

На правах рукописи



Нассер Раудас Абдул Хаким

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

14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Москва – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук

Потанина Ольга Георгиевна

Официальные оппоненты:

Саканян Елена Ивановна, доктор фармацевтических наук, профессор, акционерное общество «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген», директор по науке

Зилфикаров Ифрат Назимович, доктор фармацевтических наук, профессор РАН, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений», отдел химии природных соединений, главный научный сотрудник

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «21» сентября 2022 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.002.01 при Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

И.о. ученого секретаря
диссертационного совета ДСУ 208.002.01
доктор фармацевтических наук, профессор



Селиванова И. А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

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 первоочередных 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.

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. 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 (b-амирин, бутироспермол, паркеол, циклоартенол, 24-метилен-24-дигидропаркеол и 24-метиленициклоартенолы), 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*).

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 oleraceae 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».

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.*

Степень достоверности полученных положений и выводов

В работе исследован максимально доступный объем 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.

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.

Внедрение результатов исследования

Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, внедрены в учебные программы дополнительного профессионального образования ЦКП (НОЦ) РУДН (акт внедрения от 24.05.2021), кафедры фармации медицинского института Северо-Восточного федерального университета имени М. К. Аммосова (акт внедрения от 11.03.2021). Подготовлен проект ФС для ГФ РФ следующего издания «Трава портулака огородного (*Herba Portulacae oleraceae*)».

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.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтической науки

Диссертационная работа выполнена в рамках плана и в соответствии с направлением научно-исследовательской работы кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии ЦКП (НОЦ) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (ФГАОУ ВО «РУДН»).

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.

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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Трава *Portulaca Oleracea L.* собрана в Сирии и Воронежской области (в 2017–2019 г.).

Анализ внешних и микроскопических признаков травы *Portulaca Oleracea L.* осуществляли, согласно ГФ XIV. Готовые микропрепараты изучали под микроскопом МБИ-3 (при увеличении $\times 40$, $\times 75$, $\times 100$; $\times 150$; $\times 200$; $\times 250$; $\times 300$; $\times 400$). 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.

При проведении анализа использованы методы исследований: хроматография в тонком слое (ТСХ), УФ-спектрофотометрия, ВЭЖХ, ВЭЖХ/МС, ГХ-ПИД, ЭТААС, АЭС-ИСП, ЯМР. Для исследования использовали приборы и оборудование: хроматограф Agilent 7890А, хроматограф ВЭЖХ VARIAN PROSTAR SERIES 500 (США) WITH AUTO SIMPLE MODEL 500 с фотометрическим детектором на диодной матрице (ПДА), спектрофотометр CARY-100 VARIAN (США) (кварцевые кюветы с толщиной поглощающего слоя 1 см). Регистрировали спектры ЯМР ^1H в количественных условиях (32К точек на спектр, 16 накоплений, 90° импульс, 40 с задержкой между импульсами) на спектрометре JNM ECA-600 (JEOL, Япония) с рабочей частотой 600 МГц для протонов, их обработка проводилась с помощью программы Delta (JEOL), обеспечивающей управление прибором, сбор и анализ данных. Метод атомно-абсорбционной спектрометрии 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.* Исследования проводили с помощью атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивно связанной плазмой (Varian 720-ES, аксиальный обзор плазмы) и атомно-абсорбционного спектрометра с электротермической атомизацией (Varian AA 240, GTA 120), для разложения использовалась микроволновая система (МВ-печь/система) с контролем температуры (Milestone Ethos). Кроме того, использованы методы: титриметрия, гравиметрия, современные методики фармакологических исследований, макроскопический и микроскопический анализ. В процессе исследований использованы реактивы, стандарты, растворители, отвечающие требованиям соответствующей нормативной документации. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по общепринятым методикам согласно ГФ XIV.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Морфолого-анатомическое изучение травы *Portulaca oleracea L.*

На основании проведенных морфолого-анатомических исследований травы *Portulaca oleracea L.* установлены морфолого- и анатомо-диагностические признаки.

Цельная трава *Portulaca Oleracea L.* 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 коричневатозеленого; цветков – коричневатожелтый; плоды – темно-коричневые, семена - черные. Запах специфический. Вкус водного извлечения слабокислый, слизистый (одинаков для травы разной степени измельченности). Кроме того, представлено описание морфолого-диагностических признаков измельченной травы и порошка.

Изучение анатомо-диагностических признаков травы *Portulaca Oleracea L*

Цельная травахарактеризуется (Рис.1) слабоизвилистыми и извилистыми стенками клеток, устьицами парацитного типа, друзами и клетками со слизью в мезофилле листа, гомогенным

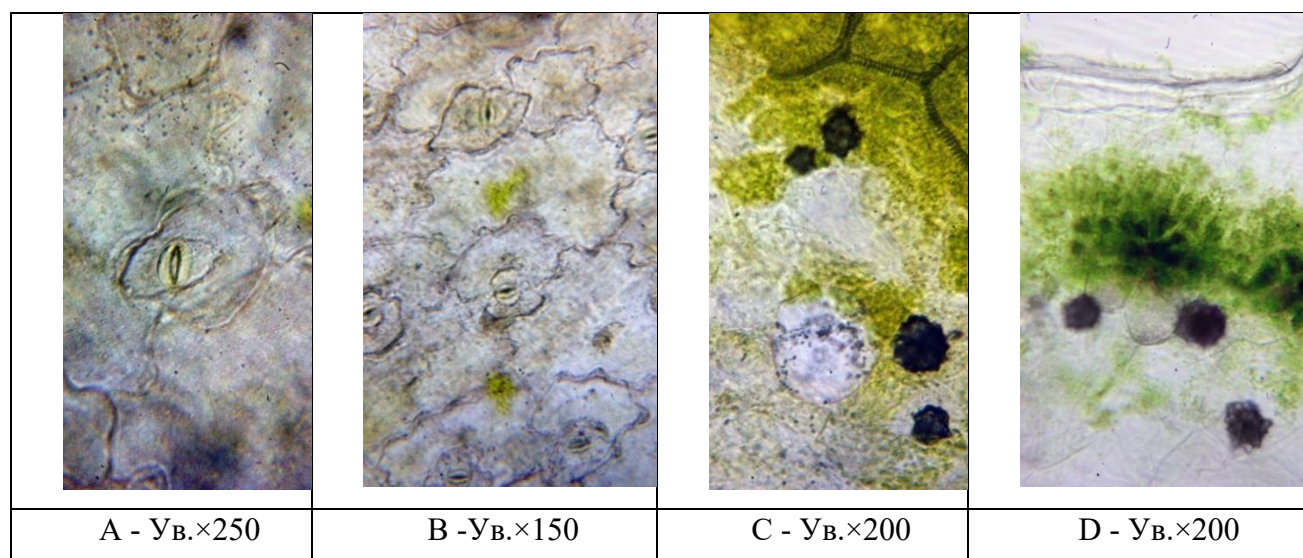


Рисунок 1 - Лист. А – Верхний эпидермис. Устьица парацитного типа. В – Нижний эпидермис. Устьица парацитного типа. С – Давленный препарат. Друзы, клетки со слизью, спиральные трахеиды. D - Поперечный срез. Эпидермис, проводящие пучки, друзы, клетки со слизью

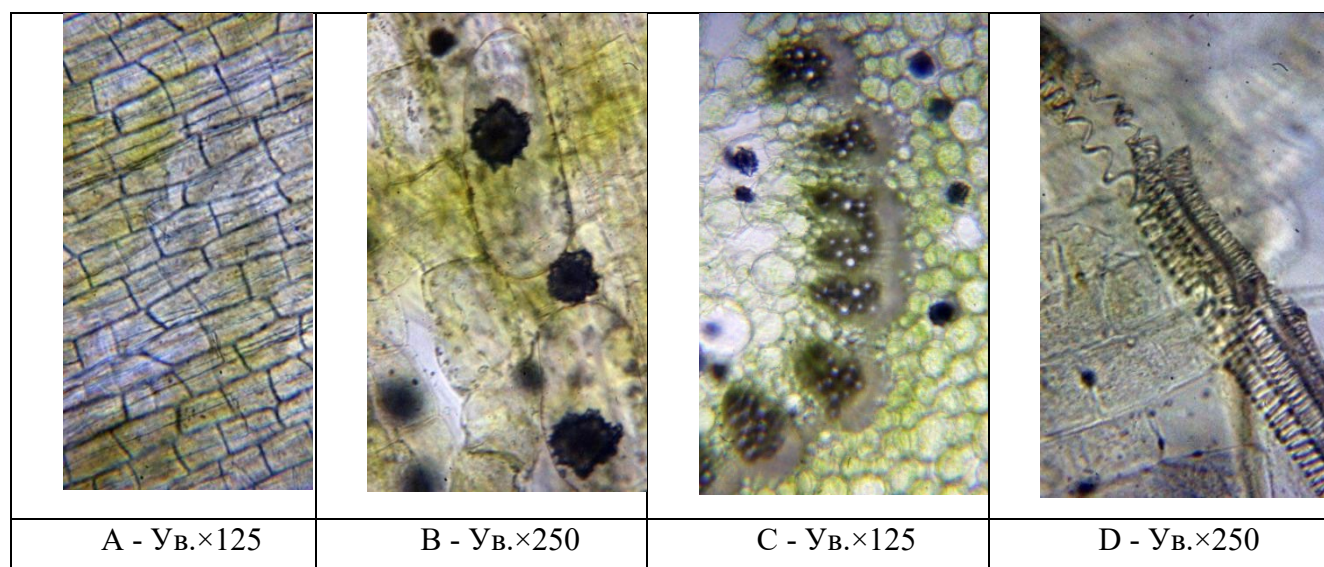


Рисунок 2 - Стебель А - Эпидермис. В – Давленный препарат. Идиобласты, содержащие слизь и друзы оксалата кальция. С - Поперечный срез. Проводящие пучки, клетки со слизью, друзы в паренхиме. D - Давленный препарат. Друзы, спиральные сосуды

мезофиллом. На поперечном срезе через жилку листа видны закрытые коллатеральные сосудисто-волокнистые пучки, спиральные трахеиды (Рис.2). Эпидермис чашелистика схож по структуре с листом. Особенность лепестка - устьица парацитного и анизоцитного типа, остальные признаки во многом схожи с таковыми листа, пыльца округлая шероховатая многобороздная. Измельченная трава имеет анатомо-диагностические признаки аналогичные признакам цельного сырья; порошок, отсеянный из измельченной травы, включает анатомо-диагностические признаки, характерные для порошка *Portulaca Oleracea* L. Порошок представлен обрывками листа, стебля, чашелистиков, цветков, имеющих анатомо-диагностические признаки, описанные для цельного сырья. Полученные результаты включены в проект ФС с целью характеристики подлинности исследуемой травы. Проведенные исследования подтвердили, что в составе травы портулака огородного в значительном количестве присутствуют полисахариды, обнаруживаемые в виде клеток со слизью.

Исследование химического состава травы *Portulaca Oleracea* L

С помощью качественных реакций и ТСХ доказано наличие в сырье *Portulaca oleracea* L. флавоноидов, дубильных веществ, сапонинов, полисахаридов, восстанавливающих сахаров и органических кислот. Установлены числовые показатели травы *Portulaca oleracea* L.: влажность, содержание экстрактивных веществ, содержание золы общей, содержание золы, нерастворимой в хлористоводородной кислоте, измельченность, содержание примесей и содержания дубильных веществ. Определено содержание тяжелых металлов и мышьяка в траве *Portulaca oleracea* L.: методом, основанном на образовании окрашенных сульфидов, наличие совокупности тяжелых металлов; методом атомно-абсорбционной спектрометрии определены

их количества. Используя оба метода, установлено, что в траве *Portulaca OleraceaL.* содержание тяжелых металлов не превышает допустимых пределов. Содержание макро- и микроэлементов в траве *Portulaca oleraceaL.* определено сочетанием методов АЭС-ИСП. Среди определенных макро- и микроэлементов в траве *Portulaca OleraceaL.* наибольшее содержание отмечается для кальция, калия, магния, железа, марганца. Результаты определения представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Содержание макро- и микроэлементов в траве *Portulaca OleraceaL*

Элемент	серия сырья	№	а, г	С, мкг/мл	Х, ppm	ХСР, ppm	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		
		3	0,5011	1062,3320	106000		

Значительное содержание кальция согласуется с фактом наличия многочисленных кристаллов (друз), наблюдаемых при микроскопическом анализе. Обнаруженные макро- и

микроэлементы участвуют в формировании фармакологической активности травы *Portulaca Oleracea L.*

Определение содержания состава липидного комплекса травы Portulaca Oleracea L

Определение содержания компонентного состава липидного комплекса проводили в соответствии с ОФС ГФ 14 «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса, Газовая хроматография, Масс-спектрометрия». Все полученные комплексы исследовали на содержание остаточных органических растворителей, их содержание было ниже допустимых норм согласно ГФ 14. Спектры ЯМР ^1H (рис. 3) липидного комплекса, полученного разными экстрагентами, содержали набор идентичных сигналов и отличались лишь небольшой разницей в интегральных площадях искомым сигналов. 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,

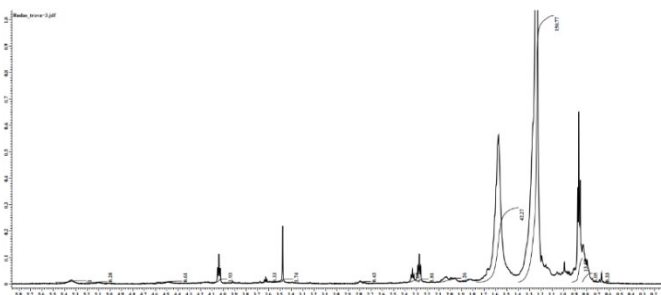


Рисунок 3 - Типичный спектр ЯМР ^1H липидного комплекса травы *Portulaca oleracea L.*

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.).

Содержание ненасыщенных жирных кислот составляет в сумме 49,3-53,7% от всего липидного комплекса (Рис. 4), содержание насыщенных жирных кислот составляет в сумме 46,3-50,7% от всего липидного комплекса. Содержание трансизомеров ненасыщенных жирных кислот не превышает в сумме 0,1%. Состав неомыляемой фракции представлен: свободные жирные кислоты, n-алканы, жирные спирты, фитол и его метаболит - фитановая кислота, токоферолы, стеринны и тритерпеновые спирты. Фитол - мононенасыщенный дитерпеновый

спирт, составная часть витаминов Е и К, а также хлорофилла. Общее содержание токоферолов (витамин Е) в пересчете на внутренний стандарт составило 19,3-23,4 мг/100,0 г (порядка 0,02%), наибольшее 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. Общее содержание стеринов и тритерпеновых спиртов составило 691,3 мкг/100,0 мг (0,7%). Обнаружено, что β -ситостерин является главным компонентом фракции, его содержание составило порядка 30% масс. 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%) - доминирующие тритерпеновые спирты, обнаруженные в составе липидного комплекса травы *Portulaca oleracea* L. Полученные результаты расширяют информацию о компонентном составе липидного комплекса травы *Portulaca oleracea* L.

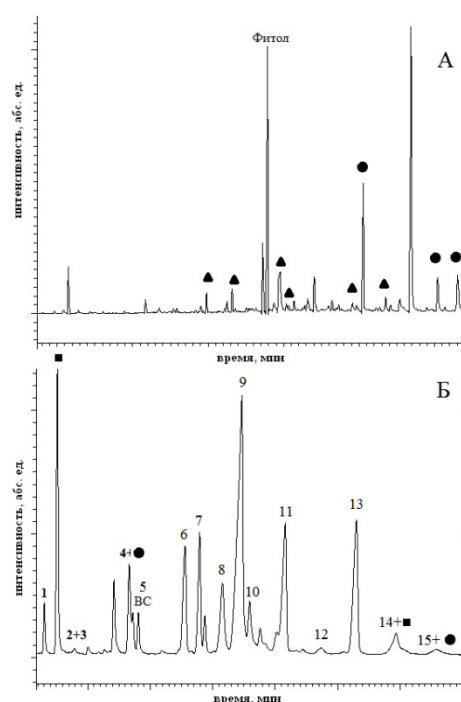


Рисунок 4 - Типичная хроматограмма по полному ионному току неомыляемой фракции липидного комплекса надземной части *Portulaca oleracea* L., (А) – область элюирования метиловых эфиров жирных кислот («●»), свободных жирных кислот (в виде ТМС-производных, «▲»), жирных спиртов (в виде ТМС-производных, «■»); (Б) - область элюирования токоферолов, стеринов и тритерпеновых спиртов

Определение содержания аскорбиновой кислоты в траве *Portulaca oleracea* L

Данные литературы свидетельствуют о содержании аскорбиновой кислоты в траве *Portulaca Oleracea* L., в связи с чем было проведено исследование по ее содержанию в

анализируемой траве. Анализ проводили в соответствии с ОФС ГФ 14 «Высокоэффективная жидкостная хроматография». За основу была взята методика (Пирогов А.В., 2013). Установлено, что трава *Portulaca oleracea* L. содержит не более 0,005 % аскорбиновой кислоты. Согласно полученным данным найденное содержание аскорбиновой кислоты меньше, чем указано в литературных источниках, это связано с точностью используемого метода (данные, представленные в литературных источниках, получены методом титрования). Поскольку установленные количества не значительны, дальнейшие ее исследования не проводили.

Определение содержания фенольных соединений в траве Portulaca oleracea L

По данным литературы трава *Portulaca Oleracea* L. богата фенольными соединениями, прежде всего рутином. В связи с чем, было проведено исследование фенольных соединений *Portulaca Oleracea* L. методом ВЭЖХ/МС.

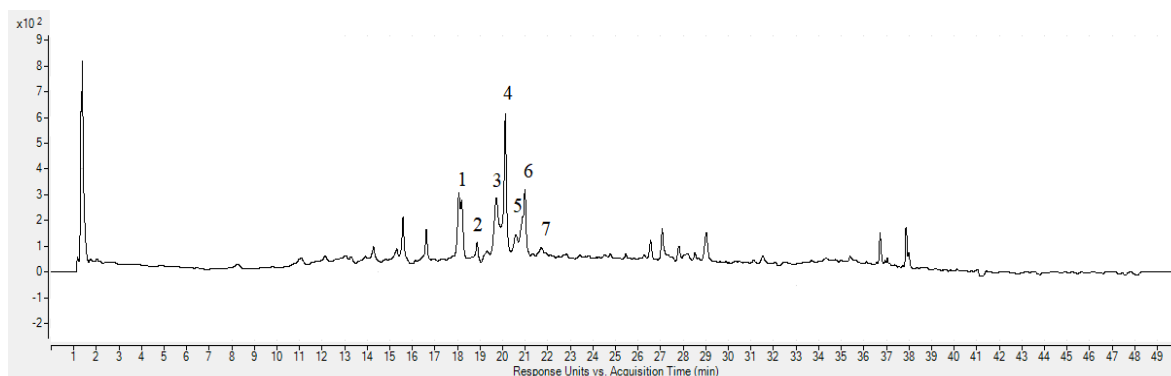


Рисунок 5 - Хроматограмма испытуемого извлечения из травы Portulaca oleracea L.

Извлечение (90%спирт) травы *Portulac Oleracea* L. хроматографировали при следующих условиях: колонка brownlee SPP C18 (2,7 μ m/ 2,1*150 mm), температура колонки 30 °С, подвижная фаза (А): муравьиная кислота- 0.1% ,(В): ацетонитрил, режим элюирования изократический, скорость потока 0,25 мл/мин, УФ-детектор QQQ, DAD, длина волны 340 нм. Идентифицировано 7 основных пиков, принадлежащих к группе фенольных соединений. Согласно литературным и полученным хроматографическим данным (рис.5) установлено содержание: Oleracein C, 2-Oleracein D, 3- рутин, 4- Oleracein A, 5- Oleracein U, 6- Oleracein B, 7- Oleracein W. Олерацеины являются алкалоидами, имеющими фенольную структуру. Найденные данные согласуются с данными научных публикаций, где указывается, что в траве портулака огородного найдены алкалоиды. Однако 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:(рис.6)

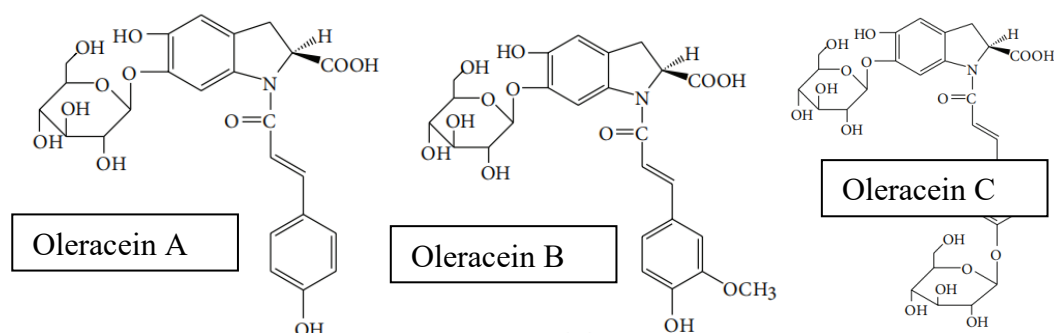


Рисунок 6 - Структуры Oleracein (A-B-C)

Алкалоиды портулака обладают антиоксидантной и антимикробной активностями. Траву портулака широко используют в пищу на протяжении многих веков. Согласно данным литературы алкалоиды травы портулака огородного не оказывает токсического действия, что подтверждено проведенными в настоящей работе исследованиями.

Таким образом, было установлено, что трава *Portulaca oleracea* L. содержит фенольные соединения, относящиеся к флавоноидам и алкалоидам.

Количественная оценка содержания основных групп БАВ травы *Portulaca oleracea* L.

Содержание суммы окисляемых веществ в траве портулака огородного

Трава портулака огородного содержит различные группы БАВ фенольной природы, в значительной степени которые входят в состав окисляемых веществ. Определение содержания окисляемых веществ в траве *Portulaca Oleracea* L. проводили в соответствии с методикой ОФС ГФ 14 «Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Установлено, что содержание окисляемых веществ в траве *Portulaca oleracea* L. в среднем составило $1,82 \pm 0,2\%$ ($n=3$; $p=0,95$).

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 активность травы *Portulaca Oleracea* L. во многом обусловлена именно полисахаридами, в связи с чем, было необходимо разработать методику количественного содержания суммы восстанавливающих 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. В предлагаемой работе использована менее трудоемкая УФ-

спектрофотометрическая методика с целью определения восстанавливающей суммы сахаров (с фенолом).

Согласно данным литературы максимум поглощения глюкозы при длине волны 487 ± 2 нм. 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. Для разработки методики было изучено влияние степени измельчения сырья, соотношения сырье: экстрагент, кратности экстракции на выход сахаров. Наибольшая полнота извлечения суммы восстанавливающих сахаров была достигнута двукратной экстракцией подкисленной водой очищенной за 120 мин при степени измельчения сырья 1 мм и соотношении сырье: экстрагент 1:200.

В результате проведенных исследований разработана методика количественного определения суммы восстанавливающих сахаров после гидролиза полисахаридов травы *Portulaca oleracea* L. Ошибка количественного определения суммы восстанавливающих сахаров в пересчете на глюкозу в ($n=5$) не превышала 5,0 %. С использованием разработанной методики было проведено определение содержания суммы восстанавливающих сахаров в траве *Portulaca oleracea* L. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Содержание суммы восстанавливающих сахаров в траве *Portulaca oleracea* L

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

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.

Валидация методики проведена в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012.15 по параметрам: специфичность, линейность, правильность, повторяемость, прецизионность, стабильность растворов. Методика количественного определения состава углеводного комплекса применима в интервале от 25 до 250 % от номинального значения состава углеводного комплекса. Правильность, линейность, повторяемость установлены для интервальных значений и значений внутри интервала: линейность (25-50-100-200-250) %, правильность (80-100-120) %, повторяемость (100 %).

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

Свободные органические кислоты являются неотъемлемой частью метаболома лекарственных растений, в том числе и *Portulaca oleracea*L. В соответствии с данными литературы и по результатам собственных исследований было установлено, что содержание органических кислот в траве *Portulaca Oleracea*L. представлено в значительном количестве, что также вносит вклад в фармакологическую активность данного вида лекарственного растительного сырья. Поэтому было целесообразно разработать методику количественного определения и установить норму содержания органических кислот в траве *Portulaca Oleracea*L.

Определение содержания суммы свободных органических кислот в *Portulacaoleracea*L. проводили с использованием фармакопейной методики определения суммы органических кислот в свежих плодах калины. Для разработки методики в настоящей работе было изучено влияние степени измельчения сырья, соотношения сырье: экстрагент, кратности экстракции на выход сахаров. Наибольшая полнота извлечения органических кислот достигнута однократной экстракцией водой очищенной за 120 мин при степени измельчения сырья 2 мм и соотношении сырье: экстрагент 1:80.

В результате проведенных исследований разработана методика количественного определения органических кислот в траве *Portulaca oleracea*L. Ошибка количественного определения содержания органических кислот в (n=5) не превышала 5,0 %. Валидация методики проведена в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012.15.С использованием разработанной методики было проведено определение содержания органических кислот в образцах *Portulaca oleracea*L., собранного в Сирии и Воронежской области. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Содержание органических кислот в траве *Portulaca oleracea*, собранной в Сирии и Воронежской области

Место сбора Portulacaoleracea/год сбора	Содержание суммы органических кислот (Вручную)
Воронежская область/2017 г.	2,2±0,2
Воронежская область/2018 г.	2,9±0,2
Воронежская область/2019 г.	2,3±0,1
Сирия, Латакия/2019 г.	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.

Подбор условий и разработка методики определения суммы флавоноидов(со свободными 3- и 5- ОН -группами) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в траве Portulaca oleracea L.методом 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, что подтверждено нашими исследованиями для СО рутина и испытуемого раствора, полученного из травы *Portulaca oleracea*L. Спектры поглощения представлены на рис. 7-8. При исследовании зависимости величины оптической плотности от концентрации рутина в анализируемом растворе было установлено, что в диапазоне от 10 до 100 мкг/мл аналитический сигнал прямо пропорционален содержанию аналита. Для разработки методики было изучено влияние степени измельченности сырья, концентрация этанола, соотношение сырье:экстрагент, кратность экстракции на выход флавоноидов. Наибольшая полнота извлечения суммы флавоноидов достигнута двукратной экстракцией 90% этанолом за 60 мин при степени измельчения сырья 1 мм и соотношении сырье: экстрагент 1:100.

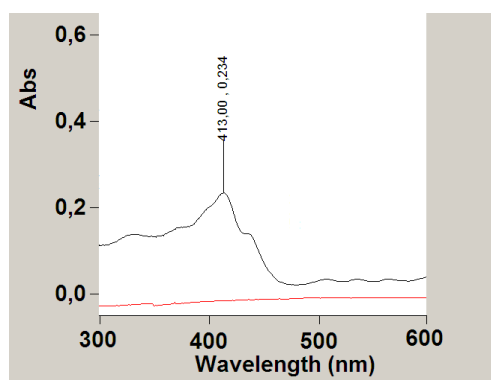


Рисунок 7 - Типичный УФ/ВИД-спектр испытуемого раствора

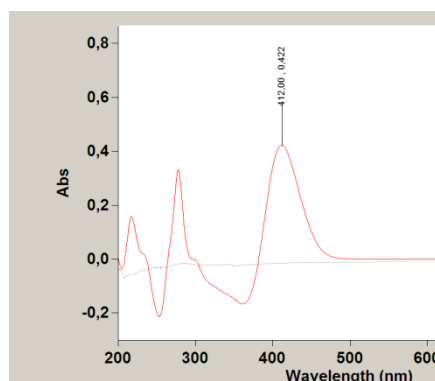


Рисунок 8 - Типичный УФ/ВИД-спектр стандартного раствора СО рутина

В результате проведенных исследований разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleracea*L. Ошибка количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в ($n=5$) не превышала 5,0 %. Валидация методики проведена в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012.15. Методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин применима в интервале от 0,1 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 (1-2-4) мкг/мл, повторяемость (100 %). С использованием разработанной методики было проведено определение содержания суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleracea*L. (см. табл.4).

Таблица 4 - Содержание суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleracea*L

Место сбора <i>Portulaca oleracea</i> /год сбора	Содержание сумма флавоноидов
Воронежская область/2017 г.	0,47±0,02
Воронежская область/2018 г.	0,46±0,02

Воронежская область/2019 г.	0,39±0,06
Сирия, Латакия/2019 г.	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.

Подбор условий и разработка методики определения суммы флавоноидов (с 3', 4'-дигидроксизамещенной структурой) в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в траве Portulaca oleracea L. методом дифференциальной спектрофотометрии с алюминия хлоридом в водной среде.

Максимум поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом в соответствии с литературными данными находится при длине волны 510±5 нм, что согласуется с результатами наших исследований для СО рутина и испытуемого раствора, полученного из травы *Portulaca*

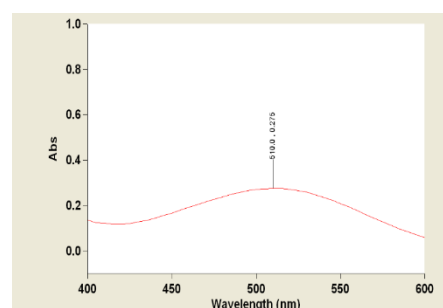
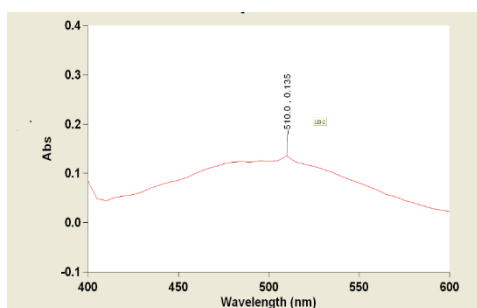


Рисунок 9 - Типичный УФ/ВИД-спектр испытуемого раствора Рисунок 10 -Типичный УФ/ВИД-спектр стандартного раствора *oleracea*L. Спектры поглощения представлены на (рис. 9,10). При исследовании зависимости величины оптической плотности от концентрации рутина в анализируемом растворе было найдено, что в диапазоне от 3,75 до 60 мкг/мл аналитический сигнал прямо пропорционален содержанию аналита. Для разработки методики было изучено влияние степени измельченности сырья, концентрация этанола, соотношение сырье: экстрагент, кратность экстракции на выход флавоноидов. В предлагаемых условиях анализа наибольшая полнота извлечения суммы флавоноидов достигнута двукратной экстракцией 70% этанолом за 60 мин при степени измельчения сырья 1 мм и соотношении сырье: экстрагент 1:200.

В результате проведенных исследований разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleracea*L. Ошибка количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин (n=5) не превышала 5,0 %. Валидация методики проведена в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0012.15. 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 %).С использованием разработанной методики было проведено определение содержания суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleraceaL.*, результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Содержание суммы флавоноидов в траве *Portulaca oleraceaL*

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

Таким образом, было установлено, что трава *Portulaca oleraceaL.* содержит не менее 1 % суммы флавоноидов. При этом содержание флавоноидов находится практически на одном уровне во всех испытуемых образцах. В образцах, собранных в Воронежской области в 2018 году наблюдается наибольшее содержание анализируемых веществ.

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

На основании проведенных экспериментальных исследований травы *Portulaca oleraceaL.* разработан проект ФС для ГФ РФ «Трава портулака огородного» («Herba Portulacae oleracea»), отвечающий современным требованиям на лекарственное растительное сырье. Проведено исследование условий хранения травы *Portulaca OleraceaL.* и установлен срок годности (2 года).

В ЦКП (НОЦ) РУДН проведены доклинические исследования противовоспалительного действия и острой токсичности портулака (*Portulaca oleraceaL.*). Установлено, что настой портулака огородного отчетливо угнетает процесс образования серозной жидкости (экссудативного воспаления) на фоне экспериментального перитонита, что подтверждает его противовоспалительную активность (отчет о доклинических исследованиях приложен к диссертационной работе). Исследуемая трава не проявляет токсических свойств.

Общие выводы

1.Выполнено морфолого-анатомическое исследование травы *Portulaca oleracea L.*, представлены характеристики морфолого- и анатомо-диагностических признаков цельного,

измельченного сырья и порошка. Анатомио-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± 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%), Δ7-ситостерином (13,2%) и циклоартенолом (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 титрометрии; 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 Na₂NO₃-AlCl₃-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 oleraceae*»).

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 oleraceae*). 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 oleraceae L.*).

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Nasser R.A.** Overview on bacla / **R.A.Nasser, T.P.Meer**// Сб. статей по материалам шестой международной научно – практической конференции «Современная парадигма научного знания: актуальность и перспективы», 4 апреля 2018 года.-Москва.- 2018.-С. 48-49
2. **Нассер Р.А.** Стандартизация травы *Portulaca oleracea L.* / **Р.А. Нассер**, А.В., Никулин, О. Г. Потанина, // Сб. тезисов II Международной научно-практической конференции «Гармонизация подходов к фармацевтической разработке», 14–17 ноября 2019 г.-Москва.-2019.-С. 202-203.
3. **Нассер Р.А.** Development and validation of the free organic acids determination procedure in *Portulaca oleracea* aerial parts (*Portulaca oleracea l.*) / **Р.А. Нассер**, А. В. Никулин, О. Г. Потанина

// Материалы XXIII Международной научной конференции «ФИТОФАРМ», 1–3 июля 2019г.- Санкт-Петербург.-2019.–С. 55-56.

4. **Нассер Р.А.** Pharmacognostic characteristics of *Portulaca oleracea* (*Portulaca oleracea*.) (literature review)/**Р.А. Нассер**, О.Г. Потанина // Сб. тезисов II Международной научной конференции «Роль метаболомики в совершенствовании биотехнологических средств производства», 6-7 июня 2019 г.-Москва.- –С. 187-194.

5. **Нассер Р.А.** Содержание восстанавливающих сахаров в лекарственном растительном сырье *Portulaca oleracea* L./ **Р.А. Нассер**, С., А.В., Никулин, И.Ямщикова, О.Г. Потанина // Сб. научных трудов Седьмой научной конференции с международным участием «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения».- М.:ФГБНУВИЛАР, 2019.-С. 247-253.

6.

Nasser R.A. Methodical basis for analysis of monosaccharide profile of the polysaccharide complex in the mixture of herbal product (Pectorales species no 2)/ Chevidaev V.V., Bokov D.O., Potanina O.G., Nikulin A.V., **Nasser R.A.**, Samylyna 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., Galiakhmetova E.K., Moiseev D.V., Krasnyuk I.I.Jr.// **Systematic Reviews in Pharmacy. EManuscript Technologies.**-2020.-Vol.- 11.-P. 213-220.[Scopus].

7. **Nasser R.A.** Polysaccharides of crude herbal drugs as a group of biologically active compounds in the field of modern pharmacognosy: physicochemical properties, classification, pharmacopoeial analysis /Bokov D.O., Sharipova R.I., Potanina O.G., Nikulin A.V., **Nasser R.A.**, Samylyna 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.// **Systematic Reviews in Pharmacy. EManuscript Technologies.**-2020.-Vol. 11.- P. 206-212.[Scopus].

8. **Nasser R.A.** Evaluation of the nomenclature of herbal expectorants on russian pharmaceutical market: current status and future prospects/ Kakhramanova S.D., Bokov D.O., Rendyuk T.D., Janulis V., Sakr M., Samylyna I.A., Potanina O.G., Nikulin A.V., **Nasser R.A.**// **Systematic Reviews in Pharmacy. EManuscript Technologies.**-2020.- Vol. 11.- P. 196–205. [Scopus].

9. **Nasser R. A.** Development of the composition and technology of a granular dosage form based on a thick milk thistle extract and ademetionine. /Pisarev D.I., Novikov O.O., Zhilyakova E.T., Boyko N.N., Abramovich R.A., Potanina O.G., Lazar S., Sayed Ahmad A., **Nasser R.**//**Drug development & registration.**-2020.-Vol. 9, N2.-P .106-112. [Scopus].

10. **Нассер Р.А.** Определение тяжелых металлов в траве *Portulaca Oleracea* L. методом атомно-абсорбционной спектрометрии / **Р.А. Нассер**, А.В., Никулин, Е. А. Платонов, О.Г. Потанина // Сб. научных трудов III Международной научно-практической конференции «Гармонизация подходов к фармацевтической разработке», 25 ноября 2020 г.-Москва.-2020.-Том 9, № 4.- С. 108.

11. **Нассер Р.А.** Содержание флавоноидов в лекарственном растительном сырье *Portulaca oleracea* L./ **Р.А. Нассер**, А.В., Никулин, О.Г. Потанина // Сб. трудов международной научной конференции молодых учёных, 17-18 декабря.- Москва: ФГБНУ ВИЛАР.-2020 г.- С. 245-250.

12. **Нассер Р.А.** Содержание суммы органических кислот в траве *Portulaca oleracea* L. / А.В., Никулин, О. Г.Потанина, **Р.А. Нассер** // **Вопросы обеспечения качества лекарственных средств.**- 2021.- №4 (34).-С. 21–31.[ВАК 739].