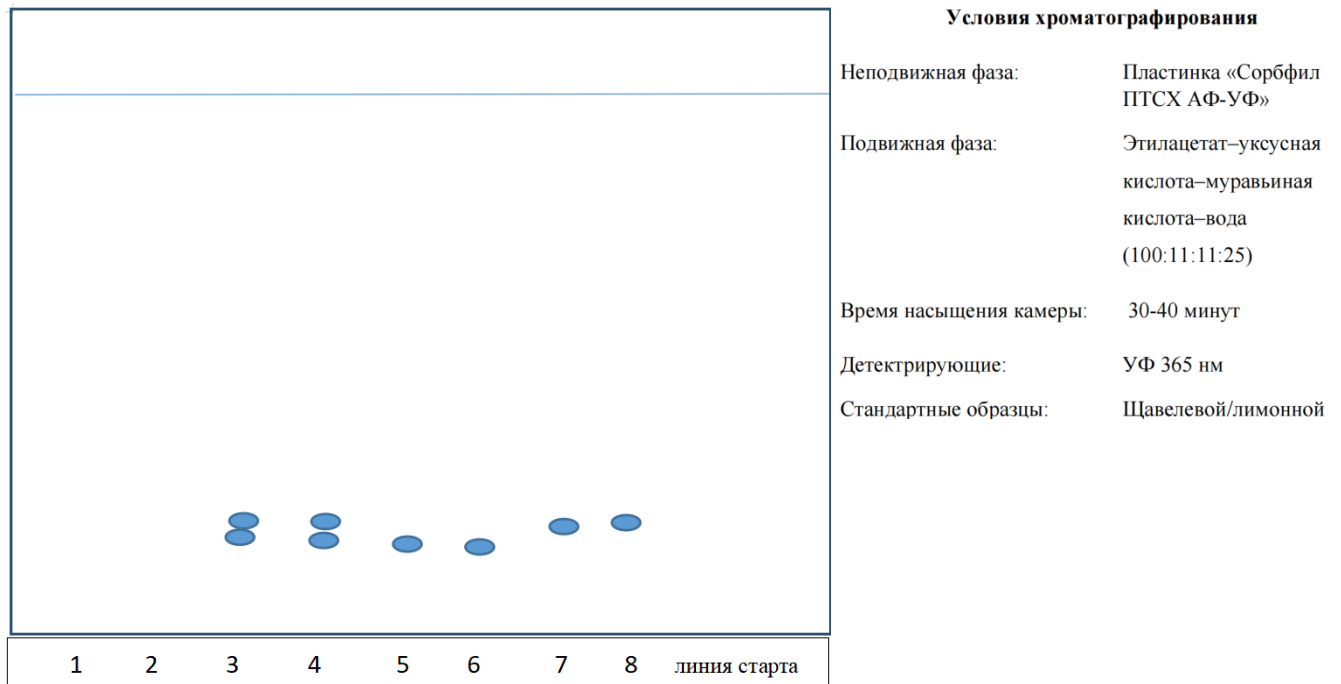
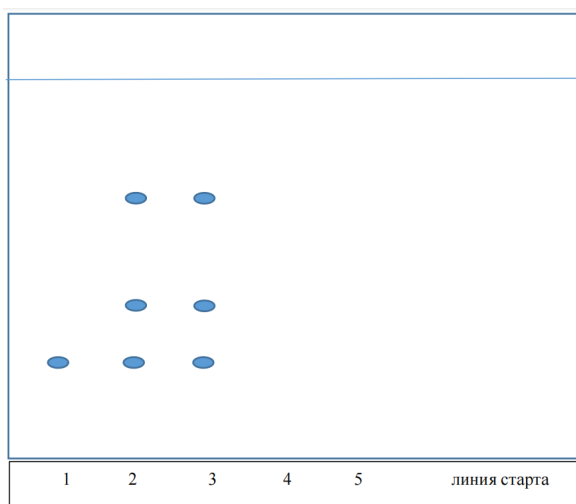


Рисунок 17 - Схема хроматограммы определения органических кислот 1–2 спиртовое извлечение, 3–4 водное извлечение, 5- 6 РСО лимонной кислоты, $R_f = 0,24$, 7- 8 РСО щавелевой кислоты, $R_f = 0,21$

Результаты проведенного анализа показали присутствие органических кислот в траве портулака огородного.

Определение сахаров после гидролиза полисахаридов. Схема хроматограммы приведена на рисунок 18.



Условия хроматографирования

Неподвижная фаза:	Пластинка «Сорбфил ПТСХ АФ-УФ»
Подвижная фаза:	н-бутанол–уксусная кислота–вода (4:1:5)
Время насыщения камеры:	30-40 минут
Детектирующие:	Анилин-фталевая кислота
Стандартные образцы:	Глюкозы

Рисунок 18 - Схема хроматограммы определения свободных сахаров 1 СО глюкозы, $R_f = 0,30$, 2–3 водное извлечение, 4–5 спиртовое извлечение

Проведенный анализ с помощью ТСХ подтвердил наличие сахаров в траве портулака огородного.

Таким образом, в ходе ТСХ-анализа было установлено наличие следующих БАВ в *Portulaca oleracea* L.:

- Флавоноидов: гиперозид ($R_f 0,6$), рутин ($R_f 0,34$) в спиртовом извлечении;
- Органических кислот: лимонная кислота ($R_f 0,21$) и щавелевая кислота ($R_f 0,24$).
- Среди свободных сахаров (после гидролиза полисахаридов) в исследуемом сырье установлено присутствие глюкозы ($R_f 0,30$).

Результаты проведенных ТСХ-анализа представлены в таблице 7.

Таблица 7- Результаты ТСХ-анализа извлечений из сырья *Portulaca oleracea* L

Группа БАВ	Реактив Детектирование	Подвижная фаза	СО	R_f	Водное извлечение	Спиртовое извлечение
Флавоноиды	5% спиртовой раствор $AlCl_3$	н-бутанол – этилацетат–вода (4:5:2)	Рутин	0,34	-	+
			Гиперозид	0,6		

Группа БАВ	Реактив Детектирование	Подвижная фаза	СО	Rf	Водное извлече ние	Спиртовое извлечение
Органическ ие кислоты	365 нм	Этилацетат– уксусная кислота– муравьиная кислота–вода (100:11:11:25)	Щавеле вая кислота	0,21	+	-
			Лимонн ая кислота	0,24		
Восстанавл ивающие сахара	Анилин- фталевая кислота	н-бутанол– уксусная кислота–вода (4:1:5)	Глюкоз а	0,30	+	-

4.3. Определение числовых показателей травы *Portulaca oleracea* L

В Китае трава *Portulaca oleracea* L. применяется в виде настоя, зарегистрированные БАДы представлены различными лекарственными формами (таблетки, капсулы), где портулак огородный используется в виде экстракта. Все это вызывает необходимость провести определение экстрактивных веществ, используя в качестве экстрагентов воду и спирт. Также необходимо было определить влажность сырья, как один из основных показателей доброкачественности сырья, и для использования в дальнейших исследованиях при количественной оценке действующих веществ [106-165].

Определение числовых показателей проводили на трех сериях растительного сырья, далее по тексту представлены результаты средних значений.

4.3.1. Определение влажности сырья травы *Portulaca oleracea* L

Установлено, что значение влажности травы *Portulaca oleracea* L. в среднем составило (где $n=12$; $p=0,95$) $=5,62\pm 0,76\%$, что соответствует требованиям ГФ Китая (не более 12%).

4.3.2. Определение содержания экстрактивных веществ в траве *Portulaca oleracea* L

В исследуемой траве было установлено, что содержание экстрактивных веществ, которые извлекали водой и спиртом 70%, в пересчете на абсолютно сухое сырье составило соответственно $35\pm 4\%$ и $14\pm 2\%$ ($n=3$; $p=0,95$).

Другие числовые показатели для травы *Portulaca oleracea* L. в ГФ Китая отсутствуют. В связи с чем было интересно провести исследования по установлению других числовых показателей травы *Portulaca oleracea* L.

4.3.3. Определение содержания золы общей в траве *Portulaca oleracea* L

Установлено, что значение золы общей в траве *Portulaca oleracea* L. в среднем составило $23,94\pm 2\%$ ($n=12$; $p=0,95$).

4.3.4. Определение содержания золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте в траве *Portulaca oleracea* L

Установлено, что значение золы нерастворимой в хлористоводородной кислоте в траве *Portulaca oleracea* L. в среднем составило $=1,37 \pm 0,36\%$ ($n=12$; $p=0,95$).

4.3.5. Определение измельченности и содержания примесей в траве *Portulaca oleracea* L

Измельченность сырья

В траве *Portulaca oleracea* L. было установлено,

	7 мм сито	2 мм сито	0,5 мм сито	0,18 мм сито
цельное сырье	-	-	Частиц не более 5 %;	-
измельченное сырье	Частиц не более 5 %	-	Частиц не более 5 %;	-
порошок	-	Частиц не более 5 %	-	Частиц не более 5 %

Посторонние примеси

В цельной и измельченной траве *Portulaca oleracea* L. были установлены следующие посторонние примеси: кусочки корней – не более 0,5 %; частицы сырья, изменившие окраску, – не более 2 %. Кроме того, в цельной, измельченной траве и порошке *Portulaca oleracea* L. органическая примесь составила не более 1 %; минеральная примесь – не более 1 %.

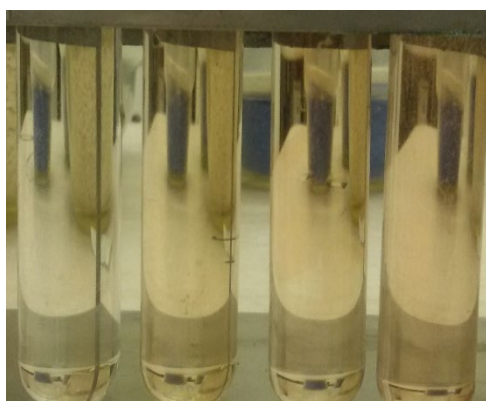
Таблица 8 - Результаты определение числовых показателей травы *Portulaca oleracea*L.

	влажности	экстрактивных веществ	зола общей	зола нерастворимой в 10% HCl	Посторонние примеси			
					кусочки корней	частицы сырья, изменившие окраску	органической примеси	минеральной примеси
Китайская	12%	Показатель отсутствует	Показатель отсутствует	Показатель отсутствует	Показатель отсутствует			
Цельное сырье	не более 12%	из H ₂ O не менее 34 %/Этанол 70% не менее 13 %	не более 23%	не более 2%	не более 0,5 %	не более 2%	не более 1%	не более 1%
Измельченное сырье	не более 12%	из H ₂ O не менее 34 %/Этанол 70% не менее 13 %	не более 23%	не более 2%	не более 0,5 %	не более 2%	не более 1%	не более 1%
Порошок	не более 12%	из H ₂ O не менее 34 %/Этанол 70% не менее 13 %	не более 23%	не более 2%	-	-	не более 1%	не более 1%

4.3.6. Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в траве *Portulaca oleracea* L

4.3.6.1. Метод основан на образовании окрашенных сульфидов

Установлено, что испытуемый раствор из травы *Portulaca oleracea* L. не превышает интенсивности окраски стандартного раствора, что представлено на рисунок 19.



Кон. Обр.1 Обр.2 Со

Рисунок 19 - Цветовой метод Определеение тяжелые металлов

4.3.6.2. Метод атомно-абсорбционной спектрометрии

Величины поглощения растворов стандартных образцов представлены в таблице 9 и рисунок (20–21); соответствующие значения определения Cd, Pb, As, Ag методом ЭТААС на фоне раствора, полученного кислотным разложением травы *Portulaca oleracea* L. в МВ-системе представлены в таблице 10.

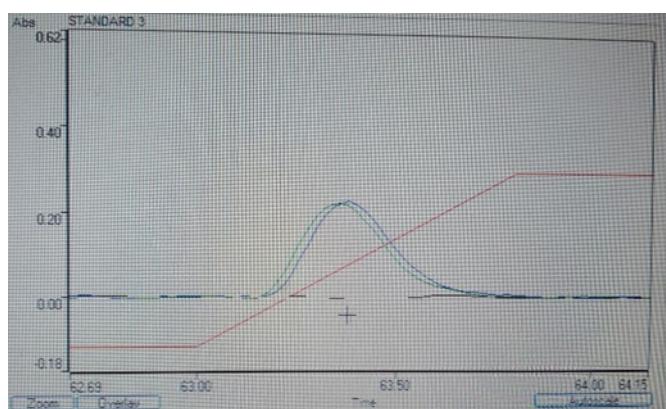


Рисунок 20 - Аналитический сигнал растворов

Таблица 9- Величины поглощения растворов стандартных образцов

Элемент	№	С, нг/мл	Поглощение, отн. Ед.			
			А ₁	А ₂	А ₃	А _{ср}
AS	1	2	0,162	0,156	0,159	0,159
	2	5	0,525	0,566	0,534	0,541
	3	10	1,262	1,538	1,368	1,380
Ag	1	2	0,206	0,287	0,247	0,247
	2	5	6,721	7,180	6,982	6,961
	3	10	17,10	18,280	17,780	17,720
Pb	1	2	1,040	1,030	1,010	1,026
	2	5	2,8224	2,782	2,98	2,861
	3	10	6,066	6,089	6,04	6,065
Cd	1	0,2	1,791	1,812	1,789	1,790
	2	0,5	5,803	5,936	5,745	5,820
	3	1	12,020	12,100	11,980	12,00

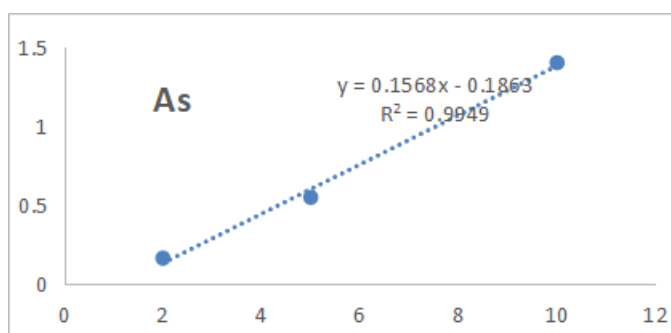
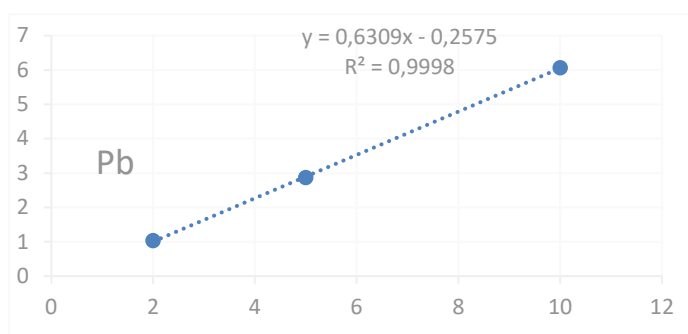
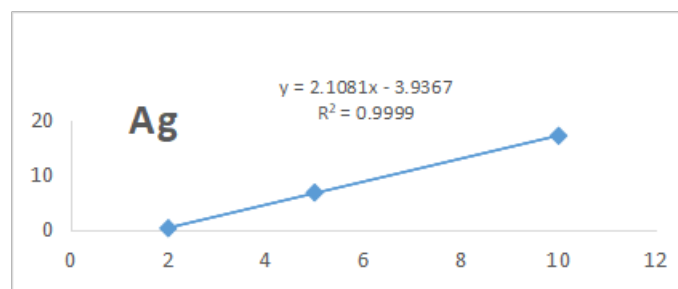
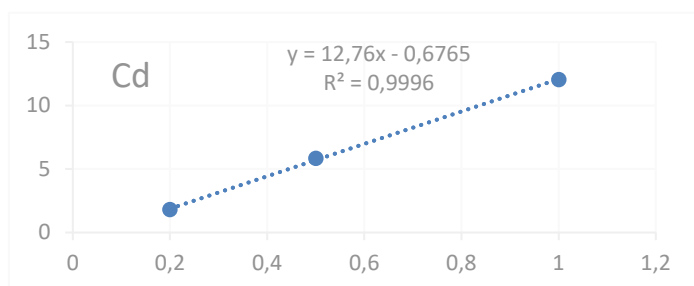


Рисунок 21 -Схемы величины поглощения растворов стандартных образцов, где Ось

Таблица 10 - Определение Cd, Pb, As, Ag методом ЭТААС на фоне раствора, полученного кислотным разложением травы *Portulaca oleracea* L. в МВ-системе

Элемент	Образец	№	а, г	Поглощение, отн. Ед.				С, нг/мл	Х, ppm	ХСР, ppm
				A ₁	A ₂	A ₃	A _{CP}			
As	2018 г.	1	0,5012	0,4688	0,0580	0,0075	0,1781	2,324	0,2318	0,3±0,8
		2	0,5002	1,2631	0,0083	0,0092	0,4268	3,911	0,3910	
		3	0,5011	1,0214	0,0002	0,0007	0,3407	3,361	0,3354	
	2019 г.	1	0,5011	0,3373	0,0057	0,0003	0,1143	1,918	0,1913	
		2	0,5009	1,1945	0,0024	0,0043	0,4004	3,742	0,3735	
		3	0,5011	0,8529	0,0224	0,0081	0,2944	3,066	0,3059	
Ag	2018 г.	1	0,5012	0,1604	4,6030	2,5036	2,4223	16,636	1,6596	0,4±0,1
		2	0,5002	1,4556	1,1997	1,2457	1,3003	9,481	0,9477	
		3	0,5011	0,9098	0,7500	0,2571	0,6389	5,263	0,5251	
	2019 г.	1	0,5011	0,7154	0,4475	0,3245	0,4958	4,350	0,4340	
		2	0,5009	0,3071	0,3881	0,3241	0,3397	3,355	0,3349	
		3	0,5011	0,2061	0,2876	0,2007	0,2314	2,664	0,2658	
Cd	2018 г.	1	0,5012	17,286	17,589	17,365	17,413	1,558	0,1554	0,1± 0,03
		2	0,5002	16,518	15,232	15,958	15,902	1,415	0,1414	
		3	0,5011	16,299	16,721	16,348	16,456	1,465	0,1461	
	2019 г.	1	0,5011	9,3742	9,7918	9,6427	9,6029	0,851	0,0849	
		2	0,5009	11,029	11,279	11,153	11,153	0,991	0,0989	
		3	0,5011	10,471	10,765	10,561	10,599	0,943	0,0940	
Pb	2018 г.	1	0,5012	3,0815	3,2115	3,1572	3,1500	5,585	0,5571	0,4±0,1
		2	0,5002	2,5416	2,2430	2,4650	2,4165	4,335	0,4333	
		3	0,5011	2,3768	2,5687	2,4057	2,4504	4,471	0,4461	
	2019 г.	1	0,5011	1,2155	1,4297	1,3854	1,3435	2,471	0,2465	
		2	0,5009	1,9348	1,8866	1,9256	1,9156	3,510	0,3503	
		3	0,5011	1,4893	1,924	1,7548	1,7227	3,153	0,3146	

Из результатов видно, что Cd, Pb, As, Ag ниже нормы, где норма не более 6 ppm для Cd, 5 ppm для Ag и 0,5 ppm для Pb и As.

Таким образом, методом, основанном на образовании окрашенных сульфидов, можно визуально определять наличие совокупности тяжелых металлов; метод атомно-абсорбционной спектрометрии позволяет определять их количественно. Используя оба метода, установлено, что в траве *Portulaca oleracea* L. содержание тяжелых металлов находится в допустимых пределах.

4.4. Изучение химического состава травы *Portulaca oleracea* L

4.4.1. Определение содержания макро- и микроэлементов

Portulaca oleracea L

Определение содержания макро- и микроэлементов методом АЭС-ИСП на фоне раствора, полученного кислотным разложением травы *Portulaca oleracea* L. в МВ-системе представлены в таблице 11.

Таблица 11 - Определение содержания макро- и микроэлементов методом АЭС-ИСП на фоне раствора, полученного кислотным разложением травы *Portulaca oleracea* L. в МВ-системе

Элемент	серия сырья	№	а, г	С, мкг/мл	Х, ррм	ХСР, ррм	ХСР, м.г./100г
Ca	2018 г.	1	0,5012	202,897	20241	20275	2027,53±9,61
		2	0,5002	203,255	20317		
		3	0,5011	203,121	20268		
	2019 г.	1	0,5011	185,254	18485	18637	1863,70±39,21
		2	0,5009	186,595	18626		
		3	0,5011	188,414	18800		
Fe	2018 г.	1	0,5012	6,814455	679,8139	692,8164	69,28±4,53
		2	0,5002	6,852055	684,9315		
		3	0,5011	7,15274	713,7039		
	2019 г.	1	0,5011	4,81127	480,0708	493,1869	49,32±3,81
		2	0,5009	4,903125	489,4315		
		3	0,5011	5,111805	510,0584		
Mg	2018 г.	1	0,5012	73,3131	7313,757	7268,2417	726,82±12,50
		2	0,5002	72,7971	7276,799		
		3	0,5011	72,3004	7214,169		
	2019 г.	1	0,5011	72,6348	7247,535	7266,9068	726,69±8,24
		2	0,5009	73,1841	7305,261		
		3	0,5011	72,6387	7247,925		
Mn	2018 г.	1	0,5012	0,963189	96,08829	96,3842	9,64±0,39
		2	0,5002	0,95032	94,994		
		3	0,5011	0,982861	98,07035		
	2019 г.	1	0,5011	0,782698	78,09798	80,6685	8,06±0,58
		2	0,5009	0,81327	81,18087		
		3	0,5011	0,829088	82,7268		
K	2018 г.	1	0,5012	1098,9394	109631	108596	10859,60±2790,70
		2	0,5002	1088,0049	108757		
		3	0,5011	1076,3628	107400		
	2019 г.	1	0,5011	1057,6322	105531	105810	10581,03±613,18
		2	0,5009	1060,9062	105900		

Продолжение Таблицы 11

Элемент	серия сырья	№	а, г	С, мкг/мл	Х, ррм	ХСР, ррм	ХСР, м.г./100г
		3	0,5011	1062,3320	106000		

Из результатов видно, что среди определенных макро- и микроэлементов в траве *Portulaca oleracea* L. наибольшее содержание отмечается для кальция, калия, магния, железа, марганца. Значительное содержание кальция согласуется с фактом наличия многочисленных кристаллов (друз), наблюдаемых при микроскопическом анализе. Данные обнаруженные макро- и микроэлементы участвуют в формировании фармакологической активности травы *Portulaca oleracea* L. Содержание элементов находится в пределах нормы.

4.4.2. Определение содержания состава липидного комплекса травы *Portulaca oleracea* L

Поскольку по данным литературы трава *Portulaca oleracea* L. содержит жирные кислоты [20-21–22], было интересно провести исследование состава липидного комплекса исследуемой травы.

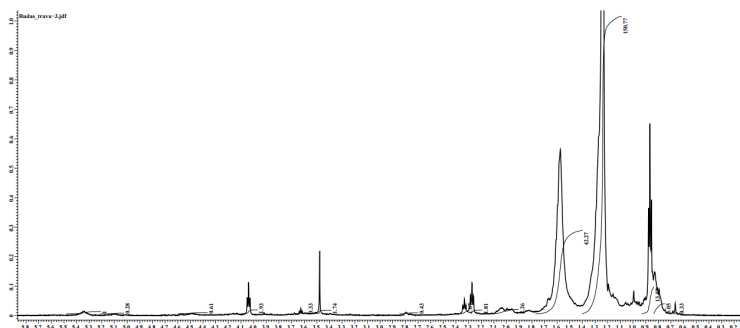
Все три экстрагента (гексан, петролейный эфир, хлороформ) показали примерно схожий выход липидного комплекса из травы *Portulaca oleracea* L. При этом, для гексана и петролейного эфира содержание оказалось порядка 2,0%, а для хлороформа – несколько выше (Таблица 12). Хлороформный экстракт по виду обладал более насыщенным зеленым цветом в сравнение с другими двумя, что, по-видимому, обусловлено присутствием хлорофилла. При этом полученные результаты значительно выше, чем было найдено в литературе [20-21–22].

Таблица 12 - Характеристики липидного комплекса надземной части *Portulaca oleracea* L

Образец	Выход масла, %	Показатель преломления	Внешний вид	Содержание ООР, ppm
Хлороформ	2,42	1,44410	Темно-зеленый	Менее 10
Петролейный эфир	2,07	1,37580	Светло-зеленый	Менее 30
Гексан	1,99	1,37474	Светло-зеленый	Менее 30

Все полученные комплексы исследовали на содержание остаточных органических растворителей, в случае хлороформа и гексана их содержание было ниже чем положено в ГФ'14 (менее 60 и 290 ppm соответственно), для петролейного эфира содержание составляющих его легких алифатических углеводородов – пентанов и гексанов составило менее 30 ppm в пересчете на н-гексан (при определении его в ГФ'14 как растворителя с недостаточно обоснованной токсичностью).

Спектры ЯМР ^1H (Рисунок 22) липидного комплекса, полученного разными экстрагентами, содержали набор идентичных сигналов и отличались лишь небольшой разницей в интегральных площадях искомых сигналов.

Рисунок 22 - Типичный спектр ЯМР ^1H липидного комплекса травы *Portulaca oleracea* L

Из спектров ЯМР ^1H видно, что основным структурным компонентом комплекса является воск, представляющий собой, преимущественно, алифатические сложные эфиры, состоящие из жирных кислот и спиртов. Отсутствие сигналов метиленовых и метинового протонов глицеринового фрагмента ($-\text{CH}_2\text{OCOR}$ (4,10–4,35 м.д.) и CHOCOR (5,23–5,29 м.д.)) свидетельствует об их отсутствии в липидном комплексе. Сигналы, соответствующие молекулярным формам ди- и моноглицеридов, также в спектрах ЯМР ^1H выявлены не были. Это согласуется с известным фактом, что растительные воски покрывают тонким слоем листья, стебли, плоды и защищают их от размачивания водой, высыхания и вредных микроорганизмов. Низкая интенсивность сигналов, соответствующих протонам при двойной связи, в частности, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ (1,93–2,13 м.д.), $=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ (2,73–2,87 м.д.), $-\text{CH}=\text{CH}-$ (5,29–5,43 м.д.) подтверждает данные по жирнокислотному составу липидного комплекса, представленные в таблице 13.

Методом ГХ-ПИД был установлен ЖК состав липидного комплекса. Результаты представлены в таблице 13.

Таблица 13 - Жирные кислоты, входящие в состав липидного комплекса травы *Portulaca oleracea* L

Название	Формула	Относительное содержание, %		
		Хлороформ	Петролейный эфир	Гексан
Лауриновая к-та	C12:0	1,2	1,1	1,0
Миристиновая к-та	C14:0	3,1	2,9	3,1
Пальмитиновая к-та	C16:0	25,1	25,4	25,6
Стеариновая к-та	C18:0	5,4	5,4	5,3
Олеиновая к-та	C18:1n9c	4,7	5,2	5,9
Линолевая к-та	C18:2n6c	23,9	24,5	25,8
α -Линоленовая к-та	C18:3n3	25,1	23,6	21,7

Продолжение Таблицы 13

Название	Формула	Относительное содержание, %		
		Хлороформ	Петролейный эфир	Гексан
Эйкозановая к-та	C20:0	0,6	0,8	0,8
Бегеновая к-та	C22:0	6,4	7,0	6,5
Лигноцериновая к-та	C24:0	4,4	4,1	4,2
ВСЕГО		100,0	100,0	100,0

Содержание ненасыщенных кислот составляет в сумме 49,3–53,7%, содержание насыщенных кислот составляет в сумме 46,3–50,7%. Содержание трансизомеров ненасыщенных кислот весьма незначительно и не превышает в сумме 0,1%.

Состав неомыляемой фракции представлен следующими веществами: свободные жирные кислоты, n-алканы, жирные спирты, фитол и его метаболит - фитановая кислота, токоферолы, стерины и тритерпеновые спирты. Фитол - мононенасыщенный дитерпеновый спирт. Он является составной частью витаминов E и K, а также хлорофилла и довольно распространен в качестве компонента в химическом составе растений.

Общее содержание токоферолов (витамин E) в пересчете на внутренний стандарт составило 19,3–23,4 мг/100,0 г (порядка 0,02%), причем из них большее относительное содержание показали формы β - и γ -токоферолов, ко-элюирующие в выбранных условиях хроматографического разделения (37,3–43,1%), а содержание δ -токоферола и α -токоферола было примерно равным и составило 27,2-32,6% и 27,8-30,9% соответственно.

Главный компонент фракции - β -ситостерин (30%масс). Найдено, что суммарное содержание тритерпеновых спиртов и стеринов составляет 691,3 мкг/100,0 мг (0,7%). Кампестерин и стигмастерин также выявлены в составе объекта в количествах 2,7% и 4,2% соответственно. Доля Δ^7 -стеринов составляет 15,6% и представлена Δ^7 -ситостерином (13,2%) и Δ^7 -авенастерином (2,4%).

Также в следовых количествах (0,8%) присутствует холестерин. Циклоартенол (11,6%) и цитростадиенол (10,8%) являются доминирующими тритерпеновыми спиртами, обнаруженными в составе липидного комплекса травы *Portulaca oleracea* L.

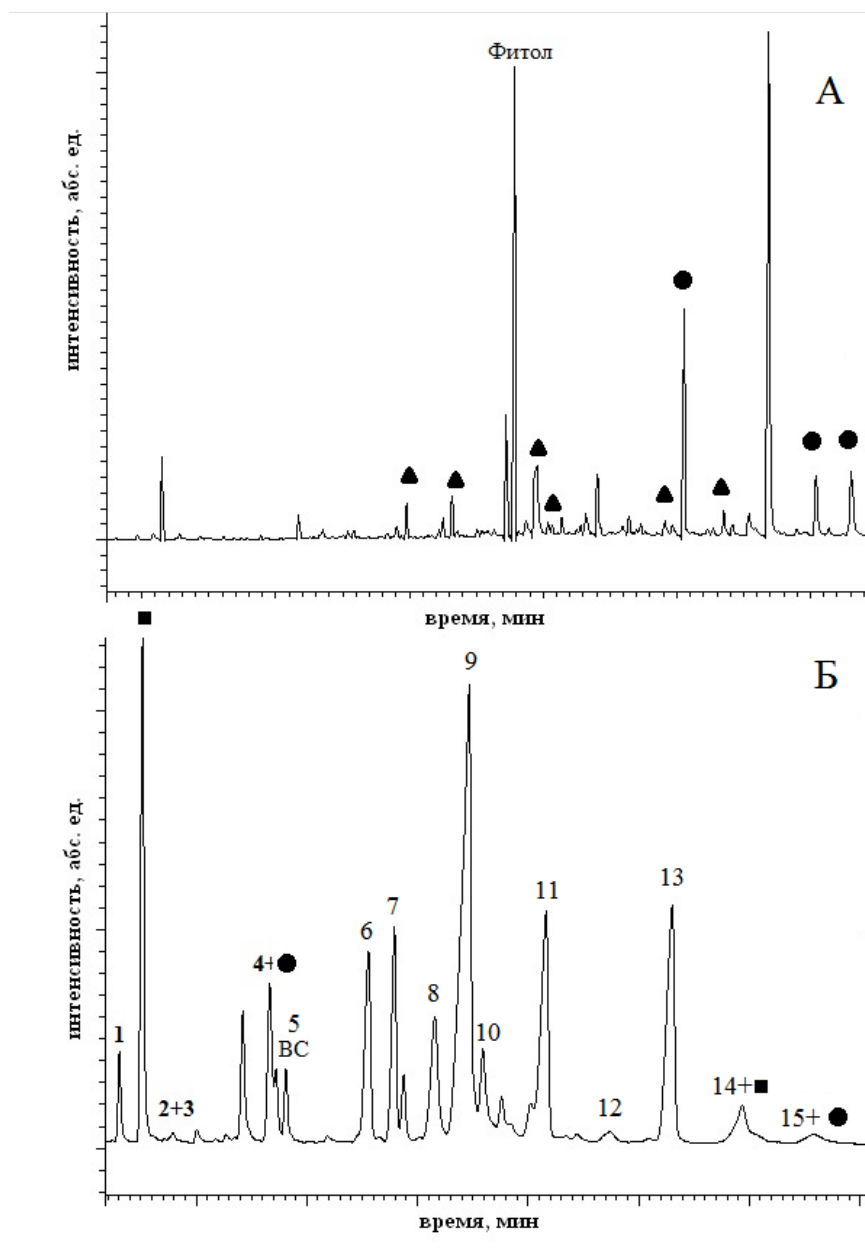


Рисунок 23 - Типичная хроматограмма по полному ионному току неомыляемой фракции липидного комплекса надземной части *Portulaca oleracea* L., (А) – область элюирования метиловых эфиров жирных кислот («●»), свободных жирных кислот (в виде ТМС-производных, «▲»), жирных спиртов (в виде ТМС-производных, «■»); (Б) - область элюирования токоферолов, стероинов и тритерпеновых спиртов (отнесение пиков соответствует приведенному в таблице 14).

Таблица 14 - Токоферолы, стерины и тритерпеновые спирты, входящие в состав липидного комплекса травы *Portulaca oleracea* L

Название	Содержание, мг/100 г		
	Хлороформ	Эфир	Гексан
δ-Токоферол	6,4	6,7	6,3
β-Токоферол+ γ-Токоферол	10,1	7,9	7,6
α-Токоферол	6,9	6,6	5,4
Холестерин	2,9	4,0	6,3
Холестанол (внутренний стандарт)	100,0	100,0	100,0
Кампестерин	262,5	241,0	184,7
Стигмастерин	241,1	279,7	205,7
Неидентифицированное соединение (486 Да)	67,3	61,5	44,2
β-Ситостерин + Ланостерин (следы)	793,3	769,9	643,5
β-Амирин	73,6	64,0	61,5
Неидентифицированное соединение (484 Да)	4,1	6,0	5,2
Δ 7-Ситостерин + α-Амирин	21,4	17,5	14,8
Циклоартенол	133,6	141,4	112,9
24-Метиленциклоартанол	23,9	21,6	16,3
Неидентифицированное соединение (500 Да)	69,3	61,1	57,5
Всего токоферолов	23,4	21,2	19,3
Всего стеринов и тритерпеновых спиртов	1793,0	1767,7	1452,6

Сравнительный анализ компонентного состава липидного комплекса надземной части *Portulaca oleracea* L. показывает весьма схожий состав как в качественном компонентном разнообразии, так и в их количественном содержании. В целом, полученные результаты расширяют информацию о

компонентном составе липидного комплекса травы *Portulaca oleracea* L. и позволяют более полно охарактеризовать объект исследования.

4.4.3. Определение содержания *Acidum ascorbinicum* в траве

Portulaca oleracea L

Данные литературы свидетельствуют о содержании *Acidum ascorbinicum* в траве *Portulaca oleracea* L. [20-21–22], в связи с чем было проведено исследование по определению содержания *Acidum ascorbinicum* в анализируемой траве.

С целью хроматографического определения *Acidum ascorbinicum* было необходимо провести спектрофотометрическое определение стандартного образца и зарегистрировать УФ-спектр *Acidum ascorbinicum* (Рисунок 24).

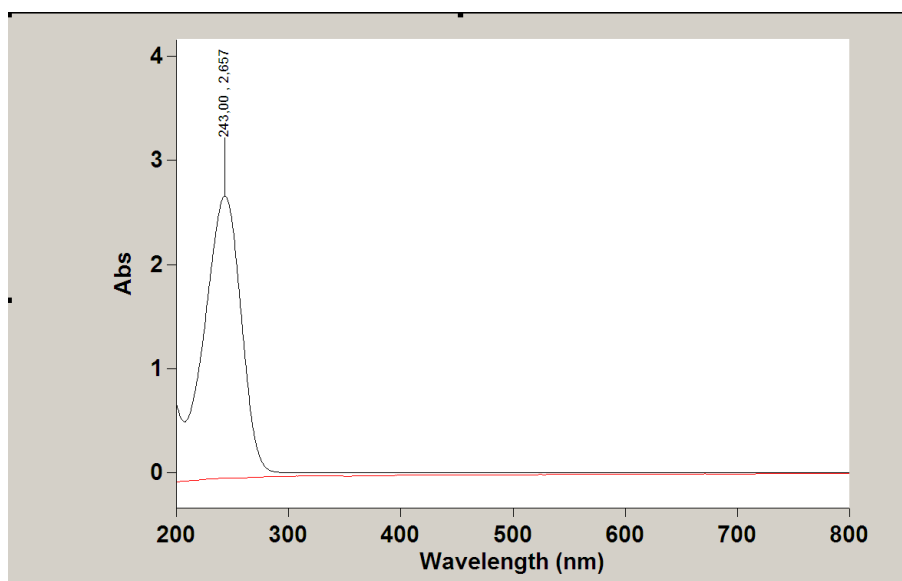


Рисунок 24- УФ-спектр стандартного образца *Acidum ascorbinicum*

На рисунок 24 видно, что максимум поглощения стандартного образца *Acidum ascorbinicum* наблюдается при 243 нм.

Далее методом ВЭЖХ проведен анализ *Acidum ascorbinicum* стандартного и испытуемого образцов в условиях, которые рассмотрены в главе 2/ 2.2.2.

Определение подлинности и числовых показателей травы *Portulaca oleracea* L./
Определение содержания *Acidum ascorbinicum* в траве *Portulaca oleracea* L.].

Хроматограммы стандартного и испытуемого растворов представлены на рисунок 25–26.

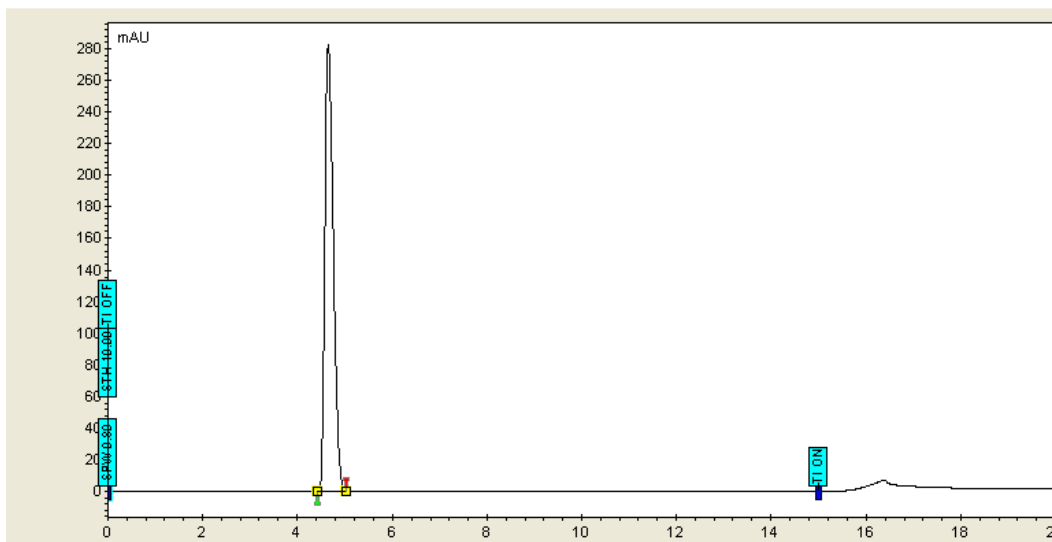


Рисунок 25- Хроматограмма стандартного раствора

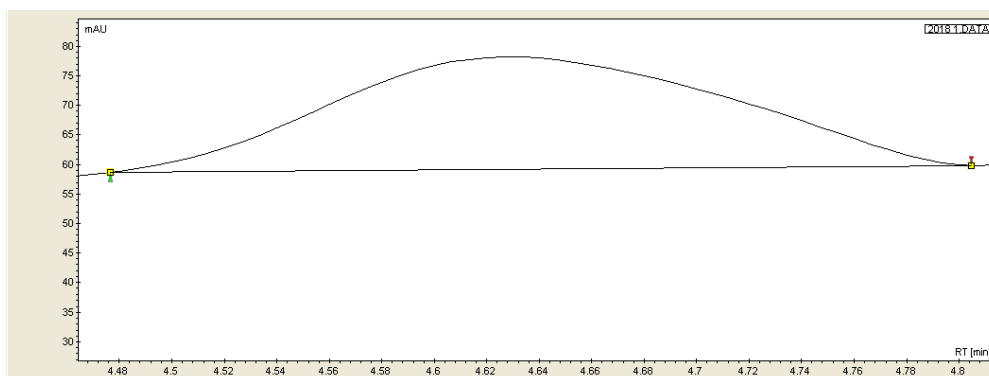


Рисунок 26- Хроматограмма испытуемого раствора

Результаты определения *Acidum ascorbinicum* в траве *Portulaca oleracea* L. представлены в таблице 15.

Таблица 15. Содержание *Acidum ascorbinicum* в траве *Portulaca oleracea* L., собранного в Сирии и Воронежской области

Место сбора	Содержание <i>Acidum ascorbinicum</i>, %
Воронежская область 2017 г.	0,002
Воронежская область 2018 г.	0,004
Воронежская область 2019 г.	0,005
Сирия 2019 г.	0,002

Таким образом, было установлено, что в траве *Portulaca oleracea* L. содержит не более 0,005 % *Acidum ascorbinicum*. При этом наибольшее содержание исследуемых веществ наблюдается в образцах, собранных в Воронежской области 2018 г., наименьшее – в образцах, собранных в Сирии 2019 г. Согласно полученным данным найденное содержание *Acidum ascorbinicum* меньше, чем указано в литературных источниках [20-21-22], это связано с точностью используемого метода, данные, представленные в литературных источниках, получены методом титрования.

Поскольку установленные количества *Acidum ascorbinicum* не значительны, дальнейшие ее исследования не проводили.

4.4.4. Определение содержания фенольных соединений в траве

Portulaca oleracea L

Согласно данным литературы [114-115–191–205] трава *Portulaca oleracea* L. содержит большое количество фенольных соединений, в том числе рутин. Условия проведения анализа рассмотрены в главе 2/ 2.2.2. Определение подлинности и числовых показателей травы *Portulaca oleracea* L./ Определение содержания фенольные соединения в траве *Portulaca oleracea* L.].

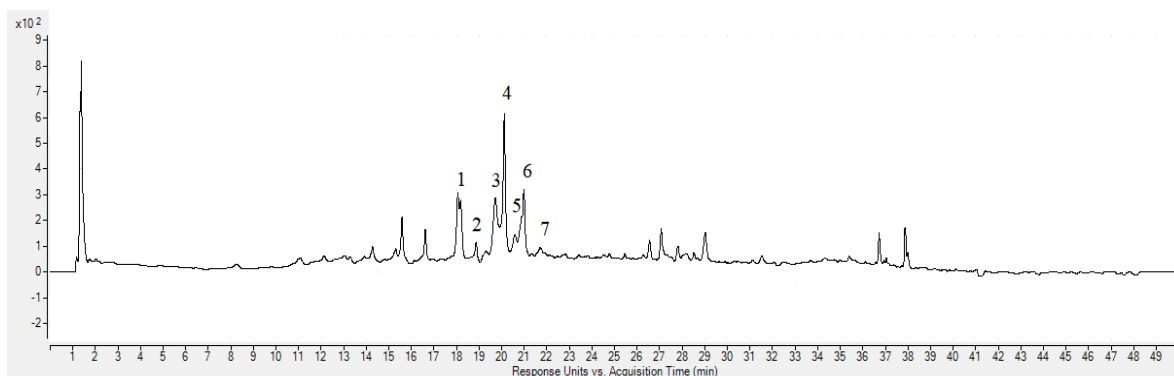


Рисунок 27- Хроматограмма испытуемого раствора 1-Oleracein C, 2-Oleracein D, 3- рутин, 4- Oleracein A, 5- Oleracein U, 6- Oleracein B, 7- Oleracein W

В результате проведенных исследований в траве *Portulaca oleracea* L. было обнаружено 7 основных пиков принадлежащих к двум группам фенольных соединений - флавоноидам и азотсодержащим органическим соединениям. Хроматограмма представлена на рисунок 27. Установлено, что исследуемая трава содержит Oleracein C, Oleracein D, рутин, Oleracein A, Oleracein U, Oleracein B, Oleracein W.

Флавонол-гликозиды. Согласно масс-спектрам, на хроматограмме извлечения из травы *Portulaca oleracea* L. соединение 3 является производным кверцетина. Масс-спектр представлен в таблице 16. Масс-спектр соединения 3 показал ион $[M + H]^+$ при m/z 611, $[M + Na]^+$ при m/z 633. Соединение имело такую же молекулярную массу как рутин (кверцетин-3-О-рамнозилглюкозид) и было идентифицировано по времени удерживания согласно данным, приведенным в литературе [191].

Азотсодержащие органические соединения (фенольные алкалоиды). Согласно масс-спектрам, на хроматограмме травы *Portulac oleracea* L. 1-2-4-5-6-7 являются азотсодержащими органическими соединениями. Их масс-спектры представлены в таблице 16.

Таблица 16- Содержание фенольных соединений в траве *Portulaca oleracea* L

Название	Молекулярная формула	Регистрация положительных ионов [M+H] ⁺	MS2	RT, мин
Oleracein C	C30H35NO16	666,2	666,2/ 504,1/ 342,1/ 309,1/291,1/ 196,0/ 165,0/ 147,0	18,17
Oleracein D	C31H37NO17	696,2	696,2/ 534,1/ 372,1/ 339,1/321,1/ 196,0/ 177,0/ 145,0	18,98
Рутин	C27H30O16	610,5	303/611/633/1243	20,24
Oleracein A	C24H25NO11	504,1	504,1/ 342,1/ 196,0/ 178,04/ 150,0/ 147,0/ 119,0	20,32
Oleracein U	C18H15NO6	342,1	342,1/ 324,1/ 296,1/ 282,0 /196,06 / 178,0/ 150,0 / 147,0 /132,0/ 97,7	20,97
Oleracein B	C25H27NO12	534,1	534,1/534,1/ 372,1/ 196,0 /177,0/145,0	21,09
Oleracein W	C18H15NO7	358,0	358,1/ 298,1/ 196,0/ 163,0 /137,0	21,38

Олерацеины являются алкалоидами, имеющими фенольную структуру. Найденные данные согласуются с данными научных публикаций [153], где указывается, что в траве портулака огородного найдены фенольные алкалоиды. Алкалоиды портулака являются новыми алкалоидами, не подпадающими под известную классификацию. В литературе их относят к алкалоидам фенольной природы или алкалоидам производным циклодопа, что подтверждается их структурой рисунок 28 [194].

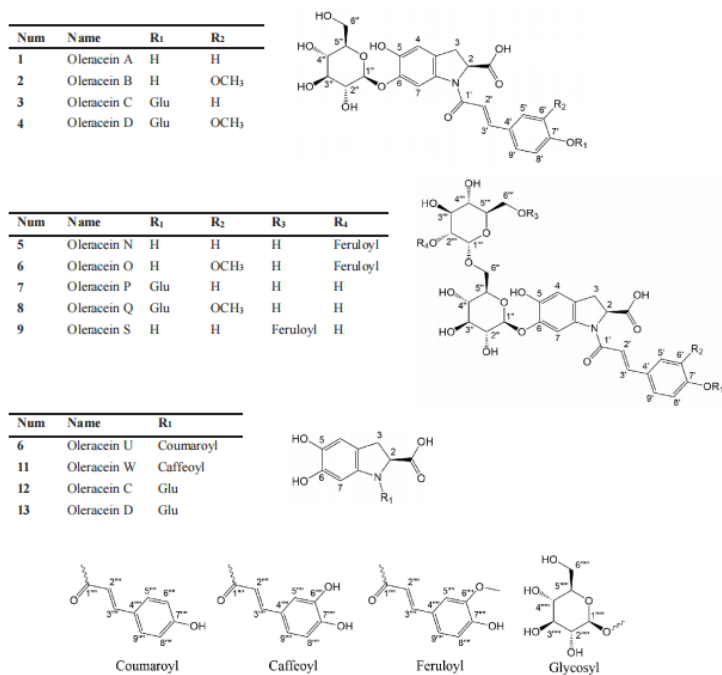


Рисунок 28- Химическая структура предварительно идентифицированных олерацеинов A-D, N-Q, S, U и W [194]

Алкалоиды портулака по найденным данным литературы [153] обладают антиоксидантной и антимикробной активностями. Присутствие алкалоидов в траве портулака огородного не оказывает токсического действия, что характерно для большинства алкалоидов, обуславливающих токсичность растительного сырья. Траву портулака широко используют в пищу на протяжении многих веков, используют для производства БАДов. Проведены исследования токсичности, результаты которых подтвердили отсутствие токсичности данного растения [153]. В ЦКП (НОЦ) РУДН проведены доклинические исследования острой токсичности портулака (*portulaca oleracea* L.). Установлено, что исследуемая трава не проявляет токсических свойств (отчет о доклинических исследованиях приложен к диссертационной работе (приложение Г)).

Полученные данные свидетельствуют, что трава *Portulaca oleracea* L. содержит вещества фенольной природы, относящиеся к группам - флавоноиды и алкалоиды.

4.4.5. Определение содержания окисляемых веществ в траве

Portulaca oleracea L

Поскольку было обнаружено в траве *Portulaca oleracea* L. присутствие соединений фенольной природы, было интересно провести их суммарное определение по известной методике определения дубильных веществ (окисляемых веществ), представленной в ГФ XIV в ОФС.1.5.3.0008.18 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Данная методика была выбрана, поскольку в качестве титранта используется раствор перманганата калия, способного вступать в реакцию со всеми окисляемыми веществами. Кроме того, предварительными качественными реакциями было подтверждено наличие дубильных веществ в траве *Portulaca oleracea* L.

Установлено, что содержание окисляемых веществ в траве *Portulaca oleracea*L. в среднем составило $1,82 \pm 0,2\%$ ($n=3$; $p=0,95$). Далее в работе будет представлена разработанная методика (в двух вариантах) и найденное содержание флавоноидов в изучаемой траве.

Выводы главы 4

1. Изучен состав биологически активных веществ травы *Portulaca oleracea* L. с помощью качественных реакций и ТСХ; установлено, что трава *Portulaca oleracea*L. содержит полисахариды, флавоноиды, аскорбиновую кислоту, органические кислоты, фенольные соединения.

2. Определены числовые показатели травы *Portulaca oleracea* L., а именно: влажность $5,62 \pm 0,76\%$, содержание экстрактивных веществ (экстрагент спирт) $14 \pm 2\%$; содержание экстрактивных веществ (экстрагент вода) $34 \pm 4\%$; зола общая $23,94 \pm 2\%$, зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте $1,37 \pm 0,36\%$; кусочки корней в цельном и измельченном сырье – не более $0,5\%$, частицы сырья, изменившие окраску в цельном и измельченном сырье – не более 2% . Кроме того, найдено не более 1% органической примеси и не более 1% минеральной примеси в цельном, измельченном сырье и порошке. Измельченность для цельной травы - частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером $0,5$ мм, – не более 5% ; для измельченной травы - частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, – не более 5% , частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером $0,5$ мм, – не более 5% ; для порошка - частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, – не более 5% ; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером $0,18$ мм, – не более 5

3. В траве *Portulaca oleracea* L. было установлено что содержание тяжелых металлов и мышьяка в пределах нормы: $Cd < 6ppm$, $Pb < 0,5ppm$, $As < 0,5ppm$ и $Ag < 5ppm$.

4. Установлено содержание макро- и микроэлементов в траве *Portulaca oleracea* L.: Mn $8,85 \pm 0,48$ мг/100г, Mg $726,75 \pm 10,73$ мг/100г, K $10720,31 \pm 1702$ мг/100г, Fe $59,30 \pm 4,17$ мг/100г, Ca $1945,61 \pm 24,41$ мг/100г. Содержание элементов, относящихся к тяжелым металлам, находится в пределах нормы.

5. Изучен качественный и количественный состав липидного комплекса надземной части *Portulaca oleracea* L. совокупностью методов хромато-масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР ^1H . Его содержание составляет порядка 2,0%. Оценено содержание и установлены профили жирных кислот, токоферолов, стериннов, тритерпеновых спиртов, обнаруженных в липидном комплексе. Основным структурным компонентом комплекса являются воски. Они содержат в составе преимущественно α -линоленовую (23,5%) линолевую (24,7%) и пальмитиновую (25,3%) кислоты. Содержание токоферолов в липидном комплексе составило около 0,02%, до 40% фракции представлено β - и γ -токоферолами, при приблизительно равном содержании δ -токоферола и α -токоферола (около 30%). Содержание стериннов и тритерпеновых спиртов в липидном комплексе составило 691,3 мг/100г (0,7%) фракции представлено β -ситостерином (44%), Δ^7 -ситостерином (13,2%) и циклоартенолом (7,7%). Показано, что надземные части *Portulaca oleracea* L. является перспективным сырьем для получения липидного комплекса и его дальнейшего фармакотерапевтического изучения.

6. Методом УФ спектрометрией и ВЭЖХ установлено содержание в траве *Portulaca oleracea* L. *Acidum ascorbinicum* (следовые количества).

7. Методом ВЭЖХ/МС проведено изучение содержания в траве *Portulaca oleracea* L. фенольных соединений, установлено присутствие следующих веществ: Oleracein C, Oleracein D, рутин, Oleracein A, Oleracein U, Oleracein B, Oleracein W). Определено содержание окисляемых веществ общепринятой титриметрической фармакопейной методикой (с перманганатом калия) в траве *Portulaca oleracea* L., составившее в среднем $1,82 \pm 0,2\%$.

ГЛАВА 5. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ ГРУПП БАВ ТРАВЫ *PORTULACA OLERACEA L*

5.1. Разработка методики определения суммы восстанавливающих сахаров в траве *Portulaca oleracea L.* и ее валидация

Поскольку среди исследованных групп БАВ было отмечено значительное содержание полисахаридов физико-химическими методами, а также микроскопией, вероятно, отхаркивающая и противовоспалительная активность травы *Portulaca oleracea L.* во многом обусловлена именно полисахаридами. Кроме того, в настой в большей степени переходят полисахариды, обуславливая его фармакологическую активность. В связи с чем было необходимо провести исследование количественного содержания восстанавливающей суммы сахаров, которая складывается из суммы полисахаридов и свободных сахаров в траве *Portulaca oleracea L.* [206-207–208].

5.1.1. Подбор условий и разработка методики определения содержания суммы восстанавливающих сахаров

В соответствии с данными литературы максимум поглощения глюкозы наблюдается при длине волны 487 ± 2 нм [160]. Кроме того, при исследовании зависимости величины оптической плотности от концентрации глюкозы в анализируемом растворе, было показано, что в диапазоне от 10 до 100 мкг/мл аналитический сигнал прямо пропорционален содержанию аналита [160].

Для разработки методики было изучено влияние степени измельчения сырья, соотношения сырье: экстрагент, кратности экстракции на выход сахаров. Результаты представлены в таблице 17.

Таблица 17- Влияние различных факторов на полноту извлечения суммы восстанавливающих сахаров из травы *Portulaca oleracea* L (n=3, P=0,95)

Неизменяемый параметр	Варьируемый параметр	Содержание суммы восстанавливающих сахаров, %
Степень измельчения, мм		
	7	8,49±0,78
	5	10,58±0,34
	3	11,03±1,92
	2	10,70±0,24
	1	14,00±1,65
	0,5	11,96±0,04
Соотношение массы сырья к объему экстрагента		
Степень измельчения 1 мм	1:25	5,39±0,01
	1:50	8,05±0,67
	1:125	8,52±0,35
	1:200	11,75±0,67
	1:250	9,00±0,43
Время экстракции (мин)		
Соотношение сырье: экстрагент 1:200, степень измельчения 1 мм	15	4,16±0,72
	30	5,42±0,17
	90	7,69±1,02
	120	9,70±0,90
Кратность экстракции		
Соотношение сырье: экстрагент 1:200, степень измельчения 1 мм	1	6,64±0,94
	2	9,68±0,41
	3	7,93±1,08

Данные таблицы показывают, что лучший способ извлечения суммы восстанавливающих сахаров включает следующие условия: измельченность сырья - 1 мм; соотношении сырье: экстрагент - 1:200; двукратная экстракция подкисленной водой очищенной; время экстракции – 120 мин.

Полученные данные легли в основу методики определения содержания суммы восстанавливающих сахаров после гидролиза полисахаридов в траве *Portulaca oleracea* L.

Метрологические характеристики методики представлены в таблице 18.

Таблица 18- Метрологические характеристики методики количественного определения суммы восстанавливающих сахаров в траве *Portulaca oleracea* L.

n	f	P	t(P,f)	X _{ср} , %	S ²	S	ΔX	E, %
5	4	0,95	2,78	9,22	0,19	0,343	0,44	4,78

Ошибка количественного определения суммы восстанавливающих сахаров в пересчете на глюкозу в (n=5) не превышает 5,0 %.

С использованием разработанной методики было проведено определение содержания суммы восстанавливающих сахаров в траве *Portulaca oleracea* L., собранной в Сирии и Воронежской области. Результаты представлены в таблице 19.

Таблица 19- Содержание суммы восстанавливающих сахаров в траве *Portulaca oleracea* L., собранного в Сирии и Воронежской области.

Место сбора <i>Portulaca oleracea</i> /год сбора	Воронежская область/2017 г.	Воронежская область/2018 г.	Воронежская область/2019 г.	Сирия, Латакия/2019 г.
Содержание суммы восстанавливающих сахаров%	9,27±0,38	9,29±0,62	9,16±0,16	7,90±0,24

Таким образом, было установлено, что трава *Portulaca oleracea* L. содержит не менее 7 % суммы восстанавливающих сахаров. При этом наибольшее содержание исследуемых веществ наблюдается в образцах, собранных в Воронежской области 2018 г., наименьшее – в образцах, собранных в Сирии 2019г.

5.1.2. Валидационная характеристика разработанной методики

Специфичность

Типичные УФ/ВИД-спектры плацебо, стандартного раствора и испытуемого раствора приведены на рисунок (29–30–31). Данные по специфичности методики представлены в таблице 20.

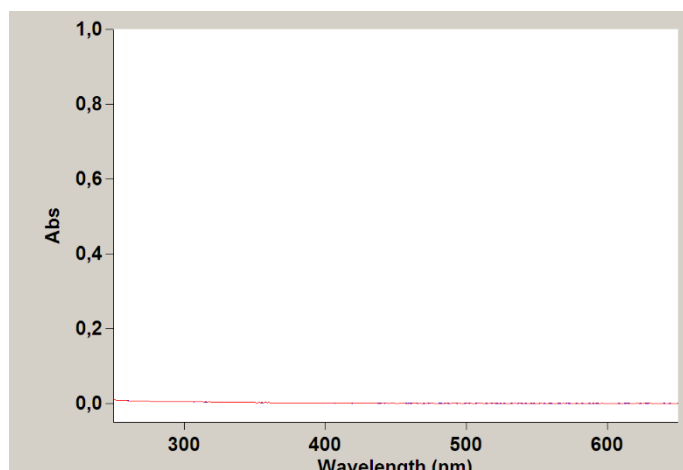


Рисунок 29- Типичный УФ/ВИД-спектр плацебо

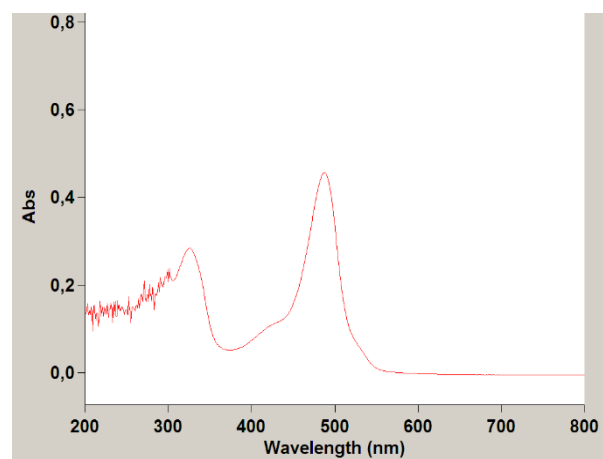


Рисунок 30- Типичный УФ/ВИД-спектр стандартного раствора

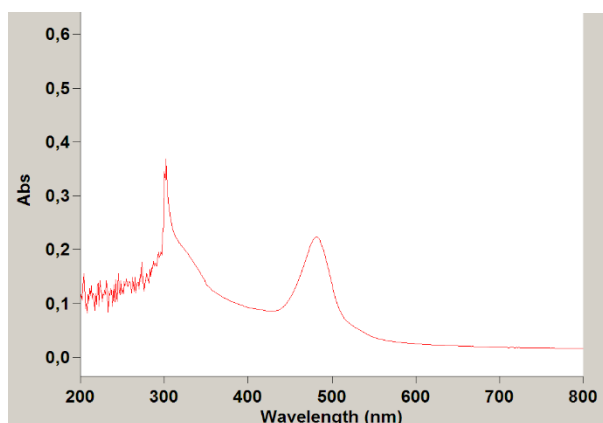


Рисунок 31- Типичный УФ/ВИД-спектр испытуемого раствора

Таблица 20- Специфичность методики определения суммы восстанавливающих сахаров

Измерение	СО	ИР	Совпадение, %
	Длина волны (λ), нм		
1	487,0	483,0	98,9
2	487,0	482,0	98,9
3	488,0	483,0	98,7

УФ/ВИД-спектр поглощения ИР, приготовленного для количественного определения, в области от 350 до 550 нм соответствует УФ/ВИД-спектру поглощения стандартного раствора. Максимумы поглощения находятся при 487 ± 5 нм и совпадают с точностью более 98 %. УФ/ВИД-спектры раствора плацебо свидетельствуют об отсутствии влияния плацебо на результаты

количественного определения полисахаридов и свободных сахаров. Мешающее действие плацебо составляет менее 5 %.

Линейность

Раствор А разводят водой в мерных колбах вместимостью 25 мл до концентрации в анализируемом растворе 10, 20, 40, 80, 100 мкг/мл, перемешивают таблица 21. Определяют содержание суммы восстанавливающих сахаров в растворах по приведенной методике.

Оценка линейности определения суммы восстанавливающих сахаров приведена в таблице 22.

Таблица 21- Приготовление растворов глюкозы для исследования линейности

№ п/п	Объем раствора А, мл	Содержание, %	Концентрация в анализируемом растворе, мкг/мл
1	0,25	25	10
2	0,50	50	20
3	1,00	100	40
4	2,00	200	80
5	2,50	250	100

Таблица 22- Оценка линейности определения глюкозы

№	A _i - 1	A _i -2	A _i -3	A _i -ср.	X, мкг/мл
1	0,1280	0,1282	0,1278	0,1280	10
2	0,2472	0,2473	0,2474	0,2473	20
3	0,4581	0,4582	0,4582	0,4581	40
4	0,9180	0,9180	0,9182	0,9180	80
5	1,0310	1,0310	1,0300	1,0300	100

Построен график зависимости оптической плотности от концентрации глюкозы рисунок 32.

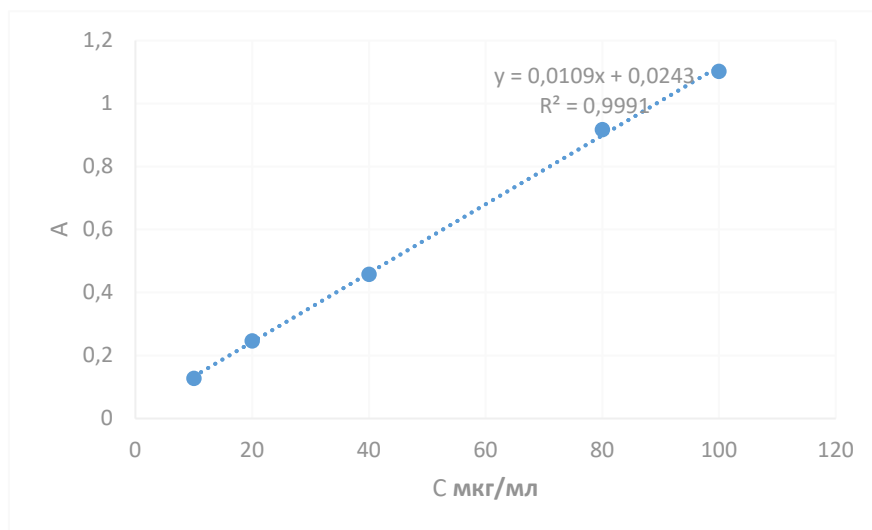


Рисунок 32- Линейная зависимость оптической плотности глюкозы от концентрации в растворе Коэффициент корреляции $r = 0,9991$.

Зависимость между концентрацией глюкозы и оптической плотностью в стандартном растворе линейна. Коэффициента корреляции (r^2) более 0,995, что подтверждает выполнение требований к параметру валидации линейность разработанной методики.

Правильность

Раствор А разводят водой в мерных колбах вместимостью 25 мл до концентрации в анализируемом растворе 20, 40, 80, мкг/мл, перемешивают таблица 23. Определяют содержание суммы восстанавливающих сахаров в растворах по приведенной методике.

Результаты определения открываемости суммы восстанавливающих сахаров представлены в таблице 23.

Таблица 23. Оценка открываемости содержания суммы восстанавливающих сахаров

Объем раствора А, мл	Заложено, мкг/мл	A_i	A_t	Ожидаемая концентрация, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	Открываемость, %
0,5	20	0,0580	0,2920	56,9460	54,3978	95,5251
0,5	20	0,0585	0,2923	56,9460	54,4537	95,6233
0,5	20	0,0582	0,2921	56,9460	54,4164	95,5578

Продолжение Таблицы 23

Объем раствора А, мл	Заложено, мкг/мл	A_i	A_t	Ожидаемая концентрация, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	Открываемость, %
1	40	0,1161	0,3501	66,9460	65,2214	97,4239
1	40	0,1162	0,3510	66,9460	65,3891	97,6743
1	40	0,1160	0,3507	66,9460	65,3332	97,5909
2	80	0,2325	0,4758	86,9460	88,6386	101,9467
2	80	0,2320	0,4755	86,9460	88,5827	101,8824
2	80	0,2330	0,4754	86,9460	88,5641	101,8610
Статистические характеристики					Результаты	
Наименьшее значение, %					95,52	
Наибольшее значение, %					101,94	
Среднее значение, %					98,34	
Стандартное отклонение, S					2,8	
Стандартное отклонение среднего результата, S_{δ}					0,93	
Коэффициент вариации, S_{δ} , %					2,85	
Доверительный интервал (P=0,95), %					2,2 (от 96,14 до 100,54)	

Полученные результаты определения правильности разработанной методики соответствуют критериям приемлемости (находится в диапазоне от 95,52 до 101,94%). Доверительный интервал включает 100 %. Коэффициент вариации при $n=9$ не превышает 3,0 %.

Повторяемость

Результаты приведены в таблице (24–25).

Таблица 24- Оценка повторяемости методики количественного определения суммы восстанавливающих сахаров (СО)

№ образец СО	A_0	Среднее значение	Стандартное отклонение, S	Коэффициент вариации, S_{δ} %
1	0,4405	0,4405	0,00037	0,08
2	0,4400			
3	0,4402			
4	0,4408			
5	0,4410			
6	0,4405			

Таблица 25- Оценка повторяемости методики количественного определения суммы восстанавливающих сахаров (ИР)

№ образец ИР	1	2	3	4	5	6
Объем анализируемого образца, мл	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
А- 1	0,1470	0,1480	0,1520	0,1520	0,1510	0,1470
А -2	0,1471	0,1482	0,1519	0,1520	0,1509	0,1471
А - 3	0,1470	0,1480	0,1518	0,1520	0,1512	0,1471
Среднее А	0,1470	0,1480	0,1520	0,1520	0,1510	0,1470
Содержание, мкг/мл	7,21	7,25	7,45	7,45	7,4	7,21
A_0	0,4405					
$X_{ср}$, мкг/мл	7,33					
Статистические характеристики	Результаты					
Стандартное отклонение, S	0,117					
Стандартное отклонение среднего результата, S_0	0,05					
Коэффициент вариации, S_0 , %	1,6					
Доверительный интервал ($P = 0,95$), мкг/мл	0,1 (от 7,43 до 7,23)					

Повторяемость разработанной методики соответствует критериям приемлемости. Коэффициент вариации при $n=6$ не превышает 2,0 %.

Методика количественного определения суммы восстанавливающих сахаров применима в интервале от 25 до 250 % от номинального значения суммы восстанавливающих сахаров. Правильность, линейность, повторяемость установлены для интервальных значений и значений внутри интервала: линейность (25-50-100-200-250) %, правильность (80-100-120) %, повторяемость (100 %).

5.1.3. Сравнительное исследование содержания суммы восстанавливающих сахаров различными методами

Результатов между методом М. Dubois и методом определения суммы восстанавливающих сахаров с пикриновой кислотой таблица 26.

Таблица 26- Сравнение результатов между методом М. Dubois и методом определения суммы восстанавливающих сахаров с пикриновой кислотой (по ГФ XIV)

Образец	Масса г.	А		А ₀		Х%		Х _{ср} , %	
		Фенол	Пикриновая к-та	Фенол	Пикриновая к-та	Фенол	Пикриновая к-та	Фенол	Пикриновая к-та
1	0,5000	0,160	0,166	0,4405	0,107	7,85	6,70	10,93±2, 67	7,62±1, 24
2	0,5009	0,219	0,173	0,4405	0,107	10,72	6,90		
3	0,4994	0,163	0,159	0,4405	0,107	8,00	6,43		
4	0,5000	0,256	0,181	0,4400	0,089	12,56	8,79		
5	0,5009	0,286	0,150	0,4400	0,089	14,00	7,51		
6	0,4994	0,253	0,192	0,4400	0,089	12,43	9,34		

Из результатов видно, что методом М. Dubois определяется большее количество суммы восстанавливающих сахаров, чем методом с использованием пикриновой кислоты (по ГФ XIV). Это связано с ошибкой методики определения суммы восстанавливающих сахаров после реакции с пикриновой кислотой, по данным литературы [199] метод быстр, но не очень точен. Ошибка может превышать 10–20%.

5.2. Подбор условий и разработка методики определения содержания органических кислот в траве *Portulaca oleracea* L. и ее валидация

В соответствии с данными литературы и по результатам собственных исследований было установлено, что содержание органических кислот в траве *Portulaca oleracea* L. присутствует в значительном количестве, что также вносит вклад в фармакологическую активность данного вида ЛРС. Поэтому было целесообразно разработать методику количественного определения и установить норму содержания органических кислот в траве *Portulaca oleracea* L. [209-210].

Для разработки методики в настоящей работе было изучено влияние степени измельчения сырья, соотношения сырья: экстрагент, кратности экстракции на выход сахаров. Результаты представлены в таблице 27.

Таблица 27- Влияние различных факторов на полноту извлечения органических кислот из травы *Portulaca oleracea* L (n=3, P=0,95)

Неизменяемый параметр	Варьируемый параметр	Содержание суммы органических кислот, %
Степень измельчения, мм		
	7	3,2±0,1
	5	3,1±0,1
	3	3,1±0,1
	2	3,3±0,1
	1	2,7±0,1
Соотношение массы сырья к объему экстрагента		
Степень измельчения 2 мм	1:10	0,9±0,2
	1:20	2,1±0,1
	1:40	2,4±0,1
	1:80	2,8±0,1
	1:100	2,6±0,1
Время экстракции (мин)		
Соотношение сырье: экстрагент 1:80, степень измельчения 2 мм	30	2,9±0,1
	60	3,1±0,2
	90	3,2±0,1
	120	3,5±0,1
Кратность экстракции		
Неизменяемый параметр	Варьируемый параметр	Содержание суммы органических кислот, %
Кратность экстракции		
Соотношение сырье: экстрагент 1:80, степень измельчения 2 мм Время экстракции 120 мин	1	2,7±0,1
	2	2,6±0,1

Полученные результаты свидетельствуют, что лучший способ извлечения органических кислот из травы *Portulaca oleracea* L. включает следующие условия: однократная экстракция водой очищенной в течение 120 мин, степень измельчения сырья - 2 мм, соотношение сырье: экстрагент - 1:80.

Представленные данные положены в основу методики количественного определения органических кислот в траве *Portulaca oleracea* L.

Метрологические характеристики методики представлены в таблице 28.

Таблица 28- Метрологические характеристики методики количественного определения органических кислот в траве *Portulaca oleracea* L

n	f	P	t(P,f)	X _{ср} , %	S ₂	S	ΔX	E, %
5	4	0,95	2,78	2,97	0,01	0,1	0,13	3,23

Ошибка количественного определения содержания органических кислот в (n=5) не превышает 5,0 %.

С использованием разработанной методики было проведено определение содержания органических кислот в образцах *Portulaca oleracea* L., собранного в Сирии и Воронежской области, анализ был проведен с использованием и без использования автотитратора, кривая титрования испытуемого раствора представлена на рисунок 33.

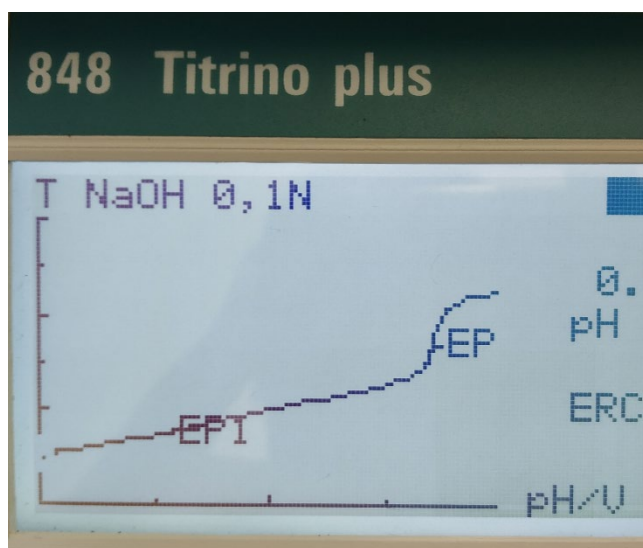


Рисунок 33- Кривая титрования испытуемого раствора

Результаты представлены в таблице 29

Таблица 29- Содержание органических кислот в траве *Portulaca oleracea* L., собранной в Сирии и Воронежской области

Место сбора <i>Portulaca oleracea</i> L./год сбора	Воронежская область/2017 г.	Воронежская область/2018 г.	Воронежская область/2019 г.	Сирия, Латакия/2019 г.
Содержание суммы органических% кислот (Вручную)	2,2±0,18	2,9±0,2	2,3±0,1	2,5±0,3
Содержание суммы органических кислот (Автотитратор)%	2,2±0,2	2,9±0,2	2,3±0,1	2,5±0,3

Таким образом, было установлено, что трава *Portulaca oleracea* L. содержит не менее 2 % органических кислот. При этом содержание органических кислот практически сопоставимо во всех образцах.

Поскольку использована фармакопейная методика была проведена ее верификация в соответствии с требованиями ГФ XIV по параметрам специфичность и повторяемость.

5.2.1. Валидационная характеристика разработанной методики

Специфичность

Окраска испытуемого раствора соответствовала окраске стандартного раствора, который указан в методике стандартного образца после титрования раствором натра едкого (0,1 моль/л) при достижении конечной точки титрования. Окраска раствора плацебо свидетельствовала об отсутствии влияния плацебо на результаты определения количественного содержания органических кислот в точке титрования, соответствующей изменению окраски после добавления одной капли раствора натра едкого (0,1 моль/л).

Повторяемость

Результаты приведены в таблице 30.

Таблица 30- Оценка повторяемости методики количественного определения суммы свободных органических кислот

Наименование	1	2	3	4	5	6
Объем анализируемого образца, мл	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
V, мл	0,30	0,35	0,35	0,30	0,35	0,35
Содержание, мг/мл	0,216	0,252	0,252	0,216	0,252	0,252
V ₀ , мл	0					
X _{ср.} , мг/мл	0,240					
Стандартное отклонение, S	0,02					
Стандартное отклонение среднего результата, S ₀	0,007					
Коэффициент вариации, S ₀ , %	7,75					
Доверительный интервал (P = 0,95), мкг/мл	0,02 (от 0,22 до 0,26)					

Данные таблицы свидетельствуют, что правильность разработанной методики соответствует критериям приемлемости. Коэффициент вариации при n=6 не превышает 2,0 %.

Повторяемость установлена для интервальных значений и значений внутри интервала: повторяемость (100 %).

5.3. Изучение содержания флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L

Флавоноиды являются распространенной группой биологически активных веществ в растительном мире и отвечают за проявление самых разнообразных видов фармакологической активности. Присутствуя в траве *Portulaca oleracea* L., они также вносят свой вклад в ее фармакологическое действие. Стандартизация флавоноидов хорошо разработана для многих лекарственных видов растительного сырья, отличается простотой и легко воспроизводится при рутинном фармацевтическом анализе.

Поэтому в данной работе было проведено исследование содержания суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L. За основу была взята фармакопейная методика, с помощью которой определяют сумму флавоноидов в пересчете на рутин в листьях гинкго двулопастного [200].

5.3.1. Подбор условий и разработка методики определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в траве *Portulaca oleracea* L

5.3.1.1. Метод дифференциальной спектрофотометрии с алюминия хлоридом в спиртовой среде

Согласно литературным данным максимум поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом установлен при длине волны 411 ± 5 нм, [200], что подтверждено нашими исследованиями для СО рутина и испытуемого раствора, полученного из травы *Portulaca oleracea* L. Спектры поглощения представлены на рисунок (34–35). Кроме того, при исследовании зависимости величины оптической плотности от концентрации рутина в анализируемом растворе было показано, что в диапазоне от 10 до 100 мкг/мл аналитический сигнал прямо пропорционален содержанию аналита [200-211].

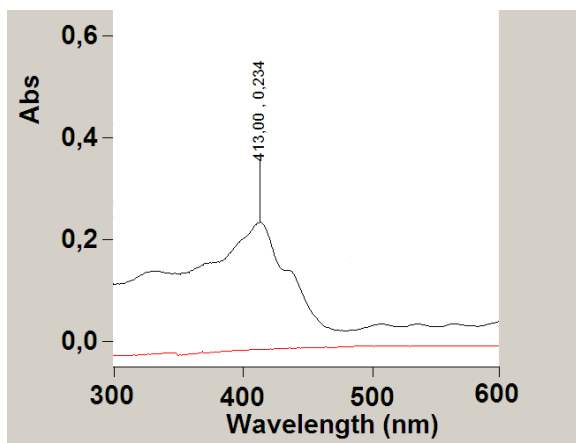


Рисунок 34- Типичный УФ/ВИД-спектр испытуемого раствора

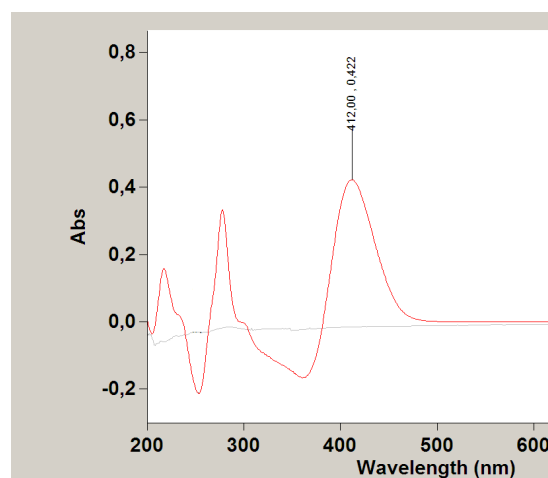


Рисунок 35- Типичный УФ/ВИД-спектр

Для разработки методики в настоящей работе было изучено влияние степени измельченности сырья, концентрация этанола, соотношение сырье: экстрагент, кратность экстракции на выход флавоноидов. Результаты представлены в таблице 31.

Таблица 31- Влияние различных факторов на полноту извлечения суммы флавоноидов из травы *Portulaca oleracea* L (n=3, P=0,95)

Неизменяемый параметр	Варьируемый параметр	Содержание суммы флавоноидов, %
Степень измельчения, мм		
	7	0,022±0,002
	5	0,025±0,020
	3	0,028±0,016
	2	0,035±0,024
	1	0,089±0,006
	0,5	0,077±0,006
Концентрация EtOH		
Степень измельчения 1 мм	30	0
	50	0
	70	0,09±0,006
	90	0,49±0,025
	96	0,50±0,006
Соотношение массы сырья к объему экстрагента		
Степень измельчения 1 мм, EtOH%= 90%	1:50	0,40±0,036
	1:100	0,49±0,025
	1:150	0,49±0,052
	1:200	0,49±0,063
	1:250	0,44±0,020
Время экстракции (мин)		
Соотношение сырье: экстрагент 1:100, степень измельчения 1 мм, EtOH%= 90%	30	0,43±0,010
	60	0,55±0,001
	90	0,47±0,020
	120	0,49±0,050
Кратность экстракции		
Соотношение сырье: экстрагент 1:100, степень измельчения 1 мм, EtOH%= 90%, Время экстракции 60 мин	1	0,35±0,012
	2	0,42±0,049
	3	0,40±0,050

Результаты экспериментальных исследований демонстрируют, что оптимальный способ извлечения должен включать следующие условия: двукратная экстракция 90% этанолом в течение 60 мин, степень измельчения сырья - 1 мм, соотношение сырье: экстрагент - 1:100

Указанные данные положены в основу методики определения содержания суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L.

Метрологические характеристики валидации представлены в таблице 32.

Таблица 32- Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L

n	f	P	t(P,f)	X _{ср} , %	S ²	S	ΔX	E, %
5	4	0,95	2,78	0,53	0,001	0,03	0,025	4,74

Ошибка количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в (n=5) не превышает 5,0 %.

С использованием разработанной методики было проведено содержание суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L., собранной в Сирии и Воронежской области. Результаты представлены в таблице 33.

Таблица 33- Содержание суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L., собранной в Сирии и Воронежской области.

Место сбора <i>Portulaca oleracea</i> L./год сбора	Воронежская область/2017 г.	Воронежская область/2018 г.	Воронежская область/2019 г.	Сирия, Латакия/2019 г.
Содержание сумма флавоноидов%	0,47±0,02	0,46±0,02	0,39±0,06	0,40±0,05

Таким образом, было установлено, что трава *Portulaca oleracea* L. содержит не менее 0,3 % суммы флавоноидов. При этом содержание флавоноидов находится практически на одном уровне во всех испытуемых образцах, наибольшее содержание флавоноидов отмечается в траве *Portulaca oleracea* L., собранной в Воронежской области в 2017 г., наименьшее – в траве, собранной в Воронежской области в 2019 г.

Результаты определения параметров валидации

Специфичность

Для оценки специфичности метода количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутини получены УФ/ВИД-спектры плацебо (смеси вспомогательных веществ), стандартного раствора и испытуемого раствора,

приготовленные для количественного определения, в диапазоне от 300 до 600 нм.

Типичные УФ/ВИД-спектры плацебо, стандартного раствора и испытуемого раствора приведены на рисунок (34-35-36). Данные по специфичности методики представлены в таблице 34.

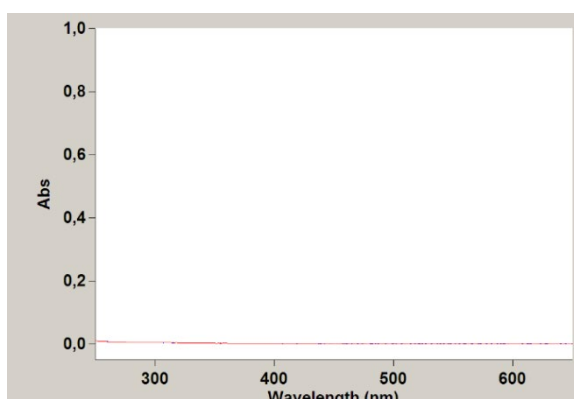


Рисунок 36- Типичный УФ/ВИД-спектр плацебо

Таблица 34. Специфичность методики определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве *Portulaca oleracea* L

Измерение	СО	ИО	Совпадение, %
	Длина волны (λ), нм		
1	411,0	415,0	99,03
2	411,0	414,0	99,27
3	411,0	415,0	99,03

УФ/ВИД-спектр поглощения ИР, приготовленного для количественного определения, в области от 300 до 600 нм соответствует УФ/ВИД-спектру поглощения стандартного раствора. Максимумы поглощения находятся при 411 ± 5 нм и совпадают с точностью более 99 %.

УФ/ВИД-спектры раствора плацебо свидетельствуют об отсутствии влияния плацебо на результаты количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин. Мешающее действие плацебо составляет менее 5 %.

Линейность

Приготовление растворов рутина для исследования линейности и оценка линейности определения суммы флавоноидов в пересчете на рутини представлена в таблице 35–36.

Таблица 35- Приготовление растворов рутина для исследования линейности

№ п/п	Объем раствора А, мл	Содержание, %	Концентрация в анализируемом растворе, мкг/мл
1	0,005	0,5	0,1
2	0,01	1	0,2
3	0,1	10	2
4	0,25	25	5
5	0,5	50	10
6	1	100	20

Таблица 36- Оценка линейности определения флавоноидов

№	A _i -1	A _i -2	A _i -3	A _i -ср.	X, мкг/мл
1	0,0044	0,0045	0,0045	0,0044	0,1
2	0,0230	0,0231	0,0230	0,0230	0,2
3	0,0490	0,0490	0,0491	0,0490	2
4	0,1280	0,1282	0,1280	0,1280	5
5	0,2451	0,2450	0,2451	0,2450	10
6	0,4410	0,4412	0,4410	0,4410	20

Построен график зависимости оптической плотности от концентрации СО рутина и обработан методом наименьших квадратов рисунок (37).

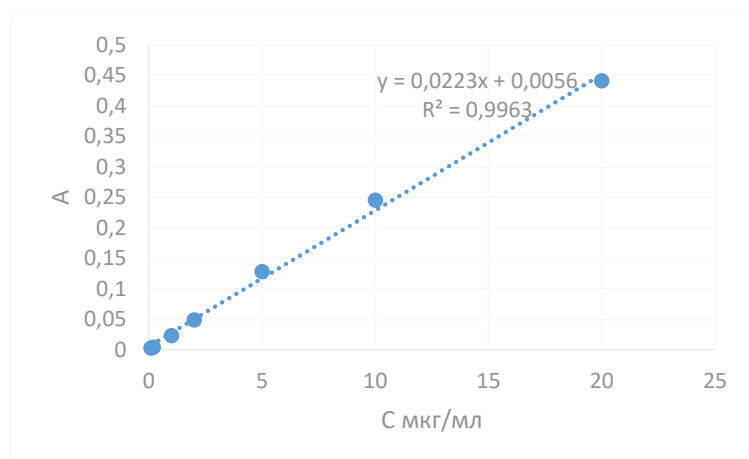


Рисунок 37- Линейная зависимость оптической плотности от концентрации СО рутина в растворе Коэффициент корреляции $r = 0,9963$.

Зависимость между концентрацией рутина и оптической плотностью в стандартном растворе линейна.

Полученные данные показывают, разработанная методика является линейной. Коэффициента корреляции составил более 0,995.

Правильность

Результаты определения открываемости суммы флавоноидов в пересчете на рутин представлены в таблице 37.

Таблица 37- Оценка открываемости содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве *Portulaca oleracea* L

Объем Раствора А, мл	Заложено, мкг/мл	A _i	A _t	Ожидаемая концентрация, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	Открываемость, %
0,5	1	0,0231	0,3120	13,2	13,5	102,3
0,5	1	0,0230	0,3119	13,2	13,6	102,7
0,5	1	0,0231	0,3120	13,2	13,5	102,3
1	2	0,0462	0,3351	14,2	14,5	102,2
1	2	0,0462	0,3351	14,2	14,5	102,2
1	2	0,0463	0,3352	14,2	14,5	102,0
2	4	0,0926	0,3815	16,2	16,5	101,7
2	4	0,0925	0,3814	16,2	16,5	101,8
2	4	0,0927	0,3816	16,2	16,5	101,6
Статистические характеристики					Результаты	
Наименьшее значение, %					101,6	
Наибольшее значение, %					102,7	
Среднее значение, %					102,1	
Стандартное отклонение, S					0,35	
Стандартное отклонение среднего результата, S ₀					0,16	
Коэффициент вариации, S ₀ , %					0,34	
Доверительный интервал (P=0,95), %					0,27(от 101,83 до 102,37)	

Правильность количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве портулака огородного соответствует критериям приемлемости. Коэффициент вариации при n=3 не превышает 2,0 %. Доверительный интервал включает 100 %.

Повторяемость Результаты приведены в таблице (38–39).

Таблица 38- Оценка повторяемости методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин (СО)

№ образец СО	А ₀	Среднее значение	Стандартное отклонение, S	Коэффициент вариации, S ₀ %
1	0,4420	0,4415	0,0005	0,05
2	0,4410			
3	0,4421			
4	0,4415			
5	0,4410			
6	0,4418			

Таблица 39- Оценка повторяемости методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин (ИР)

№ образец ИР	1	2	3	4	5	6
Объем анализируемого образца, мл	1	1	1	1	1	1
А- 1	0,2889	0,2900	0,2885	0,288	0,2895	0,2889
А -2	0,2890	0,2901	0,2885	0,288	0,2895	0,2890
А - 3	0,2890	0,2901	0,2886	0,2881	0,2896	0,2890
Среднее А	0,2889	0,2901	0,2885	0,28803	0,2895	0,2890
Х, мкг/мл	13,09	13,145	13,07	13,05	13,16	13,09
А ₀	0,4415					
Х _{ср} , мкг/мл	13,09					
Статистические характеристики	Результаты					
Стандартное отклонение, S	0,03					
Стандартное отклонение среднего результата, S ₀	0,013					
Коэффициент вариации, S ₀ , %	0,25					
Доверительный интервал (P = 0,95), мкг/мл	0,03(от 13,06 до 13,12)					

Повторяемость разработанной методики соответствует требованиям критериям приемлемости. Коэффициент вариации результатов количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве *Portulaca oleracea*L. при n=6 не превышает 3,0 %.

Методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин применима в интервале от 0,5 до 100 % от номинального значения

содержания флавоноидов. Правильность, линейность, повторяемость установлены для интервальных значений и значений внутри интервала: линейность (0,1-0,2-1-2-5-10-20) мкг/мл, правильность (5-10-20) мкг/мл, повторяемость (100 %).

5.3.1.2. Метод дифференциальной спектрофотометрии с алюминия хлоридом в среде: водный раствор натрия нитрита – раствор натрия гидроксида

Максимум поглощения комплекса рутина с $AlCl_3$ в соответствии с литературными данными находится при длине волны 510 ± 5 нм, [66], что согласуется с результатами наших исследований для СО рутина и испытуемого раствора, полученного из травы *Portulaca oleracea* L. Спектры поглощения представлены на рисунок (38,39). Кроме того, при исследовании зависимости величины оптической плотности от концентрации рутина в анализируемом растворе авторами статьи было показано, что в диапазоне от 3,75 до 60 мкг/мл аналитический сигнал прямо пропорционален содержанию аналита [73].

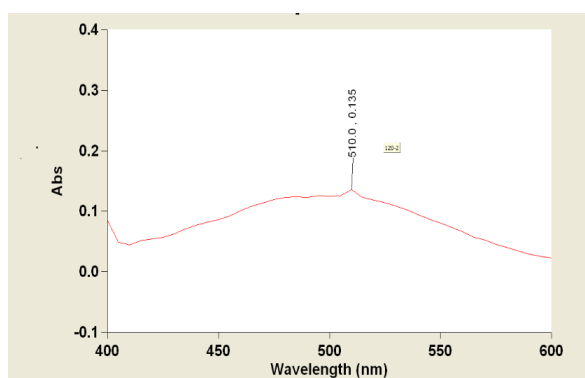


Рисунок.38- Типичный УФ/ВИД-спектр испытуемого раствора

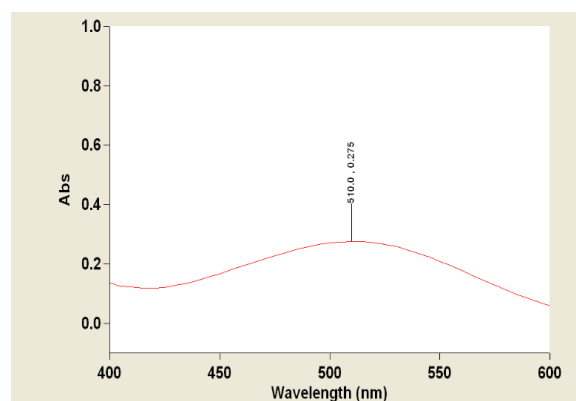


Рисунок 39-Типичный УФ/ВИД-спектр стандартного раствора

Для разработки методики в настоящей работе было изучено влияние степени измельченности сырья, концентрация этанола, соотношение сырье: экстрагент, кратность экстракции на выход флавоноидов. Результаты представлены в таблице 40.

Таблица 40- Влияние различных факторов на полноту извлечения суммы флавоноидов из травы *Portulaca oleracea* L (n=3, P=0,95)

Неизменяемый параметр	Варьируемый параметр	Содержание суммы флавоноидов, %
Степень измельчения, мм		
	7	1,65±0,03
	5	2,34±0,10
	3	2,50±0,12
	2	2,55±0,14
	1	2,70±0,13
	0,5	1,87±0,08
Концентрация EtOH		
Степень измельчения 1 мм	0	1,29±0,06
	30	1,24±0,05
	50	1,36±0,08
	70	2,10±0,09
	90	1,72±0,02
	96	1,15±0,12
Соотношение массы сырья к объему экстрагента		
Степень измельчения 1 мм, EtOH%= 90%	1:10	1,12±0,20
	1:25	1,74±0,24
	1:50	1,71±0,18
	1:100	2,41±0,26
	1:200	2,53±0,25
Время экстракции (мин)		
Соотношение сырье: экстрагент 1:100, степень измельчения 1 мм, EtOH%= 90%	15	2,36±0,03
	30	2,91±0,30
	60	3,34±0,11
	120	3,20±0,25
Кратность экстракции		
Соотношение сырье: экстрагент 1:100, степень измельчения 1 мм, EtOH%= 90%, Время экстракции 60 мин	1	3,21±0,30
	2	3,31±0,50
	3	3,23±0,05

Полученные экспериментальные результаты свидетельствуют, что оптимальный способ извлечения суммы флавоноидов из травы портулака огородного включает: двукратную экстракцию 70% этанолом в течение 60 мин, степень измельчения сырья - 1 мм, и соотношение сырье: экстрагент 1:200.

Представленные данные положены в основу методики определения содержания суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L. суммы флавоноидов.

Метрологические характеристики валидации представлены в таблице 41.

Таблица 41- Метрологические характеристики методики количественного определения сумма флавоноидов в надземной части *Portulaca oleracea* L

n	f	P	t(P,f)	X _{ср} , %	S ²	S	ΔX	E, %
5	4	0,95	2,78	3,24	0,015	0,12	0,15	4,79

Ошибка количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в (n=5) не превышает 5,0 %.

С использованием разработанной методики было проведено содержание суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L., собранной в Сирии и Воронежской области. Результаты представлены в таблице 42.

Таблица 42- Содержание суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L., собранной в Сирии и Воронежской области.

Место сбора <i>Portulaca oleracea</i> L./год сбора	Воронежская область/2017 г.	Воронежская область/2018 г.	Воронежская область/2019 г.	Сирия, Латакия/2019 г.
Содержание сумма флавоноидов%	1,32±0,08	1,62±0,09	1,17±0,03	1,20±0,05

Таким образом, было установлено, что трава *Portulaca oleracea* L. содержит не менее 1 % суммы флавоноидов. При этом содержание флавоноидов находится практически на одном уровне во всех испытуемых образцах, наибольшее содержание флавоноидов отмечается в траве *Portulaca oleracea* L., собранной в Воронежской области в 2017 г., наименьшее – в траве, собранной в Воронежской области в 2019 г.

Результаты определения параметров валидации

Специфичность

Типичные УФ/ВИД-спектры плацебо, стандартного раствора и испытуемого раствора приведены на рисунок (38-39-40). Данные по специфичности методики представлены в таблице 43.

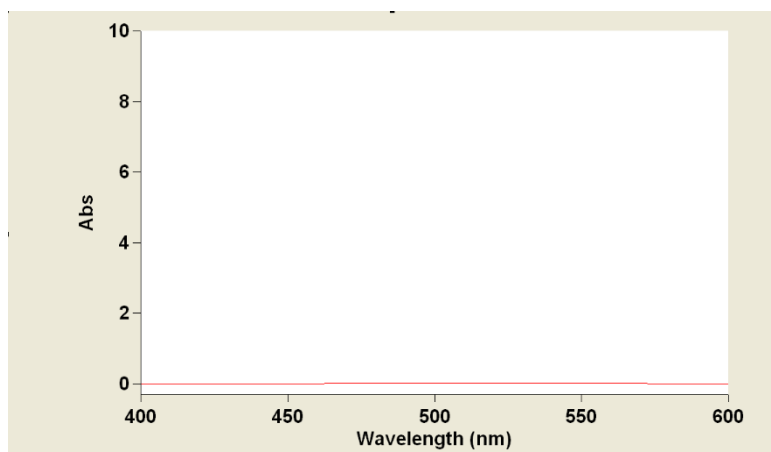


Рисунок 40- Типичный УФ/ВИД-спектр

Таблица 43- Специфичность методики определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве *Portulaca oleracea* L

Измерение	СО	ИР	Совпадение, %
	Длина волны (λ), нм		
1	510,0	510,0	100,0
2	510,0	505,0	99,01
3	510,0	505,0	99,01

УФ/ВИД-спектр поглощения ИР, приготовленного для количественного определения, в области от 400 до 600 нм соответствует УФ/ВИД-спектру поглощения стандартного раствора. Максимумы поглощения находятся при 510 ± 5 нм и совпадают с точностью более 99 %.

УФ/ВИД-спектры раствора плацебо свидетельствуют об отсутствии влияния плацебо на результаты количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин. Мешающее действие плацебо составляет менее 5 %.

Линейность

Приготовление растворов рутина для исследования линейности и оценка линейности определения суммы флавоноидов в пересчете на рутини представлена в таблице 44–45.

Таблица 44- Приготовление растворов рутина для исследования линейности

№ п/п	Объем раствора А, мл	Содержание, %	Концентрация в анализируемом растворе, мкг/мл
1	0,063	6,25	3,75
2	0,125	12,5	7,5
3	0,25	25	15
4	0,5	50	30
5	1	100	60

Таблица 45- Оценка линейности определения флавоноидов

№	A _i -1	A _i -2	A _i -3	A _i -ср.	X, мкг/мл
1	0,0200	0,0201	0,0200	0,0200	3,75
2	0,0640	0,0639	0,0640	0,0640	7,5
3	0,1360	0,1360	0,1359	0,1360	15
4	0,2752	0,2750	0,2750	0,2750	30
5	0,6020	0,6021	0,6020	0,6020	60

Построен график зависимости оптической плотности от концентрации рутина и обработан методом наименьших квадратов рисунок 40.

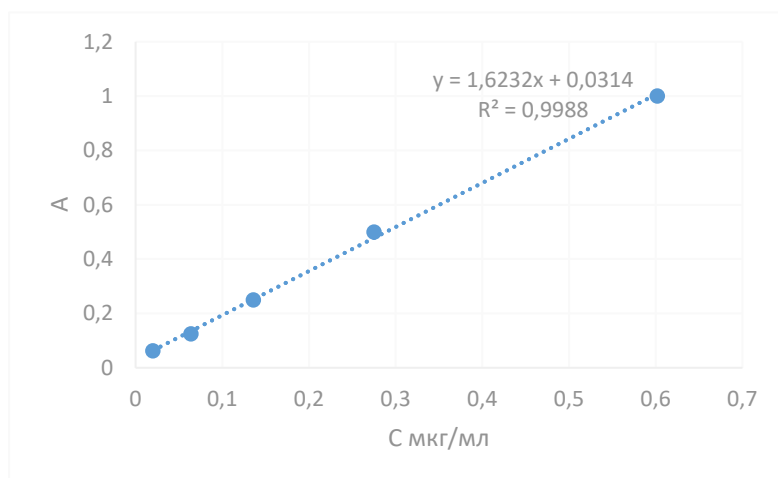


Рисунок 41- Линейная зависимость содержания определения флавоноидов от концентрации в растворе Коэффициент корреляции $r = 0,9988$.

Зависимость между оптической плотностью и концентрацией рутина в стандартном растворе линейна.

Предложенные выше данные показывают, что разработанная методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве портулака огородного является линейной (коэффициент корреляции составляет более 0,995).

Правильность

Результаты определения открываемости суммы флавоноидов в пересчете на рутин представлены в таблице 46.

Таблица 46- Оценка открываемости содержания суммы флавоноидов в пересчете на рутин в препарате

Объем Раствора А, мл	Заложено, мкг/мл	A_i	A_t	Ожидаемая концентрация, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	Открываемость, %
0,5	30	0,275	0,393	12,160	11,775	96,83
0,5	30	0,275	0,393	12,160	11,775	96,83
0,5	30	0,274	0,393	12,160	11,775	96,83
0,25	15	0,136	0,258	7,998	7,780	97,27
0,25	15	0,136	0,258	7,998	7,780	97,27
0,25	15	0,136	0,257	7,998	7,770	97,15
0,125	7,5	0,064	0,188	5,841	5,640	96,56
0,125	7,5	0,064	0,188	5,841	5,640	96,56
0,125	7,5	0,063	0,188	5,841	5,640	96,56
Статистические характеристики					Результаты	
Наименьшее значение, %					96,56	
Наибольшее значение, %					97,27	
Среднее значение, %					96,87	
Стандартное отклонение, S					0,3	
Стандартное отклонение среднего результата, S_0					0,1	
Коэффициент вариации, S_0 , %					0,3	
Доверительный интервал (P=0,95), %					0,23(от 96,33 до 97,50)	

Экспериментальные данные показывают, что правильность разработанной методики определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве портулака огородного соответствует критериям приемлемости. Коэффициент

вариации при $n=9$ не превышает 2,0 %. Доверительный интервал включает 100 %.

Повторяемость

Результаты приведены в таблице (47–48).

Таблица 47- Оценка повторяемости методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин (СО)

№ образец СО	A ₀	Среднее значение	Стандартное отклонение, S	Коэффициент вариации, S ₀ %
1	0,2550	0,2553	0,0004	0,17
2	0,2550			
3	0,2551			
4	0,2560			
5	0,2552			
6	0,2558			

Таблица 48- Оценка повторяемости методики количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин (ИР)

№ образец ИР	1	2	3	4	5	6
Объем анализируемого образца, мл	1	1	1	1	1	1
A- 1	0,1772	0,1770	0,1772	0,1774	0,1771	0,1771
A -2	0,1773	0,1770	0,1772	0,1774	0,1771	0,1770
A - 3	0,1772	0,1761	0,1772	0,1774	0,1770	0,1770
Среднее A	0,1772	0,1770	0,1772	0,1774	0,1770	0,1770
X, мкг/мл	25,11	25,08	25,11	25,14	25,08	25,08
A ₀	0,2258					
X _{ср} , мкг/мл	25,10					
Статистические характеристики	Результаты					
Стандартное отклонение, S	0,024					
Стандартное отклонение среднего результата, S ₀	0,01					
Коэффициент вариации, S ₀ , %	0,1					
Доверительный интервал (P = 0,95), мкг/мл	0,03(от 25,13 до 25,07)					

Проведенный анализ показал, что правильность разработанной методики определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве портулака

огородного соответствует критериям приемлемости (коэффициент вариации при $n=6$ составляет не более 3,0 %).

Методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин применима в интервале от 6,25 до 100 % от номинального значения содержания флавоноидов. Правильность, линейность, повторяемость установлены для интервальных значений и значений внутри интервала: линейность (3,75-7,5-15-30-60) мкг/мл, правильность (7,5-15-30) мкг/мл, повторяемость (100 %).

5.3.3. Сравнительный анализ определения содержания флавоноидов с использованием разработанных методик

Большинство флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L. имеют 3',4'-дигидроксизамещенную структуру [66-153]. Флавоноиды с 3', 4'-дигидроксизамещенной структурой могут проявлять особый цвет при взаимодействии с алюминия хлоридом в среде: водный раствор натрия нитрит – раствор натрия гидроксид. Этот метод основан на реакции иона алюминия с флавоноидом в щелочной среде с образованием красных хелатов (алюминиевая квиноа-структура). Измеряя поглощение таких красных хелатов, можно определить флавоноиды [66].

Результаты сравнение в таблице 49.

Таблица 49- Сравнительные результаты двух методик определения содержания суммы флавоноидов (с алюминия хлоридом в этаноле и с алюминия хлоридом, нитритом натрия в щелочной среде) в траве *Portulaca oleracea* L.

Обр азец	Масса г.	А		А ₀		Х%		Х _{ср} , %	
		NaNO ₂	EtOH	NaNO ₂	EtOH	NaNO ₂	EtOH	NaNO ₂	EtOH
1	1,0000	0,1002	0,3012	0,2258	0,4415	1,51	0,36	1,55±0,1 2	0,36 ±0,01
2	1,0002	0,1052	0,3050	0,2258	0,4415	1,58	0,37		
3	1,0005	0,1040	0,3203	0,2258	0,4415	1,56	0,36		

Следует отметить, что в образовании батохромного комплекса с $AlCl_3$ прежде всего принимают участие свободные 3- и 5-ОН-группы флавоноидов. Данная реакция довольно специфична. Поскольку в траве *Portulaca oleracea* L. содержатся в большей степени флавоноиды с 3', 4'-дигидроксизамещенной структурой, то вторым приведенным методом определения содержания суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L. обнаружено большее количество флавоноидов. То есть, вторая представленная методика определения содержания суммы флавоноидов является предпочтительнее для определения флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L.

Выводы главы 5

1. Спектрофотометрическим методом разработана методика определения суммы полисахаридов и свободных сахаров в траве *Portulaca oleracea* L. В соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012.15 проведена валидация разработанной методики (правильность, линейность, повторяемость соответствуют установленным требованиям; относительная ошибка $\leq 5\%$). Содержание суммы восстанавливающих сахаров в траве *Portulaca oleracea* L. составляет не менее 7 %.

2. Методом титриметрии разработана методика определения суммы свободных органических кислот в траве *Portulaca oleracea* L. Методика верифицирована в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012.15. (относительная ошибка $\leq 5\%$). Суммы свободных органических кислот в траве *Portulaca oleracea* L. составляет не менее 2 %.

3. Методом дифференциальной спектрофотометрии разработана методика определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве *Portulaca oleracea* L., методика валидирована согласно требованиям ОФС.1.1.0012.15 (линейность (0,1-0,2-1-2-5-10-20) мкг/мл, правильность (1-2-4) мкг/мл, повторяемость (100

%) ; относительная ошибка ≤ 5 %). Содержание суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L. составляет не менее 0,3 %.

4. Методом дифференциальной спектрофотометрии с алюминия хлоридом (в среде водный раствор натрия нитрита – раствор натрия гидроксида) разработана альтернативная методика определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве *Portulaca oleracea* L., методика валидирована согласно требованиям ОФС.1.1.0012.15 (относительная ошибка ≤ 5 %). Содержание суммы флавоноидов в надземной части *Portulaca oleracea* L. составляет не менее 1 %.

5. Проведено сравнительное исследование разработанных спектрофотометрических методик определения суммы флавоноидов: с алюминия хлоридом в этаноле и с алюминия хлоридом, нитритом натрия в щелочной среде, в траве *Portulaca Oleracea* L. Показано, что вторая разработанная методика определения суммы флавоноидов является предпочтительнее для определения флавоноидов в траве *Portulaca oleracea* L.

ГЛАВА 6. РАЗРАБОТКА ПРОЕКТА ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬИ

При подготовке проекта нормативной документации на траву *Portulaca oleracea* L. учитывались современные требования к нормативной документации на ЛРС, предъявляемые как в Российской Федерации, так и за рубежом [212]. В ходе работы были установлены и визуализированы морфолого- и анатомо-диагностические признаки травы *Portulaca oleracea* L. (глава 3), которые были использованы при подготовке подразделов «Внешние признаки» и «Микроскопия». Исследование предусматривало получение характеристик цельной травы, измельченной травы и порошка травы *Portulaca oleracea* L., что также нашло отражение в проекте нормативной документации. Подраздел «Микроскопия» содержит описание анатомического строения и анатомо-диагностических признаков цельной и измельченной травы и порошка травы *Portulaca oleracea* L. В подраздел «Внешние признаки» включена информация по морфологическим характеристикам травы *Portulaca oleracea* L. цельной, измельченной и порошка. 4 глава настоящей диссертационной работы знакомит с разработкой качественных реакций для травы портулака огородного и методикой проведения ТСХ. В подразделе «Качественные реакции» описаны специфическая качественная реакция на восстанавливающие сахара (с реактивом Фелинга) и метод ТСХ для восстанавливающих сахаров. Указанные подразделы вошли в проект ФС «Трава портулака огородного» («*Herba Portulacae oleracea* L.») для характеристики качества цельной, измельченной травы и порошка *Portulaca oleracea* L. Проведенное исследование и полученные данные по морфолого-анатомическому анализу, качественному и количественному химическому составу травы *Portulaca oleracea* L. были положены в основу проекта ФС «Трава портулака огородного» («*Herba Portulacae oleracea* L.»). Согласно фармакопейным требованиям проанализированы и получены «Числовые показатели», которые включаются по

требованиям ГФ РФ XIV в раздел «Испытания» и характеризующие качество цельной, измельченной травы и порошка *Portulaca oleracea* L.

Полисахариды – группа веществ, которая хорошо переходит в настой и обеспечивает отхаркивающую и противовоспалительную активность. В связи с чем, разработанная методика и установленная норма содержания суммы восстанавливающих сахаров (глава 5) положена в основу проекта ФС на траву портулака огородного, из которого планируется получение настоя. Срок годности травы *Portulaca oleracea* L. установлен в соответствии с современными требованиями [ОФС 42-0075-07; Q1A(R2) “Stability testing of new drug substances and products” CPMP/ICH/2736/99 (утверждено 02/2003; действует с 08/ 2003); Q1E, “Evaluation of Stability Data” CPMP/ICH/420/02 (02/03; 08/03); Q1F “Stability Data Package for Registration Applications in Climatic Zones III and IV” CPMP/ICH/421/02 (02/03; 08/03); CPMP/QWP/122/02 Rev. 1 “Note for Guidance on Stability Testing of Existing Active Substances and Related Finished Products” Руководство по исследованиям стабильности известных активных веществ и препаратов, содержащих известные активные вещества (утверждено 12/03; действие 03/04); CPMP/QWP/609/96 Rev. 1 “Note for Guidance on Declaration of Storage Conditions for Medicinal Products in the Products Particulars” Требования к информации об условиях хранения, приводимые на упаковке лекарственных препаратов (04/03; 10/03); CPMP/QWP/5 76/96 Rev.1 “Guideline on Stability Testing for Applications for Variations to a Marketing Authorisation” Требования к исследованиям стабильности при подаче заявок на изменения в регистрации; CPMP/QWP/2934/99 “Note for guidance for In-Use Stability Testing of Human Medicinal Products” Требования к испытаниям стабильности в условиях применения лекарственного препарата для человека (02/01; 09/01)] и включен в проект ФС. Данные по стабильности цельной, измельченной травы и порошка в естественных условиях в течение двух лет представлены в таблицах в приложение Б. Частота испытаний, достаточная для установления характеристик стабильности лекарственного препарата выбирается исходя из

условий хранения. Согласно ГФ XIV частота испытаний препарата при хранении в течение двух лет будет составлять: 0, 1, 3, 6, 9, 12, 18 и 24 месяца.

Субстанцию растительного происхождения можно считать стабильной, если в ходе естественного хранения не наблюдается “Существенного изменения” стабильности, к которому относят:

- 5% изменение содержания (по сравнению с исходным значением содержания);

- несоблюдение критериев приемлемости по внешнему виду, физическим свойствам и (подлинность, числовые показатели, количественное определение).

Проект ФС «Трава портулака огородного» («Herba Portulacae oleracea L.») представлен в приложении В.

В ЦКП (НОЦ) РУДН проведены доклинические исследования противовоспалительного действия водного извлечения (настоя, полученного согласно ГФ XIV) портулака (*Portulaca oleracea L.*) на модели «острый формалиновый отёк лапы» и на модели экспериментального перитонита у крыс. На модели «острый формалиновый отёк лапы» у крыс при внутрибрюшинном введении водного извлечения портулака и при введении карпрофена (препарата сравнения) было выявлено снижение проявления «формалинового» отёка. На модели экспериментального перитонита у крыс, установлено что настой портулака огородного отчетливо угнетает процесс образования серозной жидкости (экссудативного воспаления) на фоне экспериментального перитонита. Полученные данные подтверждают противовоспалительную активность травы портулака огородного.

В экспериментах на лабораторных животных изучено противомикробное, противомикотическое действие. Установлено, что водное извлечение портулака огородного обладает противомикробными и антимикотическими свойствами и обладает выраженной ингибирующей активностью по отношению *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, дрожжеподобным грибам *Candida albicans*.

Кроме того, проведено изучение острой токсичности травы портулака огородного, которое показало, что исследуемое сырье является не токсичным. Полученные данные экспериментального фармакологического исследования травы *Portulaca oleracea* L. представлены в приложении Г.

Вывод главы 6

1. Разработан проект ФС «Трава портулака огородного» («*Herba Portulacae oleracea* L.») в соответствии с современными требованиями к нормативной документации на лекарственное растительное сырье (приложение В). Проект ФС включает результаты, полученные в ходе экспериментальных исследований травы *Portulaca oleracea* L.

2. Изучены условия хранения травы портулака огородного и установлен срок годности (2 года). Полученные данные экспериментального фармакогностического исследования травы *Portulaca oleracea* L. положены в основу разработанного проекта фармакопейной статьи «Трава портулака огородного» («*Herba Portulacae oleracea* L.»). Подтверждена противовоспалительная активность, противомикробные и антимикотические свойства, отсутствие токсического действия травы портулака огородного (приложение Г.).

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Выполнено морфолого-анатомическое исследование травы *Portulaca oleracea* L., представлены характеристики морфолого- и анатомо-диагностических признаков цельного, измельченного сырья и порошка. Анатомо-диагностические признаки проиллюстрированы фотографиями и оценены количественно, дана их частота встречаемости.

2. Для цельной, измельченной травы и порошка *Portulaca oleracea* L. предложены числовые показатели: влажность (не более 12 %), экстрактивные вещества (извлекаемых водой - не менее 12 %; извлекаемых спиртом - не менее 30 %); зола общая (не более 25 %), зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте (не более 2 %), кусочки корней (в цельном и измельченном сырье – не более 0,5 %), частицы сырья, изменившие окраску (в цельном и измельченном сырье – не более 2 %), органическая примесь (в цельном, измельченном сырье и поршке – не более 1 %), минеральная примесь (в цельном, измельченном сырье и поршке сырье – не более 1 %); частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм (в цельной траве - не более 5 %); частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм (в измельченной траве – не более 5 %); частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, (в измельченной траве – не более 5 %); частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм (в порошке – не более 5 %); частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм (в порошке – не более 5 %). Тяжелые металлы и мышьяк обнаружены в допустимых количествах (Cd 0,12 ppm, Pb 0,4 ppm, As 0,3 ppm, Ag 0,7 ppm);

3. Проведено изучение химического состава травы *Portulaca oleracea* L. Установлено различными методами содержание фенольных соединений в траве *Portulaca oleracea* L. (Oleracein A, B, C, D, U, W), макро- и микроэлементов (Ca 1945,61±24,41 мг/100г, Fe 59,30±4,17 мг/100г, K 10720,31±1702 мг/100г, Mg 726,75±10,73 мг/100г, Mn 8,85±0,48 мг/100г), органических кислот,

флавоноидов, аскорбиновой кислоты, восстанавливающих сахаров, окисляемых веществ ($1,82 \pm 0,2\%$); липидного комплекса (2,0 %, включает α -линоленовую (23,5%) линолевую (24,7%) и пальмитиновую (25,3%) кислоты, токоферолы (0,02%, где до 40% фракции представлено β - и γ -токоферолами, при приблизительно равном содержании δ -токоферола и α -токоферола (около 30%)), стеринов и тритерпеновых спиртов (691,3 мг/100,0 г (0,7%) фракции представлено β -ситостерином (44%), Δ^7 -ситостерином (13,2%) и циклоартеолом (7,7%)).

4. Подобраны условия и разработаны методики определения содержания БАВ в траве *Portulaca oleracea* L.: суммы полисахаридов и свободных сахаров методом УФ/ВИД-спектрофотометрии; суммы свободных органических кислот методом титриметрии; суммы флавоноидов (со свободными 3- и 5-ОН-группами) в пересчете на рутин методом УФ/ВИД-спектрофотометрии (с алюминия хлоридом в этаноле); суммы флавоноидов (с 3', 4'-дигидроксизамещенной структурой) в пересчете на рутин методом УФ/ВИД-спектрофотометрии (в системе $\text{Na}_2\text{NO}_3\text{-AlCl}_3\text{-NaOH}$). Разработанные методики провалидированы согласно требованиям ГФ РФ XIV (относительная ошибка - менее 5 %). Содержание суммы восстанавливающих сахаров в траве *Portulaca oleracea* L. составляет не менее 7 %; суммы свободных органических кислот - не менее 2 %; суммы флавоноидов (со свободными 3- и 5-ОН-группами) - не менее 0,3 %; суммы флавоноидов (с 3', 4'-дигидроксизамещенной структурой) - не менее 1 %. 3 задача

5. Подтверждена противовоспалительная активность (на модели «формалинового» отека лапы крыс и модели экспериментального перитонита у крыс), противомикробные и антимикотические свойства (по отношению *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, дрожжеподобным грибам *Candida albicans*) исследуемой травы. Изучены условия хранения травы портулака огородного, установлен срок годности (2 года). Полученные данные экспериментального фармакогностического исследования травы *Portulaca*

oleracea L. положены в основу разработанного проекта ФС «Трава портулака огородного» («Herba Portulacae oleracea L.»).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённых исследований дана фармакогностическая оценка сырья "*Portulaca oleracea* L.", подтверждена противовоспалительная активность (на модели «формалинового» отека лапы крыс и модели экспериментального перитонита у крыс), противомикробные и антимикотические свойства (по отношению *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, дрожжеподобным грибам *Candida albicans*) исследуемой травы. Изучены условия хранения травы портулака огородного, установлен срок годности (2 года). Полученные данные экспериментального фармакогностического исследования травы *Portulaca oleracea* L. положены в основу разработанного проекта ФС «Трава портулака огородного» («*Herba Portulacae oleracea* L.»).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты исследования расширяют знания о перспективном лекарственном растительном сырье, богатом полисахаридами, - *Portulaca oleracea*L., позволяют рекомендовать к дальнейшему исследованию и внедрению в медицинскую и фармацевтическую практику нового вида ЛРС – травы *Portulaca oleracea* L. (*Herba Portulacae oleracea* L.). Разработанные в ходе исследований подходы к стандартизации сырья могут быть использованы в учебном процессе по курсу «Фармакогнозия» для высших учебных заведений, а также новые знания о траве *Portulaca oleracea* L. могут быть представлены на семинарах по дополнительному профессиональному образованию фармацевтических работников.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Полученные в ходе диссертационного исследования данные могут быть использованы в дальнейшем при внедрении в медицинскую и фармацевтическую практику травы *Portulaca oleracea* L. (*Herba Portulacae oleracea* L.).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЭС-ИСП	Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой
БАВ	Биологически активные вещества
БАД	Биологически активные добавки
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
ГФ РФ	Государственная Фармакопея Российской Федерации
ГХ	Газовая хроматография
ИР	Испытуемый раствор
ЛРС	Лекарственное растительное сырье
МВ- системе	Микроволновая система
МК	Мерная колба
МС	Масс-спектрометрия
НД	Нормативная документация
ООР	Остаточные органические растворители
ОФС	Общая фармакопейная статья
ПИД	Пламенно-ионизационный детектор
ПТСХ	Пластины для тонкослойной хроматографии АФ - Алюминиевая фольга; УФ - Флуоресцирующие в ультрафиолетовом спектре
АФ-УФ	
СО	Стандартный образец
ТСХ	Тонкослойная хроматография
УФ	Ультрафиолетовый спектр
ЭТААС	Атомно-абсорбционная спектрометрия с пламенной и электротермической атомизацией
ЯМР	Спектроскопия ядерного магнитного резонанса

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Нестерова, Н. В. Фармакогностическое изучение и стандартизация сырья *malus sylvestris* (яблони лесной): дис. ... канд. фармац. наук: 14.04.02 / Самылина И. А. - М., 2019. -247 с.
2. Бу В. Фармакогностическое изучение отдельных представителей рода *Dioscorea L.*: дис. канд. юрид. наук: 14.04.02 /Сорокина А. А.- М., 2014–117 с.
3. Kato, S., and Kawaguchi T. *Portulaca oleracea* in feeds for diarrhea prevention/ S. Kato// Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP-1994- с6.
4. Salunkhe, D. K., and B. B. Desai, *Postharvest Biotechnology of Vegetables*, Vol. I/D. K. Salunkhe // CRC Press, Boca Raton, FL- 1984-181.c
5. Thompson, H. G., and W. C. Kelly, *Vegetable Crops*, 5th ed./H. G. Thompson - McGraw-Hill Book Co., New York, 1957- 611 с.
6. Ricotta, J., and J. B. Masiunas, *The effects of black plastic mulch and weed control strategies on herb yield*/J.Ricotta // HortScience - 1991- с5.
7. Bedmar, F. *Evaluation of different pre-emergence herbicides in sunflower*/F.Bedmar// Tests Agrochem. Cultiv. - 1990- с11.
8. Beste, C. E. *Terbacil selectivity for watermelon*/ C. E. Beste// Brighton Crop Prot. Conf. Weeds-1989-с3.
9. Tiwari, J. P., C. R. Bisen, and K. K. Trivedi, *Herbicides to control weeds in paddy nursery*/ J. P. Tiwari// Pesticides -1987- с11.
10. Ivan, A. R. *Medicinal Plants of the World*, vol. 1: *Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses*, 2nc/ Ivan A. Ross -Humana Press Inc., Totowa, NJ. 2003- 463 с.
11. Boulos, Loutfy and el Hadidi, Nabil M. *The weed flora of Egypt*/Boulos H.- The American Univerity in Cairo Press- 1984-178 с.
12. Lanska D. *The Illustrated Guide to Edible Plants*/ D. Lanska - Chancellor Press- 1992-224с.

13. Plants database: plant profile [Электронный ресурс] / United States Department of Agriculture- National resources conservation service. - 2012 - Режим доступа: <https://plants.sc.egov.usda.gov/java/>
14. Alireza G. and Mahboobeh V. Hypocholesterolemic effects of purslane extracts on serum lipids in rabbits fed with high cholesterol levels/M. Ahmad // International journal of Pharmacology-2007-с3.
15. Grieve Mrs. M. A. Modern Herbal/Mrs. M. Grieve//England-1931-919 с.
16. Huxley A. The New Royal Horticultural Society Dictionary of Gardening/A. Huxle//Nature Pub Group -1992-3000 с.
17. Grieve M. Purslane, Golden A modern Herbal homepage. [Электронный ресурс] /M. Grieve // botanical.Com - 1995 - Режим доступа: <https://www.botanical.com>
18. Cherukuri V. Anusha M. Naresh K. Ranjith K. Elumalai A. A review on phytochemical and pharmacological profile of portulaca oleracea Linn. (Purslane)/V. Cherukuri // Int. J. Res. Ayur. Pharm- 2013-с4.
19. Коллектив авторов. ФЛЮРА СССР Т 6/ Коллектив авторов. - АН СССР-1936- с 956.
20. Seema B. David B. Haytowitz M. Joanne M. USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods/B. Seema //Nutrient Data Laboratory Beltsville Human Nutrition Research Center Agricultural Research Service U.S. Department of Agriculture-2013-с159.
21. Gopalan C., Ramasastrri V. and Balasubramaniam S. Nutitive value of Indian Foods/ C. Gopalan// Hyderabad, India, National Institute of Nutrition-1985-987с.
22. Mercadenate A., Rodriguez-Amaya D. Carotenoid composition and vitamin A value of some native Brazilian green leafy vegetables/A. Mercadenate -Int. J. Food Sci. Technol-1990-188 с .
23. Reddy N., Kulkarni K. Availability of iron from some uncommon edible green leafy vegetables determined by in vitro method,/N. Reddy // Nutr. Rep. Int.-1986-с5.

24. Bharadwaj K. Screening of weeds for oxalic acid,/K. Bharadwaj// Res. Ind.-1988-c3.
25. Kenfield D., Hallock Y., Clardy J., Strobel G. Curvulin and O-methylcurvulinic acid: Phytotoxic metabolites of *Drechslera indica* which causes necrosis on purslane and spiny amaranth/D.Kenfield // Plant Sci.-1989-C60.
26. Mirajkar P., GujarathjiB.,M. Patil T. Studies on leaf protein of *Portulaca* species and other leafy vegetables/P. Mirajkar// Curr. Trends Life Sci.-1984-C11.
27. Omara T. , Mebrhatu T., Prior D., Ezekwe M. Omega-three fatty acids in purslane (*Portulaca oleracea*) tissues/T. Omara// J. Am. Oil Chem. Soc.-1991-C3.
28. Koch H. Purslane. Omega-3 fatty acids in an old medicinal plant/H. Koch// Dtsch. Apoth. Ztg.-1988-C47.
29. Simopoulos A. Terrestrial sources of omega-3 fatty acids: Purslane/A. Simopoulos// Epiteor. Klin. Farmakol. Farmakokinet. -1987-C79.
30. Simopoulos A., Salem N. Purslane: A terrestrial source of omega-3 fatty acids/A. Simopoulos//New Engl. J. Med.-1986-C13.
31. Schneider K., Kubelka W. Omega-3-fatty acids from *Portulaca*an alternative for fish oil/K. Schneider,// OAZ, Oesterr. Apoth. Ztg.-1990-C15.
32. Beaulieu D. Edible Landscaping With Purslane; [Электронный ресурс] /D. Beaulieu //About.com - 2013- Режим доступа:www.About.com
33. Simopoulos A. Omega-3 Fatty Acids and Antioxidants in Edible Wild Plants/A. Simopoulos//Biol Res-2004-C37.
34. Hunter J., n-3 Fatty acids from vegetable oils/J. Hunter// Amer. J. Clin. Nutr.-1990-C5.
35. Duke J., Ayensu E. Medicinal plants of China.Vol.1-2,/J. Duke// Algonac. (Mich.): Reference publ.- 1985, 705 c.

36. Caballero-Salazar S., Riveron-Negrete L., Ordaz-Tellez M., Abdullaev F., Espinosa-Aguirre J. Evaluation Of The Antimutagenic Activity Of Different Vegetable Extracts Using an In Vitro Screening Test/S. Caballero-Salazar// Proc. West. Pharmacol. Soc.-2002-C45.
37. Amirul Alam M., Abdul Shukor J., Rafii M., Azizah Abdul H., Farzad A., Hasan M., Mohd Asraf Mohd Z., Kamal Uddin M. Evaluation of Antioxidant Compounds, Antioxidant Activities, and Mineral Composition of 13 Collected Purslane (*Portulaca oleracea* L.) Accessions/M. Amirul Alam// Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International - 2014-C10.
38. Simopoulos A., Salem J. n-3 Fatty acids in eggs from range-fed Greek chickens/A. Simopoulos// New Engl. J. Med.-1989-C20.
39. Boschelle O., Sblattero S., Da Porto C., Frega N., Lercker G. Lipid composition of *Portulaca oleracea*/O. Boschelle// Riv. Ital. Sostanze Grasse-1991-C6.
40. Awad N. Lipid content and antimicrobial activity of phenolic constituents of cultivated *Portulaca oleracea* L./N. Awad// Bull. Fac. Pharm.1994-C1.
41. Rahman M., Wahed M., M. Akbar Ali M. b-Carotene losses during different methods of cooking green leafy vegetables in Bangladesh/Rahman M.// J. Food Comp. Anal.-1990-C1.
42. Просвещение И. Жизнь растений 1974- 1981, Т.1-6 / И. Просвещение- СССР- 1974.
43. Simopoulos A., Norman H., Gillaspay J., Duke J. Common purslane: a source of omega- 3-fatty acids and antioxidants/A. Simopoulos// J. Am. Coll. Nutr.-1992-C4.
44. Langenberg J., Tjaden U., De Vogel E., Langerak D. Determination of phylloquinone (vitamin K1) in raw and processed vegetables using reversed phase HPLC with electrofluorometric detection/J. Langenberg// Acta Aliment.-1986-C3.

45. Wenzel G. , Fontana G., Correa J. The viscous mucilage from the weed *Portulaca oleracea* L./G. Wenzel// *Appl. Biotechnol. Biotechnol.*-1990-C24.
46. Leung A., Foster, Steven. *Encyclopedia of Common Natural Ingredients used in food, drugs and cosmetics*. 2nd. Edition/A. Leung- John Wiley-1996- 649 С.
47. Рощина В.В. Биомедиаторы в растенияхэ Ацетилхолин и биогенные амины./ В.В. Рощина - Пушкино: Пушкинский НЦ АН СССР- 1991- 193 С.
48. Rodriguez M., Rivas M., Rosiles M. Oxalate levels in wild forage from the states of Hidalgo/M. Rodriguez// Guanajuato, Mexico, Tlaxcala and the federal district, *Veterinaria*-1985-C16.
49. Sakai N., Inada K., Okamoto M., Shizuri Y., Fukuyama Y., Portuloside A. a monoterpene glucoside, from *Portulaca oleracea*/N. Sakai// *Phytochemistry*-1996-C6.
50. Биологически активные вещества растительного происхождения. В трех томах./ Б.Н.Головкин, Р.Н.Руденская, И.А. Трофимова, А.И. Шретер.- М.: Н. -Российская академия наук, Главный ботанический сад им. НВ. Цицина-2001.-764 С.
51. Sreeramulu N., Ndossi G., Mtotomwema K. Effect of cooking on the nutritive value of common food plants of Tanzania: Part 1 Vitamin C in some of the wild green leafy vegetables/N. Sreeramulu// *Food Chem.*-1983-C3.
52. Ganju K., Puri B., Bioflavonoids from Indian vegetables and fruits/K. Ganju// *Indian J. Med. Res.*-1959-C47.
53. Boehm H., Boehm L. , Nixdorf H., Rink E. Manufacture of yellow betalains with plant cell cultures/H. Boehm// *Ger. (East)* -1989-C12.
54. Strack D., Schmitt D., Reznik H., Boland W., Grotjahn L. , Wary V. Humilixanthin, a new betaxanthin from *Rivina humilis*/D. Strack// *Phytochemistry*-1987-C8.

55. Sirithon S., Maitree S. Microchemical Components and Antioxidant Activity of Different Morphological Parts of Thai Wild Purslane (*Portulaca oleracea*)/S. Sirithon// Weed Science-2010-C6.
56. Portulaca L. purslane [Электронный ресурс] / NRCS - 2003- Режим доступа: <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=PORTU>"
57. Salunkhe D. K. Handbook of Vegetable Science and Technology : Production, Composition, Storage, and Processing Food Science and Technology/D. K. Salunkhe // Marcel Dekker, Inc.CRC Press -1998-1316 C.
58. Maikhuri R. K., Gangwar A. K. Ethnobiological notes on the Khasi and Garo tribes of Meghalaya/R. K.Maikhuri//Northeast India. Econ Bot -1993-C4.
59. Saklani A., Jain S. K. Ethnobotanical observations on plants used in Northeastern India/A. Saklani// Int J Crude Drug Res -1989-C27.
60. Facciola S. Cornucopia: A Source Book of Edible Plants/ S. Facciola-Kampong Publications;-1990- 677 C.
61. Bown D. The Royal Horticultural Society. Encyclopaedia of Herbs and their uses/D. Bown- Dorling Kindersley Book- 1995- 424 C.
62. Chiej R. The Macdonald Encyclopoedia of Medicinal Plants. Reprinted 1988/R.Chiej - Macdonald Orbis-1988 -474 C.
63. Kegan P. L., and Henley P. L. A barefoot doctor's manual prepared by the revolutionary health committee of human province routledge/ P. L. Kegan-Cloudburst Press; - 1978-209C.
64. Lassa. E. V., McCarthy T. Australian Medicinal Plants/ E. V. Lassak-Reed New Holland- 2011-309 C.
65. Foster S., Duke J. A. A Field Guide to Medicinal Plants and Herbs. 2nd Ed/S. Foster - Boston: Houghton Mifflin Company-1999-411 C.
66. Hongbin Z., Yuzhi W., Yuxuan L., Yalin X., Tian T. Analysis of Flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV–Vis Spectrophotometry with

- Comparative Study on Different Extraction Technologies/Z. Hongbin// Food Anal. Methods-2010-C3.
67. Vitasović K. et al. Using Ellenberg-Pignatti values to estimate habitat preferences of wild food and medicinal plants: an example from northeastern Istria/K. Vitasović //Croatia. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine-2017-C18.
 68. Rangel L. et al. Sociocultural and ecological factors influencing management of edible and non-edible plants: the case of Ixcatlán/L. Rangel// Mexico. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine-2017-C46.
 69. Sansanelli et al. Ethnobotanical survey of wild food plants traditionally collected and consumed in the Middle Agri Valley /Sansanelli//Basilicata region, southern Italy. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine -2017-C37.
 70. Mubashir Masoodi, Bahar Ahmad, Showkat R., Mir Bilal Zarger. Portulaca oleracea L. A Review /Mubashir H. Masoodi // urnal of Pharmacy Research 2011-C4.
 71. Quisumbing E. Medicinal Plants of the Philippines/E. Quisumbing-Philippines, Quezon City, Katha Publishing Company, JMC PRESS- 1978-272 C.
 72. Ramirez V. R., Mostacero L. J., Garcia A. E., Mejia C. F., Pelaez P. F. , Medina C. D., Miranda C. H. Vegetales empleados en medicina tradicional Norperuana./R. V.Ramirez //Peru- Banco Agrario Del Peru & NACL Univ Trujillo -1988- C54 .
 73. Duke J. A., Ayensu E. S. Medicinal Plants of China. 2 Vols./J. A. Duke- Inc. Algonac. Michigan, 1300 Strichzeichnungen. Reference Publ.- 1985-705 C.
 74. Leung A.Y., Foster S. Encyclopedia of Common Natural Ingredients used in food, drugs and cosmetics. 2nd. edition./A.Y. Leung - John Wiley- 1996 - 843 C.

75. Murray J. A. *Plants and Drugs of Sind*/ J. A. Murray-London, Richardson and Co.-1881-306 C.
76. Darias V., Brando L., Rabanal R., Sanchez Mateo C., Gonzalez Luis R. M., Hernandez Perez A. M. New contribution to the ethnopharmacological study of the Canary Islands./V. Darias// *J Ethnopharmacol*- 1989-C25.
77. Lokar L. C., L. Poldini L. Herbal remedies in the traditional medicine of the Venezia Giulia Region (Northeast Italy)/ L. Lokar// *J Ethnopharmacol*- 1988-C 22.
78. Iwu Maurice M. *Handbook of African Medicinal Plants*/M. Iwu Maurice - CRC Press.- 1993-506 C.
79. Boulos L. *Medicinal Plants of North Africa*/L. Boulos- Algonac, Michigan, Reference Publications - 1983-286 C.
80. Jaradat et al. Ethnopharmacological survey of medicinal plants practiced by traditional healers and herbalists for treatment of some urological diseases in the West Bank/Jaradat et al./Palestine, *BMC Complementary and Alternative Medicine*-2017-C17.
81. Kalr S. L., Kalr L. D. Medicinal plant wealth of the Karimnagar District of Andhra Pradesh/ S. L. Kalr *Bull //Med Ethnobot Res*-1980-C24.
82. Ikram M. A review on the medicinal plants/M. Ikram// *Hamdard*- 1981-C24.
83. Oakes A. J., Morris M. P. The West Indian weedwoman of the United States Virgin Islands/A.J. Oakes// *Bull Hist Med*- 1958-C32.
84. Asprey G. F., Thornton P. Medicinal plants of Jamaica./ G. F. Asprey// *West Indian Med J*-1955-C20.
85. Roig Y Mesa J. T. *Plantas Medicinales, Aromaticas o Venenosas de Cuba*/J. T. Roig Y Mesa - Ministerio de Agricultura, Republica de Cuba, Havana- 1945- 87C.
86. Kong Y. C. Plants used for rheumatism, arthritis and related conditions in Chinese traditional medicine/Y. C. Kong- *Personal Communication*-1977-407 C.

87. Na Chang, Ziwen Luo, Dengwu Li, Huiying Song .Indigenous Uses and Pharmacological Activity of Traditional Medicinal Plants in Mount Taibai, China/Chang Na // Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine- 2017-C11.
88. Amiri M. S., Joharchi M. R., TaghavizadehYazdi M. E. Ethnomedicinal plants used to cure jaundice by traditional healers of Mashhad, Iran/ M. S. Amiri// Iran. J. Pharm. Res 13-2014 -C5.
89. Getnet C. Ethnobotanical study of medicinal plants used against human ailments in Gubalafto District, Northern Ethiopia/C. Getnet// Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine-2017-C42.
90. Dai YC, Zheng L, Zhang YL, Chen X, Chen DL, Wang LJ, Tang ZP. Jianpi Qingchang decoction regulates intestinal motility of dextran sulfate sodium-induced colitis through reducing autophagy of interstitial cells of Cajal/ YC Dai// World J Gastroenterol -2017-C23.
91. Singh Y. N. Traditional medicine in Fiji. Some herbal folk cures used by Fiji Indians/Y. N. Singh // J Ethnopharmacol- 1986-C15.
92. Quisumbing E. Medicinal plants of the Philippines/E. Quisumbing // Tech Bull 16, Rep Philippines, Dept Agr Nat Resources, Manilla- 1951-272 C.
93. Ayensu E. S. Medicinal plants of the West Indies./E. S. Ayensu - Reference Publications-1981-110 C.
94. Hodge W. H., Taylor D. The ethnobotany of the Island Caribes of Dominica/W.H.Hodge // WEBBIA- 1956-C131 .
95. Macfoy C. A., Sama A. M. Medicinal plants in Pujehun District of Sierra Leone/C. A. Macfoy // J Ethnopharmacol- 1983-C8.
96. Haerdi F. Native medicinal plants of Ulanga District of Tanganyika (East Africa): Dissertation, Verlag Fur Recht Und Gesellschaft Ag, Basel. Dissertation'Ph.D.'Univ Basel-1964-145 C.
97. Burkill H.M. The useful plants of West Tropical Africa. Edition 2. Vol. 4. / H.M. Burkill-Families M-R. Royal Botanic Gardens Kew-1997-981C.

98. Luu C. Notes on the traditional pharmacopoeia of French Guyana/C. Luu// Plant Med Phytother-1975-C9.
99. Weniger B., Rouzier M. , Daguilh R., Henrys D., Henrys J. H., Anthon R. Popular medicine of the Central Plateau of Haiti/B. Weniger// Ethnopharmacological inventory. J Ethnopharmacol-1986-C17.
100. Okwuasaba F., Ejike C , Parry O. Skeletal muscle relaxant properties of the aqueous extract of *Portulaca oleracea*/F. Okwuasaba//J Ethnopharmacol-1986-C17.
101. Adesina S. K. Studies on some plants used as anticonvulsants in Amerindian and African traditional medicine/S.K. Adesina// Fitoterapia-1982-C15.
102. Rageau J. Les Plantes Medicinales de la Nouvelle-Cal Edonie/J. Rageau//Trav & Doc De Lorstom, Paris- 1973-139 C.
103. Hope B. E., Massey D. G. , Fournier-Massey G. Hawaiian materia medica for asthma/B. E. Hope //Hawaii Med J-1993-C6.
104. Goh S. H., Soepadmo E. , Chang P., Barnerjee U. , et al. Studies on Malaysian medicinal plants. Preliminary results/S.H. Goh// Proc 5th Asian Symposium on Medicinal Plants and Spices South Korea-1984-C5.
105. Yao Damu, Zhang Jingbao. Colored Atlas of Chinese Materia Medica specified in the Pharmacopoeia of the People's Republic of China/Damu Yao -Guandong Science & Technology press -1996-524 C.
106. Евразийская экономическая комиссия/Единый реестр свидетельств о государственной регистрации // URL: https://portal.eaeunion.org/sites/odata/_layouts/15/portal.eec.registry.ui/directoryform.aspx?listid=0e3ead06-5475-466a-a340-6f69c01b5687&itemid=231#f=%D0%BF%D0%BE%D1%80%D1%82%D1%83%D0%BB%D0%B0%D0%BA (дата обращения: 08.12.2021).
107. Ramesh Londonkar, Hanumantappa Nayaka B. Phytochemical and antimicrobial activities of *portulaca oleracea*/ Londonkar Ramesh// Journal of Pharmacy Research -2011-C4.

108. Walaa Hozayen, Mouhamed Bastawy, Haidy Elshafeey. Effects of Aqueous Purslane (*Portulaca oleracea*) Extract and Fish Oil on Gentamicin Nephrotoxicity in Albino Rats./Hozayen Walaa //Nature and Science-2011-C9.
109. Soliman et al. Assessment of herbal drugs for promising anti-Candida activity/Soliman// BMC Complementary and Alternative Medicine-2017-C17.
110. Sarmin N.I.M., Tan G.Y.A., Franco C.M.M., Edrada-Ebel R., Latip J. , Zin N.M. *Streptomyces kebangsaanensis* sp. nov., an endophytic actinomycete isolated from an ethnomedicinal plant, which produces phenazine-1-carboxylic acid/N.I.M. Sarmin // Int. J. Syst. Evol. Microbiol-2013-C63.
111. Franzblau S. G., Cross C. Comparative in vitro antimicrobial activity of Chinese medicinal herbs/S.G. Franzblau// J Ethno-pharmacol-1986-C15.
112. Namba T., Tsunozuka M., Bae K. H., Hattori M. Studies on dental caries prevention by traditional Chinese medicines. Part 1. Screening of crude drugs for antibacterial action against *Streptococcus mutans*/T. Namba// Shoyakugaku Zasshi-1981-C7.
113. Misas C. A. J., Hernandez N. I. M. R., Abraham A. M. L. Contribution to the biological evaluation of Cuban plants/C. A. J. Misas // V. Rev Cub Med Trop- 1979-C6.
114. Kamal Uddin Md, Abdul Shukor Juraimi, Eaqub Ali Md and Mohd Razi Ismail. Evaluation of Antioxidant properties and mineral composition of purslane (*portulaca oleracea*) at different growth stages /Uddin Md Kamal //Int. J. Mol. Sci.-2012-C13.
115. Mohamed A. Dkhill, Ahmed E. Abdel Moniem, Saleh Al-Quraishy and Reda Awadallah Saleh Antioxidant effect of purslane (*Portulaca oleracea*) and. its mechanism of action ./ A. Dkhill Mohamed//Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(9),-2011-C26.

116. Agha-Hosseini F., Borhan-Mojabi K., Monsef-Esfahani HR, Mirzaii-Dizgaah I., Etemad-Moghadam S., Karagah A. Efficacy of purslane in the treatment of oral lichen planus. / F.Agha-Hosseini//Phytother Res.-2010-C24.
117. Xiang L., Xing D., Wang W., Wang R., Ding Y., Du L. Alkaloids from *Portulaca oleracea* L/L.Xiang // Phytochemistry-2005-C6.
118. Kaveh M., Eidi A., Nemati A., Boskabady MH. Modulation of lung inflammation and immune markers in asthmatic rats treated by *Portulaca oleracea* M.Kaveh// Avicenna J Phytomed-2017-C7.
119. Zhang Y., Deng LC., Shen WS. Antipruritic prescription treatment for acneiform eruption caused by targeted anticancer agents/Y. Zhang// Zhejiang Journal of Integrated Traditional Chinese, vol. 19-2009-C2.
120. H. Y. Wang, Zou C., Cui H. J. , Wang W., Jiao S. C., Li J. L. EGFRIs-related rash treated with external Chinese medicinal with actions of clearing heat and draining dampness in 120 cases/H.Y. Wang// Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, vol. 20-2013-C3.
121. Rasha Hamed Mahmoud, Lamiaa Barakat AA. The antiatherogenic, renal protective and immunomodulatory effects of purslane on hypercholesteromic rats/Mahmoud Rasha Hamed // North American Journal of Medical Sciences -2011-C6.
122. Madiha Farghaly, Hamdy Taha, Soliman M. Soliman, Uama Fathy and Ahmed H. Bedair. Subchronic feeding study of fenitrothion residues in maize and the protective action of purslane (*portulaca oleracea*) extracts on rats/ Farghaly Madiha// Journal of Applied Sciences Research-2012-C8.
123. Karimi G., Hosseinzadeh H., Ettehad N. Evaluation of the gastric antiulcerogenic effects of *Portulaca oleracea* L. extracts in mice/G. Karimi// Phytother Res-2004-C3.
124. An Sook Lee, Jin Sook Kim , Yun Jung Lee , Dae Gill Kang , and Ho Sub Lee .Anti-TNF- α Activity of *Portulaca oleracea* in Vascular Endothelial Cells/ Lee An Sook// Int. J. Mol. Sci. -2012-C13.

125. Ahmad Movahedian, Alireza Ghannadi, Mahboobeh Vashirnia. Hypocholesterolemic effects of purslane extracts on serum lipids in rabbits fed with high cholesterol levels. /Movahedian Ahmad //International journal of Pharmacology-2007-C4.
126. Sankary Sastry Pragda. Kuppast IJ, Mankani KI, Ramesh L. Evaluation of antihyperlipidemic activity of leaves of portulaca oleracea Linn against dexamethasone induced hyperlipidemia in rats/Sastry Pragda Sankary // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences-2012-C4.
127. Manal M.S.M Shehatal, Sahar S.A Soltan. The effects of purslane and celery on hypercholesteromic mice/M.S.M Shehatal Manal // World journal of diary and food science -2012-C9.
128. Changizi-Ashtiyani et al. The Portulaca oleracea effects on hypercholesterolemia/Changizi-Ashtiyani et al.// ZJRMS-2013-C6.
129. Besong et al. Evaluating the effects of freeze-dried supplements of purslane (Portulaca oleracea) on blood lipids in hypercholesterolemic adults/Besong et al.// International Journal of Nutrition and Metabolism Vol. 3(4)-2011-C6.
130. Shobeiri S.F., Sharei S., Heidari A., Kianbakht S. Portulaca oleracea L. in the treatment of patients with abnormal uterine bleeding: a pilotclinical trial/ S.F. hobeiri// Phytotherapy research-2009-C10.
131. An Sook Lee, Yun Jung Lee, So Min Lee, Jung Joo Yoon, Jin Sook Kim, Dae Gill Kang, Ho Sub Lee. Portulaca oleracea ameloriates diabetic vascular inflammation and endothelial dysfunction in db-db Mice/ Lee An Sook// Evidence- based complementary and alternative medicine-2012-C9.
132. Bruno Moukette Moukette et al. Antioxidant and Synergistic Antidiabetic Activities of a Three-Plant Preparation Used in Cameroon Folk Medicine/Moukette Bruno Moukette // Hindawi International Scholarly Research Notices-2017-C7.

133. Ramadan et al. Hypoglycemic and pancreatic protective effects of *Portulaca oleracea* extract in alloxan induced diabetic rats/Ramadan//BMC Complementary and Alternative Medicine-2017-C20.
134. Anusha M., Venkateswarlu M., Prabhakaran V., Shareen Taj S., Pushpa Kumari B., Ranganayakulu D. Hepatoprotective activity of aqueous extract of *Portulaca oleracea* in combination with lycopene in rats/M. Anusha // Indian Journal of Pharmacology-2011-C5.
135. Ali SI, Said MM, Hassan EK. Prophylactic and curative effects of purslane on bile duct ligation-induced hepatic fibrosis in albino rats/SI Ali // Annals of hepatology-2011-C3.
136. Sudhakar D., Krishna Kishore R.Parthasarthy P. R . *Portulaca oleracea* L. extract ameliorates the Cisplatin-induced toxicity in chick embryonic liverD. Sudhakar// Indian Journal of Biochemistry & Biophysics-2010-C4.
137. Zheng Guoyin et al. Antihepatocarcinoma Effect of *Portulaca oleracea* L. in Mice by PI3K-Akt-mTOR and Nrf2-HO-1-NF- κ B Pathway/Guoyin Zheng // Hindawi Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine -2017-C11.
138. Gholamreza Karimi, Alireza Khoei, Abbas Omid, Mahmudreza Kalantari, Javad Babaei, Elahe Taghiabadi, Bibi Maijan Razavi. Protective effect of aqueous and ethanolic extracts of *portulaca oleracea* against cisplatin induced nephrotoxicity/Karimi Gholamreza // Iranian Journal of Basic Medical Sciences-2010-C4.
139. Chan K., Islam M., Kamil M., Radhakrishnan R., Zakaria M., Habibullah M., Attas A. The analgesic and anti-inflammatory effects of *Portulaca oleracea* L. subsp. *sativa* (haw.) Celak/K. Chan// J Ethnopharmacol-2000-C6.
140. Lee AS, Lee YJ, Lee SM, Yoon JJ, Kim JS, Kang DG, Lee HS. An aqueous extract of *Portulaca oleracea* ameliorates diabetic nephropathy through suppression of renal fibrosis and inflammation in diabetic db-db mice/AS Lee // Am J Chin Med-2012-C15.

141. Karimi G., Khoei A., Omidi A., Kalantari M., Babaei J., Taghiabadi E., Razavi BM. Protective effect of aqueous and ethanolic extracts of *Portulaca oleracea* against cisplatin induced nephrotoxicity/G. Karimi// Iranian J Basic Med Sci.2010-C2.
142. Hongxing Z., Nancai Y., Guofu H., Jiambo S., Yanxia W., Hanju H., Qian L., Wei M., Yandong Y., Hao H., Neuroprotective effects of purslane herb aqueous extracts against D- galactose induced neurotoxicity/Z. Hongxing//Chem Biol. Intract.-2007-C7.
143. Ahmed Abdel Moneim, Ibrahim Al Nasr, Mohamed Dkhil A, Saleh Al-Quraishy. Neuronal activities of *portulaca oleracea* in adult rats/Moneim Ahmed Abdel // Journal of medicinal plant Research-2012-C6.
144. Wanyin Wang MB, Limin Gu MB, Liwei Dong MB,Xiaoli Wang MB, Changquan Ling, Min Li. Protective effect of *portulaca oleracea* extracts on hypoxic nerve tissue and its mechanism/Wang MB Wanyin // Asia Pac J Clin. Nutr-2007-C6.
145. Jagan Rao, Mallikarjuna Rao B., Kavitha R., Subash KR., Binoyvarghese Chariyan. Evaluation of anti-arthritis activity of pet-ether extract of *portulaca oleracea*/Rao Jagan // International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology-2012-C4.
146. Huang Y., Dong L., Protective effect of purslane in a rat model of ulcerative colitis/Y. Huang// China journal of Chinese material medica-2011-C19.
147. Farhadpour F., Alvany A., Khakpour B., Ahmadi R., and Mahdavi E. The Effects of *Portulaca oleracea* Seed Hydroalcoholic Extract on Pain Threshold/F. Farhadpour// International Conference on Food, Biological and Medical Sciences (FBMS-2014)-2014-C2.
148. Chan K., Islam M. W., Kamil M.,Radhakrishnan R. , Zakaria M. N., Habibullah M., Attas A. The analgesic and anti-inflammatory effects of *Portulaca oleracea* L. subsp. *Sativa* Haw/K. Chan Celak// J Ethnopharmacol-2000-C6.

149. Xiang et al. Polysaccharides from *Portulaca oleracea* L Improve Exercise Endurance and Decrease Oxidative Stress in Forced Swimming Mice/Xiang// Trop J Pharm Res-2014-C2.
150. Zhongxin Xu, Ying Shan. Anti-fatigue effects of polysaccharides extracted from *Portulaca oleracea* L. in mice/Xu Zhongxin //Indian Journal of Biochemistry & Biophysics Vol. 51-2014-C4.
151. Пояркова Н.М., Сапарклычева С.Е. Физиологическая роль фенольных соединений // АОН. 2019. №4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/fiziologicheskaya-rol-fenolnyh-soedineniy> (дата обращения: 07.11.2021).
152. Zijuan Yang, Cejia Liu , Lan Xiang, Yinan Zheng. Phenolic Alkaloids as a New Class of Antioxidants in *Portulaca oleracea*/Yang Zijuan // phytotherapy research-2009-C4.
153. Yan-Xi Zhou, Hai-Liang Xin, Khalid Rahman, Su-Juan Wang, Cheng Peng, and Hong Zhang. *Portulaca oleracea* L.: A Review of Phytochemistry and Pharmacological Effects / Zhou Yan-Xi//Hindawi Publishing Corporation ,BioMed Research International- 2015-C11.
154. Erich Grotewold. The Science of Flavonoids/Grotewold Erich //Springer Science and Business Media-2006-C2.
155. Сорокина О. Н., Сумина Е. Г., Петракова А. В., Барышева С. В. Спектрофотометрическое определение суммарного содержания флавоноидов в лекарственных препаратах растительного происхождения/ О. Н. Сорокина//Известия Саратовского ун-та. Новая серия. Сер. Химия. Биология. Экология- 2013-С3.
156. Дмитриенко В. А., Кудринская В.А., Апяри В. В Методы выделения, конденсирования и определения кверцетина/ В. А. Дмитриенко// Журн. анализ, химии- 2012-С13.

157. Зиятдинова Г. К., Будников Г. К. Определение флавонолов в фармпрепаратах методом вольтамперометрии /Г. К. Зиятдинова // Хим.-фарм. Журн.-2005-С2.
158. Михайловна Ф. Г., Михайловна М. В., Геннадьевна Г. Е., Викторова П. М. Методическое пособие по фармакогнозии Фитохимический анализ растительного сырья, содержащего флавоноиды / Ф. Г. Михайловна -ГОУ ВПО Иркутский государственный медицинский университет минсоцразвития РФ Иркутск- 2009–67 С.
159. Shi Y., Cai D., Wang X., Liu X. Immunomodulatory Effect of Ganoderma Lucidum Polysaccharides (GLP) on Long-Term Heavy-Load Exercising Mice/Y. Shi// Int J Vitam Nutr Res -2012-C7.
160. Montoya S., Sanchez O.J., Levin L. Polysaccharide production by submerged and solid-state cultures from several medicinal higher Basidiomycetes/S. Montoya // Int J Med Mushrooms-2013-C8.
161. Dong C.X., Hayashi K., Lee J.B., Hayashi T. Characterization of structures and antiviral effects of polysaccharides from *Portulaca oleracea* L./C.X. Dong, // Chem Pharm Bull, Tokyo-2010-C3.
162. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 1 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с. 1079–1083.
163. Никулин А. В., Терещенко Г. С., Потанина О. Г. Определение суммы полисахаридов и свободных сахаров в листьях мать-и мачехи методом УФ-спектрофотометрии/ А. В. Никулин//Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии-2016-С3.
164. Зайнидинов А.О., Хайдаров В.Р., Убайдуллаев К. А. Предварительный фитохимический скрининг *Portulaca oleracea* L./ А.О. Зайнидинов // Вестник магистратуры-2016-С3.
165. Anyasi T. A., Jideani A. I. O., Edokpayi J. N., Anokwuru C. P. Application of organic acids in food preservation/T. A. Anyasi // Nova Science Publishers, Inc.-2017-C2.

166. Romero Rodriguez M.A., Vazquez Oderiz M.L., Lopez Hernandez J., Simal Lozano J. Determination of Vitamin C and Organic Acids in Various Fruits by HPLC/Romero M.A. Rodriguez //Journal of Chromatographic Science, Vol. 30-1992-C7.
167. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 4. министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с. 6124–6128.
168. Баландина И.А. Совершенствование принципов и методов фармакопейного анализа в системе стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных средств на его основе: автореф. дис. док. фарм. наук: 14.04.02 / И.А.Баландина; Москва, 2004. – 38 с.
169. ГОСТ Р 91500.05.001–00. Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения. Введ. 01.03.2000. - М.: Изд-во стандартов, 1999. – 23 с.
170. Pharmacopoeia of the People's Republic of China., v.I, 2005. / Chinese Pharmacopoeia Commission-2005.
171. Миронова А. Н..Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том 2. /А. Н. Миронова. //- М., ГФ РФ. Гриф и К-2019- 280 С.
172. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том III. – М.: полиграф-плюс, 2014–344 с.
173. Руководство по экспертизе лекарственных средств [Текст] / М-во здравоохранения Российской Федерации, Федеральное гос. бюджетное учреждение "Науч. центр экспертизы средств мед. применения"; [редкол.: Борисевич И. В. и др.]. - Москва: ФГБУ "НЦЭСМП" Минздрава России
174. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 2 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с. 2220–2227.

175. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 2 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с. 2327–2348.
176. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии / Ф. Гейсс- М.: Мир- 1999–405 с.
177. Саушкина А.С. Использование ТСХ для идентификации биологически активных веществ в некоторых видах лекарственного сырья /А.С. Саушкина, В.А.Карпенко, Л.Н.Савченко, Д. А. Муравьева//Сорбционные и хроматографические процессы-2001-СЗ.
178. Сумина, Е.Г. Тонкослойная хроматография. Теоретические основы и практическое применение. / Е.Г.Сумина, С.Н.Штыков, Н.В.Тюрина//Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2002–102 с.
179. Шаршунова М. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. т.2. / М.Шаршунова, В.Шварц , Ч.Михалец // М.: «Мир»-1980– 610 с.
180. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 2 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с. 2361–2364.
181. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 2 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с. 2356–2360.
182. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 1 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.981-982.
183. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 2 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.2355.
184. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 2 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.2349–2354.

185. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 1 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.977-980.
186. Никулин А.В. Платонов Е.А. Потанина О.Г. Комбинированная методика определения элементного состава лекарственного растительного сырья/ А.В. Никулин//Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Российский центр фармацевтической и медико-технической информации университет- Том: 65Номер: 2 Год: 2016-С3.
187. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 2 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.2370–2382.
188. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 1 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.784-795.
189. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 1 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.796-811.
190. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 1 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.889-893.
191. Горяинов С. В., Хромов А. В. , Бакуреза Г., Эспарса Сесар,Ивлев В. А. , Воробьев А. Н., Абрамович Р. А., Потанина О. Г. , Новиков О. О. Результаты сравнительного исследования состава масел семян *Nigella Sativa* L./ Горяинов С. В.//Scientific and practical journal pharmacy and pharmacology-2019-С11.
192. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 1 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.894-910.

193. Пирогов А.В., Бендрышев А.А. Анализ пищевой продукции определение водорастворимых витаминов в пищевых продуктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектро- метрическим детектированием/Пирогов А.В.//Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет-2013-С8.
194. Yulian Voynikov, Reneta Gevrenova, Vessela Balabanova, Irini Doytchinova, Paraskev Nedialkov, Dimitrina Zheleva-Dimitrova. LC-MS analysis of phenolic compounds and oleraceins in aerial parts of *Portulaca oleracea* L./Voynikov Yulian //Journal of Applied Botany and Food Quality-2019-Vol 92-C14.
195. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 2 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.2365–2369.
196. Никулин А.В., Ямщикова С.И., Потанина О.Г., Абрамович Р.А.Определение суммы восстанавливающих сахаров и водорастворимых полисахаридов в субстанциях растительного происхождения / А.В.Никулин // Биофармацевтический журнал- 2018- С8.
197. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 1 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.276-289.
198. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 1 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.1079–1083.
199. Количественное определение сахаров по реакции с пикриновой кислотой (по Крезелиус - Зейферт) [Электронный ресурс] /studbooks.net - 2013- Режим доступа: https://studbooks.net/2279803/matematika_himiya_fizika/kolichestvennoe_opredelenie_saharov_reaktsii_pikrinovoy_kislotoy_krezelius_zeifert

200. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 4 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.9972-9978.
201. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 1 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.272-275.
202. Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV, том 1 //министерство здравоохранения Российской Федерации, 2018; с.400-404.
203. Нассер Р. Никулин А. В., Потанина О. Г. Стандартизация травы *portulaca oleracea* / Р.Нассер // II Международной научно-практической конференции «Гармонизация подходов к фармацевтической разработке» Москва, Россия, 14–17 ноября 2019 г. С2.
204. Нассер Р. Никулин А. В., Платонов Е. А., Потанина О. Г. Определение тяжелых металлов в травах *Portulaca Oleracea* L. Методом атомно-абсорбционной спектрометрии /Р.Нассер// III Международной научно-практической конференции «Гармонизация подходов к фармацевтической разработке» Москва, Россия, 25 ноября 2020 г.; 2020. Том 9, № 4, приложение 1. С2.
205. Nasser R. Pisarev D.I., Novikov O.O., Zhilyakova E.T., Boyko N.N., Abramovich R.A., Potanina O.G., Lazar S., Sayed Ahmad A. Development of the Composition and Technology of a Granular Dosage form Based on a Thick Milk Thistle Extract and Ademetionine. / R. Nasser // Drug development & registration. 2020;9(2):C7. (In Russ.)
206. Нассер Р. Никулин А. В. Ямщикова С., Потанина О. Г. Содержание восстанавливающих сахаров в лекарственном растительном сырье *portulaca oleracea* l. / Р. Нассер // Седьмой научной конференции с международным участием «Современные тенденции развития

- технологий здоровьесбережения» Сб. науч. трудов, М., ВИЛАР, 2019 г. С7.
207. Nasser R. Chevidaev V.V., Bokov D.O., Potanina O.G., Nikulin A.V., Samylina I.A., Sokhin D.M., Sergunova E.V., Bobkova N.V., Kovaleva T.Yu., Rendyuk T.D., Janulis V., Morokhina S.L., Grikh V.V., Krasnyuk I.I., Galiakhmetova E.K., Moiseev D.V. Methodical Basis for Analysis of Monosaccharide Profile of the Polysaccharide Complex in the Mixture Herbal Product (Pectorales Species No 2) / R. Nasser // Systematic Review Pharmacy 2020; 11(6). С8.
208. Nasser R. Bokov D.O., Sharipova R.I., Potanina O.G., Nikulin A.V., Samylina I.A., Chevidaev V.V., Kakhramanova S.D., Sokhin D.M., Klyukina E.S., Rendyuk T.D., Janulis V., Krasnyuk I.I., Bessonov V.V. Polysaccharides of Crude Herbal Drugs as a Group of Biologically Active Compounds in the Field of Modern Pharmacognosy: Physicochemical Properties, Classification, Pharmacopoeial Analysis / R. Nasser // Systematic Review Pharmacy Vol 11, Issue 6, 2020. С7
209. Нассер Р. Никулин А. В., Потанина О. Г. Содержание суммы органических кислот в траве *Portulaca oleracea* L. / Р. Нассер // вопросы обеспечения качества лекарственных средств. №4 (34) 2021. С11.
210. Нассер Р. Никулин А. В., Потанина О. Г. Development and validation of the free organic acids determination procedure in *portulaca oleracea* s aerial parts (*portulaca oleracea* L.) / Р. Нассер // XXIII Международной научной конференции ФИТОФАРМ 2019, Санкт-Петербург, Россия, 1–3 июля 2019г. С2.
211. Нассер Р. Никулин А. В., Потанина О. Г. Содержание флавоноидов в лекарственном растительном сырье *portulaca oleracea* L. / Р. Нассер // Сборник трудов международной научной конференции молодых учёных «современные тенденции развития технологий здоровьесбережения, фгбну вилар 2020 г. С6.

212. Миронова А. Н..Руководство по экспертизе лекарственных средств.
Том 2. /А. Н. Миронова. //- М., ГФ РФ. Гриф и К-2013- 280 С.

Приложение А. БАД, содержащие *Portulaca oleracea* LТаблица А.1- БАД, содержащие *Portulaca oleracea* L (по данным Единого реестра свидетельств о государственной регистрации ЕЭК, <https://portal.eaeunion.org>)

Название БАД	Производитель	Состав БАД	Гигиеническая характеристика в части биологически активных веществ/ область применения
Биологически активная добавка к пище "Дневные добавки Essentials" (AM & PM Essentials™) (капсулы "Дневные" массой 1810,95 мг и капсулы "Ночные" массой 1576,006 мг)	"JEUNESSE LLC"	Кальция карбонат, E460, кальция дифосфат, E551, E553, E570, аскорбиновая кислота, порошок соевого лецитина, E468, никотинамид, L-глутамин, витамин Е, экстракт листьев гинкго билоба, E171, экстракт листьев бурачника, омега-3, экстракт примулы, E552, L-таурин, L-фенилаланин, L-тирозин, калия битартрат, порошок семян пажитника, корень ячменя, экстракт корня куркумы, экстракт листьев зеленого чая, E470, E1521, дигидрат кверцетина, плод кайенского перца, кальция цитрат, цинка глюконат, альфа-липоевая кислота, L-карнитин-тарtrat, экстракт семян гуараны, маточное молочко, лизиновый комплекс меди, витамин В6, селенометионин, тиамин, молибдат натрия, L-карнитин, коэнзим Q10, экстракт портулака , рибофлавин, метилсульфонилметан, птеростильбен, аскорбилпальмитат, глюконат марганца, витамин А пальмитат, никотинат хрома, холекальциферол, рибофлавин-5-фосфат.	(В мг): витамин С - 52,935, витамин РР - не более 25,5, витамин Е - 21,7, витамин В6 - не более 2,4, В2 - не более 2,4, витамин А - 0,19/, тиамин - 2,4, витамин Д3 - 0,6 мкг, L-глутамин - 25, флавоноиды в пересчете на кверцетин - 7, кверцетин - 7,125, проантоцианидины - 4,5, куркумин - 6,5, альфа-липоевая кислота - 5, коэнзим Q10 - 2,5, кальций - 280, медь - 0,168, молибден - 5 мкг, хром - 25 мкг, магний - 0, ванадий - 0 мкг, селен - 7 мкг.
Биологически активная добавка к пище "Дневные и ночные добавки Essentials" (AM & PM Essentials™) (капсулы "Дневные" массой 1810,95 мг и капсулы "Ночные" массой 1576,006 мг)	"JEUNESSE LLC"	Кальция карбонат, магния оксид, аскорбиновая кислота, L-глутамин, L-аргинин, E460, порошок соевого лецитина, никотинамид, E468, дикальция фосфат, E570, инозитол, экстракт листьев бурачника, омега-3, экстракт примулы, E552, витамин Е, экстракт корня куркумы, L-тирозин, E470, экстракт кожицы винограда, E551, L-таурин, дигидрат кверцетина, плод кайенского перца, корень ячменя, глюконат магния, альфа-липоевая кислота, E171, витамин В6, E553, маточное молочко, аскорбат цинка, рибофлавин, экстракт портулака , L-карнитин-тарtrat, селенометионин, экстракт корня горца сахалинского, молибдат натрия, E1521, коэнзим Q10, лизиновый комплекс меди, метилсульфонилметан, тиамин, птеростильбен, аскорбилпальмитат, пикногенол, глюконат марганца, экстракт кордицепса, витамин А, никотинат хрома, витамин Д3, рибофлавин-5-фосфат, ванадия сульфат.	(В мг): витамин С - 103,95, витамин РР - не более 34,4, витамин Е - 15,0, витамин В6 - не более 3,39, В2 - не более 3,0, витамин А - 0,19, тиамин - 1,26, витамин Д3 - 0,45 мкг, L-глутамин - 105, флавоноиды в пересчете на кверцетин - 7, кверцетин - 7,125, проантоцианидины - 5,5, куркумин - 6,7, альфа-липоевая кислота - 5, коэнзим Q10 - 1,75, кальций - 268, медь - 0,08, молибден - 4 мкг, хром - 20 мкг, магний - 66,57, ванадий - 13,8 мкг, селен - 7 мкг.
Биологически активная добавка к пище "Финити"	"Progressive Laboratories	Рисовая мука, холина битартрат, экстракт водоросли Комбу, E464, экстракт листьев портулака , коэнзим Q10,	Дополнительный источник витаминов С, Е, источник

Продолжение таблицы А.1

(FINITI™) (капсулы по 425 мг)		аскорбиновая кислота, декстрин, экстракт корня китайского астрагала, смешанные токотриенолы и токоферол комплекс, E551, E302, пиридоксаль-5-фосфат, E578	фукоидана, коэнзима Q10, содержащей витамин B6 (мг/капс.): холин - идентификация, фукоидан, не менее - 56, флавоны - идентификация, коэнзим Q 10 - 12,782, витамин C - 12,171, витамин E - 2,2, витамин B6-0,27
Биологически активная добавка к пище: "АртроСила", капсулы по 0,4г №60	GUIZHOU MIAOYITANG YAOYE CO.	Атрактилодес ланцентный, эвкоммия вязовидная, псоралея лецинолистная, семена редьки огородной, гинура перистонадрезная, даляньваньская устрица, плод альпинии остролистной, соевый изофлавоны, корица, портулак огородный .	В доступных источниках отсутствует
Биологически активная добавка к пище "Н-зим" торговой марки "Oriyen" ("Oriyen Bio N-zymes") (бутыли объемом 1000 мл)	"Cosway (M) Sdn Bhd"	Фруктоолигосахариды, сахарный тростник, смесь овощей, фруктов и трав (петрушка, листья, морковь, колокольчик, грибы шиитаке, древесина шелковицы, листья редиса, листья моркови, сосновые иглы, томаты, огурцы, бобы мунга, азиатский плантайн, одуванчик, листья хурмы, корейский латук, хурма, ростки бамбука, ячменное сено, виноград, киви, тыква, слива, яблоко, груша, мандарин, цитрон, лопух, картофель, батат, красная водоросль, кукуруза, шпинат, капуста, латук, стручковый красный	Дополнительный источник: фруктоолигосахаридов (г/100 г): фруктоолигосахариды 38,5
		перец, тыквенные семечки, баклажан, дыня, слок, кактус опунция, портулак обыкновенный, японская жимолость, хауттюния сердцелистная, мята перечная, редис, папоротник-орляк, пророщенная красная фасоль, семечки сафлора, корень корейского имбиря, брокколи, ягоды боярышника, трутовик-гриб, донг куай, сухая цедра апельсина, Cassia Tora L., горошек зеленый пророщенный, аурикулярия уховидная, вишня, лакрица (солодка украинская), устричный гриб, люцерна пророщенная, имбирь, ямс китайский (диоскорея супротиволистная), облачный гриб, бок чой, грецкий орех, кордицепс военный, личи, опёнок зимний, красные финики, спаржа, черные финики, лонган, водоросль конбу, сельдерей, свекла, грейпфрут, корень китайской спаржи, кокос, гуава, маракуйя, слива умеко, водный шпинат, стручковый перец, канталуп, водоросль нори, дыня, авокадо, амарант, пророщенный арахис, цукини, инжир, клубника, лимон, ананас, папайя, восковая тыква, цветная капуста)	
Биологически активная добавка к пище "ДИАБЕТВЕЛЛ" в капсулах"	MELISA FARM D.O.O.	Инулин, мальтодекстрин, сухой экстракт листьев портулака огородного , диоксид кремния, желатин (капсулы).	Источник инулина (содержание в капсуле, мг, не менее): инулин - 150, флавоноиды в пересчете на

Продолжение таблицы А.1

(Swiss Nature "DIABETWELL") (капсулы массой 425 мг)			рутин - 0,5.
Биологически активная добавка к пище "Китто ВайтэлГолд" ("Kitto VitalGold") (пакетики по 15 мл)	"Kittolife Co.	Экстракты растений (зерна ячменя, ягоды шелковицы, плоды платана, плоды малины, листья пастушьей сумки обыкновенной, грибы шиитаке, корни одуванчика, трава пустырника, листья и стебли портулака , листья хризантемы сибирской, листья хризантемы дикой, корни колокольника ландцетного, побеги бубенчика, листья мелиссы, листья молочного чертополоха, трава хвоща полевого, семена ахирантеса, побеги бамбука, листья лука скорода, листья лука репчатого, побеги дудника корейского, листья чеснока, плоды ююбы, сосновая хвоя, корни пуэрарии, редис молодой, листья смирнии золотистой, листья белокопытника, корень имбиря, плоды абрикоса, листья будры, плоды лимонника китайского, плоды сливы, ягоды кудрании триостренной, листья хризантемы увенчанной, плоды зеленого перца чили, листья шпината, корень якона, листья цикория, листья и стебли салата- латук, аобегги зеленого лука, плоды моркови, плоды свеклы, плоды репы, корни лопуха, ягоды винограда, плоды абрикоса японского, плоды персика, плоды дайкона, плоды тыквы обыкновенной, листья капусты кудрявой, кожура плодов цитрона, плод момордики бальзамической, плод огурца, плод хурмы, листья капусты кочанной, листья капусты краснокочанной, плоды корейской черной малины, плоды топинамбура, плоды восковой тыквы, ростки пшеницы), хитозан, мальтийский сироп, таурин, смесь витаминная в порошке (витамины - В1, В2, В6, С), L-аргинин, лимонная кислота.	Биологически активной добавки к пище, мг/пакетик: железо - 0,5, флавоноиды в пересчете на рутин - 5,0, антоцианы - идентификация, дубильные вещества - идентификация, сапонины - 3,0, инулин - 0,6 г, хитозан - 1,3 г, витамин С - 10,0, витамины В1, В2, В6 - идентификация.
Биологически активная добавка "Сбор №15"	Компания с ограниченной ответственностью по производству лекарственных средств "Оливковая ветвь"	Листья бамбука плетеночного, листья вайды индиговой, порошок листьев вайды индиговой, трава фиалки токийской, трава портулака огородного , листья витекса круглолистного, листья кассии тора, листья пиррозии языковидной, листья мандарина, листья гинкго билоба, тычинки цветка лотоса орехоносного, черешки листьев лотоса орехоносного.	Биологически активная добавка к пище: антраценпроизводные - не менее 0,07%, флавоногликозиды - не менее 0,025%, полисахариды - не менее 6,0%.
Биологически активная добавка к пище "Вита Тандем Псорилен" ("Psorilen") (таблетки массой 1030 мг)	"Archon Vitamin Corporation"	Экстракт коры кошачьего когтя, масло семян льна, масло семян тыквы, бразильский орех, листья портулака огородного , корень дудника китайского, семена фенхеля обыкновенного, цветы ромашки аптечной, трава шлемника широколистного, экстракт семян грейпфрута, корень лопуха большого, плоды перца кайенского, трава коровяка	Дополнительный источник витамина Е, цинка, кальция, флавоноидов, флаволигнанов, глицирризиновой кислоты.: Витамин Е, мг/табл. - 14,1. Цинк, мг/табл. - 1,7. Флаволигнаны

Продолжение таблицы А.1

		обыкновенного, листья малины обыкновенной, плоды расторопши пятнистой - силимарин, кора ивы белой, цветки алтея лекарственного, листья пиретрума девичьего, витамин Е (альфа-токоферол ацетат), кальция цитрат, цинк аминоксидат, экстракт корня солодки голой.	(силимарин), мг/табл. - 29,0. Сумма флавоноидов в пересчете на рутин, мг/табл. - 5,0. Танины, мг/табл. - 3,0. Глицирризиновая кислота, мг/табл. - 1,0.
Биологически активная добавка к пище "Кампо Гойосо ча" (порошок в пакетах по 1,0 г)	"Минато Фармасьютикл Ко.	Экстракт травы портулака огородного	Источник флавоноидов и органических кислот (мг/пак.): сумма флавоноидов (в пересчете на рутин) - 0,50. сумма органических кислот (в пересчете на яблочную кислоту) - 10,0
Биологически активная добавка к пище "Каша "Путизь моло" (пакетики массой 10 г)	Дальняя компания по развитию биотехнологии	Порошок склеродий пории кокосовидной, плоды бусенника обыкновенного, трава портулака огородного , луковицы лилии Броуна, щетинник итальянский, чумизо, итальянское просо	Дополнительный источник пищевых волокон, источника гидроксикоричных кислот и флавоноидов, не менее: пищевые волокна, г/пак. - 7,0, гидроксикоричные кислоты (5-кофеилхинная кислота), мг/пак. - 0,45, флавоноиды в пересчете на рутин, мг/пак. - 4,0
Биологически активная добавка к пище: "АртроСила", капсулы по 0,4г №60, №40	GUIZHOU MIAOYITANG YAOYE CO.	Атрактилодес ланцентный, эвкоммия вязовидная, псоралея лецинолистная, семена редьки огородной, гинура перистоадрезная, даляньваньская устрица, плод альпинии остролистной, соевый изофлавоон, корица, портулак огородный .	В доступных источниках отсутствует
Биологически активная добавка к пище "ДИАБЕТВЕЛЛ" (Swiss Nature "DIABETWELL") (инстантный порошок в пакетиках по 5 г)	MELISA FARM D.O.O.	Сорбитол, мальтодекстрин, бета-каротин, инулин, порошок апельсина, натуральный ароматизатор апельсина, сухой экстракт листьев портулака огородного .	Источник инулина (содержание в 1 пакетике, мг, не менее): инулин - 225.

Приложение Б. Данные по стабильности травы в естественных условиях в течение двух лет

Таблица Б.1- Данные по стабильности цельной травы в естественных условиях в течение двух лет (серия 1)

Месяц	Внешний вид	Запах	Вкус водного извлечения	Подлинность		Числовые показатели					Количественное определение	
				ТСХ	Качественная реакция с реактивом Фелинга	Влажность %,	Примеси	измельченность	Зола %,	Зола, нерастворимая в 10% HCl %,		Содержание суммы восстанавливающих сахаров %,
0	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	*	+	5,72±0,72	+	+	23,74±1,52	1,47±0,2	9,14±0,62
1	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	+	5,62±0,33	+	+	23,54±1,24	1,41±0,26	9,10±0,51
3	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	+	5,53±0,10	+	+	22,24±0,75	1,32±0,40	9,13±0,42
6	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	+	6,02±0,22	+	+	23,14±0,82	1,31±0,21	9,09±0,56
9	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	+	6,19±0,64	+	+	22,44±1,44	1,32±0,15	9,11±0,42
12	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	+	5,91±0,52	+	+	24,64±0,41	1,27±0,32	9,08±0,67
18	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	+	6,18±0,73	+	+	22,24±0,62	1,17±0,12	9,05±0,68
24	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	+	5,45±0,54	+	+	24,14±1,22	1,29±0,42	9,01±0,12
25	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	+	5,43±0,22	+	+	24,04±0,91	1,33±0,12	9,00±0,42

* Примечание. Символ «+» - означает, что показатель качества соответствует проекту НД. Субстанцию можно считать стабильной: изменение содержания (по сравнению с исходным значением содержания) действующих веществ не более 5% и не наблюдается изменений по внешнему виду и остальным показателям качества (подлинность, числовые показатели, количественное определение).

Таблица Б.2- Данные по стабильности цельной травы в естественных условиях в течение двух лет (серия 2)

Месяц	Внешний вид	Запах	Вкус водного извлечения	Подлинность		Числовые показатели					Количественное определение
				ТСХ	Качественная реакция с реактивом Фелинга	Влажность %	Примеси	измельченность	Зола %	Зола, нерастворимая в 10% HCl %	
0	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	5,51±0,22	+	+	22,44± 1,31	1,35±0,62	8,92±0,32
1	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	5,49±0,41	+	+	22,14± 1,03	1,37±0,45	8,89±0,24
3	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	5,42±0,22	+	+	22,31± 1,22	1,31±0,37	8,82±0,26
6	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	6,10±0,33	+	+	23,21± 0,70	1,29±0,34	8,77±0,15
9	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	6,21±0,30	+	+	22,64± 1,12	1,34±0,46	8,72±0,41
12	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	5,94±0,24	+	+	23,72± 0,61	1,29±0,38	8,65±0,61
18	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	6,09±0,56	+	+	22,75± 0,85	1,21±0,27	8,61±0,24
24	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	5,32±0,23	+	+	23,22± 1,12	1,28±0,39	8,25±0,21
25	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	5,29±0,41	+	+	23,21± 0,61	1,30±0,31	8,21±0,34

* Примечание. Символ «+» - означает, что показатель качества соответствует проекту НД.

Субстанцию можно считать стабильной: изменение содержания (по сравнению с исходным значением содержания) действующих веществ не более 5% и не наблюдается изменений по внешнему виду и остальным показателям качества (подлинность, числовые показатели, количественное определение).

Таблица Б.3- Данные по стабильности цельной травы в естественных условиях в течение двух лет (серия 3)

Месяц	Внешний вид	Запах	Вкус водного извлечения	Подлинность		Числовые показатели					Количественное определение
				ТСХ	Качественная реакция с реактивом Фелинга	Влажность %,	Примеси	измельченность	Зола %,	Зола, нерастворимая в 10% HCl %,	
0	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+*	+	6,23±0,40	+	+	22,61± 1,33	1,22±0,47	9,21±0,22
1	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	6,01±0,21	+	+	22,42± 1,12	1,21±0,22	9,22±0,64
3	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	6,29±0,12	+	+	21,18± 0,41	1,22±0,61	9,14±0,25
6	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	7,13±0,142	+	+	22,10± 0,80	1,23±0,31	9,10±0,26
9	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	7,26±0,45	+	+	21,92± 1,30	1,26±0,21	9,13±0,52
12	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	6,82±0,21	+	+	23,21± 0,81	1,14±0,24	9,05±0,23
18	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	7,22±0,43	+	+	23,22± 0,82	1,11±0,15	9,00±0,24
24	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	6,67±0,22	+	+	23,03± 1,11	1,21±0,21	8,99±0,26
25	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизитый	+	+	6,52±0,11	+	+	23,15± 0,22	1,23±0,32	8,91±0,41

* Примечание. Символ «+» - означает, что показатель качества соответствует проекту НД.

Субстанцию можно считать стабильной: изменение содержания (по сравнению с исходным значением содержания) действующих веществ не более 5% и не наблюдается изменений по внешнему виду и остальным показателям качества (подлинность, числовые показатели, количественное определение).

Таблица Б.4- Данные по стабильности измельченной травы в естественных условиях в течение двух лет (серия 1)

Месяц	Внешний вид	Запах	Вкус водного извлечения	Подлинность		Числовые показатели					Количественное определение
				ТСХ	Качественная реакция с реактивом Фелинга	Влажность %,	Примеси	измельченность	Зола %,	Зола, нерастворимая в 10% HCl %,	
0	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+*	+	6,51±0,52	+	+	22,66± 0,11	1,22±0,22	9,04±0,12
1	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,16±0,51	+	+	22,24± 0,52	1,21±0,21	9,21±0,15
3	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,05±0,85	+	+	22,37± 0,45	1,18±0,42	8,93±0,51
6	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,50±0,74	+	+	22,19± 0,21	1,20±0,31	9,02±0,22
9	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,62±0,22	+	+	22,76± 0,22	1,25±0,23	9,04±0,14
12	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,45±0,84	+	+	22,91± 0,72	1,27±0,32	9,01±0,10
18	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,65±0,53	+	+	22,84± 0,81	1,17±0,11	8,90±0,31
24	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,04±0,22	+	+	23,07± 1,42	1,29±0,42	8,87±0,23
25	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,07±0,11	+	+	23,1± 0,93	1,12±0,11	8,88±0,15

* Примечание. Символ «+» - означает, что показатель качества соответствует проекту НД.

Субстанцию можно считать стабильной: изменение содержания (по сравнению с исходным значением содержания) действующих веществ не более 5% и не наблюдается изменений по внешнему виду и остальным показателям качества (подлинность, числовые показатели, количественное определение).

Таблица Б.5- Данные по стабильности измельченной травы в естественных условиях в течение двух лет (серия 2)

Месяц	Внешний вид	Запах	Вкус водного извлечения	Подлинность		Числовые показатели					Количественное определение
				ТСХ	Качественная реакция с реактивом Фелинга	Влажность %	Примеси	измельченность	Зола %	Зола, нерастворимая в 10% HCl %	
0	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+*	+	6,32±0,51	+	+	21,26± 0,32	1,18±0,21	8,34±0,23
1	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,21±0,52	+	+	21,14± 0,62	1,16±0,31	8,37±0,24
3	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,13±0,82	+	+	21,25± 0,43	1,12±0,14	7,99±0,27
6	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,46±0,71	+	+	21,15± 0,26	1,14±0,21	8,04±0,15
9	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,52±0,22	+	+	21,56± 0,34	1,17±0,16	8,02±0,42
12	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,62±0,81	+	+	21,62± 0,64	1,16±0,47	8,01±0,31
18	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,65±0,53	+	+	21,71± 0,49	1,12±0,64	7,95±0,35
24	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,09±0,22	+	+	22,12± 1,12	1,15±0,45	7,91±0,41
25	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,16±0,11	+	+	22,15± 0,2	1,10±0,53	7,89±0,32

* Примечание. Символ «+» - означает, что показатель качества соответствует проекту НД.

Субстанцию можно считать стабильной: изменение содержания (по сравнению с исходным значением содержания) действующих веществ не более 5% и не наблюдается изменений по внешнему виду и остальным показателям качества (подлинность, числовые показатели, количественное определение).

Таблица Б.6- Данные по стабильности измельченной травы в естественных условиях в течение двух лет (серия 3)

Месяц	Внешний вид	Запах	Вкус водного извлечения	Подлинность		Числовые показатели					Количественное определение
				ТСХ	Качественная реакция с реактивом Фелинга	Влажность %	Примеси	измельченность	Зола %	Зола, нерастворимая в 10% HCl %	
0	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+*	+	5,31±0,24	+	+	21,62± 0,31	1,31±0,31	9,13±0,23
1	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	5,21±0,21	+	+	21,31± 0,24	1,29±0,31	9,12±0,34
3	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	5,15±0,6	+	+	21,24± 0,24	1,25±0,42	9,06±0,42
6	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	5,41±0,21	+	+	21,26± 0,31	1,25±0,26	9,07±0,32
9	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	5,51±0,21	+	+	21,54± 0,31	1,24±0,24	9,03±0,54
12	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	5,52±0,31	+	+	21,82± 0,24	1,26±0,24	9,06±0,31
18	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	5,51±0,24	+	+	21,84± 0,24	1,23±0,26	9,02±0,36
24	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	5,24±0,31	+	+	22,01± 1,2	1,22±0,34	9,00±0,30
25	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	5,29±0,16	+	+	22,13± 0,2	1,20±0,21	8,95±0,24

* Примечание. Символ «+» - означает, что показатель качества соответствует проекту НД.

Субстанцию можно считать стабильной: изменение содержания (по сравнению с исходным значением содержания) действующих веществ не более 5% и не наблюдается изменений по внешнему виду и остальным показателям качества (подлинность, числовые показатели, количественное определение).

Таблица Б.7- Данные по стабильности порошка в естественных условиях в течение двух лет (серия 1)

Месяц	Внешний вид	Запах	Вкус водного извлечения	Подлинность		Числовые показатели					Количественное определение
				ТСХ	Качественная реакция с реактивом Фелинга	Влажность %,	Примеси	измельченность	Зола %,	Зола, нерастворимая в 10% HCl %,	
0	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+*	+	6,72±0,21	+	+	22,82± 0,12	1,27±0,48	9,14±0,23
1	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,44±0,43	+	+	23,42± 0,23	1,21±0,24	9,11±0,14
3	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,31±0,54	+	+	23,17± 0,34	1,24±0,12	9,03±0,32
6	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,77±0,12	+	+	23,09± 0,56	1,22±0,24	9,05±0,46
9	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,85±0,45	+	+	22,06± 0,12	1,23±0,33	9,02±0,67
12	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,62±0,54	+	+	22,01± 0,61	1,17±0,74	9,00±0,45
18	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,82±0,26	+	+	22,52± 0,56	1,12±0,55	8,85±0,14
24	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,51±0,75	+	+	22,58± 0,24	1,19±0,24	8,79±0,32
25	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,49±0,32	+	+	22,24± 0,26	1,10±0,52	8,72±0,13

* Примечание. Символ «+» - означает, что показатель качества соответствует проекту НД.

Субстанцию можно считать стабильной: изменение содержания (по сравнению с исходным значением содержания) действующих веществ не более 5% и не наблюдается изменений по внешнему виду и остальным показателям качества (подлинность, числовые показатели, количественное определение).

Таблица Б.8- Данные по стабильности порошка в естественных условиях в течение двух лет (серия 2)

Месяц	Внешний вид	Запах	Вкус водного извлечения	Подлинность		Числовые показатели					Количественное определение
				ТСХ	Качественная реакция с реактивом Фелинга	Влажность %,	Примеси	измельченность	Зола %,	Зола, нерастворимая в 10% HCl %,	
0	соотв. требованиям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+*	+	6,65±0,13	+	+	21,32± 0,24	1,13±0,32	8,23±0,23
1	соотв. требованиям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,71±0,24	+	+	22,24± 0,34	1,14±0,31	8,26±0,54
3	соотв. требованиям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,43±0,34	+	+	22,26± 0,24	1,10±0,16	8,14±0,56
6	соотв. требованиям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,82±0,18	+	+	22,12± 0,21	1,14±0,14	8,13±0,21
9	соотв. требованиям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,92±0,26	+	+	21,91± 0,24	1,19±0,23	8,06±0,67
12	соотв. требованиям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,71±0,41	+	+	21,98± 0,21	1,12±0,26	8,02±0,24
18	соотв. требованиям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,94±0,34	+	+	21,87± 0,31	1,16±0,34	7,99±0,46
24	соотв. требованиям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,64±0,39	+	+	21,84± 0,34	1,15±0,24	7,90±0,34
25	соотв. требованиям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,61±0,24	+	+	21,89± 0,14	1,14±0,24	7,86±0,24

* Примечание. Символ «+» - означает, что показатель качества соответствует проекту НД.

Субстанцию можно считать стабильной: изменение содержания (по сравнению с исходным значением содержания) действующих веществ не более 5% и не наблюдается изменений по внешнему виду и остальным показателям качества (подлинность, числовые показатели, количественное определение).

Таблица Б.9- Данные по стабильности порошка в естественных условиях в течение двух лет (серия 3)

Месяц	Внешний вид	Запах	Вкус водного извлечения	Подлинность		Числовые показатели					Количественное определение
				ТСХ	Качественная реакция с реактивом Фелинга	Влажность %,	Примеси	измельченность	Зола %,	Зола, нерастворимая в 10% HCl %,	
0	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+*	+	6,23±0,37	+	+	21,46± 0,24	1,31±0,31	9,24±0,34
1	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,14±0,52	+	+	22,22± 0,13	1,32±0,21	9,20±0,31
3	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,29±0,41	+	+	22,13± 0,24	1,34±0,34	9,22±0,14
6	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,32±0,49	+	+	22,12± 0,34	1,32±0,32	9,19±0,31
9	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,45±0,36	+	+	21,99± 0,32	1,30±0,12	9,15±0,21
12	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,40±0,41	+	+	21,91± 0,41	1,26±0,26	9,12±0,14
18	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,49±0,34	+	+	21,95± 0,62	1,27±0,19	9,04±0,23
24	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,31±0,34	+	+	21,98± 0,24	1,21±0,17	8,99±0,21
25	соотв. треб-ниям	Специфический	Слабокислый, слизистый	+	+	6,33±0,31	+	+	21,94± 0,31	1,19±0,24	8,91±0,26

* Примечание. Символ «+» - означает, что показатель качества соответствует проекту НД.

Субстанцию можно считать стабильной: изменение содержания (по сравнению с исходным значением содержания) действующих веществ не более 5% и не наблюдается изменений по внешнему виду и остальным показателям качества (подлинность, числовые показатели, количественное определение).

Приложение В. ФС «Трава портулака огородного»
(«Herba Portulacae oleracea L.»)

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Портулака огородного трава

Portulacae oleracea L. herba

Собранная в фазу цветения и высушенная трава дикорастущего однолетнего травянистого растения портулака огородного – *Portulacae oleracea L.*, сем. портулаковые – *Portulacaceae*.

ПОДЛИННОСТЬ

Внешние признаки

Цельная трава. Представляет собой смесь облиственных стеблей и их кусочков, иногда с цветками и семенами различной степени зрелости, измельченных, реже цельных листьев и цветков.

Стебли округлые с продольно-бороздчатой поверхностью, без опушения, длиной до 25 см, с маленькими, продолговатыми, клиновидными листьями, сгруппированными вместе. Листья очередные, без черешков (сидячие), цельнокрайние, с округлой вершиной, голые, длиной до 2 см, шириной до 1,5 см; имеются листья с очень короткими черешками длиной около 1-1,5 мм и толщиной 0,5 мм. Цветки мелкие (6 - 7 мм в диаметре) одиночные или собраны по два-три в разветвлениях стебля или пазухах листьев. Околоцветник простой чашечковидный, чашечка и венчик правильные с пятью лепестками. Плод - яйцевидная или шаровидная коробочка, раскрывающаяся поперечной трещиной (крыночка). Семена овальные и крошечные (около 0,05-0,07 см). Цвет стеблей от светло- до темно-коричневого, листьев – от темно-зеленого до коричневатого-зеленого; цветков – коричневатого-желтый; плоды – темно-коричневые, семена - черные.

Запах специфический. Вкус водного извлечения слабокислый, слизистый.

Измельченная трава. Представляет собой смесь кусочков стеблей (от светло- до темно-коричневого цвета), листьев (от темно-зеленого до коричневатого-зеленого

цвета), цветков (коричневато-желтого цвета), плодов и семян (черного цвета), проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм.

Запах специфический. Вкус водного извлечения слабокислый, слизистый.

Порошок. Представляет собой смесь кусочков стеблей, листьев, цветков и семян, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм. Цвет зеленовато-коричневый.

Запах специфический. Вкус водного извлечения слабокислый, слизистый.

Микроскопические признаки

Цельная трава. При рассмотрении листа с поверхности видны клетки эпидермиса с верхней и нижней стороны со слабоизвилистыми и извилистыми стенками. Клетки верхнего и нижнего эпидермиса практически одинаковы: длиной 77-335 мкм, шириной 51-104 мкм. Кутикула ровная. Устьица с обеих сторон листа (длиной 20-30 мкм, шириной 12-18 мкм), встречаются с одинаковой частотой с обеих сторон 8-59 на 1 мм². Устьица парацитного типа, три околоустьичные клетки расположены параллельно замыкающим клеткам устьица: с одной стороны одна клетка, с другой - две, при этом самая маленькая околоустьичная клетка прилегает с одной стороны устьица, с другой стороны – околоустьичная клетка в 2-3 раза больше первой, а третья околоустьичная клетка расположена рядом с первой и параллельно устьичной щели по размерам в 3-5 раз больше второй околоустьичной клетки. Устьица расположены в одной плоскости с эпидермисом или немного выступают над эпидермисом. В клетках мезофилла листа обильно встречаются друзы диаметром 4-56 мкм и клетки со слизью (идиобласты). Нередко друзы погружены в идиобласты. На поперечном срезе виден гомогенный мезофил. На поперечном срезе через главную жилку наблюдается 2-3 ряда паренхимных клеток под эпидермисом, далее располагается цепь закрытых коллатеральных сосудисто-волокнистых пучков, под которыми нередко обнаруживаются клетки со слизью. Трахеиды проводящих пучков имеют спиральное утолщение. .

Клетки эпидермиса стебля прямоугольной и прямоугольно-веретеновидной формы вытянуты по длине стебля с прямыми стенками, длиной 21-340 мкм, шириной 56-113 мкм. Кутикула ровная. Устьица парацитного типа (оказаны 3-4 околоустьичными клетками, расположенными параллельно замыкающим клеткам устьица); околоустьичные клетки, также как на листе, отличаются размерами, увеличиваясь по мере отдаления от устьица. Длина устьиц 25-30 мкм, ширина устьиц 12-20 мкм, на поверхности эпидермиса устьица встречаются с частотой 0-5 на 1 мм². В паренхиме стебля наблюдаются клетки со слизью и друзы оксалата кальция. Нередко идиобласты со слизью включают друзы. На поперечном срезе стебля под эпидермисом расположено несколько рядов паренхимы, далее видно кольцо открытых коллатеральных сосудисто-волокнистых пучков, где сосуды и трахеиды имеют кольчатое, спиральное и сетчатое утолщение. В центре располагается паренхима сердцевины, представленная крупными рыхлыми клетками.

Эпидермис чашелистика с верхней и нижней стороны представлен клетками с прямыми, слабоволнистыми, волнистыми и сильноволнистыми стенками с обеих сторон. Клетки верхнего и нижнего эпидермиса практически одинаковы: длиной 83-171 мкм, шириной 17-51 мкм. Устьица парацитного и анизоцитного типа, окружены тремя околоустьичными клетками разных размеров, расположенными параллельно замыкающим клеткам устьица, как на листе, и вокруг устьица, в том числе и в перпендикулярном направлении относительно устьичной щели. Устьица длиной 17-22 мкм, шириной устьиц 10-15 мкм, встречаются на поверхности эпидермиса с частотой 0-86 на 1 мм². Кутикула ровная. В мезофилле наблюдается много друз и клеток со слизью.

Клетки эпидермиса верхней и нижней стороны лепестка, вытянутые прямоугольно и прямоугольно-веретеновидной формы; у основания с прямыми и слабоволнистыми стенками, к верхушке лепестка стенки клеток волнистые и сильноволнистые. Клетки верхнего и нижнего эпидермиса длиной 169-374 мкм, шириной 33-114 мкм. На эпидермисе лепестка встречаются устьица парацитного и анизоцитного типа длиной 25-35 мкм, шириной 12-20 мкм, с частотой

встречаемости 0-3 на 1 мм². Кутикула эпидермиса лепестка ровная. У основания тычиночных нитей наблюдаются спиральные трахеиды а также сосочковидные выросты.

В мезофилле лепестка имеются клетки со слизью и друзы . Паренхима всех морфологических частей цветка содержит друзы и клетки со слизью . Пыльца округлая шероховатая многобороздная (диаметром 34-56 мкм).

Измельченная трава. При рассмотрении микропрепаратов из крупных кусочков травы наблюдают анатомо-диагностические признаки аналогичные признакам цельного сырья. При приготовлении и рассмотрении микропрепаратов порошка, отсеянного из измельченной травы, наблюдают анатомо-диагностические признаки, характерные для порошка *Portulaca Oleracea L.*

Порошок. При рассмотрении порошка, представляющего собой смесь из различных частиц, под микроскопом наблюдают:

- обрывки эпидермиса листа с клетками со слабоизвилистыми и извилистыми стенками, устьицами парацитного типа (и без них);

- обрывки листа с просвечивающим мезофиллом, в котором имеются друзы и/или клетки со слизью;

- обрывки эпидермиса стебля с клетками с прямыми стенками, устьицами парацитного типа (и без них);

- обрывки паренхимы стебля, в которой имеются друзы и/или клетки со слизью;

- обрывки паренхимы и сосудисто-волокнистых пучков стебля, включающие обрывки кольчатых и спиральных сосудов и трахеид, нередко сопровождающиеся друзами и/или клетками со слизью (и без них);

- обрывки эпидермиса чашелистика с клетками с прямыми, слабоволнистыми, волнистыми и сильноволнистыми стенками, устьицами парацитного и анизоцитного типа (и без них);

- обрывки чашелистика с просвечивающим мезофиллом, содержащим друзы оксалата кальция и/или клетки со слизью;

- обрывки лепестка с прямыми, слабоволнистыми, волнистыми и сильноволнистыми стенками, устьицами паразитного типа (и без них);

- отдельно и на обрывках травы встречается округлая шероховатая многобороздная пыльца.

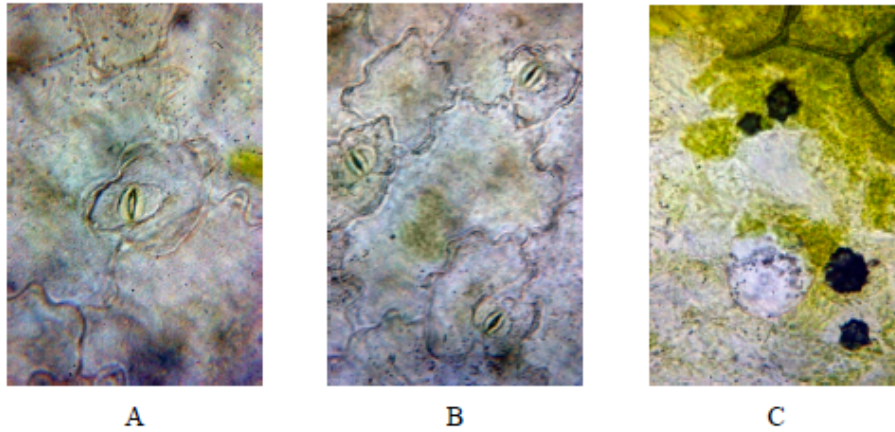


Рис.1. А - Верхний эпидермис листа. Паразитные устьица. (Ув.х250). В - Нижний эпидермис листа. Паразитные устьица. (Ув.х х200). С - Давленный препарат листа. Друзы, клетки со слизью, спиральные трахеиды, (Ув.х 200).

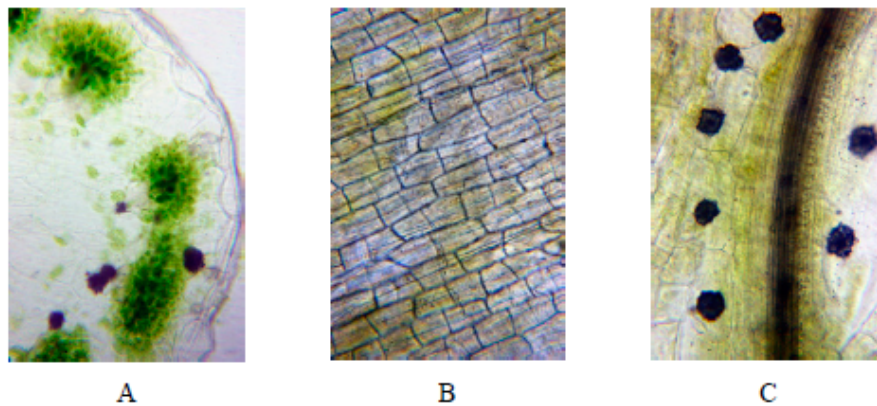


Рис.2. А - Поперечный срез листа. Эпидермис, проводящие пучки, друзы, клетки со слизью, (Ув.х150). В - Эпидермис стебля. (Ув.х125). С - Давленный препарат стебля. Идиобласты, содержащие слизь и друзы оксалата кальция, сосуды (Ув.х125).

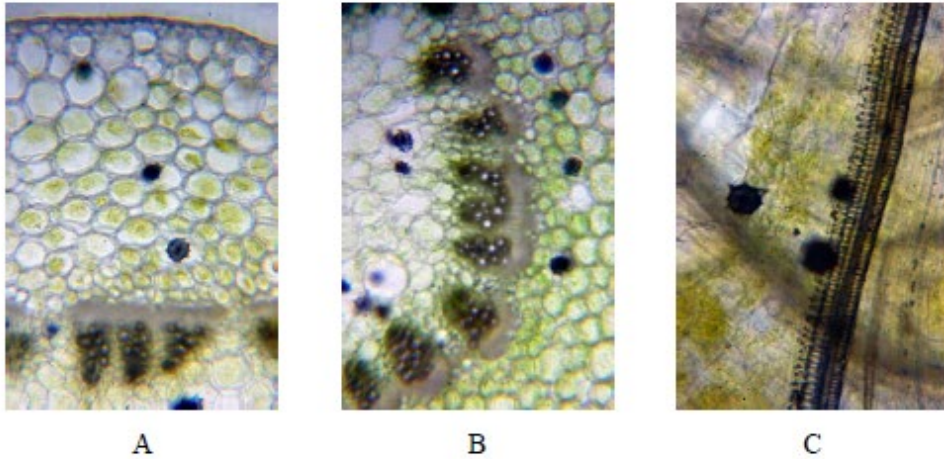


Рис.3. А, В - Поперечный срез стебля. Эпидермис, проводящие пучки, клетки со слизью, друзы в паренхиме (Ув.х125). С. - Давленный препарат стебля. Друзы, спиральные сосуды (Ув.х250).

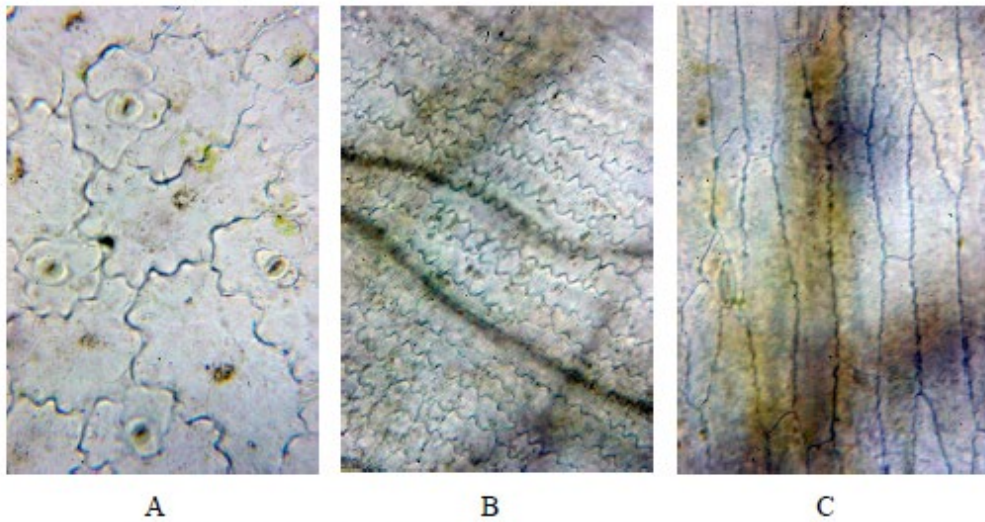


Рис.4. А - Эпидермис чашелистика. Парацитные и анизацитные устьица (Ув.х 200). В, С - Эпидермис лепестка. Парацитные и анизацитные устьица. Волнистые стенки клеток. (Ув.х 200).

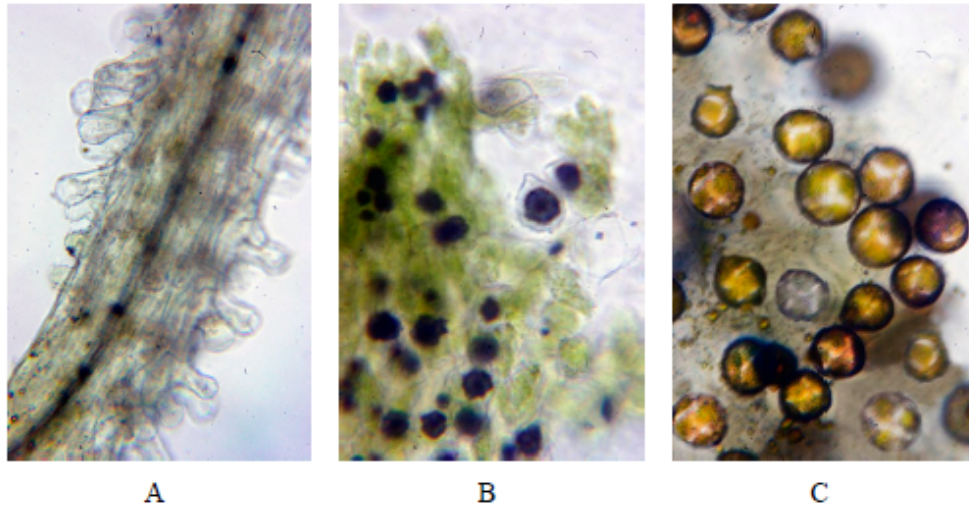


Рис. 5. А - Сосочковидные выросты у основания тычиночных нитей (Ув.х 200). В - Давленный препарат цветка. Друзы. (Ув.х200). С - пыльца (Ув.х 250).

Определение основных групп биологически активных веществ

ТСХ

Тонкослойная хроматография

Приготовление растворов

Испытуемый раствор. 5 г измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл экстрагента 45мл вода: 5мл HCl 37%. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане, в течение 60 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Затем извлечение охлаждают до комнатной температуры и фильтруют через вату и складчатый бумажный фильтр.

Приготовление стандартного раствора (СО) образца глюкозы

0,1 г (точная навеска) стандартного образца глюкозы (декстрозы) помещают в мерную колбу объемом 100 мл, прибавляют 60 мл воды очищенной и

перемешивают до полного растворения навески. Объем раствора доводят тем же растворителем до метки.

На линию старта аналитической хроматографической пластинки со слоем силикагеля «Сорбфил ПТСХ АФ-УФ» на полимерной подложке размером 20×20 см наносят 50 мкл испытуемого раствора и стандартного раствора (СО) образца глюкозы. Пластинку с нанесенной пробой сушат при комнатной температуре, помещают в камеру, предварительно насыщенную в течение 40 мин системой растворителей *n*-бутанол–уксусная кислота–вода (4:1:5) и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет около 80–90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 5 мин, обрабатывают реагентом анилин–фталевая кислота и нагревают в сушильном шкафу при 105–110 С⁰ в течение 5 мин.

На хроматограмме испытуемого раствора в дневном свете должна обнаруживаться зона адсорбции на уровне стандартного раствора; допускается обнаружение других зон адсорбции.

Качественная реакция

В пробирку вносят к 1 мл филтра (см. «ТСХ, испытуемый раствор») и 1 мл реактива Фелинга. Смесь перемешивают и нагревают в пламени горелки до кипения. Наблюдают образование красного осадка геммоксида меди.

ИСПЫТАНИЯ

Влажность Цельное сырье, измельченное сырье, порошок – не более 9 %.

Зола общая Цельное сырье, измельченное сырье, порошок – не более 26 %.

Зола, нерастворимая в хлористоводородной кислоте Цельное сырье, измельченное сырье, порошок – не более 2 %.

Измельченность сырья Цельное сырье: частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, – не более 5 %; измельченное сырье: частиц, не

проходящих сквозь сито с отверстиями размером 7 мм, – не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм, – не более 5 %; порошок: частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм, – не более 5 %; частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,18 мм, – не более 5 %.

Посторонние примеси

Кусочки корней. Цельное сырье, измельченное сырье – не более 0,5 %.

Частицы сырья, изменившие окраску. Цельное сырье, измельченное сырье – не более 2 %.

Органическая примесь. Цельное сырье, измельченное сырье, порошок – не более 1 %.

Минеральная примесь. Цельное сырье, измельченное сырье, порошок – не более 1 %.

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

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

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

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

Количественное определение. Цельное, измельченное сырье и порошок: суммы восстанавливающих сахаров – не менее 7 %.

Приготовление стандартного раствора (СО) образца глюкозы

0,1 г (точная навеска) стандартного образца глюкозы (декстрозы) помещают в мерную колбу объемом 100 мл, прибавляют 60 мл воды очищенной и перемешивают до полного растворения навески. Объем раствора доводят тем же растворителем до метки.

1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу объемом 25 мл. Объем раствора доводят до метки водой очищенной.

Методика проведения анализа:

Около 0,5 г (точная навеска) сырья, измельченного до размера частиц, проходящих через сито с отверстиями 1 мм, помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 40 мл воды и 7 мл кислоты хлористоводородной концентрированной, помещают на кипящую водяную баню с обратным холодильником. Экстракцию проводят в течение 120 мин. Колбу охлаждают до комнатной температуры. Полученное извлечение фильтруют через пять слоев марли в мерную колбу вместимостью 100 мл. Остатки сырья в колбе промывают 10 мл воды. Марлю с сырьем снова помещают в ту же коническую колбу и экстракцию повторяют еще раз. Полученное извлечение фильтруют через пять слоев марли в ту же мерную колбу, объем раствора доводят до метки водой очищенной. Полученное извлечение пропускают через фильтровальную бумагу марки «Синяя лента». Холостой опыт проводится аналогично, но без анализируемого образца.

Далее 1 мл полученного фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, объем раствора доводят водой очищенной до метки.

Раствор сравнения готовят аналогично испытуемому раствору из раствора, полученного в холостом опыте. При проведении количественного определения суммы восстанавливающих сахаров используют три пробирки (1, 2, 3) вместимостью 15 мл. В первую пробирку прибавляют 1 мл раствора Б, во вторую – 1 мл раствора Г, в третью – 1 мл разбавленного раствора сравнения. Во все пробирки прибавляют по 1 мл 5% раствора фенола, аккуратно встряхивают, добавляют по 5 мл кислоты серной концентрированной. Пробирки с содержимым охлаждают, перемешивают и оставляют на 30 мин для развития окрашивания.

Регистрируют оптическую плотность стандартного и испытуемого растворов при длине волны 487 нм. В качестве раствора сравнения используют содержимое третьей пробирки.

Содержание суммы свободных сахаров и полисахаридов (X, %) рассчитывают по формуле:

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

где,

A – оптическая плотность испытуемого раствора;

A₀ – оптическая плотность СО глюкозы;

a – масса навески сырья, г;

a₀ – масса навески СО глюкозы, г;

W – влажность сырья, %;

P – содержание основного вещества в стандартном образце глюкозы, %

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

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

Приложение Г. Доклинические исследования противовоспалительного действия
водного извлечения (настоя, полученного согласно ГФ XIV) портулака
(*Portulaca oleracea* L.)

Федеральное Государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования
РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ
ЦЕНТР
Испытательный центр
«ЦЕНТР КОЛЛЕКТИВНОГО ПОЛЬЗОВАНИЯ»
(НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР)
Центр контроля качества лекарственных средств в составе НОРЦ
«Фармация»
117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8/2
<http://www.ccp.rudn.ru>
Тел./факс +7 (495) 787 38 03, доб. 2096

" У Т В Е Р Ж Д А Ю "

Директор НОРЦ «Фармация»

Аверкин С

" 27 " 2021 г.



ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ
ПОРТУЛАКА (*PORTULACA OLERACEA* L.) (ЦКП (НОЦ) РУДН, РОССИЯ)

Москва 2021 г.

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Ответственный исполнитель,
С.н.с., к.в.н.:



Карамян А.С.

Работу обеспечивали:
Лаборанты-исследователи

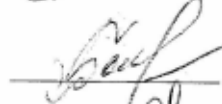


Бугров Н.С.

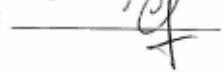
Врач-ветеринар:
Врач клинико-биохимической
лаборатории
Врач лаборатории патоморфологии



Карамян А.С.



Бондарева И.В.



Сысоев А.В.

Содержание

ВВЕДЕНИЕ.....	3
РЕГУЛИРУЮЩИЕ СТАНДАРТЫ.....	3
1. ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ПОРТУЛАКА (<i>Portulaca oleracea</i> L.).....	5
2. Изучение «острой» токсичности.....	7
3. Результаты исследования.....	11
4.Изучение противовоспалительного действия.....	17
5 Изучение противомикробного действия	18
Заключение.....	21
Список литературы.....	22

Введение

За последние несколько десятилетий вызывает растущий интерес к этнофармакологическим исследованиям лекарственных растений, о чем свидетельствуют многочисленные публикации и отчеты. Портулак огородный (*Portulaca oleracea*) имеет высокий фармацевтический потенциал, как растительное сырье для изготовления современных и эффективных лекарственных средств.

РЕГУЛИРУЮЩИЕ СТАНДАРТЫ

Исследование выполняется в соответствии с планом исследования, этическими принципами гуманного обращения с животными, регламентируется действующим законодательством РФ и нормативными документами:

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (под ред. Миронов А.Н. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.);
2. ГОСТ 15.101-98 «Система разработки и постановки продукции на производство. Основные положения. Порядок выполнения научно-исследовательских работ»;
3. ГОСТ 7.32-2001 «Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления»;
4. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 1 апреля 2016 г № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».
5. Приказ Минздравсоцразвития России от 26 августа 2010 г. № 750н «Об утверждении правил проведения экспертизы лекарственных средств для медицинского применения и формы заключения комиссии экспертов»;
6. Межгосударственный стандарт ГОСТ Р 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (утвержден Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 ноября 2014 г. № 1700-ст и введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 01 августа 2015 года);
7. Приказ Минздравсоцразвития РФ от 26 августа 2010 г. № 759н «Об утверждении порядка представления необходимых документов, из которых формируется регистрационное досье на лекарственный препарат для медицинского применения в целях его государственной регистрации»;
8. Приказ Минздравсоцразвития России от 23 ноября 2011 г. № 1413н «О утверждении Методических рекомендаций по содержанию и оформлению необходимых документов, из которых формируется регистрационное досье на

лекарственный препарат для медицинского применения в целях его государственной регистрации».

9. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях.

10. Санитарно-эпидемиологические правилами СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29 августа 2014 г. № 51).

1. ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ПОРТУЛАКА (*Portulaca oleracea* L.).

Портулак огородный (*Portulaca oleracea* L.) - традиционное съедобное и лекарственное растение. Травянистое однолетнее растение, является евроазиатским видом. Встречается в Восточной и Западной Индии, Китае, Японии, на острове Вознесения, а также на Британских островах. Растение обладает антибактериальным, противцинготным, депуративным (очищающим), мочегонным и жаропонижающим действием.

1.1. Изучение влияния ПОРТУЛАКА (*Portulaca oleracea* L.) на формалиновый и гистаминовый отек у мышей

Изучение противовоспалительной активности травы портулака огородного (*Portulaca oleracea* L.) проводили на модели «острый формалиновый отёк лапы» у крыс с использованием водного извлечения. Эксперименты выполнены на 30 белых аутбрендных крысах (самцах). Крысы являются основными стандартными объектами при изучении общетоксического действия фармакологических веществ. Рекомендуемым условием при оценке противовоспалительного действия лекарственного препарата является использование в эксперименте стандартных животных обоего пола.

Начальная масса тела (при первом введении препаратов) составляет 180-200 г, разброс по исходной массе не превышал $\pm 10\%$. Корректировка дозы препарата для введения осуществлялась через неделю после начала эксперимента на основании последних

результатов измерения массы тела животных.

Условия содержания животных: стандартные условия вивария, размещение группами в промаркированных клетках с регулярно заменяемым подстилом, со свободным доступом к воде и пище, в условиях стандартизованного светового и температурного режимов.

Каждая экспериментальная группа состоит из 5 особей. Контрольная группа состоит из 5-ти особей. Выбор доз осуществлялся согласно уже имеющимся данным о терапевтической дозе и требованиям, описанным в нормативной документации OESD №407 [7,8].

Вид	Аутбрендные крысы
Источник	ООО «КролИнфо»
Масса тела к началу введения	180-200 г
Количество	15
Пол	Самцы

Крыс содержали в поликарбонатных клетках для крыс, тип R-1, производитель группа компаний «Профлаб», $S = 1025 \text{ см}^2$ группами по 5 особей одного пола, на подстиле. Площадь пола в клетке содержания для одного животного составит $102,5 \text{ см}^2$ (минимально допустимая площадь 77 см^2).

Маркировка крыс осуществляется методом нанесения цветной метки на шерсти (0,5%-м раствором генцианвиолета).

Исследование проводили на половозрелых крысах при курсовом ежедневном внутрижелудочном введении изучаемого препарата и препарата сравнения в лекарственной форме в течение 1 месяца в максимально возможной дозе/объеме, которая составляет 2 мг/кг и 4 мг/кг .

Расчет доз: Максимальная суточная доза для человек $-2 \text{ мг/сутки} / 70 \times 6,5 = 0,18 \text{ мг/кг}$

Начальная масса тела (при первом введении препаратов) составляет 180-200 г, разброс по исходной массе не должен превышать $\pm 10 \%$. Корректировка дозы препарата для нанесения осуществляется через неделю после начала эксперимента на основании последних результатов измерения массы тела животных. Препараты вводят в одно и тоже время в утренние часы. Контрольной группе животных наносят плацебо по аналогичной схеме.

В эксперимент включаются клинически здоровые животные после 14 дней карантина. Условия содержания животных: стандартные условия вивария, размещение группами в промаркированных клетках с регулярно заменяемым подстилом, со свободным доступом к воде и пище, в условиях стандартизованного светового и температурного режимов.

Каждая экспериментальная группа состоит из 5 особей (самцы). Контрольная группа состоит из 5-ти особей.

Таблица 1

Дизайн эксперимента по изучению противовоспалительной активности

№ группы	Способ применения	Препарат	Количество Животных в группе	Сроки снятия показателей
1.	Внутрижелудочное введение	Изучаемый препарат	5 ♂	2,4,6,24,48 часов/фон
2.	Внутрижелудочное введение	Карпрофен	5 ♂	
3.	Внутрижелудочное введение	Контроль	5 ♂	

Противовоспалительную активность водного извлечения травы портулака огородного оценивали в экспериментах на модели «формалинового» отека лапы. Острый воспалительный отек вызывали субплантарным введением (под подошвенный апоневроз) в заднюю правую лапу крысы 0,1 мл 2 % водного раствора формалина, 0,2 мг гистамина (Sigma, США) в 0,1 мл физиологического раствора. Выраженность отека оценивали, измеряя толщину лапки подопытного животного с помощью инженерного электронного штангенциркуля Vorel 15240 (Польша) до и через 2, 4, 6 часов, а также в динамике через 24 и 48 часов после введения раствора формалина. Противовоспалительную активность исследуемых соединений выражали в процентах угнетения отека.

Подопытные животные были разделены на 6 группы (по 5 крыс в каждой): 1) крысы, получавшие внутривенно водное извлечение травы портулака огородного в дозе 95 мг/кг до введения формалина, 2) крысы, получавшие внутривенно карпрофен в дозе 50 мг/кг до введения формалина, 3) крысы контрольной группы, получавшие внутривенно изотонический раствор натрия хлорида.

2. Изучение «острой» токсичности портулака огородного (*Portulaca oleracea* L.).

2.1. Условия проведения эксперимента и методы исследования

2.1.1. Животные и их содержание

Источник получения: Питомник – филиал «Кролинфо» Московской области. Животные разведены специально и ранее не участвовали в исследованиях. Производитель животных предоставляет данные (ветеринарное свидетельство) последнего контроля здоровья животных.

Карантин: 14 дней. Во время этого периода все животные оставались здоровыми.

Содержание: мышей содержали в клетках из поликарбоната. В каждой клетке содержалось по 6 особей мужского пола. Все клетки оборудованы стальными решетчатыми крышками с углублением для корма и стальными держателями этикеток.

Корм: Стандартный комбикорм гранулированный полнорационный для лабораторных животных (мыши, крысы) (экструдированный) ПК-120 ГОСТ Р 51849-2001 Р.5 (ООО «Лабораторкорм», Россия), давали *ad libitum* в кормовое углубление клетки через 1 час после введения препарата.

Вода: Водопроводную воду давали *ad libitum* в стандартных поилках.

Подстилка: В качестве подстилки использовали стерилизованные древесные опилки.

Параметры окружающей среды: Животных содержали в контролируемых условиях окружающей среды: температура воздуха 18-22°C и относительная влажность 40-60%. Температуру и влажность контролировали в каждой экспериментальной комнате ежедневно и документировали вручную. Освещение в комнатах – естественно-искусственное.

Идентификация: Каждому животному был присвоен индивидуальный номер, помечаемый на шерсти или ушной раковине и фиксируемый на карточке клетки.

Все манипуляции с животными проводили согласно правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследований и других научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123) Strasbourg, 1986).

2.1.2 Тестируемый препарат

Прием, учет и хранение: осуществляется согласно инструкции. Учет каждого лекарственного средства проводится путем записи в журнал, где отображают: «приход» и «расход», указывается дата получения препарата и дата его выдачи, откуда

получен препарат, и в каком количестве, остаток, роспись ветеринарного врача, ответственного за хранение.

Действия с остатками тестируемого препарата

Препарат был использован полностью.

2.1.3 Ключевые даты

Дата инициации исследования: 10 ноября 2021 г.

Дата начала введения препаратов: 15 ноября 2021 г.

Дата аутопсии: 30 ноября 2021 г.

2.1.4 Формирование групп

Для исследования препаратов использовали группы по 6 животных одного пола (самцы). Животные были распределены по группам рандомизированно. В качестве критерия принималась масса тела, которая составляла 18-20 г. Группам контрольных животных каждого пола вводили эквивалентные объемы геля- плацебо.

2.1.5 Дизайн исследования

Введение исследуемого препарата осуществляли внутривентрикулярно с помощью специального зонда в возрастающих дозах. Дозирование осуществляли, исходя из содержания активного вещества.

Период последующего наблюдения составлял 14 суток.

2.1.6 Наблюдения и измерения в ходе исследования

В течение исследования ежедневно утром и во второй половине дня вели наблюдение за каждым животным. В день введения препаратов за животными наблюдали каждый час. Результаты осмотров занесены в лабораторные карты.

Оценка токсического действия препарата проводилась по следующим клиническим признакам:

- количество и сроки гибели животных (при наличии таковых);
- респираторные показатели (затрудненное дыхание, цианоз, учащенное дыхание, выделения из носа);
- двигательная активность (повышенная/пониженная, сонливость, потеря равновесия, чувствительности, каталепсия, атаксия, необычные передвижения, прострация, тремор, фасцикуляция);
- конвульсии (клонические, тонические, тонико-клонические, асфиктические);
- рефлексы (корнеальный, равновесие, миотатический, световой, рефлекс испуга);

- глазные признаки (слезотечение, мидриаз, экзофтальм, птоз, помутнение, ирит, конъюнктивит, хромодактриорея, ослабление мигательной мембраны);
- сердечно-сосудистые явления (брадикардия, тахикардия, аритмия, вазодилатация, вазоконструкция);
- повышенная саливация;
- состояние шерстного покрова (пилолейомиома, алопеция);
- аналгезия;
- мышечный тонус (гипотония, гипертония);
- желудочно-кишечные показатели (мягкий стул, диарея, рвота, полиурия, ринорея);
- динамика массы тела;
- макроскопическое исследование органов и тканей;
- морфометрическая оценка органов (сердце, тимус, печень, почки, надпочечники, легкие, селезенка, семенники, яичники).

3.1.7. Терминальные процедуры

Для оценки повреждающего действия препарата на внутренние органы и ткани каждое животное было подвергнуто эвтаназии передозировкой эфира в CO₂- камере. При аутопсии детально исследовали внешнее состояние тела, полость черепа, грудную и брюшную полости с органами и тканями, шею с органами и тканями и скелетно-мышечную систему.

Перечень органов, подлежащих макроскопическому исследованию: кожа, лимфатические узлы, аорта, сердце, гортань, трахея, легкие, тимус, пищевод, желудок, тонкий кишечник, толстый кишечник, печень, поджелудочная железа, селезенка, почки, надпочечники, мочевой пузырь, семенники, яичники, матка, влагалище, подчелюстная слюнная железа с лимфатическими узлами, щитовидная железа, головной мозг.

Перечень органов, подлежащих взвешиванию: сердце, тимус, печень, почки, надпочечники, легкие, селезенка, семенники, яичники, головной мозг.

Морфометрическую оценку параметров органов животных осуществлялась с помощью весов «Vibra» фирмы «ShinkoDenshiCO.Ltd», Япония с вычислением относительной массы органов и их стандартных отклонений.

2.1.8 Обработка данных

Для всех количественных данных вычисляли групповое среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего (m), которые представлены в итоговых таблицах. Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica ver. 7.0. Достоверность отличий между группами данных оценивали с применением t-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0.05$ (табл.1).

Таблица 1

Дизайн эксперимента по изучению «острой» токсичности

№ группы	Способ применения	Препарат	Количество Животных в группе	Сроки снятия показателей
1.	Внутрижелудочное введение	Исследуемый препарат	5 ♂	1-15 день
3.	Внутрижелудочное введение	Контроль	5 ♂	

3. Результаты исследования

3.1. Токсикометрия

Зависимые от доз летальные эффекты исследуемого препарата представлены в таблице 1.

Таблица 1

Токсичность сравниваемых препаратов при в/ж введении мышам-самцам (пало/всего)

Введенная доза, мг/кг	1500	1870	2500
Извлечение портулака огородного	0/6	0/6	0/6

3.2. Клиническая картина интоксикации

При в/ж введении препарата, в дозах превышающих 2500 мг/кг, у мышей не выявлено отклонений во внешнем виде, состоянии шерстного покрова и слизистых оболочек, характере выделений, поведенческих реакциях, прироста массы тела.

3.3 Масса тела и массовые коэффициенты органов

Результаты взвешивания выживших животных приведены в таблице 3.

Таблица 3

Влияние острого введения сравниваемых препаратов на массу тела выживших белых мышей при внутрижелудочном введении

Группа	Доза, мг/кг	Время наблюдения			
		Фон	2-й день	7-й день	14-й день
Водное извлечение портулака огородного	1500	19,5±0,8	20,2±0,7	25,3±2,1	30,0±1,9
	t	-3,00	-1,36	-0,65	-1,30
	p	0,01	0,20	0,53	0,22
	1870	18,8±1,2	19,2±1,1		
	t	-3,61	-2,63		
	p	0,00	0,03		
	2500	21±0,9			
	t	0,00			
	p	1,00			
Контроль	плацебо	21±0,9	21,3±0,8	26±1,4	31.3±1,6
	W	0,899482	0,895399	0,938758	0,963833
	p	0,000272	0,002201	0,102781	0,427991

*При уровне значимости $\alpha=5\%$ и $n=6$, табличное значение критерия Шапиро-Уилка ($W_{таб}$)=0,79. Расчетные значения критерия ($W_{рас}$) для показателей массы превосходят табличное значение. Таким образом, при $W_{рас} \geq W_{таб}$. Распределение нормальное, гипотеза H_0 принимается

После окончания эксперимента животные были подвергнуты эвтаназии. Морфометрическую оценку параметров органов животных осуществляли с помощью весов «Vibra», фирмы «ShinkoDenshiCO.Ltd», Япония с последующим вычислением массовых коэффициентов. Результаты вычисления массовых коэффициентов приведены в таблице 4.

Таблица 4

Массовые коэффициенты (МК) органов белых мышей при однократном введении изучаемого препарата (%), (n=6)

Группа	Доза, мг/кг	Органы								
		сердце	легкие с трахей	тимус	печень	селезенка	почка л	надпочечники	Поджелудочная железа	семенники
Извлечение портулака огородного	1500	0,10±0,004	0,046±0,007	0,006±0,001	0,18±0,01	0,05±0,003	0,04±0,002	0,001±0,001	0,002±0,0002	0,014±0,002
	t	1,43	0,30	0,49	1,57	-0,05	-2,27	0,87	-1,89	0,30
	p	0,18	0,77	0,63	0,15	0,96	0,05	0,40	0,09	0,77
	1870	0,14±0,02	0,07±0,01	0,008±0,001	0,26±0,03	0,06±0,008	0,05±0,006	0,003±0,001	0,003±0,0003	0,02±0,006
	t	2,58	1,88	2,07	3,09	2,36	1,13	4,63	-1,15	1,76
	p	0,03	0,09	0,07	0,01	0,04	0,29	0,00	0,28	0,11
	2500	0,14±0,01	0,06±0,005	0,009±0,0008	0,29±0,02	0,06±0,003	0,05±0,002	0,002±0,001	0,003±0,0003	0,03±0,001
	t	3,42	3,49	3,30	4,89	4,39	2,38	2,48	0,40	3,61
	p	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,04	0,03	0,70	0,00
Контроль	плацебо	0,09±0,006	0,04±0,004	0,005±0,0008	0,16±0,009	0,05±0,002	0,05±0,002	0,001±0,001	0,003±0,0001	0,013±0,0002
	W	0,97	0,95	0,95	0,91	0,93	0,97	0,94	0,98	0,92

p	0,12	0,02	0,02	0,00	0,00	0,19	0,01	0,68	0,00
---	------	------	------	------	------	------	------	------	------

*При уровне значимости $\alpha=5\%$ и $n=6$, табличное значение критерия Шапиро-Уилка ($W_{таб}$)=0,79. Расчетные значения критерия ($W_{рас}$) для показателей параметра массовые коэффициенты превосходят табличное значение. Таким образом, при $W_{рас} \geq W_{таб}$. Распределение нормальное, гипотеза H_0 принимается

3.4 Патоморфологическая оценка органов

На вскрытии мышей в конце эксперимента (через 14 дней) различий между животными, получавшими препарат, и животными контрольной группы не установлено.

Некропсия контрольных животных, внутрижелудочное введение:

Некропсия подопытных животных, получавших препарат «портулака огородного» для применения во внутрь:

На вскрытии мышей подопытных групп, умерщвленных в конце эксперимента, а также на вскрытии контрольных животных, различий между ними не установлено.

Шерсть опытных животных имела опрятный вид, была блестящей, без очагов облысения.

При осмотре грудной и брюшной полостей нарушений в расположении внутренних органов не отмечалось. Подчелюстные лимфатические узлы и слюнные железы имели овальную или округлую форму, однородный розоватый или желтоватый цвет и умеренную плотность.

Щитовидная железа плотно прилежала к гортани, имела обычные размеры и плотность, розовато-красноватый цвет. Тимус имел треугольную форму, беловатый цвет и умеренно плотную консистенцию.

Величина и форма сердца - без изменений. Мышца сердца была коричневатой, плотной.

Поверхность легких имела бледно-розовую окраску; легкие спадались при вскрытии грудной клетки. Ткань на разрезе также имела однородную бледно-розовую окраску. Слизистая оболочка внелегочных бронхов была гладкой, блестящей, бледно-розовой. Селезенка имела темно-вишневый цвет, гладкую поверхность и плотноватую консистенцию.

Желудок имел обычную форму и размеры, просвет был заполнен плотным пищевым содержимым. Слизистая тела желудка была бледно-розовой, блестящей, складчатой. Слизистая тонкой и толстой кишки была блестящей, гладкой.

Поджелудочная железа была бледно-розовой, дольчатой.

Мезентериальные лимфатические узлы мелкие, бледно-желтого цвета с гладкой поверхностью.

Величина и форма печени изменений не представляли. Капсула печени была тонкой, прозрачной. Ткань печени имела коричневатый цвет и умеренно плотную

консистенцию.

Величина и форма почек не отличались от контроля, капсула легко снималась. Поверхность органа была гладкой, однородной коричневато-серооатой окраски. На разрезе почек отчетливо различались корковое и мозговое вещество.

Форма, размеры и плотность надпочечников, яичников или яичек не отличались от контроля.

Оболочки головного мозга были тонкими, прозрачными. Вещество головного мозга имело умеренную плотность. Расширения желудочков мозга не наблюдалось.

Различий между группами, получавшими препарат не наблюдалось.

Некропсия подопытных животных, получавших плацебо- 1% -ый крахмальный гель:

На вскрытии мышцей опытных групп, умерщвленных в конце эксперимента, а также на вскрытии контрольных животных, различий между ними не установлено.

Шерсть опытных животных имела опрятный вид, была блестящей, без очагов облысения.

При осмотре грудной и брюшной полостей нарушений в расположении внутренних органов не отмечалось. Подчелюстные лимфатические узлы и слюнные железы имели овальную или округлую форму, однородный розоватый или желтоватый цвет и умеренную плотность.

Щитовидная железа плотно прилежала к гортани, имела обычные размеры и плотность, розовато-красноватый цвет. Тимус имел треугольную форму, беловатый цвет и умеренно плотную консистенцию.

Величина и форма сердца изменений не представляли. Мышца сердца была коричневатой, плотной.

Поверхность легких имела бледно-розовую окраску; легкие спадались при вскрытии грудной клетки. Ткань на разрезе также имела однородную бледно-розовую окраску. Слизистая оболочка внелегочных бронхов была гладкой, блестящей, бледно-розовой. Селезенка имела темно-вишневый цвет, гладкую поверхность и плотноватую консистенцию.

Желудок имел обычную форму и размеры, просвет был заполнен плотным пищевым содержимым. Слизистая тела желудка была бледно-розовой, блестящей, складчатой. Слизистая тонкой и толстой кишки была блестящей, гладкой.

Поджелудочная железа была бледно-розовой, дольчатой.

Мезентериальные лимфатические узлы мелкие, бледно-желтого цвета с гладкой поверхностью.

Величина и форма печени изменений не представляли. Капсула печени была тонкой, прозрачной. Ткань печени имела коричневатый цвет и умеренно плотную консистенцию.

Величина и форма почек не отличались от контроля, капсула легко снималась. Поверхность органа была гладкой, однородной коричневато-серооатой окраски. На разрезе почек отчетливо различались корковое и мозговое вещество.

Форма, размеры и плотность надпочечников, яичников или яичек не отличались от контроля.

Оболочки головного мозга были тонкими, прозрачными. Вещество головного мозга имело умеренную плотность. Расширения желудочков мозга не наблюдалось.

3.5. Заключение

Результаты токсикометрии, данные наблюдений за экспериментальными животными на протяжении 14 дней после однократного введения, а также данные некропсии позволяют отнести водное извлечение портулака огородного к IV классу относительно малотоксичных лекарственных веществ.

4. Изучение противовоспалительной активности портулака огородного

Было выявлено, что при субплантарном введении 0,1 мл 2 % раствора формалина у подопытных крыс развивается выраженный отек лапы, что подтверждается достоверным изменением объема лапы. Наиболее выраженный отёк лапки, по которому судили о нарастающем воспалении, развивается в течении 2 часов после введения формалина.

Объем лапы у животных контрольной группы увеличивался в среднем на 27 % ($p < 0,05$). Через 24 часа после введения формалина достоверные различия между группами сохранялись. Через 48 часов различий в выраженности отёка у животных в подопытных и контрольной группе выявлено не было.

При внутривбрюшинном введении водного извлечения портулака и при введении карпрофена было выявлено снижение проявления «формалинового» отёка.

Через 2 часа после введения карпрофена отек лапы был достоверно меньше на 11 %, а после введения извлечения портулака на 7 % по сравнению с контрольной группой. При внутривбрюшинном введении карпрофена (50 мг/кг) выраженность отека лапы у животных подопытных групп была в среднем меньше, чем в контроле.

Таблица 5

Изменение толщины лапы крыс под влиянием извлечения портулака и кетопрофена на выраженность «формалинового» отека лапы у крыс при формалиновом отеке

Серия опыта	фон	2 часа	4 часа	6 часов	24 часов	48 часов
NaCl	3,52±0,03	4,92±0,04*	4,85±0,03*	4,63±0,03*	4,40±0,04*	3,62±0,09
Портулак 95 мг/кг самцы	3,55±0,03	4,59±0,05*	4,42±0,03*	4,31±0,03*	4,00±0,04*	3,57±0,09
Карпрофен	3,53±0,03	4,22±0,04*	4,15±0,03*	4,04±0,03*	3,82±0,04	3,66±0,09

Примечание: * – различия с контролем (до опыта) достоверны ($p < 0,05$).

4.1. Изучение влияния портулака на экспериментальный перитонит у крыс.

Влияние водного извлечения портулака огородного на течение экспериментального перитонита было проведено Либерман (1972) в опытах на крысах массой 180-200 г. Воспаление вызывали путем внутривбрюшинного введения 0,2% раствора азотнокислого серебра в дозе 2 мл на крысу. Водное извлечение портулака огородного в дозе 95 мг/кг

вводили внутривбрюшинно через час после воспроизведения модели. Мониторинг динамики проводили через 5 часов на фоне разлитого перитонита. Животных эутаназировали и измеряли собранную серозную жидкость в брюшной полости. Данные представлены в таблице 6.

Таблица 6

Влияние водного извлечения портулака огородного на экссудацию при моделировании экспериментального перитонита

Препарат	Доза	Количество образовавшегося экссудата в брюшной полости (мл)
Контроль	95 мг/кг	1,7 ± 0,306
Извлечение портулака	95 мг/кг	0,53 ± 0,094

Проведенное исследование и полученные данные позволяют судить о том, что водное извлечение портулака огородного отчетливо угнетает процесс образования серозной жидкости (экссудативного воспаления) на фоне экспериментального перитонита.

5. Изучение противомикробного и антимикотического действия портулака огородного

Микробиологические исследования антимикробной и антимикотической активности водного извлечения портулака огородного проводили в отношении микроорганизмов: *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* (методические указания МУК 4.2.1890-04): 50 мкл взвеси определенного вида бактерий в концентрации $2.5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл засеивали «газоном» на мясо-пептонный агар (МПА) толщиной 5 мм. Дрожжеподобные грибы рода *C. albicans* засеивали в том же объеме «газоном» на агаризованную среду Сабуро. В случае испытаний образцов 5, 10 и 13, которые представляют собой твердые вещества, сначала производили их разведение в стерильном мясо-пептонном бульоне (МПБ). Для этого 0,5 гр образца помещали в 0,5 мл МПБ и оставляли на час при комнатной температуре (рис.1). Затем в агаре, засеянном культурами микроорганизмов, делали лунки диаметром 3 мм (лунки делаются специальным пробойником, диаметр которого 3 мм), в которые помещали

образцы по 50 мкл. Лунки делали на равном расстоянии друг от друга и на расстоянии 2 см от края чашки Петри. Чашки помещали в термостат при 37 °С на 48 ч. Результаты оценивали по феномену задержки роста микроорганизмов вокруг лунок с помощью линейки, включая диаметр самой лунки. Каждый опыт повторяли трёхкратно. Степень чувствительности микроорганизмов к исследуемым образцам устанавливали по величине зоны отсутствия роста микроорганизмов. Микробиологические исследования проводили в боксе, предварительно облученном УФ-лампой для стерилизации перед посевом тест-культур на питательные среды.

Результаты

Данные по антимикробной и антимикотической активности, отображающие результаты трёхкратных повторов, представлены в табл. 7.

Таблица 7.

Результаты изучения антимикробной активности образцов

Культура микроорганизмов	Диаметр зоны задержки роста, мм			
	Извлечение портулака огородного	5	10	13
Неспорообразующие бактерии				
<i>Staphylococcus aureus</i>	38	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	30	-	-	-
Дрожжеподобные грибы				
<i>Candida albicans</i>	29	-	-	-

Экспериментально было установлено, что водное извлечение портулака огородного обладает выраженной ингибирующей активностью по отношению ко всем

трьм референс-штаммам (рис.2).

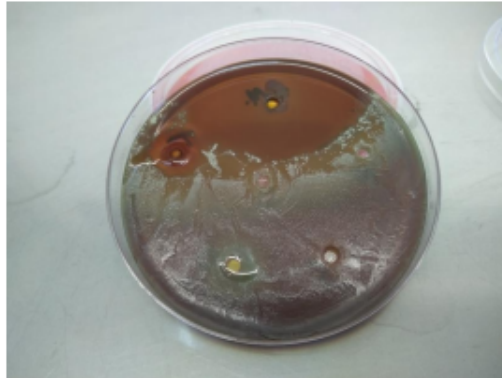


Рис.2

Выводы: Исследуемый препарат «водное извлечение портулака огородного», безусловно, может быть рассмотрен в качестве антимикробного средства.

Заключение

В экспериментах на лабораторных животных была изучена острая токсичность, противомикробное, противомикотическое действие и противовоспалительная активность водного извлечения портулака огородного (ЦКП (НОЦ) РУДН, Россия).

Последующее наблюдение за животными не выявило отклонений во внешнем виде, состоянии шерстного покрова и слизистых оболочек, характере выделений, поведенческих реакциях, прироста массы тела.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПОЗВОЛЯЮТ РЕКОМЕНДОВАТЬ ВОДНОЕ ИЗВЛЕЧЕНИЕ ТРАВЫ ПОРТУЛАКА ОГОРОДНОГО ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ВО ВНУТРИ В КАЧЕСТВЕ МАЛОТОКСИЧНОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ РЕГИСТРАЦИИ.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Бейли Н. Статистические методы в биологии. М., «Мир», 1963, 271 с.
Биохимические методы исследования в клинике. Справочник. (Под ред. акад. АМН СССР А.А. Покровского). М., «Медицина», 1969, 256 с.
- 2.Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. М., «Русский врач», 2003, с. 99-116.
- 3.Додсон Р., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. М., «Мир», 1991, 543 с.
Проблемы нормы в токсикологии (Под ред. проф. И.М. Трахтенберга). М., «Медицина», 1991, 203 стр.
- 4.Прозоровский В.Б., Прозоровская М., Демченко В.М. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки — Фармакол. и токсикол., 1978, №4, с.497–502.
- 6.Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ . Под ред. Р. У. Хабриева. М., ОАО «Издательство «Медицина», 2005, стр. 41-54.
- 7.Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. А.Н.Миронова. М., ОАО «Издательство «Медицина», 2012, Ч.1. стр. 35-36
Тамжестр. 22.
8. Drug registration requirements in Japan (5-th edition). Japan, Tokyo, Yakuji Nippo LTD, 1993, 306 p.
9. The rules governing medical products in the European Community. Volume III. Guidelines on the quality, safety and efficiency of medical products for human use. Luxembourg, Office for official publications of the European Community, 989, 272
10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123) Strasbourg, 1986

Приложение Д. Акт внедрения



Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования

«РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ» (РУДН)

«ЦЕНТР КОЛЛЕКТИВНОГО ПОЛЬЗОВАНИЯ
(НАУЧНО-ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЙ ЦЕНТР)»

117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8/2
Тел./факс +7 (495) 787 38 03, доб. 20-95, 21-17
<http://ccp.rudn.ru>

АКТ

о внедрении результатов диссертационного исследования

Нассера Раудаса Абдул Хакима

Наименование: Спектрофотометрическая методика количественного определения суммы флавоноидов в траве портулака огородного (*Portulaca oleracea*).

Авторы внедрения: Нассер Р.А.Х., Потанина О.Г.

Место разработки: ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; Центр коллективного пользования (Научно-образовательный центр).

Источник информации:

Материалы кандидатской диссертации Нассера Р.А.Х. «Фармакогностическое исследование портулака огородного (*Portulaca oleracea*)».

Место внедрения: ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; Центр коллективного пользования (Научно-образовательный центр), г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8/2.

Форма внедрения: используется с мая 2021 года в химико-аналитических исследованиях ЦКП (НОЦ) РУДН.

Эффективность внедрения: Разработанная методика (включает применение NaNO_2 в щелочной среде), которая позволяет более точно определять сумму флавоноидов спектрофотометрическим методом по сравнению с классической методикой. Методика может быть использована для определения суммы флавоноидов (в пересчете на рутин) в новом виде лекарственного растительного сырья – траве портулака огородного (*Portulaca oleracea*).

Директор ЦКП (НОЦ) РУДН

д. фарм. н.

Дата 24.05.2021



Р.А. Абрамович

Приложение Е. Акт внедрения

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
**Федеральное государственное
 автономное образовательное
 учреждение высшего образования
 «Северо-Восточный
 федеральный университет
 имени М.К. Аммосова»
 (СВФУ)**

Белинского ул., д.58, г. Якутск
 Республика Саха (Якутия), 677000
 Тел. (4112) 35-20-90
 Факс (4112) 32-13-14
 E-mail: rector@s-vfu.ru
 http://www.s-vfu.ru


11.03.2021 № 05-177
 На № _____ от _____

СПРАВКА

о внедрении результатов диссертационного исследования

Нассер Раудас Абдул Хаким

Результаты диссертационной работы «Фармакогностическое исследование портулака огородного (*Portulaca oleracea*)» внедрены в учебный процесс Медицинского института при изучении студентами отделения «Фармация» дисциплин «Фармакогнозия», «Фитотерапия», «Использование биологически активных растительного происхождения в фармации».

Проректор по образовательной деятельности  Голиков А.И.
 11.03.2021 г.

